

**AKTIVITAS ANTIBAKTRI SENYAWA FENOLIK DARI
MACARANGA MAPPA (EUPHORBIACEAE)**

Auliya Ilmiawati^{a,b,*}, Yana Maolana Syah^a, dan Euis Holisotan Hakim^a

^aKelompok Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Kelompok Keahlian Kimia Organik
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

^bDepartemen Kimia, Institut Pertanian Bogor
Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

*Email : aulia.ilmiawati@yahoo.com

Diseminarkan pada Acara :
Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XXII
Universitas Pendidikan Indonesia,
Bandung, 21-22 Oktober 2014

Bendahara Simnas KBA 2014

SimNasKBA-2014
Bandung, 21 - 22 Oktober 2014
Lia Dewi Juliawati

Dr. Lia Dewi Juliawati

Aktivitas Antibakteri Senyawa Fenolik dari *Macaranga mappa* (Euphorbiaceae)

Auliya Ilmiawati^{a,b,*}, Yana Maolana Syah^a, dan Euis Holisotan Hakim^a

^aKelompok Keahlian Kimia Organik, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

^bDepartemen Kimia, Institut Pertanian Bogor
Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

*Email : aulia.ilmiawati@yahoo.com

ABSTRAK

Macaranga (Euphorbiaceae), yang dikenal dengan nama lokal “Mahang-mahangan”, terdiri dari sekitar 300 spesies di seluruh dunia, dan 125 diantaranya tumbuh di Indonesia. Komponen kimia dalam *Macaranga* utamanya adalah flavonoid dan stilben yang tersubstitusi terpenoid, meliputi gugus prenil (C₅), geranil (C₁₀), farnesil (C₁₅), dan labdanil (C₂₀). Tumbuhan ini memiliki beragam bioaktivitas, antara lain sebagai antioksidan, inhibitor enzim COX, sitotoksik, dan pengatur pertumbuhan tanaman. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi metabolit sekunder dan uji bioaktivitas terhadap salah satu tumbuhan endemik *Macaranga* Indonesia Timur, yaitu *M. mappa*. Sampel daun *M. mappa* diperoleh dari kawasan Ambon, lalu dikeringkan dan digiling. Serbuk daun kering dimaserasi dengan aseton 3x24 jam sehingga diperoleh ekstrak kering aseton. Terhadap ekstrak tersebut selanjutnya dilakukan fraksinasi dan pemurnian komponen dengan menggunakan berbagai teknik kromatografi. Senyawa murni yang diisolasi ditetapkan struktur molekulnya menggunakan data spektrum MS, NMR 1D dan 2D. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dua senyawa stilben dan satu senyawa flavonol dari *M. mappa*, yaitu mappain A (1), mappain (2), dan gliasperin A (3). Hasil penelusuran literatur menunjukkan bahwa senyawa 1 merupakan senyawa baru. Ketiga senyawa telah diuji aktivitas antibakteri terhadap tujuh bakteri patogen menggunakan metode mikrodilusi, dan diperoleh nilai MIC berkisar 15,6-250 ppm. Senyawa 1 menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap *Bacillus subtilis* dengan nilai MIC 15,6 ppm. Berdasarkan pengujian antibakteri tersebut dapat disimpulkan bahwa keberadaan cincin piran memiliki peran penting dalam meningkatkan aktivitas pada turunan stilben terprenilasi dan tergeranilasi.

Kata kunci : *Macaranga mappa*, mappain A, mappain, gliasperin A, antibakteri

Pendahuluan

Macaranga merupakan salah satu genus yang besar dari famili Euphorbiaceae, memiliki fungsi ekologi yang unik, serta telah menjadi bagian pada penggunaan tradisional masyarakat lokal setempat, dengan penyebaran yang relatif luas mulai dari Afrika dan Madagaskar di bagian barat hingga ke wilayah tropik Asia, Australia utara, dan kepulauan Pasifik di bagian timur [1]. Masyarakat sekitar menyebutnya sebagai tumbuhan "mahang- mahangan". Tumbuhan yang tergolong kepada genus ini telah diketahui merupakan penghasil metabolit sekunder golongan flavonoid, arilpropanoid, terpenoid, stilben, dan tannin, dimana flavonoid dan stilben merupakan senyawa golongan fenolik utama pada tumbuhan ini [2]. Sampai saat ini telah ditemukan lebih dari 70 senyawa turunan fenol dari 21 spesies. Sebelumnya kami telah melakukan kajian kimia terhadap *M. aleuritoides* [3], *M. gigantea* [4], *M. lowii* [5], *M. pruinosa* [6], *M. rhizinoides* [7], dan *M. trichocarpa* [8]. Sebagai bagian dari kajian kami terhadap tumbuhan *Macaranga*, pada bagian ini akan dilaporkan kajian fitokimia terhadap salah satu spesies yang tumbuh di daerah Papua, yaitu *M. mappa*. Penelusuran pustaka menunjukkan bahwa sebelumnya telah diisolasi senyawa mappain, yang merupakan stilbenoid terprenilasi dari tumbuhan ini yang berasal dari Hawaii [9]. Pada kesempatan ini akan dilaporkan penemuan dua senyawa stilben dan satu senyawa flavonol dari ekstrak aseton daun *M. mappa*, yaitu mappain A (1), mappain (2), dan gliasperin A (3)

Percobaan

Umum.

Proses pemisahan dan pemurnian menggunakan metode kromatografi, diantaranya kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan silika gel 60 GF254 (Merck), kromatografi kolom menggunakan adsorben sphadex, kromatografi radial menggunakan silika gel 60 PF254 (Merck), analisis KLT menggunakan plat KLT Kieselgel 60 GF254 0,25 mm (Merck). Penentuan struktur molekul ditetapkan dengan analisis spektroskopi yang meliputi spektroskopi UV, NMR, dan MS. Spektrum UV ditetapkan dengan spektrometer Cary Varian 100 Conc menggunakan pelarut metanol (spectroscopy grade). Spektrum ^1H NMR ditentukan dengan spektrometer JEOL ECA500 yang beroperasi pada 500 MHz (^1H) menggunakan pelarut aseton- d_6 . Spektrum massa ditentukan dengan spektrometer Waters LCT XE ESI- TOF (Electro Spray Ionization-Time of Flight).

Bahan tanaman

Daun tumbuhan *Macaranga mappa* dikumpulkan dari kawasan konservasi hutan Sorong, Papua. Spesimen tumbuhan diidentifikasi dan disimpan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Bogor.

Ekstraksi dan isolasi

Serbuk daun kering *M. mappa* (2 kg) dimaserasi dalam aseton pada suhu kamar (2 x 5 liter) dan ekstrak aseton diuapkan pada tekanan rendah untuk memberikan residu semipadat (95 g).

Ekstrak aseton difraksinasi dengan kolom KCV, dielusi menggunakan eluen campuran n-heksan:EtOAc (9: 1, 8: 2, 7: 3, 3: 7, 2: 8) menghasilkan lima fraksi A-E. Fraksi C (1,5 g) difraksinasi dengan sephadex kolom LH-20 dielusi dengan MeOH memberikan delapan subfraksi C1-C8. Fraksi C4 dimurnikan menggunakan kromatografi radial eluen n-heksana:CHCl₃ (8:2 - 2:8) menghasilkan mappain A (1) (15 mg). Dengan menggunakan metode yang sama [kromatografi radial, dielusi dengan CHCl₃-EtOAc (7:3)], pemurnian fraksi C5 menghasilkan mappain (2) (63 mg). Fraksi E (1,2 g) difraksinasi dengan sephadex kolom LH-20 dielusi dengan MeOH memberikan enam subfraksi (E1-E6) dan pemurnian fraksi E4 menggunakan kromatografi radial dielusi dengan n-heksana:EtOAc (9:1 sampai 7:3) menghasilkan gliasperin A (3) (137 mg).

Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuh strain bakteri yang digunakan dalam penelitian meliputi dua bakteri gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan lima bakteri gram negatif (*Escherichia coli*, *Enterococcus aerogenes*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*). Strain bakteri ini diisolasi dari sampel klinis dan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Politeknik Kesehatan, Cimahi, Indonesia. Isolat bakteri diinokulasi ke media agar padat (MHA), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada 37 °C. Koloni bakteri dari plate agar segar dipindahkan ke dalam tabung gelas tertutup steril yang mengandung larutan garam (NaCl 0,9% b/v) menggunakan ose atau kapas dan dicampur dengan baik. Suspensi disesuaikan untuk mencapai kekeruhan setara dengan standar kekeruhan 0,5 Mc Farland. Hasil ini dalam suspensi mengandung kira-kira 1x10⁸ CFU / mL.

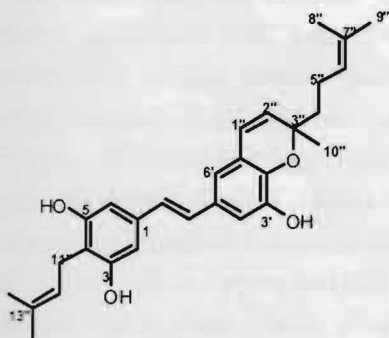
Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (MIC)

Penentuan MIC menggunakan metode mikrodilusi, berdasarkan metode yang disarankan oleh Institut Standar Klinis dan Laboratorium (CSLI) [10]. Sampel dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO). Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 250 µg/mL dalam media cair *Mueller Hinton Broth* (MHB) untuk bakteri. Seri konsentrasi larutan uji dibuat dengan melakukan pengenceran dalam mikroplat 96 sumuran dengan rentang konsentrasi 0,02-50,00 µg/mL. Sebanyak 200 µL media cair dimasukkan ke dalam setiap sumuran. Ke dalam sumuran pertama ditambahkan 200 µL larutan uji. Seri konsentrasi larutan dilakukan dengan memindahkan 200 µL larutan dari sumuran kesatu ke sumuran kedua, dari sumuran kedua diambil lagi sebanyak 200 µL dan dimasukkan ke sumuran ketiga. Hal yang sama dilakukan sampai sumuran kedelapan. Jumlah larutan dalam masing-masing sumuran adalah 200 µL. Selanjutnya ke dalam masing-masing sumuran dimasukkan 10 µL suspensi mikroba. Sumuran pertama digunakan sebagai kontrol (tanpa mikroba). Selanjutnya mikroplat diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pertumbuhan mikroba ditentukan dengan menggunakan *universal microplate reader* pada panjang gelombang 600 nm. Nilai konsentrasi hambat minimum (MIC) adalah konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian ini adalah amoksisilin.

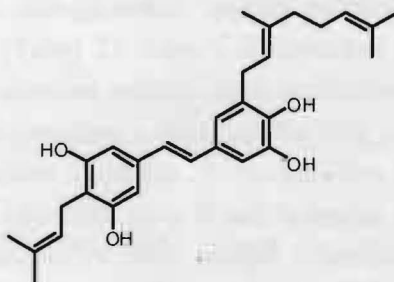
Pembahasan

Senyawa **1** diisolasi sebagai padatan kuning pucat, memperlihatkan ion kuasimolekul $[M+H]^+$ pada m/z 447.2534, yang sesuai dengan rumus molekul $C_{29}H_{34}O_4$ (perhitungan $[M+H]^+$ 447.2535). Spektrum 1H NMR senyawa **1** menunjukkan sepasang doublet pada δ_H 6.75 dan 6.84 ppm ($J = 16.2$ Hz), menyarankan senyawa ini adalah turunan stilben [6]. Spektrum ^{13}C NMR senyawa **1** (Tabel 1) menunjukkan 27 sinyal yang mempresentasikan 29 atom karbon, empat diantaranya merupakan atom karbon oksiaril, yaitu pada δ_C 139.5, 144.5, and 155.3 (2C) ppm, mengindikasikan senyawa **1** mengandung struktur piseatanol [9] dan rantai samping C_{15} . Rantai samping ini berada dalam bentuk satu prenil dan satu geranil, sebagaimana ditunjukkan dari lima gugus metil di spektrum NMR (δ_H 1.41, 1.56, 1.66, 1.74, dan 1.81 ppm; δ_C 17.8, 18.0, 25.8, 25.9, and 26.7 ppm). Selain itu keberadaan sepasang doublet lain pada δ_H 5.58 dan 6.36 ppm dengan kopling cis-alkena (9.9 Hz) dan sinyal oksikarbon kuartener pada δ_C 80.1 ppm mengindikasikan bahwa salah satu gugus prenil berada dalam bentuk turunan cincin piran.

Pada spektrum COSY 1H - 1H , dua sinyal metil (δ_H 1.74, and 1.81 ppm) dan satu sinyal doublet gugus metilen pada δ_H 3.41 ppm berkorelasi dengan satu sinyal vinil pada δ_H 5.27 ppm. Korelasi spektrum COSY 1H - 1H ini menyarankan adanya gugus prenil bebas di senyawa **1**, dan gugus piran berasal dari gugus geranil. Pada spektrum 1H NMR daerah aromatik terdapat sinyal 2H (δ_H 6.53 ppm) dan sepasang doublet-meta (δ_H 6.68 dan 6.95 ppm, $J = 1,8$ Hz), menyarankan bahwa C-3 dan C-5 tersubstitusi secara simetri di cincin A. Dari spektrum HMBC (Tabel 1), sinyal metilen (δ_H 3.41 ppm) menunjukkan korelasi 1H - ^{13}C jarak jauh dengan sinyal karbon kuartener pada δ_C 113.2 (C-4) dan 155.3 ppm (2C, C-3/C-5) menempatkan gugus prenil bebas pada C-4 dan konsekuensinya gugus geranil berada pada C-5', dengan cincin piran terbentuk diantara C-4'-O dan C-5'. Korelasi HMBC lengkap ditunjukkan pada Tabel 1. Dengan demikian senyawa **1** dapat ditetapkan sebagai (E)-5-(2-(8-hidroksi-2-metil-2-(4-metilpent-3-enil)-2H-kromen-6-il)vinil)-2-(3-metilbut-2-enil)benzena-1,3-diol atau mappain A (**1**). Bukti untuk struktur **1** diperoleh dari perbandingan data NMR dengan mappain (**2**), yang juga diisolasi kembali pada spesies ini. Dari data NMR, senyawa **3** ditentukan sebagai gliasperin A [11].



(1)



(2)



(3)

Tabel 1 Data Spektroskopi NMR Mappain A (1) dalam CDCl₃

No	δ_H	δ_C	HMBC ($^1H \leftrightarrow ^{13}C$)
1	-	130,4	
2/6	6,53 (s)	106,2	C- α , C-3/C-5, C-4
3/5	-	155,3	
4	-	113,2	
α	6,75 (d, 16,2)	126,5	C- β , C-2/C-6, C-1, C-1'
β	6,84 (d, 16,2)	128,3	C- α , C-1', C-2', C-6', C-1
1'	-	137,1	
2'	6,95 (d, 1,8)	112,8	C- β , C-3', C-4', C-6'
3'	-	144,5	
4'	-	139,5	
5'	-	121,1	
6'	6,68 (d, 1,8)	116,6	C- β , C-2', C-4', C-1''
1''	6,36 (d, 9,9)	122,7	C-4', C-5', C-6', C-3''
2''	5,58 (d, 9,9)	130,0	C-5', C-3'', C-4'', C-10''
3''	-	80,1	
4''	1,73 (m)	41,3	C-2'', C-3'', C-5'', C-10''
5''	2,1 (m)	22,9	C-3'', C-4'', C-6'', C-7''
6''	5,08 (t, 7,1)	123,9	C-5'', C-8'', C-9''
7''	-	132,1	
8''	1,66 (s)	25,8	C-6'', C-7'', C-9''
9''	1,56 (s)	17,8	C-6'', C-7'', C-8''
10''	1,41 (s)	26,7	C-2'' C-3'', C-4''
11''	3,41 (d, 7,05)	22,7	C-3/C-5, C-4, C-12'', C-13''
12''	5,27 (t, 7,1)	121,8	C-11'', C-14'', C-15''
13''	-	135,2	
14''	1,81 (s)	18,0	C-12'', C-13'', C-14''
15''	1,74 (s)	25,9	C-12'', C-13'', C-15''

Senyawa **1** – **3** telah diuji aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri gram positif, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, dan lima bakteri gram negatif *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysentriae*, dan *Vibrio cholerae*. Konsentrasi hambat minimum (MIC) ditentukan menggunakan metode mikrodilusi dari CLSI [10], dengan amoksisilin sebagai kontrol positif. (Tabel 2). Seperti ditunjukkan pada Tabel 2, senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas yang moderat sebagai agen antibakteri dengan rentang MIC 15,6-250 ppm. Aktivitas tertinggi diperoleh senyawa **1** terhadap *Bacillus subtilis* dengan nilai MIC 15,6 ppm. Senyawa **3** aktif secara moderat terhadap *S. aureus* dan *E. aerogenes* (31,25 ppm), sedangkan senyawa **2** menunjukkan aktivitas yang lemah terhadap semua bakteri uji. Data MIC ini menunjukkan bahwa bakteri gram positif lebih mudah dihambat dibandingkan bakteri gram negatif. Keberadaan cincin piran pada senyawa **1** memiliki peran penting dalam meningkatkan aktivitas antibakteri.

Tabel 2 Aktivitas Antibakteri Senyawa 1-3

Bakteri	MIC (ppm)			
	Mappain A (1)	Mappain (2)	Gliasperin A (3)	Amoksisilin
<i>V. Choleraeae</i>	31,25	62,5	62,5	50
<i>S. aureus</i>	31,25	125	31,25	0,8
<i>B. subtilis</i>	15,6	62,5	62,5	50
<i>S. thypii</i>	62,5	125	125	3,13
<i>E. coli</i>	62,5	62,5	125	12,5
<i>E. aerogenes</i>	250	62,5	31,25	3,13
<i>S. dysentriae</i>	62,5	62,5	62,5	50

Simpulan

Isolasi metabolit sekunder pada sampel daun *M. mappa* telah menghasilkan dua senyawa stilben dan satu senyawa flavonol, yaitu mappain A (1), mappain (2), dan gliasperin A (3). Hasil penelusuran literatur menunjukkan bahwa senyawa 1 merupakan senyawa baru. Ketiga senyawa telah diuji aktivitas antibakteri terhadap tujuh bakteri patogen menggunakan metode mikrodilusi, dan diperoleh nilai MIC berkisar 15,6-250 pm. Senyawa 1 menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap *Bacillus subtilis* dengan nilai MIC 15,6 ppm. Berdasarkan pengujian antibakteri tersebut dapat disimpulkan bahwa keberadaan cincin piran memiliki peran penting dalam meningkatkan aktivitas pada turunan stilben terprenilasi dan tergeranilasi.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Dirjen DIKTI, Depdiknas, atas bantuan beasiswa Program Doktor Unggulan IMHERE untuk salah satu dari kami (AI). Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada staf Herbarium Bogoriensis, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI-Cibinong, dan Pusat Penelitian Kimia, LIPI-Serpong, yang telah mengidentifikasi bahan tumbuhan dan spektrum NMR.

Daftar Pustaka

- [1] Blattner, F.R.; Weising, K.; Banfer, G.; Maschwitz, U.; Fiala, B. "Molecular Analysis of Phylogenetic Relationships among Myrmecophytic *Macaranga* Species (Euphorbiaceae)", *Mol. Phylogen. Evol.*, 2001, 19, 331-344.
- [2] Tanjung, M.; Hakim, E.H.; Syah, Y.M. "Fitokimia dan sifat biologis senyawa-senyawa turunan fenol dari tumbuhan *Macaranga*", *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem.* (Indonesia), 2009, 9, 1-15.
- [3] Tanjung, M.; Mujahidin, D.; Juliawaty, L.D.; Hakim, E.H.; Achmad, S.A.; Syah, Y.M. "Dua isomer flavonoid terprenilasi dari daun *Macaranga aleuritoides*", *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem* (Indonesia), 2010, 10, 9-13.

- [4] Tanjung, M.; Hakim, E.H.; Mujahidin, D.; Hanafi, M.; Syah Y.M. "Macagigantin, a farnesylated flavonol from *Macaranga gigantea*", *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 2009, 11, 929-932.
- [5] Agustina, W.; Juliawaty, L.D.; Hakim, E.H.; Achmad, S.A.; Syah, Y.M. "Flavon dan flavanon terprenilasi dari daun *Macaranga lowii*", *Bull. Soc. Nat. Prod. Chem (Indonesia)*, 2010, 10, 14-17.
- [6] Syah, Y.M.; Ghisalberti, E.L. "Phenolic derivatives with an irregular sesquiterpenyl side chain from *Macaranga pruinosa*", *Nat. Prod. Commun.*, 2010, 5, 219-222.
- [7] Tanjung, M.; Mujahidin, D.; Hakim, E.H.; Darmawan, A.; Syah, Y.M. "Geranylated flavonols from *Macaranga rhizinoides*", *Nat. Prod. Commun.*, 2010, 5, 1209-1211.
- [8] Syah, Y.M.; Hakim, E.H.; Achmad, S.A.; Hanafi, M.; Ghisalberti EL. "Isoprenylated flavanones and dihydrochalcones from *Macaranga trichocarpa*", *Nat. Prod. Commun.*, 2009, 4, 63-67.
- [9] Kaaden, J.E.; Hemscheidt, T.K.; Mooberry, S.L. "Mappain, A New Cytotoxic Prenylated Stilbene from *Macaranga mappa*", *J. Nat. Prod.*, 2001, 64, 103-105.
- [10] CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-9th edition. CLSI Document M07-A9, Vol. 32, No. 2. CLSI, Wayne, PA, USA, 2012
- [11] Zeng, L., Fukai, T., Nomura, T., Zhang, R.-Y., Lou, Z.-C., Phenolic constituents of *Glycyrrhiza* species. 8. Four new prenylated flavonoids, glysaperins A, B, C, and D from the roots of *Glycyrrhiza aspera*, *Heterocycles*, 34, 575-587, 1992.