

Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Secang (*Caesalpinia sappan L*)

Phytochemical analysis and Antibacterial Activity of Acetone Extract of Secang (Caesalpinia sappan L)

Penulis Tita Juwitaningsih^{1*}, Sri Adelia Sari¹, Iis Siti Jahro¹, Neneng Windayani²

Afiliasi ¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Universitas Negeri Medan, Medan, North Sumatera, Indonesia 20221
²Department of Science Education, Faculty of Tarbiyah and Education, Sunan Gunung Djati State Islamic University, Bandung 40614, Indonesia.

Kata Kunci

- Secang,
- *Caesalpinia sappan L*
- Fitokimia
- antibakteri

Keywords

- Secang,
- *Caesalpinia sappan L*
- phytochemical
- antibacterial

Diterima 11 Desember 2020

Direvisi 28 April 2021

Disetujui 7 Juni 2021

*Penulis Koresponding

Tita Juwitaningsih

email:

juwitaningsih@gmail.com

ABSTRAK

Di Sumatera Utara batang tumbuhan secang (*Caesalpinia Sappan L*) telah digunakan dalam pengobatan tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk analisis fitokimia ekstrak aseton batang *C. sappan L* dan mengetahui potensinya sebagai antibakteri. Uji fitokimia menggunakan metode spektroskopi ¹H-NMR. Uji aktivitas anti bakteri dilakukan terhadap enam bakteri patogen, meliputi uji difusi cakram kertas, penentuan *minimum inhibitory concentration* (MIC) dengan metode mikrodilusi dan *minimum bactericidal concentration* (MBC). Berdasarkan data spektroskopi ¹H-NMR, ekstrak batang aseton *C. Sappan L* mengandung golongan senyawa flavanoid dan terpenoid serta memiliki aktivitas terhadap semua bakteri uji dengan zona hambat pada kisaran $6,20 \pm 0,53 - 10,93 \pm 2,55$ mm, MIC 312 – 5000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ dan MBC 625-> 5000 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Aktivitas terbaik ditunjukkan oleh ekstrak aseton *C. sappan* terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan MIC 312 $\mu\text{g} / \text{mL}$. *C. sappan L* merupakan sumber potensial senyawa antibakteri baru.

ABSTRACT

In North Sumatra, the stem of the secang (Caesalpinia Sappan L) has been used in traditional medicine. This study aimed to conduct phytochemical analysis of the acetone extract of C. sappan and determine its antibacterial potency. Phytochemical test using 1H-NMR spectroscopy method and antibacterial activity were carried out on six pathogenic bacteria, including paper disc diffusion tests, determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) using the microdilution method, and minimum bactericidal concentration (MBC). Based on 1H-NMR spectroscopic data, the acetone stem extract of C. Sappan L contains flavonoids and terpenoids and has activity against all tested bacteria with an inhibition zone in the range of $6.20 \pm 0.53 - 10.93 \pm 2.55$ mm, MIC 312 - 5000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and MBC 625-> 5000 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The acetone extract of C. sappan showed the best activity against S. aureus ATCC 25923 with a MIC of 312 $\mu\text{g} / \text{mL}$. C. sappan L is a potential source of new antibacterial compounds.



PENDAHULUAN

Kemajuan dalam bidang pengobatan modern yang semakin pesat ternyata tidak menggeser atau mengesampingkan pengobatan tradisional, hal ini terbukti dari banyaknya sistem pengobatan tradisional yang berkembang di berbagai negara termasuk Indonesia yang sebagian penduduknya bergantung pada sistem pengobatan tradisional. Sehingga di Indonesia berkembang obat herbal dalam bentuk "jamu". Salah satu alasan penggunaan obat-obat yang berasal dari bahan alam seperti jamu karena ada kehati-hatian atau menghindari efek samping^[1].

Di Indonesia *Caesalpinia sappan* L dikenal dengan nama secang yang termasuk dalam famili *Caesalpinaceae*. Di Asia, secang sering digunakan untuk pengobatan tradisional, khususnya untuk mengobati tumor dan kanker. Di Indonesia, kayu secang digunakan sebagai minuman kesehatan untuk mengurangi penyakit antara lain: batuk darah (TBC), diare, disentri, penawar racun,, pengobatan setelah melahirkan, katarak, maag, radang sendi, masuk angin dan kelelahan^[2] Di Thailand kayu secang dapat digunakan sebagai pewarna makanan, pakaian, dan kosmetik^[3].

Beberapa peneliti telah melaporkan berbagai aktivitas biologis dari berbagai bagian tanaman *C. Sappan* L yaitu sebagai antioksidan^[4,5], antikanker^[6,7] anti-implantasi^[8], hipoglikemik^[9], hepatoprotektif^[10]. Antibakteri^[11,12, 13,14]. Penelitian sebelumnya tentang aktivitas antibakteri yang telah dilakukan antara lain ekstrak etanol *C. sappan* memiliki aktivitas antimikroba pada beberapa jenis mikroba dengan zona hambat antara 14-34 mm yaitu terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (34 mm), *Staphylococcus aureus* (31 mm), *Salmonella typhi* (24 mm), *Enterobacter aerogenes* (21 mm), *Candida albicans* (20 mm), *Escherichia coli* (15 mm) dan *Aspergillus niger* (14 mm)^[11]. Begitu juga ekstrak metanol dan air *C.sappan* mempunyai aktivitas terhadap bakteri gram- positif diantaranya *S. aureus*. NCIM 5021, *B. subtilis* NCIM 2010, strain gram negative diantaranya *K. pneumonia* NCIM 2707, *E. coli* NCIM 2118 dan *P.vulgaris* NCIM 2027 dengan MIC mulai 0,14-0,82 mg / ml dan 0,22-0,86 mg / ml^[12].

Ekstrak Fraksi etil asetat dan metanol *C.sappan* dengan konsentrasi 100 mg/mL, 200 mg/mL mg/mL dan 300 mg/mL mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. Aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* mempunyai aktivitas pada kisaran 11.2±0.11 mm -17.6±0.12mm^[14]

Aktivitas biologis suatu tumbuhan dikarenakan kandungan metabolitnya. Kandungan metabolit

sekunder dipengaruhi oleh factor internal dan eksternal. Faktor eksternal terdiri dari factor biotik (stress akibat bakteri, fungi, virus dan parasite) dan 69bioti 69biotic (perbedaan geografi, ketinggian tempat tumbuh, perubahan iklim, jenis dan kondisi tanah, ketersediaan air, kandungan mineral dan stress akibat temperature, radiasi dan senyawa kimia^[15]). Artikel ini melaporkan analisis kandungan golongan metabolit sekunder ekstrak aseton *C.sappan* yang berasal dari Sumatera Utara dengan menggunakan metode spektroskopi ¹H-NMR serta potensinya sebagai antibakteri terhadap bakteri ATCC

METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: Sampel kering batang *C. sappan* L yang diperoleh dari toko obat herbal CV.Sempurna Medan, aseton teknis, Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid, England). Mueller-Hinton Broth (MHB) (Himedia, Mumbai India), dimethylsulfoxide (DMSO) pa (Sigma Aldrich, St Louis, Amerika Serikat), NaCl 0,9%, kultur bakteri *Propionibacterium acne* ATCC 27853, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 49907, *S. aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 1178, *Salmonella enterica* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922.

A. Pembuatan Ekstrak

Dua ratus gram sampel kering batang *C. sappan* L dimaserasi dengan aseton selama 3 x 24 jam, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat.

B. Analisis Fitokimia

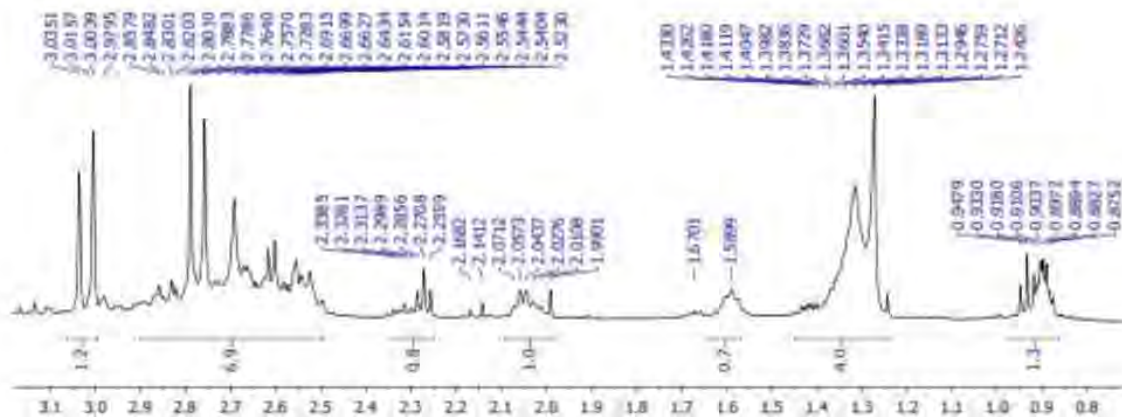
Ekstrak aseton dianalisis fitokimianya dengan menggunakan metode spektroskopi proton NMR. Pengukuran ¹H-NMR dilakukan dengan spectrometer Agilent DD2 yang dioperasikan pada 500 MHz.

C. Uji aktivitas antibakteri

(i) Persiapan Larutan uji

Larutan uji disiapkan pada konsentrasi 1% . Larutan uji dibuat dengan cara menimbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 100% DMSO selanjutnya diencerkan 10x sehingga diperoleh larutan 1% dalam 10% DMSO. Bila sampel tidak larut dalam 10% DMSO maka pengenceran dilakukan dengan 100% DMSO. Larutan standar antibiotik kloramfenikol dibuat dengan konsentrasi 500 µg / mL dalam 100% DMSO.





Gambar 2. Data $^1\text{H-NMR}$ ekstrak aseton *C. sappan* L pada δ_{H} 0,87 - 3,03 ppm

Tabel 1. Data Zona hambat ekstrak aseton *C.sappan* L

No	Diameter of inhibition zones (mm)	
	chloramphenicol	<i>C.sappan</i> L
Gram-positive bacteria		
1	<i>B.cereus</i> ATCC 1178	26.33±0.91 / 10.37 ± 0.83
2	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	33.80 ± 0.40 / 8.10 ± 0.20
3	<i>P. acne</i> ATCC (27853)	21.53 ± 1.12 / 8.63 ± 1.53
4	<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	20.60±1.8 / 9.47 ± 0.31
Gram-negative bacteria		
5	<i>S. enteric</i> ATCC 14028	30.00 ± 2.25 / 10.93 ± 2.55
6	<i>E coli</i> ATCC 25922	22,4 ± 0,34 / 6.2± 0.53

Sinyal δ_{H} - 6,3 - 7,7 ppm yang merupakan sinyal senyawa aromatik turunan benzena, Sinyal tersebut merupakan sinyal gugus CH dari cincin benzen. Sinyal pada pergeseran kimiawi δ_{H} 4. - 4.46 ppm (gambar 3) adalah sinyal dari gugus oksimetin ($\text{CH}_2\text{-O}$). Dengan demikian senyawa aromatik tersebut mengarah pada senyawa flavonoid. Flavonoid yang telah diisolasi dari *C.sappan* L dari India adalah Brazilin, Brazilein, 3,8,9-Trihidroksi-6-benzokroman-6-on, Sappanon B, 3-Deoksisappanon B, Protosappanin A, Protosappanin B, Protosappanin C, (e) -3- (3,4-Dihidroksibenziliden) -7-hidroksikroman-4-on, Safancalkon, Butein^[1]. *C. sappan* dari Cina mengandung plavanoid, 3'-deoksi-4-O-metilsappanol, 3'-O-metilbrazilin, Isoprotosappanin^[19].

Sinyal pada δ_{H} 0,87 - 2,33 ppm (**Gambar 2**) merupakan sinyal dari gugus CH_3 dan CH_2 . Sedangkan δ_{H} 2,52 - 3.03 ppm sinyal dari gugus metal olifenik, yakni metal yang terikat pada karbon ikatan rangkap

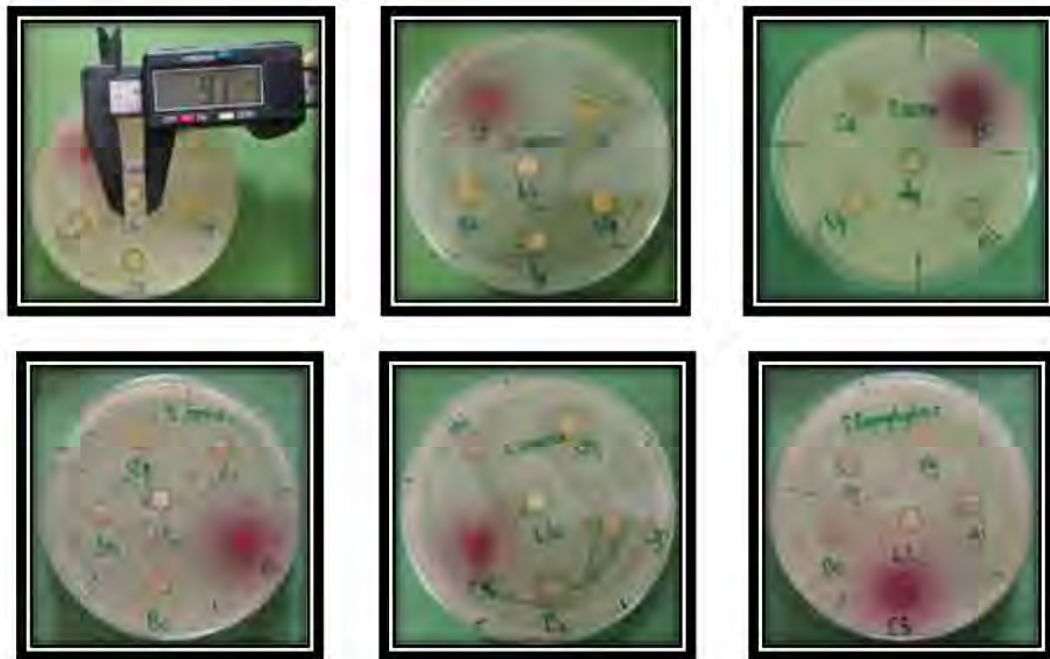
(C=C). Sinyal sinyal tersebut merujuk ke senyawa terpenoid karena Senyawa terpenoid memiliki banyak gugus CH_3 dan CH_2 . Senyawa terpenoid yang telah dilaporkan adalah panginoksi A dan panginin A. yang merupakan senyawa diterpenoid.^[20]

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara in vitro. Uji pendahuluan antibakteri menggunakan metoda difusi cakram kertas, keberadaan potensi antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar cakram kertas, seperti terlihat pada gambar di bawah ini (**Gambar 3**).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak aseton *C.sappan* L memiliki aktivitas antibakteri terhadap tujuh bakteri uji. Data diameter zona hambat dirangkum pada **Tabel 1**.





Gambar 3. Zona bening ekstrak aseton *C.sappan L* (kode Cs : ekstrak yang berwarna merah)

Tabel 2. Nilai MIC and MBC ekstrak aseton *C.sappan L*

Gram-positive bacteria	<i>C.sappan L</i>		chloramphenicol	
	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MBC ($\mu\text{g/mL}$)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MBC ($\mu\text{g/mL}$)
<i>B.cereus</i> ATCC 1178	625	1250	0,48	1,95
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	312,5	>5000	0,48	7,8
<i>P. acne</i> ATCC (27853)	625	>5000	31,5	0,49
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907	625	625	0,48	56,3
Gram-negative bacteria				
<i>S. enterica</i> ATCC 14028	625	1250	0,48	7,8
<i>C.freundi</i> ATCC 8090	625	625	1,9	62,5
<i>E coli</i> ATCC 25922	5000	5000	0,97	31,3

Ekstrak aseton *C.sappan L* memiliki aktivitas terhadap semua bakteri uji dengan diameter zona hambat antara $6.20 \pm 0.53 - 10,93$ mm. Berdasarkan kriteria diameter zona hambat, aktivitas antibakteri sangat kuat jika zona hambat ≥ 20 mm, kuat jika diameter zona hambat 10-20 mm dan sedang jika zona hambat 5-10 mm ^[21]. Bila menggunakan kriteria tersebut, ekstrak aseton *C. sappan L* menunjukkan aktivitas antibakteri dengan kategori sedang. Hasil yang diperoleh sedikit berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Srinivasan R ^[22], dimana hasil penelitian tersebut menunjukkan ekstrak etanol *C. sappan* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (31 mm), *Escherichia*

coli (15 mm). Perbedaan hasil ini disebabkan perbedaan pelarut pengekstraksi yang digunakan, sehingga komposisi metabolit sekunder yang terekstraksi berbeda, begitu juga lingkungan tempat tumbuh akan mempengaruhi kandungan metabolit sekunder tumbuhan tersebut. ^[23]

Senyawa antibakteri bekerja dengan dua cara yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) yang diukur dengan MIC dan dengan membunuh bakteri (bakterisidal) yang diukur dengan MBC. Hasil pengukuran MIC dan MBC dirangkum pada table 2.

Bila nilai MIC kurang dari $100 \mu\text{g} / \text{mL}$, ekstrak dikategorikan aktif, dan bila nilai MIC berkisar antara



100 <MIC <625 µg / mL aktivitas penghambatan ekstrak sedang dan tidak aktif bila nilai MIC > 625 µg / mL. ^[24] Aktivitas penghambatan yang kuat ditunjukkan dengan ekstrak aseton *C.sappan* L terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan MIC 312.5 (µg/mL), dengan kata lain ekstrak aseton *C.sappan* L bersifat bakteristatik terhadap *S. aureus* ATCC 25923. Kemampuan membunuh terbaik ekstrak acetone *C.sappan* L ditunjukkan terhadap bakteri *S.saprophyticus* ATCC 49907 dan *C. freundi* ATCC 8090 dengan MBC 625. (µg / mL)

Sifat bakteristatik dan bakterisidal berkaitan dengan cara kerja atau interaksi metabolit sekunder dan bakteri. Senyawa flavonoid menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri ^[25] Adapun mekanisme kerja antibakteri dari senyawa terpenoid menyebabkan kerusakan membrane, Hal ini disebabkan karena senyawa terpenoid dapat berinteraksi dengan porin pada membrane luar dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga merusak porin dan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri. ^[26] Akibatnya sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya akan terhambat atau mati.

SIMPULAN

Ekstrak aseton *C. sappan* mengandung senyawa terpenoid dan senyawa flavonoid dan memiliki aktivitas anti bakteri dengan spektrum luas. *C. sappan* potensial sebagai sumber senyawa antibakteri

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nirmal, N.P., Rajput, M.S., Prasad, R.G.S.V., & Ahmad, M, (2015), Brazilin from *Caesalpiniasappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(6):421–430. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.05.014>.
- [2] Badami, S., MoorkothdanB.Suresh., (2004), *Caesalpiniasappan* a medicinal anf dye yielding plant, *Natural Product Radiace*, 3(2):75-84.
- [3] Wetwitayaklung P, Phaechamud T, Keokitchai S., (2005), The antioxidant activity of *Caesalpiniasappan* L. heartwood in various ages, *Naresuan Uni J*, 13(2):43-52.
- [4] Batubara, I., Mitsunaga, T. & Ohashi, H., (2009), Screening antiacne potency of Indonesian medicinal plants: antibacterial, lipase inhibition, and antioxidant activities. *Journal of Wood Science*, 55(3):230–235. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10086-008-1021-1>
- [5] Sasaki, Y., T. Hosokawa, & Nagai, M., (2007), In Vitro Study for Inhibition of NO Production about Constituents of *Sappan Lignum*, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 30(1):1993–196. DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.30.193>
- [6] Bukke, A.N., Fathima, N.H., Babu S.K., Shankar, P.C., (2018), *In Vitro Studies Data on Anticancer of Caesalpiniasappan L, Heartwood and Leaf Extracts on MCF7 And A549 Cell Lines*, 19: 868-877.
- [7] Suyatmi, F., Azzumar, R. N. Pesik, & D. Indarto, (2019), Potential Anticancer Activity of *CaesalpiniaSappan* Linn., In Silico and In Vitro Studies. *KnE Life Sciences*, 4(12):96.
- [8] You, E.-J., Khil, L.-Y., Kwak, W.-J., Won, H.-S., Chae, S.-H., Lee, B.-H., & Moon, C.-K., (2005), Effects of brazilin on the production of fructose-2,6-bisphosphate in rat hepatocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(1):53–57. DOI: DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.020>
- [9] Hu, C.M., Kang, J.J., Lee, C.C., Li, C.H., Liao, J.W., & Cheng, Y.W., (2002), Induction of vasorelaxation through activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by brazilin. *Eur J Pharmacol*, 468(1):37-45.
- [10] Srilakshmi, V.S, Vijayan, P., Raj, P.V, Dhanaraj, S.A., & Chandrashekar, H.R., (2010), Hepatoprotective properties of *Caesalpiniasappan* Linn. Heartwood on carbon tetrachloride induced toxicity. *Ind J ExperBiol*, 48(9):905-910.
- [11] Nilesh, P.N., Mithun, S. R., Rangabhatla, G.S.V.P., Mehraj, A., (2015), Brazilin from *Caesalpinia sappan* Heartwood and Its Pharmacological Activities: A review, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(6):421- 430.
- [12] Mohan, G., S.P. Anand., & A. Doss., (2011), Efficacy of Aqueous and Methanol extracts of *Caesalpinia sappan* L. and *Mimosa pudica* L. for their potential Antimicrobial activity, *South As.J. Biol. Sci*, 1(2): 48-57.
- [13] Srinivasan, R., Selvam G.G., Karthik, S., Mathivanan, K.M., Baskaran, R., Karthikeyan, M., Gopi, M., & Govindasamy, C.K., (2012), In Vitro Antimicrobial Activity of *Caesalpiniasappan* L. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(1): S136-S139.
- [14] Kaur, H., Mohammad, H. A., Pranav, K. P., Amritpal, S., Ashish, S., (2016), Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Caesalpinia sappan* L. Leaves, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(6): 1064-1069.



- [15] Verma, N., & Shukla S., (2015), Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* Elsevier BV. Dec. 2(4):105–13. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2015>.
- [16] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)., (2012), *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition CLSI document M02-A11*, Clinical and Laboratory Standards Institute, USA.
- [17] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)., (2012), *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition CLSI document M07-A9*, Clinical and Laboratory Standards Institute, USA.
- [18] Juwitaningsih, T., Jahro, I.S., Sari, S.A., & Rukayadi, Y. 2020. Antibacterial Activity of Various Medicinal Plants in North Sumatera Against Common Human Pathogens. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 24(1):99-105.
- [19] Fu, L. C., Xin, A. H., Zhen, Y. L., Ying, J.H., Hong, J.L., Xiong, L. C., (2008), A New 3-Benzylchroman Derivates from *Sappan Lignum* (*Caesalpiniasappan*), *Molecules*, 13: 1923-1930.
- [20] Xu, Y.J., Jianbing, Z., Chun, P.T., dan Yang, Y., (2013), A New Diterpenoids from the Seeds of *Caesalpiniasappan* Linn. *Rec. Nat. Prod* 7(2): 124-128.
- [21] Davis, W.W., dan Stout, T.R., (1971), Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay, *Applied Microbiology* 22 (4): 659-665.
- [22] Srinivasan, R., Selvam G.G., Karthik, S., Mathivanan, K.M., Baskaran, R., Karthikeyan, M., Gopi, M., & Govindasamy, C.K., (2012), In Vitro Antimicrobial Activity of *Caesalpiniasappan* L. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(1): S136-S139.
- [23] Manish, P., Vijay, L., Dharam, C., & M.C. Nautiyal., (2016), Antimicrobial Potential of Acetone and Methanol extracts of *Rhusparviflora* Roxb. *Indian Journal of Forestry*, 39(3):1-4.
- [24] Dzoyem, J.P., N. Kuete., A.H.L, Kuete, V., Tala, M.F., Wabo, H.K., Guru, S.K., Rajput, V.S., Sharma, A., Tane, P., Khan, I.A., Saxena, A.K., Laatsch, H., & Tan, N.H., (2012), Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of the Methanol Extract and Compounds from *Polygonum limbatum*. *Planta Med*, 78:787–792.
- [25] Cushnie, T.P.Tim. Lamb, Andrew J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005;26: 343-356.
- [26] Cowan, M.M., (1999), Plant Product as Antimicrobial Agents. *J. Microbiology Reviews*. 12(4): 564582.



