

# ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI METABOLIT SEKUNDER PADA EKSTRAK *n*-HEKSAN RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*)

Melania Risma<sup>1</sup>, Ni Komang Tri Darmayani<sup>1,2</sup>, Maria Ulfa<sup>1</sup>, Emmy Yuanita<sup>1</sup>,  
Sudirman<sup>1</sup>, Surya Hadi<sup>2</sup>, dan Elvira Hermawati<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Mataram

<sup>2</sup>Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Mataram

<sup>3</sup>Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia FMIPA, Institut Teknologi Bandung

Jl. Majapahit No.62, Gomong, Kec. Selaparang, Kota Mataram, NTB. 83115

Email: tri.dharmayani@unram.ac.id

## ABSTRACT

Temu Kunci (Zingiberaceae) is one of the medicinal plants in Indonesia. Previous research on the study of phytochemicals and bioactivity of this plant showed several secondary metabolites, namely pinostrobin, pinoscembrin, panduratin A with various bioactivities, one of which is antibacterial. Based on the report, it is also known that the key findings from Dompu have not been studied for their phytochemicals or bioactivity. Therefore, this study was conducted with the aim of analyzing the content of secondary metabolites in the rhizome of Temu Kunci and their activity as antibacterial. The isolation stage in this study began with extraction and continued with separation and purification. The extraction method used is maceration with methanol as solvent. The obtained maserate was then partitioned with *n*-hexane as solvent. The extract obtained was then separated and purified by various chromatographic methods and identified using UV-Vis spectroscopy, FTIR, NMR (1D). Basedon the result of the spectroscopic analysis, the isolated compound obtained are 5-hydroxy-7-methoxyflavanone (pinostrobin). The results of the antibacterial activity test with various concentrations of 50, 100, and 150 ppm of pinostrobin compound showed that the zone of inhibition against Gram positive (+) *Staphylococcus aureus* was 11.3, 12, 12.6 mm, while against Gram-negative bacteria (-) *Escherichia coli* were 10.6, 11.6, 12.3 mm, respectively. The results of antibacterial testing with a concentration of 600 ppm of *n*-hexane extract showed inhibition zones of 13 and 12.3 mm, respectively. This proves that pinostrobin compound and extracts of *n*-hexane of temu kunci have the potential as antibacterial.

**Keywords:** temu kunci, pinostrobin, antibacterial

## ABSTRAK

Temu kunci (Zingiberaceae) merupakan salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia. Penelitian terdahulu tentang kajian fitokimia dan bioaktivitas tanaman ini menunjukkan beberapa metabolit sekunder yaitu pinostrobin, pinoscembrin, panduratin A dengan bioaktivitas yang beragam salah satunya sebagai antibakteri. Berdasarkan laporan tersebut diketahui pula bahwa temu kunci yang berasal dari Dompu belum pernah dikaji fitokimia maupun bioaktivitasnya. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan

untuk menganalisis kandungan metabolit sekunder pada rimpang temu kunci dan aktivitasnya sebagai antibakteri. Tahapan isolasi pada penelitian ini dimulai dengan ekstraksi dan dilanjutkan dengan pemisahan dan pemurnian. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan dan pemurnian dengan berbagai metode kromatografi dan diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis, FTIR, NMR (1D). Berdasarkan hasil analisis spektroskopinya senyawa hasil isolasi yang diperoleh yaitu 5-hidroksi-7-metoksiflavanon (pinostrobin). Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi 50, 100, dan 150 ppm dari senyawa pinostrobin menunjukkan zona hambat terhadap bakteri Gram positif (+) *Staphylococcus aureus* berturut-turut sebesar 11,3, 12, 12,6 mm sedangkan terhadap bakteri Gram negatif (-) *Escherichia coli* berturut-turut sebesar 10,6, 11,6, 12,3 mm. Hasil pengujian antibakteri dengan konsentrasi 600 ppm dari ekstrak *n*-heksan menunjukkan zona hambat berturut-turut sebesar 13 dan 12,3 mm. Hal tersebut membuktikan bahwa senyawa pinostrobin dan ekstrak *n*-heksan temu kunci berpotensi sebagai antibakteri.

**Kata kunci:** temu kunci, pinostrobin, antibakteri, *S. aureus*, *E. coli*

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam dunia kesehatan, karena dapat menyebabkan kematian. Mikroorganisme penyebab penyakit infeksi salah satunya adalah bakteri. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri sangat beragam antara lain diare, disentri, tuberculosis, dan pneumoni. Pengobatan alternatif yang dilakukan terhadap penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya adalah dengan mencari antibiotik yang bersumber dari senyawa bahan alam seperti tanaman yang berasal dari famili Zingiberaceae. Beberapa spesies dari famili Zingiberaceae yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu lengkuas (*Alpinia galanga*), kunyit (*Curcuma longa*), kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*), temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) (Pagestika, dkk., 2021).

Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki banyak khasiat untuk kesehatan (Priyadi, dkk., 2021). Beberapa daerah yang menggunakan temu kunci sebagai obat tradisional yaitu masyarakat Sumatera memanfaatkan temu kunci untuk mengatasi gangguan pada saluran pencernaan (Silalahi, 2017). Kajian terdahulu menjelaskan bahwa temu kunci mengandung beberapa metabolit sekunder diantaranya pinostrobin, pinoscembrin, panduratin A, dengan aktivitas biologis yang beragam salah satunya sebagai antibakteri (Eng-Chong, dkk., 2012).

Uji aktivitas antibakteri dari senyawa panduratin A dilakukan dengan metode mikrodilusi dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *B. subtilis* dengan nilai MIC (*minimum inhibitory concentration*) sebesar 2,4-18,8 µg/mL dan MBC pada kisaran 4,8-37,5 µg/mL (Marliyana, dkk., 2017). Penelitian lainnya yang pernah dilakukan terhadap suku yang sama telah berhasil didapatkan senyawa triterpenoid dari ekstrak *n*-heksan akar jantung (*Hornstedtia scyphifera*) yang merupakan salah satu famili Zingiberaceae dan memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai MIC 10 mm terhadap bakteri *E. coli* (Santoni, dkk., 2019).

## BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat maserasi, alat tulis, aluminium foil, batang pengaduk, blender, botol vial, chamber, cutter, corong kaca, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, hot plate, kaca arloji, kertas saring, lampu UV ( $\lambda$  254-365 nm), oven, pinset, pipet kapiler, pipet tetes, pipet ukur, plat KLT, rubber bulb, rotari evaporator, set alat destilasi, set alat KVC, set alat KKG, timbangan analitik, wrapping clean. Set alat analisis seperti Spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR. Spektrum  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  ditentukan dengan spektrometer JEOL ECA500 yang beroperasi pada 500 MHz (1H) dan 125 MHz (13C) menggunakan pelarut  $\text{CDCl}_3$ .

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu rimpang temu kunci, silika gel 7731 (merck), silika gel 7733 (merck), pelarut aseton (teknis), *n*-heksana (teknis), metanol (teknis), etil asetat (teknis), serium sulfat ( $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ ), aluminium foil, plat KLT kertas saring biasa, es batu, tisu, aquades dan kapas, Muller-Hinton Agar (MHA), amoxicilin, dimetil sulfoksida (DMSO), bakteri *E.coli* (Gram negatif) dan *S. aureus* (Gram positif).

### Metode Penelitian

#### Isolasi metabolit sekunder temu kunci

Serbuk rimpang temu kunci (1,38 kg) dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3x24 jam. Maserat kasar disaring kemudian filtrat diekstraksi cair-cair dengan *n*-heksan hingga didapatkan fraksi metanol dan *n*-heksan terpisah. Fraksi metanol dan *n*-heksan masing-masing dipekatkan dengan rotari evaporator hingga diperoleh ekstrak kental metanol dan *n*-heksan. Ekstrak *n*-heksan dimonitoring dengan KLT menggunakan berbagai perbandingan eluen. Lalu difraksinasi dengan metode KVC dan dilakukan pemurnian menggunakan KKG. Kedua metode ini menggunakan perbandingan eluen *n*-heksana: etil asetat yang ditingkatkan kepolarannya. Hasil pemisahan dari proses fraksinasi dan pemurnian, kemudian dilakukan identifikasi struktur senyawanya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR dan NMR (1D).

#### Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri senyawa hasil isolasi ekstrak *n*-heksan rimpang temu kunci dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran yang dilakukan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wangkanusa (2016). Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksan dengan konsentrasi 600 ppm (CLSI, 2012) dan isolat relatif murni dilakukan dengan menggunakan 3 variasi konsentrasi yaitu 50, 100 dan 150 ppm. Ekstrak *n*-heksan seberat 6 mg dan senyawa relatif murni hasil isolasi sebanyak 3  $\mu\text{M}$  masing-masing dilarutkan dalam DMSO. Tahapan awal yang dilakukan yaitu, media MHA ditanamkan bakteri uji dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 35 °C, kemudian koloni yang terbentuk disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9 %. Tahapan selanjutnya, pipet steril yang telah dimodifikasi hingga diameter menjadi 5 mm digunakan untuk membuat sumuran pada media MHA. Pada sumuran ini akan diisi ekstrak *n*-heksan, senyawa relatif murni hasil isolasi berbagai konsentrasi kontrol positif amoxicilin dan kontrol negatif DMSO sebanyak 5  $\mu\text{g}$ /sumuran dengan menggunakan mikropipet. Cawan petri diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam. Zona bening yang terbentuk disekitar sumuran kemudian diukur.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi metabolit sekunder temu kunci

Ekstraksi dari rimpang temu kunci sebanyak 1380 g didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 79,712 g dengan berat rendamen sebesar 5,78 g. Ekstrak pekat *n*-heksan rimpang temu kunci (2,5 g) dipisahkan dengan kromatografi vakum cair (KVC) dan diperoleh sebanyak 15 fraksi. Pemurnian terhadap fraksi dengan pola noda yang sederhana menggunakan metode KKG. Hasil pemurnian dimonitoring dengan plat KLT, dan didapatkan 8 fraksi gabungan hasil KKG. Identifikasi dengan menggunakan KLT 2D dan KLT menggunakan tiga jenis eluen sudah menunjukkan pola noda yang tunggal.

Identifikasi struktur isolat relatif murni diawali dengan menggunakan UV-Vis. Spektrum UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 294 (pita II) dan 334 nm (pita I). Berdasarkan identifikasi dengan FTIR, dapat dilihat adanya puncak-puncak khas untuk senyawa flavonoid seperti hidroksi (OH), karbonil (C=O), C=C aromatik, serta eter (C-O). Keberadaan gugus eter pada bilangan gelombang 1154 cm<sup>-1</sup> merupakan salah satu kunci terbentuknya cincin flavonoid. Bilangan gelombang 3452 cm<sup>-1</sup> dengan bentuk pita yang lebar dan tajam menunjukkan gugus hidroksi terkhelat. Intensitas pita tajam disebabkan oleh pengaruh konjugasi elektron pada karbonil. Hal ini diperkuat dengan adanya serapan dengan intensitas kuat pada bilangan gelombang 1646 cm<sup>-1</sup> yang mengindikasikan adanya gugus karbonil. Hasil spektrum juga menunjukkan serapan C=C aromatik pada bilangan gelombang 1522 cm<sup>-1</sup>. Bilangan gelombang 1384 cm<sup>-1</sup> menandakan C-H alifatik yang mengindikasikan adanya gugus metin dan metilen.

Spektrum <sup>1</sup>H-NMR menunjukkan adanya sinyal khas untuk senyawa flavonoid pada geseran  $\delta_H$  12,0 ppm (H-5) yang menunjukkan proton khelat yaitu gugus hidroksi, sinyal proton daerah aromatik yaitu pada daerah  $\delta_H$  7,47 ppm (H-13),  $\delta_H$  7,45 ppm (H-15),  $\delta_H$  7,44 ppm (H-12),  $\delta_H$  7,42 ppm (H-14),  $\delta_H$  7,40 ppm (H-16). Sinyal proton metin masing-masing terdapat pada daerah  $\delta_H$  5,44 ppm (H-6),  $\delta_H$  5,42 ppm (H-2) dan  $\delta_H$  6,08 ppm (H-8) serta terdapat sinyal proton pada daerah metoksi yaitu pada  $\delta_H$  3,81 ppm (H-7). Lalu pada pergeseran  $\delta_H$  3,10 ppm (1H, dd, 2,8 *J*=4,12)  $\delta_H$  2,84 ppm (1H d) (H-3) terdapat sinyal proton metilen.

Data spektrum <sup>13</sup>C-NMR isolat relatifmurni dari temu kunci. Sinyal karbon ( $\delta_c$  195.94 ppm (C-4)) menunjukkan adanya sinyal karbonil terkonjugasi yang merupakan ciri khas dari kerangka dasar flavonoid. Pada  $\delta_c$  164.30 ppm (C-5),  $\delta_c$  168.14 ppm (C-7) memperlihatkan adanya 2 sinyal karbon teroksigenasi, karbon aromatis ditunjukkan pada ( $\delta_c$  138.51; 79.39; 129.03; 126.29; 76.91; 126,30 ppm), pada pergeseran  $\delta_c$  55.85 ppm (C-7) terdapat sinyal karbon metoksi, 5 karbon metin pada pergeseran ( $\delta_c$  77,42; 95.29; 94,42; 162,94; 103,30 ppm), lalu pada  $\delta_c$  43.55 ppm (C-3) menunjukkan karbon metilen (CH<sub>2</sub>).

Berdasarkan data hasil spektrum yang telah diidentifikasi dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa golongan flavonoid dengan rumus molekul C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> yaitu 5-hidroksi-7-metoksiflavanon (pinostrobin). Senyawa ini pernah ditemukan oleh (Atun, dkk., 2018) pada temu kunci asal Yogyakarta.

### Aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksan dan senyawa 5-hidroksi-7-metoksiflavanon (pinostrobin). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan difusi

sumuran, dengan menggunakan kontrol yakni *Amoxicilin* (+) dan DMSO (-). Hasil pengujian antibakteri dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Zona hambat (mm)							
		<i>S. aureus</i>				<i>E. coli</i>			
		1	2	3	$\bar{x}$	1	2	3	$\bar{x}$
Ekstrak <i>n</i> -heksan	600	12	14	11	13	13	12	12	12,3
Pinostrobin	50	12	10	12	11,3	10	12	10	10,6
	100	13	11	12	12	11	13	11	11,6
	150	12	13	13	12,6	11	14	12	12,3
Kontrol (+) ( <i>Amoxicilin</i> )		18	18	18	18	18	20	20	19,3
Kontrol (-) (DMSO)		0	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri tersebut. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada ekstrak *n*-heksan dan tiga variasi konsentrasi dari senyawa pinostrobin yang telah diuji. Meningkatnya konsentrasi menyebabkan semakin tinggi pula zona hambat yang terbentuk. Hal ini disebabkan karena senyawa flavonoid memiliki gugus karbonil dan hidroksi yang akan bereaksi dengan asam amino pada protein, sehingga protein tersebut akan kehilangan fungsinya sebagai jalan keluar-masuk zat yang dibutuhkan oleh bakteri. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler dan mengganggu integritas membran sel bakteri (Meilina dan Hasanah, 2018).

Ada tiga kategori untuk nilai zona hambat, yaitu susceptible ( $\geq 20$  mm), intermediate (15-19 mm), dan resistant ( $\leq 14$  mm) (CSLI, 2012). Berdasarkan data tersebut, maka diketahui senyawa pinostrobin tergolong resistant terhadap kedua bakteri uji. Sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa pinostrobin tahan terhadap kedua bakteri uji, namun tidak mampu membunuh kedua bakteri tersebut.

### KESIMPULAN

Metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksan temu kunci ini adalah senyawa golongan flavonoid yaitu 5-hidroksi-7-metoksiflavanon (Pinostrobin). Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi 50, 100, dan 150 ppm dari senyawa

pinostrobin menunjukkan zona hambat lebih besar pada bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dibandingkan bakteri *E. coli* ATCC 25922.

### Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada PNPB atas dana yang diberikan melalui penelitian pada tahun 2022.

### DAFTAR PUSTAKA

- Atun, S., Handayani, S., Rakhmawati, A., 2018, Potential Bioactive Compounds Isolated from *Boesenbergia rotunda* as Antioxidant and Antimicrobial agents, *Pharmacogn J.*, 10(1), 513-518.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2012, Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animal, Clinical and Laboratory Standards Institute. *Amerika Serikat*, 38(13), 1-19.
- Eng-Chong, T., Lee, Y. K., Chee, C. F., Heh, C. H., Wong, S. M., Christhina, T. L., 2012, *Boesenbergia rotunda*: From Ethnomedicine to Drug Discovery, *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 1(1), 1-25.
- Marliyana, S. D., Syah, Y. M., Muhajidin, D., 2017, Aktivitas Antibakteri Secara In Vitro Terhadap Bakteri Isolat Klinis Turunan Calkon Dari Rimpang *Kaempferia pandurata*. *Penelitian Kimia*, 13(1), 41-51.
- Meilina, N. E., dan A.N. Hasanah, 2018, Review artikel: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) Terhadap Bakteri *P. aenginosa* dan *B. cereus*, *Jurnal Perikanan*, 16, 322-328.
- Pagestika, I. I., Widayanti, A., Hartati, E. K., Yugatama, A., 2021, Aktivitas Antibakteri pada Rimpang Famili Zingiberaceae *Stphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *National Conference PKM Center*, 1(1), 144-149.
- Priyadi, M., Chusna, N., Isnawati, & Opi, I., 2021, Profil Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Temu Kunci(*Boesenbergia pandurata* L.) dan Serai (*Cymbopogon citratus*), *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 45-52.
- Santoni, A., Efdi, M., & Suhada, A., 2019, Identifikasi Metabolit Sekunder, Uji Aktivitas Antimikroba Dan Antioksidan Ekstrak Akar Gantung (*Hornstedtia scyphifera* Var.), *Jurnal Riset Kimia*, 10(2), 98-102.
- Silalahi, M., 2017, *Boesenbergia rotunda* ( L.) Manfeld: Manfaat dan Metabolit Sekundernya, *Jurnal EduMatSains*, 1(1), 107-118.
- Wangkanusa D., W.A. Lolo, D. S. Wewengkang, 2016, Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosai*. *Pharmacon*, 5(4), 203-210.