



UJI ANTIMIKROBA ETIL *p*-METOKSI SINAMAT DARI RIMPANG KENCUR TERHADAP BACILLUS SUBTILIS

Septian Alif Nugraha*), Kusoro Siadi, dan Sudarmin

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Agustus 2012
Disetujui September 2012
Dipublikasikan November 2012

Kata kunci:
bacillus subtilis
etil *p*-metoksi sinamat
kencur

Abstrak

Etil *p*-metoksi sinamat merupakan senyawa hasil isolasi dari rimpang kencur, dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis* dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etil *p*-metoksi sinamat yang didapatkan dari penelitian ini sebesar 99% menggunakan instrumen GC-MS. Senyawa etil *p*-metoksi sinamat dalam pelarut kloroform (konsentrasi 0,1 M; 0,2 M; 0,3 M) mendapatkan daerah bening di sekitar cakram uji sebesar berturut-turut 12 mm; 13,66 mm; 15,66 mm. Ekstrak kencur 20% dalam pelarut kloroform mendapatkan daerah bening sebesar 8,66%; ekstrak kencur 100% tidak menunjukkan adanya daerah bening dan pelarut kloroform sebagai kontrol mendapatkan daerah bening sebesar 11 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa etil *p*-metoksi sinamat tidak menunjukkan hasil hambatan yang signifikan terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis* dibandingkan kloroform, dimungkinkan yang lebih berperan untuk menghambat *Bacillus subtilis* adalah kloroform itu sendiri. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa etil *p*-metoksi sinamat dan ekstrak kencur tidak mempunyai aktivitas hambatan pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

Abstract

Ethyl *p*-Methoxy Cinnamate compounds isolated from greater galangale rhizome result, in this research tested the antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*. The results showed that the levels of Ethyl *p*-Methoxy Cinnamate obtained from this research is at 99% using GC-MS instrument. Compound Ethyl *p*-Methoxy Cinnamate the solvent chloroform (concentration 0.1 M: 0.2 M: 0.3 M) a clear area around the test discs in a row for 12mm; 13.66 mm; 15.66 mm. Greater galangale extract 20% in the solvent chloroform to get a clear area of 8.66%; greater galangale extract 100% does not indicate a clear regional and chloroform as a solvent control to get a clear area of 11mm. The results showed that the Ethyl *p*-Methoxy Cinnamate not show a significant barrier to the growth of *Bacillus subtilis* than chloroform, it is on the possible that more acts to inhibit *Bacillus subtilis* is chloroform itself. Based on the research results can be concluded that the compound Ethyl *p*-Methoxy Cinnamate and greater galangale extract had no growth inhibition activity of *Bacillus subtilis*.

Pendahuluan

Kencur (*Kaempferia Galanga* Linn) adalah tanaman tropis dan di Indonesia dahulunya merupakan tanaman pekarangan. Hal ini disebabkan karena secara tradisional kencur termasuk tanaman obat (Hamida, 2007). Sudah sejak lama rakyat Indonesia menggunakan kencur sebagai ramuan obat-obatan, ada yang memanfaatkan sebagai bumbu masakan, sebagai minuman beras kencur. Masyarakat mempercayai dapat mengobati penyakit tertentu, antara lain dapat menyembuhkan masuk angin, batuk, dan sakit tenggorokan. Kencur banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (jamu), fitofarmaka, industri kosmetika, penyedap makanan dan minuman, rempah, serta bahan campuran saus rokok pada industri rokok kretek, bahkan dapat dimanfaatkan sebagai bioinsektisida (Rostiana dan Efendi, 2007).

Menurut Gholib, D. (2009) ekstrak kencur dalam etanol mempunyai daya antimikroba terhadap salah satu jamur kulit. Senyawa yang terkandung dalam rimpang kencur antara lain etil sinamat, etil p-metoksi sinamat, p-metoksi stiren, kamfen, dan borneol. Dan etil p-metoksi sinamat merupakan komponen utama yang mudah untuk diisolasi dan dimurnikan. Herbert (2009) mengemukakan komponen minyak atsiri dari simplisia kencur yang dianalisis secara GC-MS antara lain etil sinamat 43,47%, etil p-metoksi sinamat 31,36%, penta dekana 3,35%, borneol 3,35% delta 3-karen 2,86%, β -pinen 2,47%, kamfen 2,22%.

Pemanfaatan hasil isolasi bahan alam menjadi salah satu bahan obat menjadi tren di dunia pengobatan sekarang ini, dikenal sebagai pengobatan tradisional karena menggunakan obat-obat tradisional yang menggunakan bahan dasar dari alam. Minyak atsiri akhir-akhir ini menarik perhatian dunia, usaha pencarian senyawa baru terhadap tumbuhan juga semakin banyak, hal ini disebabkan minyak atsiri dari beberapa tumbuhan bersifat aktif biologis sebagai antibakteri dan antijamur sehingga dapat dipergunakan sebagai bahan pengawet pada makanan dan sebagai antibiotik alami (Copriady dkk, 2002).

Kandungan etil p-metoksi sinamat pada rimpang kencur sekitar 10,5 % yang dapat diisolasi dengan mudah memakai pelarut petroleum eter dengan metoda perkolasi. Metoda perkolasi merupakan salah satu prinsip ekstraksi, yaitu penyaringan zat aktif yang dilakukan dengan cara serbuk simplisia

dimaserasi selama beberapa jam kemudian dipindahkan ke dalam bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan pelarut dialirkan dari atas ke bawah melalui simplisia tersebut, pelarut akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampai keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh karena gravitasi, kohesi, dan berat cairan di atas dikurangi gaya kapiler yang menahan gerakan ke bawah, perkolat yang diperoleh dikumpulkan lalu dimurnikan.

Dalam rangka usaha pengembangan dan pemanfaatan obat tradisional secara luas dikembangkan oleh masyarakat, maka perlu dilakukan penelitian untuk pendayagunaan potensi sumber daya alam. Untuk mengetahui aktivitas biologis dari senyawa bahan alam dalam tanaman kencur dalam penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antimikroba senyawa etil p-metoksi sinamat yang diisolasi dari rimpang kencur terhadap *Bacillus subtilis*. Mikroba *Bacillus subtilis* dikenal sebagai salah satu mikroba yang menyebabkan kerusakan pada makanan, akan tetapi dari mikroba ini dapat pula menguntungkan manusia untuk manipulasi genetik (Dagmar, F. and Rudiger, P. 2001), diharapkan dalam penelitian ini dapat menguji aktivitas antimikroba senyawa etil p-metoksi sinamat dari rimpang kencur yang diujikan pada mikroba *Bacillus subtilis*, dan semoga dapat diaplikasikan sebagai pengawet alami.

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: rimpang kencur, aquades, petroleum eter (teknis), kloroform (teknis), larutan bromin dalam kloroform (teknis), dan mikroba jamur *Bacillus subtilis*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: seperangkat alat gelas, neraca analitis (AL20U Mettler Toledo 0,1 mg), ayakan 50 mesh, oven, corong vakum, satu set alat isolasi maserasi perkolasi, tille, cawan petri, jarum ose, kertas cakram, inkubator, rotary evaporator (Heidolp vv 2000), spektrofotometer inframerah FTIR (Shimadzu), GC (Shimadzu) dan GC-MS (Shimadzu).

Sebanyak 2 kg rimpang kencur dicuci dengan air agar kencur bersih dari kotoran yang menempel, kemudian rimpang kencur dipotong kecil-kecil dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C selama 2,5 jam agar kandungan air di dalam rimpang kencur tersebut berkurang. Diambil suhu 40°C, untuk menjaga produk etil

p-metoksi sinamat tidak rusak. Setelah itu, rimpang kencur diblender sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan 50 mesh. Kemudian didapatkan simplisia kencur lalu diuji karakteristik simplisia kencur seperti kadar air dan kadar abu (Herman dan Rusli, R. 2011).

Sebanyak 100 gram serbuk kencur dimasukkan dalam alat perkolator dan dimaserasi dengan pelarut petroleum eter sambil diaduk selama 3 jam, 5 jam, dan 24 jam, waktu disini merupakan variabel bebas. Ekstrak yang terbentuk diuapkan dalam rotary evaporator kemudian didinginkan hingga terbentuk kristal dan dimurnikan dengan cara direkristalisasi menggunakan pelarut kloroform untuk menghilangkan pengotor yang masih tertinggal. kemudian dipanaskan hingga terbentuk kristal putih.

Setelah dilakukan isolasi etil p-metoksi sinamat, kemudian dihitung berapa berat rendemen hasil isolasi yang terbentuk, lalu diidentifikasi secara kimia dengan cara brominasi, diidentifikasi titik leleh kristal hasil isolasi kemudian diidentifikasi struktur etil p-metoksi sinamat hasil isolasi secara spektroskopi dilakukan dengan spektrofotometer inframerah FTIR dan kromatografi GC serta GC-MS. Identifikasi titik leleh, etil p-metoksi sinamat ditotolkan pada pipa kapiler kecil dan dimasukkan ke lubang kecil pada tulle yang sebelumnya telah terpasang termometer, alat pengatur suhu diputar sampai suhu pas saat etil p-metoksi sinamat meleleh, dilihat angka pada termometer dan dicatat. Brominasi dilakukan dengan cara meneteskan larutan brom pada kloroform pada kondisi terang terhadap etil p-metoksi sinamat, dilihat perubahan yang terjadi.

Pelaksanaan uji aktivitas antimikroba dilakukan secara aseptik dengan metode difusi agar. spora jamur disuspensikan dalam media water pepton dan sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam petridis kemudian ditambahkan media Potato Dextrose Agar (PDA) pada 45°C. Setelah agar membeku, dimasukkan kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah dibasahi senyawa etil p-metoksi sinamat dalam pelarut kloroform dengan konsentrasi 0,2 M ; 0,4 M ; 0,6 M dan diberi kontrol pelarut kloroform. Cawan petri diinkubasi dengan cara terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C sampai mendapat daerah bening. Daerah bening di sekitar kertas cakram menunjukkan uji positif, diameter daerah bening yang diperoleh kemudian diukur, dan hasilnya dibandingkan dengan uji aktivitas

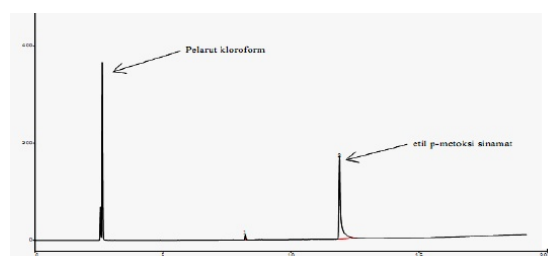
antimikroba dari ekstrak kencur (Yuharmen, Eryanti Y. dan Nurbalatif, 2002).

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa serbuk halus rimpang kencur masih mempunyai kadar air sebesar 4,29% dan mempunyai kadar abu total sebesar 4,02%, Serbuk rimpang kencur teruji kemudian diisolasi dengan lama perendaman 3 jam, 5 jam dan 24 jam mendapatkan senyawa etil p-metoksi sinamat berbentuk kristal dengan berat rendemen berturut-turut masing-masing 1,94 gram; 2,11 gram; 4,19 gram. Berdasarkan sifat fisik produk, dapat diketahui bahwa senyawa tersebut adalah etil p-metoksi sinamat, lebih lanjut dilakukan uji brominasi untuk mengetahui ikatan rangkap gugus aromatik yang terdapat dalam etil p-metoksi sinamat, pemeriksaan mendapatkan hasil yaitu perubahan warna pada penetesan larutan brom dalam kloroform yaitu warna kuning memudar menjadi bening. Hal ini menandakan adanya cincin benzena dalam produk senyawa yang dihasilkan. Senyawa etil p-metoksi sinamat mempunyai sifat fisik seperti ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisik etil p-metoksi sinamat

No.	Sifat Fisik	Keterangan
1.	Bentuk	Kristal
2.	Warna	Putih bening
3.	Bau/Aroma	Harum seperti aroma khas kencur
4.	Titik Leleh	Produk mempunyai titik leleh sebesar $\pm 47^{\circ}\text{C}$



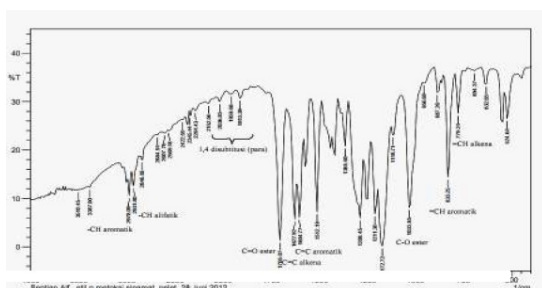
Gambar 1. Kromatogram GC etil p-metoksi sinamat perendaman 24 jam

Reaksi brominasi etil p-metoksi sinamat berpotensi menghasilkan produk baru dengan Br menempati posisi orto terhadap metoksi ($-\text{OCH}_3$) pada etil p-metoksi sinamat, hal ini dikarenakan cincin benzena mengalami substitusi ketiga dimana bila sebuah cincin benzena mempunyai dua substituen, maka substituen ketiga akan menuju ke tempat yang lebih stabil, dan kestabilan itu dipengaruhi oleh gugus yang terdapat dalam cincin benzena. Etil p-metoksi sinamat mempunyai dua gugus substituen yaitu gugus metoksi ($-\text{OCH}_3$)

pengaktivasi kuat dan gugus alkil (-R) pengaktifasi lemah, kedua gugus substituen sama-sama pengarah orto;para akan tetapi gugus metoksi yang lebih kuat efek pengarahannya terhadap substituen ketiga, maka dari itu gugus Br lebih dominan akan menempati posisi orto terhadap gugus metoksi.

Berdasarkan data kromatogram dari etil p-metoksi sinamat, maka diperoleh data bahwa senyawa etil p-metoksi sinamat perendaman 24 jam mempunyai kadar kemurnian sebesar 97,4874%, dan kadar etil p-metoksi sinamat perendaman 3 jam dan 5 jam berturut-turut sebesar 97,4791% dan 97,3982%. Diperoleh kadar etil p-metoksi yang hampir sama dengan berat rendemen yang beragam.

Selain dilakukan analisis kadar menggunakan GC, dilakukan pula analisis struktur menggunakan spektrofotometer IR, sampel diambil dari etil p-metoksi sinamat perendaman 24 jam dengan kadar 97,4874%. dapat dilihat gambar spektrum IR dari etil p-metoksi sinamat pada Gambar 2.



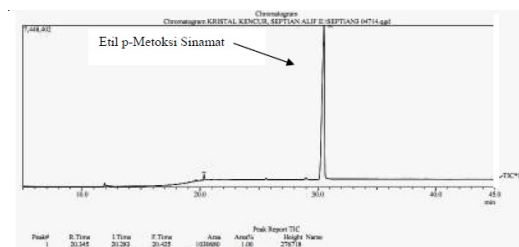
Gambar 2. Spektrum IR dari etil p-metoksi sinamat

Hasil spektra IR dari isolasi etil p-metoksi sinamat dengan perendaman 24 jam menunjukkan gugus-gugus fungsional yang mendukung hipotesis bahwa senyawa tersebut adalah benar etil p-metoksi sinamat. Semua serapan gelombang pada spektra daerah tersebut mendukung hipotesis bahwa senyawa tersebut adalah etil p-metoksi sinamat. Hasil interpretasi data spektrum IR secara lengkap dari senyawa etil p-metoksi sinamat seperti ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Interpretasi data spektrum ir dari senyawa etil p-metoksi sinamat

No.	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Karakteristik
1.	2978,09 cm ⁻¹	Gugus = C - H aromatik
2.	2931,80 cm ⁻¹	Gugus - C - H alifatis
3.	2036.83- 1913.39 cm ⁻¹	Gugus substitusi cincin benzena 1,4 disubstitusi (para)
4.	1705,07 cm ⁻¹	Gugus C = O karbonil ester
5.	1627,92 cm ⁻¹	Gugus C = C alkana
6.	1604,77 cm ⁻¹	Gugus C = C aromatik
7.	1288,45 cm ⁻¹	Gugus -OCH ₃ metoksi
8.	1172,72 cm ⁻¹	Gugus C - O ester

Analisis menggunakan GC-MS dimaksudkan untuk mengetahui semua kemungkinan struktur yang terjadi dan sekalian menunjukkan kadar senyawa dari etil p-metoksi sinamat yang terbentuk. Data gambar kromatogram analisis GC-MS dari senyawa etil p-metoksi sinamat ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Kromatogram GC pada GC-MS dari etil p-metoksi sinamat

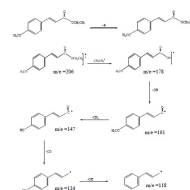
Dari Gambar 3 hanya terlihat dua puncak yang teridentifikasi oleh alat instrumen GC-MS, dan diperkirakan puncak kedua merupakan senyawa etil p-metoksi sinamat dengan presentase relatif sebesar 99%. Terlihat jelas dalam kromatogram senyawa etil p-metoksi sinamat yang telah di isolasi berhasil mendapatkan tingkat kemurnian yang tinggi dengan presentase relatif dari pengotor hanya sebesar 1%.

Berdasarkan spektra massa GC-MS dari peak kedua (Line#2) terlihat senyawa dengan m/z = 206 dimana struktur senyawa tersebut diperkirakan adalah etil p-metoksi sinamat yang telah terdeteksi, spektra massa peak kedua dari etil p-metoksi sinamat ditunjukkan oleh Gambar 4.



Gambar 4. Spektra massa GC-MS dari etil p-metoksi sinamat

Dari mass spectra GC-MS pada peak kedua dapat diajukan fragmentasi pemecahan molekul struktur dari senyawa yang telah terdeteksi tersebut. Perkiraan fragmentasi dari struktur senyawa etil p-metoksi sinamat tersebut dapat ditunjukkan oleh Gambar 5.



Gambar 5. Fragmentasi senyawa etil p-metoksi sinamat

Di dalam rimpang kencur terdapat etil p-metoksi sinamat, salah satu senyawa dari turunan asam sinamat, beberapa dari turunan asam sinamat ini memiliki berbagai aktivitas aktivitas biologis seperti antibakteri, anestetik, antiinflamasi, antispasmodik, antimutagenetik, fungisida, herbisida, serta penghambat enzim tirosinase (Rudyanto, M, dan Hartanti, L. 2008). Etil p-metoksi sinamat konsentrasi 0,6 M (dalam pelarut kloroform) memberikan zona hambat terhadap *Bacillus subtilis* sebesar rata-rata 15,66 mm, ini lebih besar dibandingkan senyawa standart antibiotik ampisilin yang memberikan zona hambat terhadap *Bacillus subtilis* sebesar 13 mm tapi lebih kecil dibandingkan senyawa standart antibiotik tetrasiklin yaitu memberikan zona hambat terhadap *Bacillus subtilis* sebesar 22 mm (Yuharmen, Eryanti Y. dan Nurbalatif, 2002).

Hasil pengujian aktivitas senyawa etil p-metoksi sinamat menunjukkan bahwa senyawa tersebut tidak mempunyai aktivitas sebagai antijamur *Bacillus subtilis*, akan tetapi yang lebih berperan dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* adalah pelarut kloroform. Dapat dilihat dari diameter zona bening dari cakram uji etil p-metoksi sinamat, kurang menunjukkan hasil yang signifikan terhadap penghambatan pertumbuhan *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan diameter zona bening dari cakram uji pelarut kloroform. Hasil pengukuran diameter zona bening dari senyawa etil p-metoksi sinamat dalam berbagai konsentrasi, kloroform sebagai kontrol dan ekstrak kencur dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zona bening (mm) dari senyawa etil p-metoksi sinamat

Sampel Uji	Diameter hambatan (mm) sampel uji antijamur <i>Bacillus subtilis</i>			
	Pengukuran I	Pengukuran II	Pengukuran III	Rata-rata
	Etil p-metoksi sinamat 0,2 M (dalam pelarut kloroform)	12	12	12
Etil p-metoksi sinamat 0,4 M (dalam pelarut kloroform)	14	14	13	13,66
Etil p-metoksi sinamat 0,6 M (dalam pelarut kloroform)	16	15	16	15,66
Pelarut kloroform (kontrol)	11	11	11	11
Ekstrak kencur 20% (dalam pelarut kloroform)	9	9	8	8,66
Ekstrak kencur 100%	0	0	0	0

Etil p-metoksi sinamat merupakan salah satu turunan asam sinamat, termasuk jenis senyawa yang tergolong dalam fenil propanoid, kelompok senyawa fenol yang berasal dari jalur sikimat, mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari cincin benzena yang terikat pada ujung rantai karbon propan (Achmad, 1986). Dari pengujian aktivitas antimikroba etil

p-metoksi sinamat dan ekstrak kencur terhadap *Bacillus subtilis* didapatkan etil p-metoksi sinamat dan ekstrak kencur tidak mempunyai daya aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*.

Simpulan

Kadar etil p-metoksi sinamat yang dihasilkan dari penelitian ini sebesar 99% menggunakan instrumen GC-MS. Etil p-metoksi sinamat dan ekstrak kencur tidak mempunyai daya aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*.

Daftar Pustaka

- Achmad, A, S. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Penerbit Karunia Jakarta: Universitas Terbuka. Jakarta
- Copriady, J., Miharty dan Herdini. 2002. Gallokatekin : Senyawa Flavonoid Lainnya Dari Kulit Batang Rengas. Jurnal Natur Indonesia, 4 (1) ISSN 1410-9379.
- Dagmar, F. and Rudiger, P. 2001. Reclassification of Bioindicator Strains *Bacillus subtilis* DSM 675 and *Bacillus subtilis* DSM 2277 as *Bacillus atropaeus*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 51:35-37
- Gholib, D. 2009. Daya Hambat Ekstrak Kencur Terhadap Trichophyton Mentagrophytes dan Cryptococcus neoformans Jamur Penyebab Penyakit Kurap Pada Kulit dan Penyakit Paru. Bul. Litro. Vol. 20 No. 1, 59 – 67
- Hamida, L. 2007. Seni Tanaman Rempah Kencur. Penerbit CV. Habsa Jaya: Bandung.
- Herbert, R. 2009. Minyak Atsiri Rimpang Kencur Karakterisasi Simplisia, Isolasi dan Analisis Komponen Minyak Atsiri Secara GC-MS. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Herman dan Rusli, R. 2011. Analisis Kadar Mineral Dalam Abu Buah Nipa Kaliwanggu Teluk Kendari Sulawesi Tenggara. J.Trop. Phar.Chem, 2011. Vol 1. No. 2
- Rostiana, O, dan Effendi, D, S. 2007. Teknologi Unggulan Kencur. Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian Dan Perkebunan. Bogor.
- Rudyanto, M, dan Hartanti, L. 2008. Sintesis Beberapa Turunan Asam Sinamat: Pengaruh Gugus yang Terikat pada Cincin Aromatik Terhadap Kereaktifan Benzaldehyda. Indo. J. Chem 8 (2), 226-230
- Yuharmen, Eryanti Y. dan Nurbalatif. 2002. Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia Galanga*). Laporan Penelitian. Jurusan Kimia. FMIPA. Universitas Riau.