AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN OLEORESIN PINUS (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) DAN RESIN AGATIS (*Agatis loranthifolia*)

MARDHO TILLAH

SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2017

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Oleoresin Pinus (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) dan Resin Agatis (*Agatis loranthifolia*) adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Februari 2017

Mardho Tillah
NIM G451140181

RINGKASAN

MARDHO TILLAH. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Oleoresin Pinus (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) dan Resin Agatis (*Agatis loranthifolia*). Dibimbing oleh IRMANIDA BATUBARA dan RITA KARTIKA SARI.

Patogen manusia yang paling umum berkolonisasi pada sepertiga orang yang sehat di seluruh dunia adalah *Staphylococcus aureus*, dan salah satu bahan yang diduga mampu mengatasi patogen tersebut adalah resin. Resin telah digunakan dalam obat rakyat selama ribuan tahun untuk mengobati penyakit. Aktivitas antimikrob dari resin alami dapat dikaitkan dengan berbagai senyawa organik yang terkandung di dalamnya seperti senyawa-senyawa diterpenoid dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antibakteri dan antioksidan terpentin dan ekstrak resin dari *Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*, dan *Agatis loranthifolia*.

Resin dipisahkan melalui proses distilasi untuk mendapatkan terpentin dan residu diekstraksi menggunakan *n*-heksana, etil asetat (EtOAc), dan metanol (MeOH). Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan metode DPPH (1,1difenil-2-pikril hidrazil). Aktivitas antibakteri resin dan terpentin dari sampel ditentukan dengan metode difusi cakram terhadap *S. aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen hasil ekstraksi resin mulai dari 8.44% hingga 95.56%. Aktivitas antioksidan mengungkapkan bahwa terpentin dan ekstrak *n*-heksana resin *P. merkusii, n*-heksana resin *P. insularis, n*-heksana resin *P. oocarpa,* dan *A. loranthifolia* tidak memiliki aktivitas antioksidan. Akan tetapi hasil autobiografinya menunjukkan bahwa senyawa ekstrak *n*-heksana resin *P. merkusii, n*-heksana resin *P. insularis, n*-heksana resin *P.oocarpa* pada Rf 0.9, 0.7, dan 0.6 terindikasi memiliki aktivitas antioksidan. Semua terpentin dan ekstrak resin tidak bisa menghambat pertumbuhan *E. coli* tapi dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Hanya ekstrak *n*-heksana ketiga jenis pinus yang memiliki aktivitas antibakteri *S. aureus.* Ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa* adalah yang paling ampuh sebagai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 500 µg/mL. Spot yang memiliki potensi sebagai antibakteri ditentukan dengan metode bioautografi. Spot yang paling potensial dipisahkan dengan metode kromatografi kolom silika gel. Diperoleh 11 fraksi (F1–F11), dan dari uji bioautografi ekstrak diketahui bahwa spot teraktif berada pada F1. Selanjutnya F1 dilanjutkan pemisahannya dengan metode kromatografi kolom lapis tipis preparatif dan kromatografi kolom Sephadex. Diperoleh 3 fraksi (F1.1.1–F1.1.3) dari pemisahan dengan kolom Sephadex. F1.1.2 merupakan fraksi dengan bobot tertinggi, yaitu 0.0160 g (rendemen 16%). Selanjutnya pada F1.1.2 dilakukan perhitungan nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum. Diperoleh nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum masing-masing 125 µg/mL dan 250 µg/mL. Pencirian fraksi F1.1.2 menggunakan spektrofotometer inframerah transformasi Fourier menunjukkan fraksi F1.1.2 diduga mengandung senyawa diterpenoid.

Kata kunci: antibakteri, antioksidan, resin, terpentin.

SUMMARY

MARDHO TILLAH. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Pines (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) Oleoresins and Agatis (*Agatis loranthifolia*) Resin. Supervised by IRMANIDA BATUBARA and RITA KARTIKA SARI

The most common human pathogen that colonizes in a third of healthy people around the world are *Staphylococcus aureus*, and one of the materials allegedly able to overcome the pathogen is resin. Resin has been used in folk medicine for thousands of years to treat diseases. The antimicrobial activity of natural resins can be associated with a variety of organic compounds contained in them such as diterpenoids and triterpenoids. This study aims to determine the antioxidant and antibacterial activity of turpentine and resin extract from *Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*, and *Agatis loranthifolia*.

Resin was separated by distillation process to get essential oil and the residue was extracted using *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), and methanol (MeOH). Antioxidant activity was performed by DPPH (1,1diphenyl-2-picryl hydrazyl) radical scavenging method. The antibacterial activity of resins and essential oil of the samples determined using the disc diffusion method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results showed that the yield of resin extract was ranging from 8.44 % to 95.56%. The results of antioxidant activity known turpentine and resin extract of *n*-hexane *P. merkusii*, *n*-hexane *P. insularis*, *n*-hexane *P.oocarpa*, and *A. loranthifolia* not have antioxidant activity. But the result of their autobiography indicates that the compound resin extract of *n*-hexane *P. merkusii*, *n*-hexane *P. insularis*, *n*-hexane *P.oocarpa* at Rf 0.9, 0.7, and 0.6 indicated to have antioxidant activity. All turpentine and resin extract could not inhibit the growth of *E. coli* but can inhibit the growth of *S. aureus*. Extract resin *n*-hexane from *P. oocarpa* was the most potent as antibacterial activity against *S. aureus* with minimum inhibitory concentration values is 500 µg/mL. Spot which has potency as antibacterial determined by the bioautography method. The most potential spot are separated by silica gel column chromatography. Obtained 11 fractions (F1-F11), from test bioautography extract is known that the most active spot in F1. Furthermore, F1 continued separation by preparative thin layer chromatography and sephadex column chromatography. Retrieved 3 fractions (F1.1.1-F1.1.3) of separation with sephadex column. F1.1.2 is the fraction with the greatest weight 0.0160 g (yield 16%). Furthermore F1.1.2 calculation of the value of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration. The results show the value of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration is of 125 µg/mL and 250 µg/mL respectively. Characterization fraction F1.1.2 using Fourier transform infrared spectrophotometer shows factions F1.1.2 allegedly containing diterpenoid compounds.

Keywords: Antibacterial activity, antioxidant, essential oil, resin.

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2017

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN OLEORESIN PINUS (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) DAN RESIN AGATIS (*Agatis loranthifolia*)

MARDHO TILLAH

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains
pada
Program Studi Kimia

SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2017

Penguji Luar Komisi pada Ujian Tesis: Prof Ir Suminar S Achmadi, PhD

Judul Tesis : Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Oleoresin Pinus (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) dan Resin Agatis (*Agatis loranthifolia*)
Nama : Mardho Tillah
NIM : G451140181

Disetujui oleh

Komisi Pembimbing

Dr Irmanida Batubara, Msi
Ketua

Dr Ir Rita Kartika Sari, MSi
Anggota

Diketahui oleh

Ketua Program Studi Kimia

Prof Dr Dyah Iswantini Pradono, MScAgr

Dekan Sekolah Pascasarjana

Dr Ir Dahrul Syah, MScAgr

Tanggal Ujian: 06 Februari 2017

Tanggal Lulus: 21 FEB 2017

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Maret 2016 ini ialah resin alami sebagai antibakteri, dengan judul Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Oleoresin Pinus (*Pinus merkusii, P. oocarpa, P. insularis*) dan Resin Agatis (*Agatis loranthifolia*).

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr Irmanida Batubara, MSi sebagai ketua komisi pembimbing dan Dr Ir Rita Kartika Sari, MSi sebagai anggota komisi pembimbing atas bimbingan, arahan, dan sarannya kepada penulis. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ayah, Ibu, serta seluruh keluarga, atas segala doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, Februari 2017

Mardho Tillah

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	ii
DAFTAR LAMPIRAN	ii
1 PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Hipotesis	2
Tujuan Penelitian	2
Ruang Lingkup Penelitian	2
2 METODE	3
Waktu dan Tempat	3
Bahan dan Alat	3
Prosedur	3
3 HASIL DAN PEMBAHASAN	5
Rendemen Terpentin dan Resin	5
Ekstraks Resin	6
Aktivitas Antioksidan Terpentin dan Ekstrak Resin	6
Aktivitas Antibakteri Terpentin dan Ekstrak Resin	8
Komponen Aktif	10
Komposisi Kimia Terpentin	11
Gugus Fungsi	12
4 SIMPULAN	13
Simpulan	13
Saran	13
DAFTAR PUSTAKA	14
RIWAYAT HIDUP	25

DAFTAR TABEL

1. Rendemen terpentin dan resin 6
2. Rendemen ekstrak resin pinus dan agatis 6
3. Aktivitas antioksidan dari resin dan terpentin 7
4. Aktivitas antibakteri ekstrak terhadap galur bakteri 9
5. Jumlah bobot fraksi hasil kromatografi kolom 10
6. Komposisi senyawa dalam terpena 12

DAFTAR GAMBAR

1. Biautogram antioksidan ekstrak terpentin, resin pinus dan, agatis 7
2. Bioautogram antibakteri ekstrak resin pinus 9
3. Asam abietat dan Asam dehidroabietat 10
4. Bioautogram antibakteri fraksi kolom sephadex 11
5. Spektrum FTIR Fraksi 1.1.2 13

DAFTAR LAMPIRAN

1 Hasil Identifikasi Sampel Material Herbarium 18
2 Diagram Alir Penelitian 19
3 Analisis Statistika Rendemen Resin dan Terpentin 20
4 Rendemen Ekstrak Resin 21
5 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Resin dan Terpentin 22
6 Kromatogram Gas Terpentin 24

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Salah satu kelompok hasil hutan bukan kayu yang potensial dikembangkan di Indonesia adalah resin. Resin sebagai sumber daya terbarukan hutan alam dianggap sebagai produk yang memiliki nilai ekonomi yang bermakna di seluruh dunia, karena merupakan bahan baku untuk produksi berbagai bahan kimia sekunder. Produksi agondorukem (resin pinus) Indonesia pada tahun 2015 sebesar 69 718 ton dan kopal (resin agatis) sebesar 242 ton (BPS 2015, Perhutani 2016). Indonesia merupakan produsen resin pinus peringkat kedua dunia setelah Tiongkok dan penghasil resin agatis terbesar hingga 80% dari total produksi di dunia (FAO 2010). Resin pinus selama ini digunakan untuk membuat minyak rosin, linoleum, pernis gelap, penyegelan lilin, bahan peledak, varnishing string musik, tinta cetak, campuran cat kayu, kembang api, bahan tahan air untuk kertas tebal dan plastik. Di dalam negeri, resin agatis digunakan sebagai bahan baku untuk produksi cat dan pernis. Resin agatis juga digunakan untuk pembuatan enamel, lem, plastik, dan kegunaan lainnya seperti bahan pelapis untuk tekstil, tinta cetak, dan perekat (FAO 2002).

Resin alami telah digunakan sebagai obat rakyat selama ribuan tahun untuk mengobati penyakit. Resin alami telah digunakan untuk mengobati peradangan, untuk meringankan gejala batuk dan mengurangi rasa sakit. Resin pinus digunakan untuk pengobatan penyakit kulit, luka bakar dan melepuh, tuberkulosis paru, dan sebagai antiseptik yang baik (Favvas *et al*. 2013). Toro *et al*. (2003) melaporkan bahwa resin dari *P. elliottii* menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dan antiparasit. Assimopoulou *et al.* (2005) melaporkan bahwa resin alami dari *Pistacia lentiscus* menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup baik. Aktivitas antimikrob dari resin alami dapat dikaitkan dengan berbagai senyawa organik yang terkandung di dalamnya seperti senyawa-senyawa diterpenoid dan triterpenoid (Dimkick *et al*. 2016).

Perhatian terhadap antioksidan telah meningkat karena kemampuannya yang cukup tinggi dalam menangkap radikal bebas dan melindungi tubuh manusia dari kerusakan oksidatif (Silva *et al*. 2007). Dalam sistem kehidupan, radikal bebas terus-menerus dihasilkan dan ketika secara berlebihan dapat menyebabkan kerusakan yang luas untuk jaringan dan biomolekul yang mengarah ke berbagai gangguan patologis seperti penuaan, kanker, peradangan, alzheimer, dan penyakit kardiovaskular (Bakkali *et al*. 2008). Antioksidan sintetik yang paling umum digunakan adalah butil hidroksi toluena (BHT) dan butil hidroksi anisol (BHA) yang telah dilaporkan menyebabkan kerusakan hati dan karsinogenesis (Politeo *et al*. 2007). Karena alasan ini maka pencarian antioksidan alami dari tanaman yang mungkin bisa membantu menipiskan kerusakan oksidatif dan juga mengatasi efek buruk dari antioksidan sintetik diperlukan. Mohamed *et al.* (2014) menemukan bahwa resin dari *Commiphora myrrha* memiliki potensi yang baik terhadap antioksidan dengan nilai IC_{50} untuk ekstrak metanol dan etil asetat berturut-turut 0.32 dan 0.93 mg/mL. Frateenale *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak *n*-heksana resin *C. erythraea* mempunyai aktivitas antioksidan yang cukup baik dengan nilai EC_{50} 4.126 mg/mL.

Patogen manusia yang paling umum berkolonisasi pada sepertiga orang yang sehat di seluruh dunia adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini juga sebagai agen etiologi untuk sejumlah besar infeksi manusia, termasuk pneumonia, meningitis, *toxic shock syndrome*, bakteremia, dan endokarditis. *S. aureus* terkenal cepat mengembangkan resistensi terhadap antibiotik (Mun *et al*. 2013). Beberapa studi menunjukkan bahwa resin alami dari genus Pinus dan Agatis memiliki aktivitas antibakteri. Resin dari *P. ponterosa* efektif terhadap bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* (ATCC 9372) dan *Brevibacterium ammoniagenes* (ATCC 6872) dengan metode kertas cakram (Himejima *et al*. 1992). Shuaib *et al.* (2013) melaporkan bahwa resin dari *P. roxburghii* menunjukkan aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri Gram-positif dibandingkan galur bakteri Gram-negatif. Di Malaysia, *A. borneensis* secara tradisional digunakan untuk mengobati demam. *A. borneensis* dan *A. celebica* dari Filipina, telah menunjukkan aktivitas terhadap parasit plasmodium yang bertanggung jawab untuk infeksi malaria (Williams 2011).

Penelusuran pustaka tentang pengujian aktivitas antibakteri dan antioksidan dari resin alami yang berasal dari Indonesia masih terbatas. Besarnya potensi resin alami dan khasiat yang dikandungnya maka besar kemungkinan resin alami dari Indonesia memiliki senyawa aktif sebagai antibakteri dan antioksidan. Oleh karena itu perlu pemanfaatan bahan alami sebagai antibakteri dan antioksidan ini dikembangkan.

Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah senyawa kimia yang terdapat di dalam oleoresin pinus dan resin agatis yang tumbuh di Indonesia memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri.

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan serta antibakteri *S. aureus* dan *E. coli* terpentin dan ekstrak hasil ekstraksi bertingkat resin *P. merkusii, P. oocarpa, P. insularis,* dan *A. lorathifolia*. Tujuan berikutnya adalah menganalisis komposisi kimia terpentin dan menentukan aktivitas antibakteri dari fraksi hasil fraksinasi ekstrak teraktif serta mencirikan gugus fungsi fraksi teraktif.

Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap. Tahapan penelitian dimulai dengan preparasi sampel, pemilihan eluen terbaik, ekstraksi, fraksionasi, uji antimikroba, uji antioksidan, serta identifikasi komponen (Lampiran 2). Fraksionasi dilakukan menggunakan teknik kromatografi kolom. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya. Fraksi-fraksi teraktif dipisahkan dengan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dan kromatograafi kolom Sephadex. Fraksi yang diperoleh diuji aktivitasnya dan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer inframerah transformasi Fourier (FTIR).