



Senyawa Steroid dari Cocor Bebek (*Kalanchoe tomentosa*) sebagai Antibakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Risyandi Anwar^{a*}, Lilis Siti Aisyah^b, Faridia Puspita Lestari^b, Delia Ifani^b, Yenny Febriani Yun^b, Pebrian Diki Prestya^c

^aDepartemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, FKG Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah

^bJurusan Kimia, FSI UNJANI, Cimahi

^cDepartemen Bedah Mulut, FKG Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah

*Corresponding author: drg.risyandi@unimus.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.17.2.51285.202-210

Received 18 May 2021, Accepted 22 August 2021, Published 09 September 2021

Kata kunci:

β -sitosterol;
bakteriostatik;
bakterisid;
Kalanchoe tomentosa;
plak.

ABSTRAK. Plak adalah pembentukan komunitas bakteri yang terorganisir pada permukaan gigi yang berupa lapisan tipis tidak berwarna. *Pseudomonas aeruginosa* adalah salah satu bakteri yang sangat berperan pada pembentukan plak. Metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman *Kalanchoe tomentosa* dapat digunakan sebagai antibakteri. Tahapan penelitian diawali dengan maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan diklorometana. Ekstrak diklorometana dipisahkan menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dengan *n*-heksana dan etil asetat sebagai pelarut bergradien selanjutnya direkrutalisasi dengan *n*-heksana, hasil rekrutalisasi didapatkan isolat 1. Isolat 1 dikarakterisasi dengan spektroskopi *infrared* (IR), ultraviolet (UV) dan *nuclear magnetic resonance hydrogen* (¹H NMR) serta dibandingkan dengan literatur. Isolat 1 diketahui merupakan stigmast-5-en-3 β -ol atau β -sitosterol. Aktivitas antibakteri ekstrak diklorometana dan senyawa β -sitosterol kemudian ditentukan secara mikrodilusi. Ekstrak diklorometana dan senyawa β -sitosterol menunjukkan sifat bakteriostatik dan bakterisid kuat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) <10 μ g/mL.

Keywords:

β -sitosterol;
bacteriostatic;
bactericid;
Kalanchoe tomentosa;
plaque.

ABSTRACT. Steroid Compounds from Cocor Bebek (*Kalanchoe tomentosa*) as Antibacterial *Pseudomonas aeruginosa*. Plaque is the formation of an organized bacterial community on the tooth surface in the form of a thin colorless layer. *Pseudomonas aeruginosa* is one of the bacteria that plays a very important role in plaque formation. Secondary metabolites contained in the *Kalanchoe tomentosa* plant can be used as antibacterial. The research phase begins with maceration using *n*-hexane and dichloromethane as solvents. The dichloromethane extract was separated using vacuum liquid chromatography (KCV) with *n*-hexane and ethyl acetate as a gradient solvent then was recrystallized with *n*-hexane; the result of recrystallization was obtained as isolate 1. Isolate 1 was characterized by infrared (IR), ultraviolet (UV) and nuclear magnetic resonance hydrogen (¹H-NMR) and was compared with the literature. Isolate 1 was known to be stigmast-5-en-3 β -ol or β -sitosterol. The antibacterial activity of the extract of dichloromethane and β -sitosterol compounds was determined by microdilution. The extracts of dichloromethane and β -sitosterol compounds showed bacteriostatic properties and strong bactericidal against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria with a minimum inhibitory concentration (MIC) <10 μ g/mL.

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit periodontal di dunia sekitar 20 – 50%, dan setiap tahun terjadi peningkatan prevalensi yang terus menerus (Nazir *et al.*, 2020). Prevalensi penyakit periodontal di Indonesia sebesar 74,1%, sedangkan di wilayah Jawa Tengah penyakit periodontal memiliki prevalensi sebesar 25,8% (Balitbang Kemenkes, 2018). Masalah tersebut terjadi karena kurang diperhatikannya kebersihan rongga mulut yang berakibat adanya penumpukan plak. Plak merupakan lapisan biofilm yang terdapat pada permukaan gigi (Marsh *et al.*, 2015). Plak merupakan pembentukan komunitas bakteri yang terorganisir dan bekerja sama yang terhubung melalui aliran energi, nutrisi, dan jaringan metabolisme. Plak dapat ditemukan pada permukaan abiotik seperti gigi (Murakami *et al.*, 2018). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri yang sangat berperan dalam pembentukan plak gigi (Souto *et al.*, 2018; Rivas *et al.*, 2015).

Perluasan plak subgingiva ke dalam sulkus gingiva dapat mengganggu perlekatan bagian korona epitelium dari permukaan gigi sehingga tidak dapat dihilangkan dengan berkumur air saja. Beberapa cara pengendalian plak

dilakukan dengan tujuan untuk mengeleminasi bertumpuknya plak pada permukaan gigi dan gusi (Van der Weijden *et al.*, 2015). Menggosok gigi, penggunaan benang gigi, dan penggunaan pasta gigi merupakan beberapa upaya dalam mengeleminasi plak. Pencegahan penumpukan plak bisa dilakukan dengan obat kumur yang mengandung antibakteri (Figuro *et al.*, 2017). Salah satu efek samping yang dapat terjadi karena banyaknya pemakaian obat kumur adalah adanya resistensi antibiotika (Cai *et al.*, 2020; Parashar *et al.*, 2015). Terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan salah satu peluang besar untuk memanfaatkan kekayaan hayati penghasil senyawa bioaktif sebagai antibakteri (Lee *et al.*, 2013). Dewasa ini penelitian dibidang Kesehatan khususnya bidang kedokteran dan kedokteran gigi banyak diarahkan pada pemanfaatan sumber daya alam. Hal ini dilakukan karena melimpahnya sumber daya alam yang dapat diperbaharui di bumi kita (Gyawali *et al.*, 2014; Sakagami and Tomomura, 2018).

Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai dua iklim, sehingga berbagai jenis tumbuhan dapat hidup dengan subur. Berbagai jenis tumbuhan tersebut diketahui memiliki khasiat menyembuhkan berbagai penyakit (Porras *et al.*, 2021). Pemanfaatan berbagai tumbuhan sebagai pengobatan tradisional yang diturunkan dari nenek moyang telah dikenal oleh masyarakat Indonesia karena diyakini memiliki kemampuan menyembuhkan terhadap suatu penyakit. Proses isolasi senyawa aktif maupun skrining bioaktivitas suatu tumbuhan merupakan salah satu upaya dalam memberdayakan keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia sehingga dapat digunakan sebagai Pustaka ilmiah kimia (Susiarti *et al.*, 2018). Diantara tanaman yang hidup subur di Indonesia dan memiliki khasiat sebagai obat tradisional adalah tanaman *Kalanchoe* (Aisyah *et al.*, 2016). *Kalanchoe* yang lebih dikenal dengan nama lokal “cocor bebek” atau “sosor bebek” merupakan genus terbesar pada famili *Crassulaceae* yang terdiri atas 125 spesies yang tersebar di daerah tropis dan subtropis. Tumbuhan genus *Kalanchoe* juga mempunyai nilai ekonomi dan merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman hias maupun sebagai penghasil produk sekunder untuk obat tradisional (Gao *et al.*, 2011).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa tanaman *Kalanchoe* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid (Indriyanti and Garmana, 2011), bufadienolid (Czepas and Stocmal, 2017), flavonoid (Saleh *et al.*, 2014), alkaloid (Paramita *et al.*, 2018) dan steroid (Sylvia *et al.*, 2020). Penelitian mengenai genus *Kalanchoe* dengan berbagai aktivitasnya telah banyak dilaporkan. Penelitian-penelitian tersebut diantaranya adalah Saleh (2014), yang memperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai ekstrak *K. tomentosa* yaitu ekstrak metilenklorida IC₅₀ 71,3 µg/mL, etil asetat 35,4 µg/mL dan *n*-butanol 99,3 µg/mL. Penelitian yang lainya dilakukan dan memperoleh hasil ekstrak etil asetat *K. tomentosa* menunjukkan adanya struktur flavonoid yang bisa meningkatkan aktivitas sitotoksik terhadap P-388 murine leukemia sel (Aisyah *et al.*, 2016).

Berdasarkan penelusuran literatur penelitian mengenai *K. tomentosa* belum dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian pada *Kalanchoe* spesies *K. tomentosa* untuk dapat dieksplorasi kandungan fitofarmakanya. Penelitian tersebut sangat perlu dilakukan mengingat bahwa *K. tomentosa* merupakan salah satu spesies *Kalanchoe* yang banyak tumbuh di Indonesia tetapi belum banyak dieksplorasi dalam hal identifikasi senyawa. Hal yang diungkap pada penelitian ini adalah jenis senyawa metabolit sekunder apa yang berhasil diisolasi dari ekstrak diklorometana *K. tomentosa* yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri yang ada pada plak gigi.

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya seperangkat gelas laboratorium berbagai ukuran, alat-alat maserasi, alat-alat kromatografi cair vacum, blender untuk membuat simplisia, chamber, pipa kapiler, botol-botol vial berbagai ukuran, neraca timbang analitik, pinset, lampu *Ultraviolet* merk *Vilber Lourmat* VL-8.LC, *rotary evaporator* merk *Heidolph Laborota* 4000, spektrofotometer *Ultraviolet Hewlett Packard* 8453, Spektrofotometer IR merk *Shimadzu* Tipe *Prestige-21*, Spektrofotometer *Nuclear Magnetic Resonancy* ¹H merk *JEOL* Tipe *JNM-ECA* 500 MHz, pelat mikro, vortex.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Kalanchoe tomentosa*, akuadestilasi, CH₃COCH₃ (aseton), etil asetat (CH₃COOC₂H₅), diklorometana (CH₂Cl₂), metanol (CH₃OH), *n*-heksana (C₆H₁₄), kloroform (CHCl₃) p.a, plat Kromatografi Lapis Tipis F254 Merck, silika gel Merck 60 (0,2 – 0,5 mm), silika gel Merck 60G, Nutrien Agar (NA), Nutrien Broth (NB).

Ekstraksi

Maserasi dimulai dengan dilarutkannya daun segar *K. tomentosa* sebanyak 20 kg dengan menggunakan pelarut *n*-heksana selama 24 jam. Proses maserasi dilanjutkan dengan cara diulang-ulang hingga filtrat tidak

berwarna dengan pembuktian kontrol KLT. Tahap selanjutnya adalah tahap penyaringan, dilanjutkan melakukan ekstraksi residu hasil penyaringan dengan cara maserasi menggunakan metilen klorida selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan kembali, proses maserasi dilakukan berulang hingga filtrat tidak berwarna dengan pembuktian kontrol KLT. Selanjutnya dilakukan proses penyaringan kembali, filtrat cair ditampung dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak metilen klorida yang berwarna hijau tua pekat (35 g), kemudian dilakukan uji antibakteri *P. aeruginosa*.

Isolasi Ekstrak Diklorometana

Proses isolasi dimulai setelah diketahui bahwa ekstrak diklorometana mempunyai sifat antibakteri *P. aeruginosa*. Ekstrak diklorometana dipisahkan secara kromatografi cair vakum (KCV) dengan silica gel G60 menggunakan gradient elusi *n*-heksan-EtOAc untuk menghasilkan 10 fraksi, pada fraksi 5 terdapat kristal jarum berwarna putih (8 mg) yang kemudian dilakukan rekristalisasi dengan *n*-heksana untuk menghilangkan pengotor. Selanjutnya terhadap kristal berwarna putih tersebut dilakukan uji KLT untuk mengetahui kemurniannya dan kemudian dibandingkan dengan senyawa β -sitosterol murni.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pada kolom kesatu sebanyak 100 μ L *nutrien broth* (NB) dimasukkan kedalam pelat mikro sebagai kontrol negatif. Suspensi mikro sebanyak 5 μ L ditambahkan ke dalam 10 mL NB kemudian diaduk dengan alat vortex. Sebanyak 100 μ L campuran tersebut dimasukkan ke dalam pelat mikro pada kolom kedua sampai dua belas. Pada kolom kedua sampai dua belas, ditambahkan 100 μ L larutan ekstrak kemudian di homogenkan. Selanjutnya diambil 100 μ L dari kolom kedua kemudian dipindahkan ke kolom ketiga. Pengenceran terus dilakukan sampai pada kolom ke dua belas yang akan memiliki konsentrasi terkecil. Pelat diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam kemudian amati bagian yang jernih. Konsentrasi terkecil dimana tidak ada pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Sebanyak 5 μ L alikuot dari setiap bagian yang jernih dipindahkan ke dalam nutrien agar (NA) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam kemudian diamati. Konsentrasi terendah dimana tidak ada pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai konsentrasi bunuh minimal (KBM).

HASIL DAN PEMBAHASAN

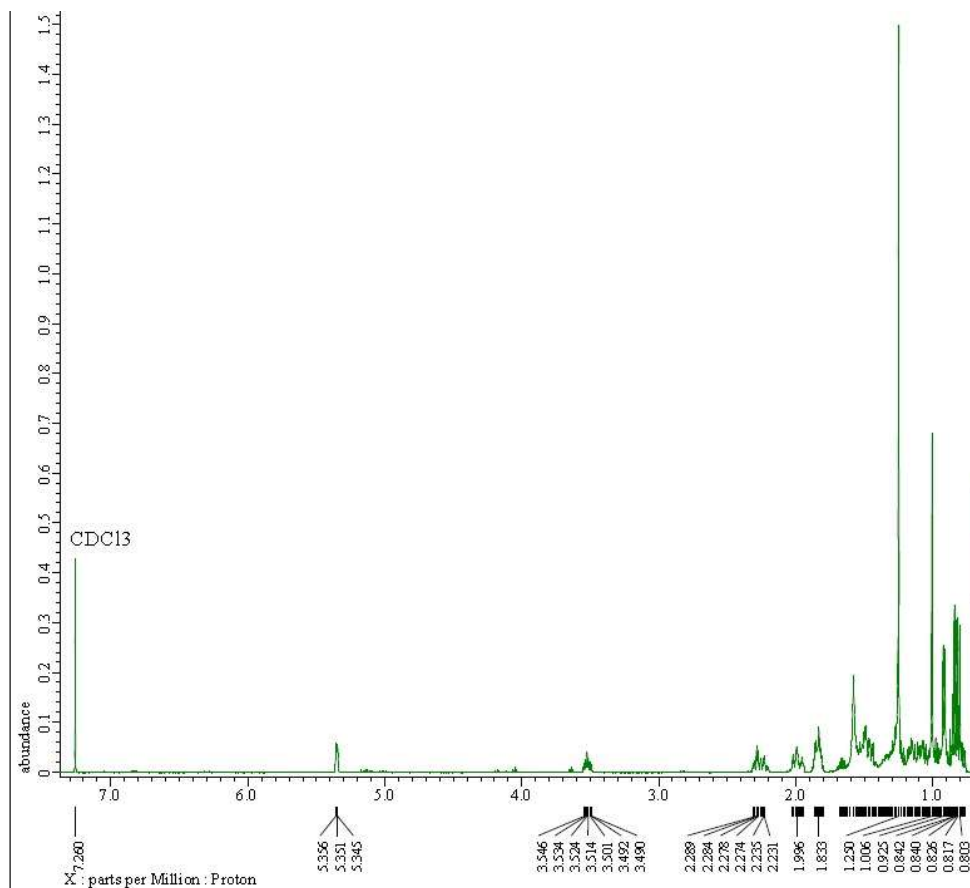
Ekstraksi dan Isolasi Senyawa

Daun *Kalanchoe tomentosa* dihaluskan dengan tujuan untuk memperluas permukaan sampel. Permukaan sampel yang luas dapat mempermudah pelarut masuk ke dalam jaringan daun dalam mengekstrak senyawa yang terdapat di dalamnya sehingga menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang besar. Isolasi β -sitosterol dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metilen klorida menghasilkan ekstrak metilen klorida berwarna hijau tua pekat. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, sehingga menghasilkan ekstrak pekat metilen klorida. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri *P. aeruginosa*. Setelah diketahui bahwa ekstrak diklorometana mempunyai sifat antibakteri *P. aeruginosa*, sebanyak 35 g ekstrak diklorometana dengan eluen heksan-etil asetat secara gradien, 10 fraksi, pada fraksi ke 5 terdapat endapan berbentuk kristal berbentuk jarum berwarna putih. Spektrum UV menunjukkan adanya serapan kuat pada λ_{maks} 264 yang menunjukkan adanya sistem alkena yang tidak terkonjugasi. Spektrum UV juga menunjukkan adanya serapan lemah pada 364 nm, hal ini menunjukkan tidak adanya sistem aromatik. Endapan fraksi 5 berupa serbuk putih berbentuk jarum, hasil KLT dibandingkan dengan standar β -sitosterol menunjukkan kesamaan nilai Rf seperti pada Gambar 1. Endapan 5 dapat diprediksi sebagai β -sitosterol.



Gambar 1. Perbandingan β sitosterol standar dengan endapan fraksi 5.

Hal ini diperkuat dengan data elucidasi struktur dengan menggunakan $^1\text{H NMR}$ (Gambar 2). Hasil analisis spektrum data $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) isolat 1 memperlihatkan sinyal karakteristik untuk senyawa steroid, di mana hanya terdapat satu sinyal δ_{H} 5,35 ppm, dan terlihat sinyal yang menumpuk pada daerah antara δ_{H} 1 – 2 ppm. Sinyal yang khas untuk proton olefinik diperoleh pada δ_{H} 5 ppm sedangkan sinyal proton teroksigenasi yang merupakan hal yang lazim ditemukan pada golongan senyawa steroid terdapat pada δ_{H} 3 ppm (Darwati *et al.*, 2019). Karakteristik lainnya ditunjukkan dengan adanya pergeseran kimia pada 1,42 ppm merupakan ciri khas proton dari gugus sikloheksana yaitu pada cincin A, cincin B dan cincin C pada senyawa steroid (Suryani *et al.*, 2017).



Gambar 2. Spektrum $^1\text{H NMR}$ Isolat 1.

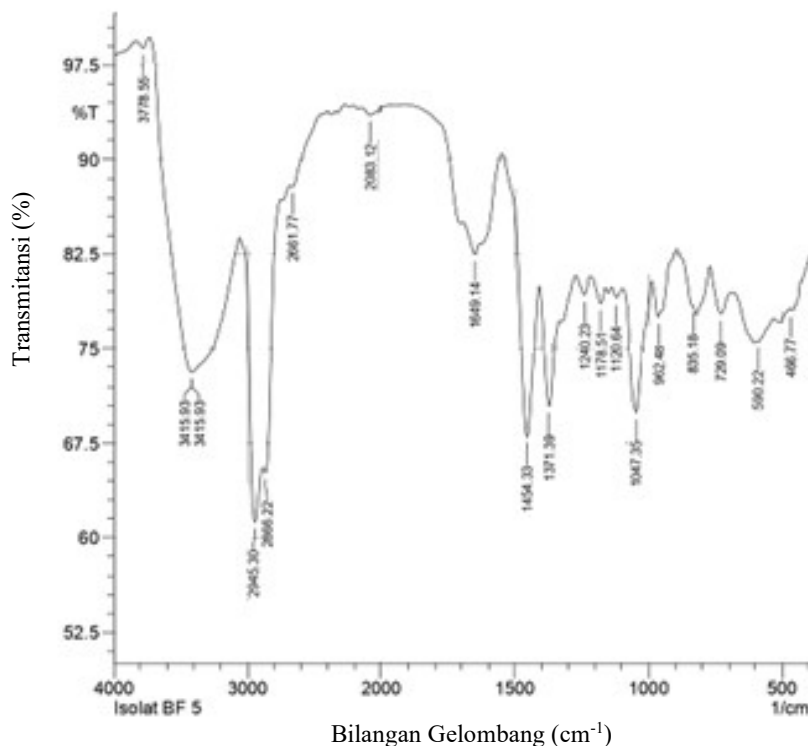
Tabel 1. Perbandingan data ¹HNMR senyawa 1 dan β -sitosterol.

Posisi atom C	Senyawa 1 ¹ HNMR δ_H (ppm) (ΣH :mult : J=Hz)	β -sitosterol*
1	0,82 : 0,86 (2H, <i>dd</i> , 10,5 : 5,5)	1,07 : 1,02 (2H, <i>dd</i> , 10,5 : 5,5)
2	1,44 : 1,47 (2H, <i>td</i> , 9,5 : 6,0)	1,44 : 1,48 (2H, <i>td</i> , 9,5 : 6,0)
3	3,49 : 3,55 (1H, <i>m</i>)	3,51 (1H, <i>m</i>)
4	2,23 : 2,31 (2H, <i>m</i>)	2,22 : 2,29 (2H, <i>m</i>)
5	-	-
6	5,35 (1H, <i>t</i> , 2,5)	5,35 (1H, <i>br</i>)
7	2,01 (2H, <i>dt</i> , 5,6 : 8,5)	1,85 : 2,01 (2H, <i>dt</i> , 5,6 : 8,5)
8	1,60 (1H, <i>m</i>)	1,57 (1H, <i>m</i>)
9	0,93 (1H, <i>m</i>)	0,93 (1H, <i>m</i>)
10	-	-
11	1,42 : 1,47 (2H, <i>m</i>)	1,42 : 1,49 (2H, <i>m</i>)
12	1,95 (2H, <i>d</i> , 5,6)	1,15 : 1,98 (2H, <i>d</i> , 5,6)
13	-	-
14	1,01 (1H, <i>m</i>)	1,00 (1H, <i>m</i>)
15	1,94 : 2,03 (2H, <i>m</i>)	1,57 (2H, <i>m</i>)
16	1,95 (2H, <i>m</i>)	1,84 (2H, <i>m</i>)
17	1,09 (1H, <i>dt</i> , 5,2 : 8,5)	1,09 (1H, <i>dt</i> , 5,2 : 8,5)
18	0,68 (3H, <i>s</i>)	0,68 (3H, <i>s</i>)
19	1,01 (3H, <i>s</i>)	1,01 (3H, <i>s</i>)
20	1,31 (1H, <i>m</i>)	1,36 (1H, <i>m</i>)
21	0,69 (3H, <i>d</i> : 6,1)	0,92 (3H, <i>d</i> , 6,1)
22	1,80 (2H, <i>m</i>)	1,38 (2H, <i>m</i>)
23	1,50 (2H, <i>m</i>)	1,54 (2H, <i>m</i>)
24	0,94 : 0,98 (1H, <i>m</i>)	0,93 (1H, <i>m</i>)
25	1,66 (1H, <i>m</i>)	1,66 (1H, <i>m</i>)
26	0,84 (3H, <i>d</i> , 6,2)	0,84 (3H, <i>d</i> , 6,2)
27	0,92 (3H, <i>d</i> , 6,7)	0,92 (3H, <i>d</i> , 6,7)
28	1,25 (2H, <i>m</i>)	1,26 (2H, <i>m</i>)
29	0,82 (3H, <i>s</i>)	0,83 (3H, <i>s</i>)

Pada isolat 1 memperlihatkan adanya sinyal proton pada δ_H 0,86 (2H, *dd*); 1,44 (2H, *dt*); 2,23 (2H, *m*); 2,01 (2H, *dt*); 1,42 (2H, *m*); 1,99 (2H, *d*); 1,94 (2H, *m*); 1,95 (2H, *m*) masing-masing merupakan sinyal untuk proton metilen (CH₂). Sinyal proton pada δ_H 3,49 (1H, *m*); 5,35 (1H, *t*); 1,60 (1H, *m*); 0,93 (1H, *m*); 1,01 (1H, *m*); 1,09 ppm (1H, *dt*) masing-masing menunjukkan sinyal untuk proton metin. Sinyal proton pada δ_H 3,49 (1H, *m*) menunjukkan adanya hidrogen yang berdekatan pada gugus hidroksil yang diduga gugus hidroksil tersebut terdapat pada C-3 pada cincin A yang berada disebelah atas bidang molekul yakni pada pihak yang sama dengan gugus-gugus metil pada C-10 dan C-13 yang disebut konfigurasi β . Sinyal pada δ_H 5,35 (1H, *t*) yang mengindikasikan adanya ikatan rangkap dua pada C-5 ditunjukkan dengan adanya sinyal proton metin olefinik (Darwati *et al.*, 2019). Sinyal proton pada δ_H 0,68 (3H, *s*) dan 1,01 (3H, *s*) masing-masing merupakan gugus metil sebagai substituen pada kerangka utama steroid yaitu pada C-10 dan C-13. Ketiga sinyal-sinyal tersebut (metilen, metin dan metil) mengindikasikan adanya kerangka steroid yang tersubstitusi oleh dua metil dan satu gugus hidroksil (Salempa *et al.*, 2016). Pada daerah alifatik (substituen pada C-17) terlihat pula beberapa sinyal yang mengindikasikan suatu unit alkana. Tiga sinyal untuk gugus metilen δ_H 1,80 (2H, *m*); 1,50 (2H, *m*) dan 1,25 (2H, *m*), tiga metin pada δ_H 1,31 (1H, *m*); 0,94 (1H, *m*) dan 1,66 (1H, *m*), empat gugus metil pada δ_H 0,69 (3H, *d*); 0,84 (3H, *d*); 0,92 (3H, *d*) dan 0,82 (3H, *d*). Sepuluh sinyal proton ini merupakan kerangka alkil (Salempa *et al.*, 2016). Pergeseran tersebut kemudian dibandingkan dengan senyawa β -sitosterol (Yun *et al.*, 2017) dan memiliki banyak kesamaan. Maka dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa β -sitosterol. Perbandingan Data ¹HNMR senyawa 1 dan β -sitosterol ditampilkan pada Tabel 1.

Hal tersebut diperkuat juga dengan spektrofotometri FTIR (Gambar 3) yang digunakan sebagai dasar untuk menafsirkan berbagai gugus fungsi yang terdapat pada senyawa sesuai dengan masing-masing gugus fungsi dan daerah spektrum serapan tersebut. Hasil dari identifikasi FTIR isolat 1 menunjukkan serapan pada daerah 3415 cm⁻¹ menunjukkan intensitas melebar yang merupakan ciri khas serapan untuk gugus fungsi -OH (Okwu and Nnamdi, 2011). Hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1047 cm⁻¹ dengan intensitas tajam menunjukkan

serapan untuk gugus fungsi C–O alkohol. Serapan pada 2945 cm^{-1} dengan intensitas tajam menunjukkan serapan untuk gugus fungsi –CH alifatik, serapan pada 1649 cm^{-1} dengan intensitas melebar menunjukkan serapan untuk gugus fungsi C=C. Hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada 835 cm^{-1} dengan intensitas sedang menunjukkan gugus fungsi alkena =CH. Serapan pada 1649 cm^{-1} menunjukkan adanya rentangan C=C nonkonjugasi yang memiliki kisaran panjang gelombang antara 1620 – 1680 cm^{-1} (Ahmed, 2017).



Gambar 3. Spektrum IR isolat 1.

Hal ini memperkuat bahwa isolat yang diperoleh merupakan golongan senyawa steroid yang tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Pada serapan 1454 cm^{-1} dan 1371 cm^{-1} dengan intensitas tajam menunjukkan serapan untuk gugus fungsi C–H pada CH_2 dan CH_3 . Berdasarkan hasil analisa inframerah isolat 1 dihasilkan serapan pada berbagai panjang gelombang, yang kemudian dibandingkan dengan serapan senyawa β -sitosterol murni penelitian Creswell *et al.* (1982) dan penelitian Fitriani (2013). Hasil perbandingan menunjukkan serapan yang sama, hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan data spektrum IR Isolat 1 dan β -sitosterol.

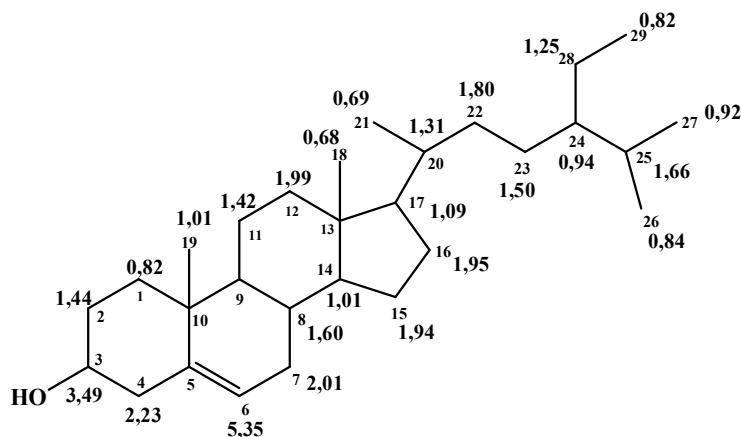
Isolat 1 (cm^{-1})	β -sitosterol* (cm^{-1})	Pustaka** (cm^{-1})	Gugus Fungsi
3415,93	3440,62	3450 – 3200	O–H
2945,30	2936,69	2800 – 3000	C–H alifatik
1649,14	1646,55	1680 – 1620	C=C
1454,33	1463,42	1475 – 1300	C–H (pada CH_2)
1371,39	1381,65	1475 – 1300	C–H (pada CH_3)
1047,35	1053,89	1050 – 1260	C–O alkohol
962,48	970,32	995 – 710	=CH alkena

**Creswell *et al.*, 1982.

* Fitriani, 2013.

Berdasarkan data ^1H NMR, hasil analisis spektrum FTIR dan KLT isolat 1 dengan pembanding β -sitosterol murni dapat disimpulkan bahwa isolat 1 hasil isolasi dari ekstrak diklorometana tanaman *K. tomentosa* diduga merupakan senyawa β -sitosterol yang mempunyai nama IUPAC stigmast-5-en-3 β -ol senyawa tersebut merupakan

kelompok stigmastan dalam hidrokarbon induk steroid yang memiliki rumus molekul $C_{29}H_{50}O$. Senyawa tersebut dapat dilihat seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur stigmasterol-5-en-3 β -ol (β -sitosterol).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak diklorometana Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana bersifat bakteriostatik dan juga bakterisid terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan masing-masing nilai KHM sebesar 1,95 $\mu\text{g/mL}$ dan KBM 3,91 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan literatur, nilai KHM dan KBM tersebut dapat dikatakan ekstrak diklorometana memiliki aktivitas kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Tabel 3. Hasil uji antibakteri ekstrak diklorometana dan β -sitosterol.

Sampel	Bakteri Uji	Hasil Uji	
		KHM ($\mu\text{g/mL}$)	KBM ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak diklorometana	<i>P. aeruginosa</i>	1,95	3,91
Senyawa β -sitosterol	<i>P. aeruginosa</i>	7,81	7,81

Hasil pengujian aktivitas antibakteri β -sitosterol terhadap bakteri *P. aeruginosa* pada Tabel 3. menunjukkan nilai KHM sebesar 7,81 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai KBM 7,81 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan literatur, nilai KHM dan KBM tersebut bersifat bakteriostatik maupun bakterisid sehingga dapat dikatakan bahwa β -sitosterol memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Hasil uji antibakteri tersebut di atas, memperlihatkan bahwa ekstrak diklorometana dan β -sitosterol memiliki potensi menghambat dan membunuh bakteri Gram negatif *P. aeruginosa*. Potensi tersebut diduga karena pada bakteri Gram negatif dinding selnya memiliki struktur peptidoglikan berlapis tunggal, bersifat nonpolar dan mengandung senyawa lipid yang tinggi (Pelczar and Chan, 2008). Sifat dinding bakteri seperti tersebut yang menjadikan dinding sel *P. aeruginosa* akan lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri yang bersifat nonpolar.

Apabila dikaitkan dengan struktur β -sitosterol, isolat tersebut memiliki satu gugus hidroksil $-\text{OH}$ yang dapat menginaktivasi sistem enzim bakteri dan merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting. Gugus $-\text{OH}$ yang sifatnya polar dapat menembus peptidoglikan yang bersifat polar, dan merusak dinding bakteri dengan memutuskan ikatan peptidoglikan sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh. Tempat kerja antibakteri ini adalah pada dinding sel bakteri yaitu lapisan peptidoglikan. Lapisan peptidoglikan sangat penting bagi bakteri gram negative, karena untuk mempertahankan kehidupan bakteri dari lingkungan yang hipotonik. Apabila terjadi kerusakan atau hilangnya lapisan ini maka akan menyebabkan hilangnya kekuatan dinding sel dan akan mengakibatkan kematian (Neu and Gootz, 2001).

KESIMPULAN

Hasil isolasi dari ekstrak diklorometana tanaman *K. tomentosa* diperoleh senyawa murni golongan steroid yaitu senyawa β -sitosterol dan senyawa β -sitosterol tersebut bersifat bakteriostatik dan bakterisid terhadap *P. aeruginosa*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, B., 2017. *Chemistry of Natural Products*.
- Aisyah, L.S., Yun, Y.F., Abdilla, A.A., Herlina, T., Julaeha, E., and Supratman, U., 2016. Flavonoid Compounds from the Leaves of *Kalanchoe Tomentosa* and Their Cytotoxic Activity Against P-388 Murine Leukemia Cell. 2016. *Akta Kimindo 1*(1), 1–4. doi: 10.20307/nps.2017.23.2.139.
- Balitbang Kemenkes. 2018. Riset Kesehatan Dasar. Kemenkes. Jakarta.
- Cai, H. Chen, J. Perera, N.K.P and Liang, X. 2020. Effects of Herbal Mouthwashes on Plaque and Inflammation Control for Patients with Gingivitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 20*, 1–16. doi: 10.1155/2020/2829854.
- Creswell, C.J., and Runquist, O.A., 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*, Edisi kedua, Penerbit ITB, Bandung.
- Czepas, J. K., and Stochmal, A., 2017. Bufadienolides of *Kalanchoe* species: An Overview of Chemical Structure, Biological Activity and Prospects for Pharmacological Use. *Phytochemistry Review 16*, 1155–1171. doi: 10.1007/s11101-017-9525-1
- Darwati, D., Nurlelasari, N., and Mayanti, T., 2019. Isolasi Senyawa Steroid Dari Akar Tumbuhan Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb. Ex Dc) Sebagai Obat Penurun Demam (*Steroid Compounds from Root Plant of Acid (Garcinia cowa* Roxb. Ex Dc) For Fever Relief). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan 37*(1), 51–58.
- Figuro, E.N., Obrega, D.F., Gargallo, M.M., Tenuta, L.M.A., Herrera, D., and Carvalho, J.C., 2017. Mechanical and Chemical Plaque Control in the Simultaneous Management of Gingivitis and Caries: A Systematic Review. *Journal of Clinical Periodontology 44*(18), 116–134. doi: 10.1111/jcpe.12674.
- Fitriani, 2013. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa β -sitosterol dari Kulit Batang *Kleinhovia hospita* Linn. Skripsi. Makassar: Universitas Negeri Makassar.
- Gao, H., Popescu, R., Kopp, B., and Wang, Z. 2011. Bufadienolides and Their Antitumor Activity, *Natural Product Report 28*(5), 953–969. doi: 10.1039/c0np00032a.
- Gyawali, R and Ibrahim, S.A., 2014. Natural Products as Antimicrobial Agents. *Food Control 41*2–429. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.05.047.
- Indriyanti, N and Garmana, A.N., 2011. Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) Untuk Terapi Preventif Lupus Mencit yang Diinduksi dengan 2,6,10,14 *Tetramethylpentadecane*. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry 1*(3), 221–226. doi: 10.25026/jtpc.v1i3.32
- Lee, C.R., Cho, I.H., Jeong, B.C., and Lee, S.H., 2013. Strategies to Minimize Antibiotic Resistance. *International Journal Environment Reserach Public Health 10*, 4274–4305. doi:10.3390/ijerph10094274.
- Marsh, P.D., Head, D.A., and Devine, D.A., 2015. Dental Plaque as a Biofilm and a Microbial Community—Implications for Treatment. *Journal of Oral Biosciences 57*(4), 185–191. doi: 10.1016/j.job.2015.08.002.
- Murakami, S., Mealey, B.L., Mariotti, A., and Chapple, C.L., 2018. Dental Plaque–Induced Gingival Conditions. *Journal of Clinical Periodontology 45*(20),17–27. doi: 10.1111/jcpe.12937
- Nazir, M., Al-Ansari, A., Al-Khalifa, K., Alhareky, M., Gaffar, B., and Almas, K., 2020. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *Scientific World Journal 2020*, 1–8. doi: 10.1155/2020/2146160.
- Neu, H.C., and Gootz T.D., 2001 *Antimicrobial chemotherapy*. Medmicro.
- Okwu, D.E., dan Nnamdi, F.U., 2011. Two Novel Flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and Their Antimicrobial Activity. *Journal Chemistry Pharmacy Research 3*(2),1–10.
- Paramita, H., Puspasari, T.L., Hidayat, Y., Meliansyah, R., Dono, D., Maharani, R., and Supratman, U., 2018. Bioactivity Formulation of Leaf Extract of *Kalanchoe pinnata* and Seed of *Azadirachta indica* Against Spodoptera. *Jurnal Cropsaver 1*(1): 20–26. doi: 10.24198/cs.v1i1.16995.
- Parashar, A., 2015. Mouthwashes and Their Use in Different Oral Conditions. *Scholar Journal of Dental Science 2*(2B), 186–191.
- Pelczar, M.J., and Chan, E.C.S., 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Porras, G., Chassagne, F., Lyles, J.T., Marquez, L., Dettweiler, M., Salam, A.M., Samarakoon, T., Shabih, S., Farrokhi, D.R., and Quave, C.L., 2021. Ethnobotany and the Role of Plant Natural Products in Antibiotic Drug Discovery. *Chemistry Review 121* (6), 3495–3560. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00922.
- Rivas, C. R., Le Gall, F., Revert, K., Rault, G., Virmaux, M., Gouriou, S., Héry-Arnaud, G., Barbier, G., Boisramé, S., 2015. *Pseudomonas aeruginosa* and Periodontal Pathogens in the Oral Cavity and Lungs of Cystic

- Fibrosis Patients: A Case-Control Study. *Journal of Clinical Microbiology* 53, 1898–1907. doi: 10.1128/JCM.00368-15.
- Sakagami, H. and Tomomura, M., 2018. Dental Application of Natural Products. *Medicines* 5(21), 1–8. doi: 10.3390/medicines5010021.
- Saleh, M. M., Ghoneim, M. M., Kottb, S. dan El-Hela, A., 2014. Biologically Active Secondary Metabolites from *Kalanchoe tomentosa*. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research* 3(6), 136–140.
- Salempa, P., Lestari, A., and Jusniar, J., 2016. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Kulit Batang Sukun (*Artocarpus altilis*). *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia dan Pendidikan Kimia*. 17(1), 76–82.
- Souto, R., Boghossian, C.M.S., and Colombo, A.V.P., 2014. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in Subgingival Biofilm and Saliva of Subjects with Chronic Periodontal Infection. *Brazilian Journal of Microbiology* 45(2), 495–501. doi: 10.1590/S1517-83822014000200017.
- Suryani, D.I., Zaharah, T.A and Rudiyanisya, 2017. Karakterisasi Senyawa Steroid dari Fraksi Diklorometana Ranting Durian Klawing (*Durio graveolens Becc.*) *Jurnal Kimia Kartika* 6(4), 45–48.
- Susiarti, S., Rahayu, M., and Rugayah. 2018. Diversity of Indonesian Medicinal Plant in The lowland Forest, Bodogol and Its Surrounding of Mount Gede Pangrango National Park, West Java. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 166. doi :10.1088/1755-1315/166/1/012021.
- Sylvia, D., Fatimah, and Pratiwi, D., 2020. Comparison of Antioxidant Activity of Some Cocor Bebek Leaf Extract (*Kalanchoe pinnata*) Using the DPPH Method. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* 11(1), 21–31.
- Van der Weijden, F.A., Van der Sluijs, E., Ciancio, S.G. and Slot, G.E., 2015. Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/ Gingivitis Control? *Dental Clinical North America* 59, 799–829. doi: 10.1016/j.cden.2015.06.002.
- Yun, Y.F., Aisyah, L.S., Saputra, T.R., Hakim, A.R., Purbaya, S., Herlina, T., Julaeha, E., Zainuddin, A., and Supratman, U., 2017. Senyawa Fenolik dari Daun Tanaman *Kalanchoe prolifera* (Crassulaceae). *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia* 3(1), 27–34. doi: 10.15408/jkv.v0i0.5037.