

Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Akar *Piper sarmentosum* Roxb. Ex Hunter dan Uji Aktivitasnya terhadap Jamur *Candida albicans*

Hartiwi Diastuti¹⁾, Sadiyah Achmad²⁾ dan Enny Ratnaningsih²⁾

¹⁾Jurusan Kimia PS MIPA Universitas Jenderal Soedirman

²⁾Jurusan Kimia F MIPA Institut Teknologi Bandung

Diterima September 2004 disetujui untuk diterbitkan Mei 2005

Abstract

Piper sarmentosum Roxb. Ex Hunter or "Sirih duduk" has long been used for traditional medicine to cure various diseases, such as fungus infections. The investigation of the bioactive compounds of *P. sarmentosum* roots has not been carried out. This research was aimed to isolate the bioactive compounds from *P. sarmentosum* roots. The results showed that methanol extracts of *P. sarmentosum* roots have an activity on *Candida albicans*. The separation a bioactive compounds from methanol extracts of *P. sarmentosum* roots was performed by column chromatography, thin layer chromatography and recrystalizations. The identifications of the bioactive compounds were carried out using ultra violet spectrometry, infrared spectrometry, gas chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectrometry. The results indicated that from methanol extracts, an alkaloid compound of piperoylpyrol derivative was 5-hydroxy-5- (3,4-methylenedioxyphenyl)-2-pentenoyl pyrol, could be purely isolated. Examination of bioactivity at concentration 0.10-2.50 mg/ml showed that this compound had an activity on *C. albicans*.

Key words: alkaloid, *Piper sarmentosum*, *Candida albicans*.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman jenis tumbuhan. Di wilayah hutan tropis Indonesia terdapat sekitar 30.000 spesies tumbuhan. Berdasarkan inventarisasi dan identifikasi yang dilakukan oleh Heyne (1987), 1000 spesies di antaranya dinyatakan sebagai tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat. Tetapi dari data penggunaan simplisia tanaman yang terdaftar di Direktorat Pengawasan Obat Tradisional Departemen Kesehatan Republik Indonesia, disebutkan bahwa hanya sekitar 350 spesies saja yang benar-benar telah digunakan sebagai bahan baku obat oleh masyarakat dan industri jamu dan obat Indonesia (Muhlisah, 2000). Hal ini mengisyaratkan masih terbukanya peluang usaha penggalian dan pemanfaatan tumbuhan obat untuk kesehatan dan kesejahteraan masyarakat.

Mengingat potensi tumbuhan sebagai obat-obatan atau sebagai bahan baku industri obat, maka perlu dilakukan analisis kandungan kimianya secara sistematis. Farnsworth (1966) mengemukakan dua metode yang dapat digunakan untuk mencari sumber bahan aktif yang tersedia dalam tumbuhan. Metode pertama adalah pencarian sumber bahan obat dengan memeriksa aktivitas biologi senyawa metabolit sekunder, sedangkan metode kedua dapat dilakukan dengan memeriksa efek farmakologis tumbuhan.

Piper sarmentosum Roxb. Ex Hunter merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia dari famili Piperaceae yang sekarang belum banyak diteliti. Di beberapa bagian negara di Asia tumbuhan ini telah dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat obat. Di antaranya tumbuhan ini digunakan untuk mengobati sakit gigi, asma, batuk, nyeri tulang dan infeksi jamur (Kasahara, 1995). Pada mulanya alasan penggunaan tumbuhan ini hanya berdasarkan pengalaman secara turun temurun. Kandungan senyawa metabolit sekunder tumbuhan ini sampai saat ini belum banyak diketahui. Masuda (1991) melaporkan bahwa senyawa antimikroba yang ditemukan dalam daun *P. sarmentosum* adalah dari golongan fenil propanoid, walaupun masih ada kemungkinan ditemukan

senyawa lain yang juga memiliki aktivitas antimikroba pada daun atau bagian lain dari tumbuhan ini.

Candida albicans adalah salah satu jamur yang tumbuh sebagai saprofit pada tubuh manusia. Tetapi pada kondisi tubuh yang lemah, di mana keseimbangan fisiologis terganggu spesies ini dapat menyebabkan infeksi pada tubuh, terutama pada saluran pernafasan, saluran pencernaan, saluran kencing dan vagina, serta pada kulit yang sering terkena air (Smith dan Conan, 1990).

Berdasarkan penemuan adanya senyawa antimikroba pada daun *P. sarmentosum*, maka dilakukan penelitian terhadap akar tumbuhan tersebut untuk mengetahui kemungkinan adanya senyawa kimia yang memiliki aktivitas antimikroba khususnya terhadap jamur *C. albicans*. Isolasi senyawa dilakukan dengan cara ekstraksi dan kromatografi kolom, sedangkan pengujian bioaktivitas dilakukan dengan mengukur daya hambat sampel uji terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*.

Materi dan metode

Materi penelitian yang digunakan adalah akar *P. sarmentosum*, jamur *C. albicans*, aquades, aluminium foil, bacto-agar, bacto tryptone, bacto yeast extract, etanol p.a, kertas saring Whatman 41, NaCl, paper disc, tetrasiklin, serta beberapa pelarut organik seperti metanol, etanol, etil asetat, kloroform, benzen, dan n-heksana.

Peralatan yang digunakan antara lain : alat pengukur titik leleh, autoklaf, lampu spiritus, hot plate, inkubator, kawat ose, kromatografi kolom, kromatografi gas-spektrometer massa, lampu ultra violet (UV), neraca analitis, oven, pelat kromatografi lapis tipis (KLT), shaking incubator, spektrometer UV-Vis, spektrometer infra red (IR), serta peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Akar *P. sarmentosum* terlebih dahulu dibersihkan, dikeringkan di tempat terbuka, kemudian digiling halus. Serbuk kering diperkolasi dengan metanol selama dua hari (48 jam) pada suhu kamar, kemudian disaring dan ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kering. Ekstrak selanjutnya diekstraksi kembali dengan pelarut yang berbeda kepolarannya berturut-turut dengan n-heksana, benzen, kloroform, dan etil asetat. Masing-masing ekstrak selanjutnya diuji daya hambatnya terhadap jamur *C. albicans*.

Ekstrak yang memiliki daya hambat terbesar digunakan untuk penelitian selanjutnya, ekstrak tersebut kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom silika gel dengan menggunakan eluen bertingkat, yaitu berturut-turut dengan n-heksana, n-heksana:benzena (1:1), benzena, benzena:kloroform, kloroform, kloroform:etil asetat (1:1), etil asetat, etil asetat:metanol(1:1) dan metanol. Setiap 50 ml eluat atau fraksi yang keluar ditampung dalam botol, kemudian masing-masing diuapkan sampai 5 ml. Setiap fraksi dianalisis dengan KLT dan noda yang muncul dilihat dengan lampu UV.

Fraksi yang menunjukkan noda dengan warna dan nilai R_f yang sama digabung. Kemudian setiap fraksi gabungan diuji daya hambatnya. Fraksi yang memiliki daya hambat terbesar terhadap jamur *C. albicans*, selanjutnya di fraksinasi kembali untuk memperoleh senyawa tunggal dengan kromatografi kolom dengan menggunakan eluen kloroform:metanol (1:2). Masing-masing fraksi dianalisis kembali dengan KLT dan diuji aktivitasnya terhadap jamur *C. albicans*. Fraksi aktif yang menunjukkan noda tunggal pada KLT, selanjutnya direkristalisasi dengan etil asetat dan kloroform. Setelah diperoleh senyawa murni, senyawa diidentifikasi golongan senyawanya, kemudian dilakukan pengukuran titik leleh dan analisis dengan spektrometer UV-Vis, IR, nuclear magnetic resonance (NMR) dan gas chromatography mass spectrometer (GCMS) untuk mengetahui struktur kimia senyawa tersebut.

Pengujian aktivitas senyawa hasil isolasi adalah sebagai berikut : jamur *C. albicans* ditumbuhkan dalam media LB (Luria Bertani) cair selama 48 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 200 µl kultur cair disebarakan secara merata di atas media LB padat. Selanjutnya paper disc (φ 6 mm) diletakkan di atas media LB padat dan pada paper disc diteteskan 10 µl sampel uji. Setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, diukur

daerah hambat terhadap jamur *C. albicans* untuk setiap sampel. Sebagai kontrol positif digunakan tetrasiklin dan untuk kontrol negatif digunakan pelarut metanol. Pengujian aktivitas senyawa hasil isolasi dilakukan pada konsentrasi : 0,10; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00; dan 2,50 mg/ml.

Hasil dan Pembahasan

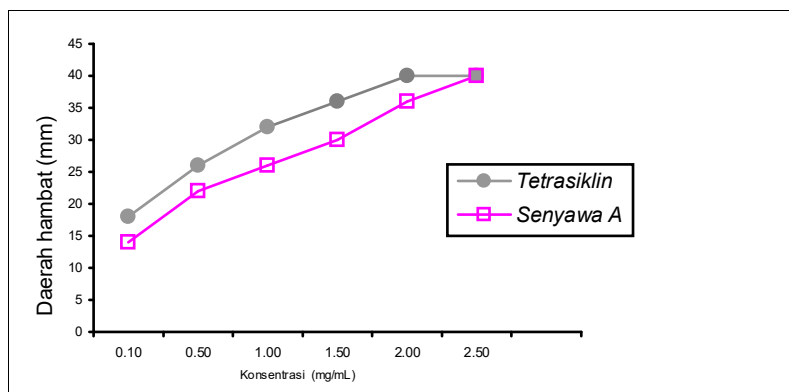
Serbuk kering akar *P. sarmentosum* (460 g) diperkolasi dengan metanol selama 48 jam. Selanjutnya hasil perkolasi diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator*, diperoleh ekstrak kasar berupa cairan kental berwarna coklat sebanyak 9,7 g. Ekstraksi hasil perkolasi berturut-turut dengan n-heksan, benzen, kloroform, dan etil asetat diperoleh ekstrak n-heksan 1,4 g, ekstrak benzena 1,1 g, ekstrak kloroform 1,8 g, ekstrak etil asetat 1,2 g dan sisa ekstrak yang larut dalam metanol 3,4 g. Masing-masing ekstrak diuji aktivitasnya terhadap jamur *C. albicans*. Dari hasil uji daya hambat diketahui bahwa ekstrak metanol dan ekstrak benzen dengan kadar masing-masing 1,0 mg/ml memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* dengan daya hambat masing-masing sebesar 11 dan 8 mm.

Ekstrak metanol yang memiliki daya hambat terbesar, difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom silika gel berturut-turut dengan n-heksana, n-heksana:benzena (1:1), benzena, benzena:kloroform, kloroform, kloroform:etil asetat (1:1), etil asetat, etil asetat:metanol(1:1) dan metanol. Hasil fraksinasi diperoleh 7 fraksi utama yang masing-masing diberi nama fraksi 1,2,3,4,5,6 dan 7. Setiap fraksi adalah hasil gabungan fraksi-fraksi yang memiliki warna noda dan nilai Rf yang sama pada KLT. Ketujuh fraksi, selanjutnya diuji aktivitasnya terhadap jamur *C. albicans*. Hasil pengamatan daerah hambat dari ketujuh fraksi tersebut, diketahui bahwa fraksi 6 memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* dengan daerah hambat sebesar 16 mm.

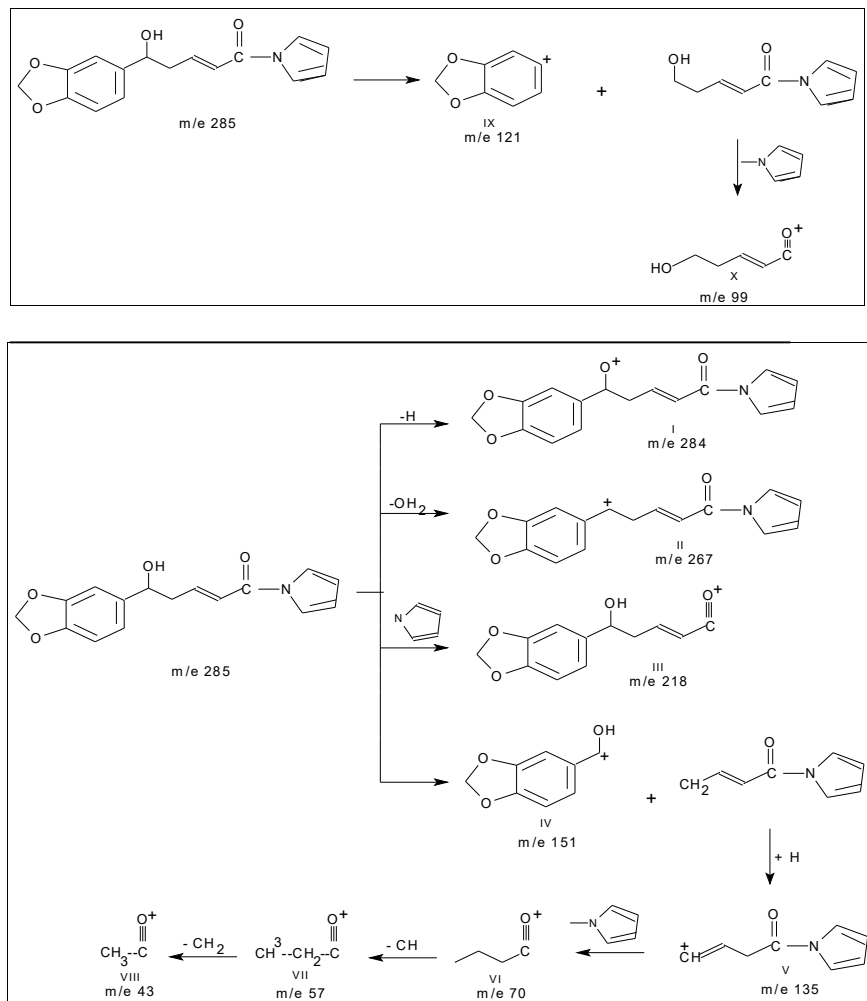
Fraksi 6 (224 mg) selanjutnya difraksinasi kembali dengan eluen kloroform : metanol (1:2) dan diperoleh 5 fraksi utama yang masing-masing dinyatakan dengan fraksi 6,1; 6,2; 6,3; 6,4 dan 6,5. Setiap fraksi juga merupakan hasil gabungan dari fraksi-fraksi yang memiliki warna noda dan nilai Rf yang sama pada KLT. Hasil uji aktivitas dari kelima fraksi tersebut diperoleh hasil bahwa fraksi 6,3 memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* dengan daerah hambat 16 mm. Dari fraksi ini diperoleh senyawa murni berupa padatan putih, yang untuk selanjutnya dinamakan senyawa A.

Hasil pengujian aktivitas senyawa A dan tetrasiklin pada konsentrasi 0,10 – 2,50 mg/ml dengan pelarut metanol untuk senyawa A dan etanol untuk tetrasiklin terhadap *C. albicans* dapat dilihat pada gambar 1. Gambar tersebut menunjukkan bahwa, ada kecenderungan semakin besar konsentrasi senyawa A dan tetrasiklin semakin besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Hasil pengukuran titik leleh senyawa A yang berupa padatan berwarna putih menunjukkan titik leleh pada 148°-149°C.



Gambar 1. Rata-rata daerah hambat pertumbuhan *C. albicans*.
Figure 1. The average retention zone of *C. albicans* growth.



Gambar 2. Fragmentasi senyawa A
Figure 2. Fragmentation of A compound

Pengukuran senyawa A dengan spektrometer UV-Vis (lampiran 1) menghasilkan absorbansi pada panjang gelombang maksimum 204, 216 dan 274 nm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa A memiliki kromofor ikatan rangkap 2 dari cincin benzena. Sedangkan penambahan NaOH tidak menyebabkan pergeseran panjang gelombang, berarti senyawa tidak memiliki gugus OH yang terikat langsung pada cincin benzena.

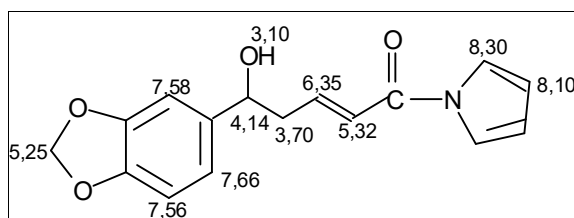
Spektrum IR (lampiran 2) menunjukkan adanya serapan utama pada ν maks 3352, 3079, 2959, 2915, 1685, 845 dan 816 cm^{-1} . Spektrum IR ini dapat diperoleh informasi bahwa senyawa A memiliki gugus aromatik tersubstitusi (3079, 845 dan 816 cm^{-1}), gugus karbonil dari amida (1685 cm^{-1}), gugus hidroksil (3352 cm^{-1}) dan sistem alifatik (2959 dan 2915 cm^{-1}) (Hesse *et al.*, 1997).

Pada spektrum massa (lampiran 3), menunjukkan puncak ion molekul (M^+) pada m/e 285 dan puncak-puncak ion fragmen pada m/e 43, 57, 70, 99 (puncak dasar), 121, 135, 151, 218, 267 dan 284. Spektrum massa memberikan informasi bahwa senyawa A memiliki berat molekul (BM) 285 dan mengandung atom N dengan jumlah ganjil, dengan pola fragmentasi seperti pada gambar 2.

Pengukuran dengan H-NMR menghasilkan spektrum (lampiran 4) pada pergeseran kimia : 3,10 (s) ; 3,70 (d,d) ; 4,17 (d) ; 5,25 (s) ; 5,32 (d) ; 6,35 (q) ; 7,56 (d) ; 7,58 (s) ; 7,66 (d) ; 8,10 (d,d) dan 8,30 (d) ppm. Pergeseran kimia pada 7,56 ; 7,58 ; dan 7,66 merupakan pergeseran yang khas dari proton cincin benzena dan 8,10 dan 8,30 merupakan pergeseran kimia dari proton heteroaromatik cincin pirol (Hesse *et al.*, 1997).

Sinyal pada pergeseran kimia 3,10 ppm adalah karakteristik untuk gugus -OH. Sedangkan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia 3,70; 5,25; 5,32; dan 6,35 ppm, merupakan sinyal-sinyal proton alifatik dari gugus metin (-CH) dan metilen (-CH₂).

Berdasarkan pola fragmentasi spektrum massa, yang didukung pula oleh spektrum ultra violet, infra merah dan resonansi magnet proton, maka diperkirakan senyawa A merupakan alkaloid turunan piperoilpirol (gambar 3), yaitu 5-hidroksi-5-(3,4-metilendioksifenil)-2-pentenoil pirol.



Gambar 3 Struktur molekul senyawa A dan nilai geseran kimia (ppm) dari spektrum H-NMR
Figure 3. The molecular structure of A compound and chemical shift of its H-NMR spectrum.

Kesimpulan

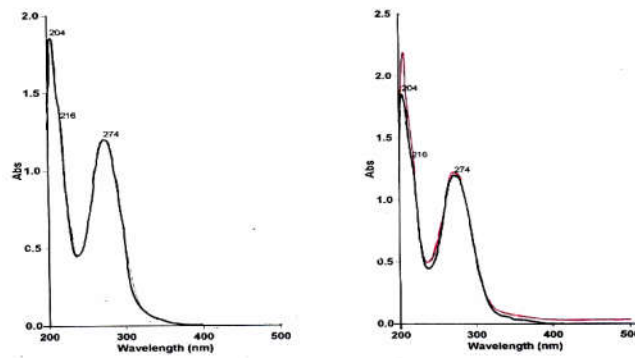
Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, hasil isolasi dan identifikasi senyawa aktif dari ekstrak metanol akar *P. sarmentosum* menghasilkan senyawa alkaloid turunan piperoilpirol yaitu 5-hidroksi-5-(3,4-metilendioksifenil)-2-pentenoil pirol dengan titik leleh 148° C. Pengujian aktivitas senyawa 5-hidroksi-5-(3,4-metilendioksifenil)-2-pentenoil pirol pada konsentrasi 0,10-2,50 mg/ml terhadap jamur *C. albicans* menunjukkan adanya kecenderungan meningkatnya aktivitas dengan semakin besarnya konsentrasi.

Alur penelitian baru yang ditimbulkan dari penelitian ini adalah, mengingat bahwa pengujian aktivitas senyawa 5-hidroksi-5-(3,4-metilen dioksifenil)-2-pentenoil pirol baru dilakukan terhadap jamur *C. albicans*, maka perlu dilakukan pengujian terhadap jamur lain atau mikroba lain agar dapat diketahui lebih luas aktivitasnya. Di samping itu perlu pula dilakukan pengujian secara klinis, sehingga diketahui apakah senyawa tersebut dapat digunakan sebagai zat antibiotik.

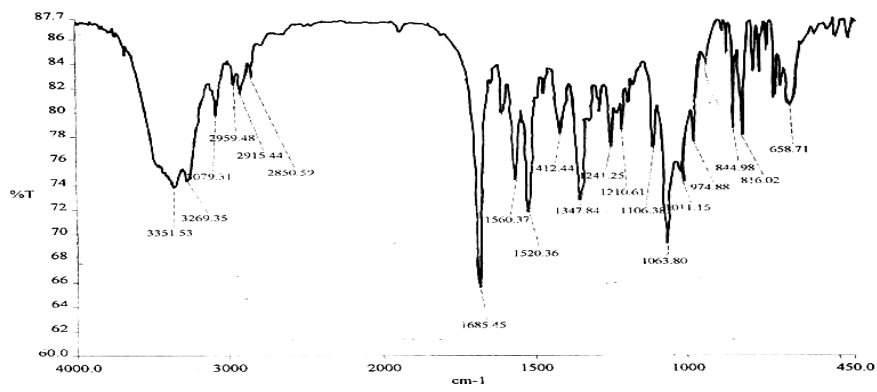
Daftar Pustaka

- Farnsworth, N.R. 1966. Biological and phytochemical screening of plant. J. Pharm. Sci., 55, 245-265.
- Hesse, M., H. Meier. and B. Zeeh. 1997. Spectroscopic Methods in Organic Chemistry. Georg Thieme Verlag Stuttgart. New York.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta.
- Kasahara. 1995. Medical Herb Index in Indonesia. Edisi 2. Esai Indonesia. Jakarta.
- Masuda, T. 1991. Antimicrobial phenylpropanoid from *Piper sarmentosum*. Phytochemistry., 30(10), 3227-3228.
- Muhlisah, F. 2000. Tanaman Obat Keluarga. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Smith, D.T. and Conan, N.F. 1990. Microbiology. Appleton Century Crofts, Inc. New York.

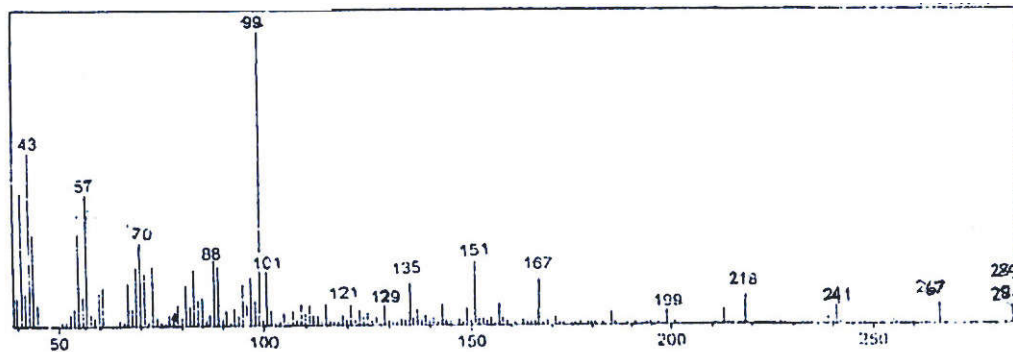
Lampiran 1. Spektrum UV-Vis Senyawa A
Appendix 1. UV-Vis Spectrum of A Compound



Lampiran 2. Spektrum Infra Merah Senyawa A
Appendix 2. Infra Red Spectrum of A Compound



Lampiran 3. Spektrum Massa Senyawa A
Appendix 3. Mass Spectrum of A Compound



Lampiran 4. Spektrum H-NMR Senyawa A
Attachment 4. H-NMR Spectrum of A Compound

