



Isolation of Alkaloid Compounds from Ethanol Extract of Rimpang Galang Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K. Schum) and nanoparticle production from its Alkaloid Extract. Comparative Study of Antibacterial Properties on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Vatara Artanta Silalahi^a, Enny Fachriyah^{a*}, Pratama Jujur Wibawa^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: enny.fachriyah@live.undip.ac.id

Article Info

Keywords:

Alpinia purpurata,
 alkaloid,
 isoquinoline,
 alkaloid
 nanoparticles,
 ethanol extract
 alkaloid

Abstract

Isolation of alkaloid compounds from ethanol extract of red galangal rhizomes to compare their antibacterial properties with extracts formed into nanoparticles has been performed. The isolation of the alkaloid compounds was performed successively by salting using (i) hydrochloric acid (HCl) to pH 3 (when in ethanol) and using (ii) ammonium hydroxide (NH₄OH) to pH 10 (when in chloroform). The alkaloid concentrated extract was obtained after chloroform was evaporated using a rotary evaporator. This alkaloid extract was then carried out by TLC silica gel GF254 using chloroform eluent: ethyl acetate (9: 2) to obtain a specific alkaloid type as a single/pure compound. Test of alkaloid purity successfully isolated by one-dimensional or two-dimensional TLC using various types of eluents with varying degrees of polarity, ie acetone, chloroform, ethyl acetate, ethanol and chloroform: ethyl acetate mixture (9: 2). Isolates of pure alkaloids were analyzed using UV-Vis spectrophotometers), FTIR and (LC-MS). The obtained alkaloid isolates were isokuinolin group with UV-visible absorption characteristics at maximum wavelength (λ_{maks}) of 212 nm, 227 nm and 261 nm. The alkaloid isolate also showed the presence of functional groups -OH, -C-H, C = O, C = C, C = N, C-N, and C-O with molecular weight of 262.90 g/mol. The production of ethanol extract nanoparticles containing alkaloid-containing red galangal (EEAlkNPs) was performed using a top-down approach using ultrason (40 kHz, 2x50 watt) for 10 minutes. The EEAlkNPs size was determined by the dynamic light scattering method (DLS) using the Particles size analyzer (PSA) tool and obtained an average particle size of 220.2 nm. The antibacterial properties of EEAlkNPs were tested by disc diffusion method for the culture of *S.aureus* and *E.coli* bacteria. It is known that the antibacterial properties of EEAlkNPs are relatively larger than the original ethanol extract at the same concentration, ie, 2000 parts per million (bpj) or g / L.

Abstrak

Kata Kunci:

Alpinia purpurata,
 alkaloid,
 isokuinolin,
 nanopartikel
 alkaloid, ekstrak
 etanol alkaloid

Isolasi senyawa alkaloid dari ekstrak etanol rimpang lengkuas merah untuk dibandingkan sifat antibakterinya dengan ekstrak yang dibentuk menjadi nanopartikel telah dilakukan. Isolasi senyawa alkaloid dilakukan secara berturut-turut dengan penggaraman menggunakan (i) asam klorida (HCl) hingga pH 3 (ketika dalam etanol) dan menggunakan (ii) amonium hidroksida (NH₄OH) hingga pH 10 (ketika dalam kloroform). Ekstrak pekat alkaloid diperoleh setelah kloroform diuapkan menggunakan

rotary evaporator. Ekstrak alkaloid ini selanjutnya dilakukan KLT silika gel GF254 menggunakan eluen kloroform:etil asetat (9:2) untuk mendapatkan jenis alkaloid tertentu sebagai senyawa tunggal/murni. Test terhadap kemurnian alkaloid yang berhasil diisolasi dengan KLT satu dimensi maupun dua dimensi menggunakan berbagai jenis eluen dengan tingkat kepolaran yang bervariasi, yaitu aseton, kloroform, etil asetat, etanol dan campuran kloroform:etil asetat (9:2). Isolat murni alkaloid dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis), FTIR dan (LC-MS). Isolat alkaloid yang diperoleh adalah golongan isokuinolin dengan karakteristik serapan UV-visible pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 212 nm, 227 nm dan 261 nm. Isolat alkaloid itu juga menunjukkan adanya gugus fungsi -OH, -C-H, C=O, C=C, C=N, C-N, dan C-O dengan berat molekul sebesar 262,90 g/mol. Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang mengandung alkaloid (EEAlkNPs) dilakukan dengan metoda top-down approach menggunakan ultrason (40 kHz, 2x50 watt) selama 10 menit. Ukuran EEAlkNPs ditentukan dengan metoda dynamic light scattering (DLS) menggunakan alat Particles size analyzer (PSA) dan diperoleh ukuran partikel rata-rata 220,2 nm. Uji sifat antibakteri EEAlkNPs dilakukan dengan metode difusi cakram agar terhadap kultur bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Diketahui bahwa sifat antibakteri EEAlkNPs relatif lebih besar dibanding ekstrak etanol asal pada konsentrasi yang sama, yakni 2000 bagian per juta (bpj) atau g/L.

1. Pendahuluan

Tanaman keluarga *Zingiberaceae* merupakan herba yang sangat dikenal secara luas oleh masyarakat sebagai tanaman obat. Salah satu jenis tanaman ini adalah lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) yang mempunyai tinggi batang sekitar 1-2 meter. Lengkuas merah adalah tanaman berbatang semu berupa pelepah-pelepah daun, tumbuh dalam rumpun yang rapat berwarna hijau keputih-putihan. Rimpang kecil dan tebal, berdaging, berbentuk silindris, diameter sekitar 2-4 cm dan bercabang-cabang. Bagian luar agak coklat kemerah-merahan dan bersisik kemerahan keras mengkilap sedangkan dagingnya berwarna putih kemerahan. Lengkuas merah banyak digunakan sebagai suplemen makanan, mengobati sakit kepala, reumatik, sakit tenggorokan dan penyakit ginjal [1]. Disamping itu, ekstrak etanol rimpang lengkuas merah menunjukkan aktivitas yang besar sebagai antibakteri dan antifungi [2], antioksidan maupun antikanker [3].

Sifat bioaktifitas bahan alam seperti rimpang lengkuas merah seperti itu ditimbulkan oleh senyawa kimia tertentu yang ada di dalamnya, terutama yang merupakan metabolit sekunder [4, 5]. Beberapa penelitian melaporkan senyawa-senyawa metabolit sekunder rimpang lengkuas merah itu antara lain adalah golongan fenolat, alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan tannin [6], alkaloid piperin [7]. Disamping itu, Susilaningih [8] menemukan bahwa senyawa 3,6-dipentil-8-isokuinolin dapat diisolasi sebagai fraksi etil asetat rimpang lengkuas merah.

Dewasa ini, penelitian untuk meningkatkan sifat bioaktifitas suatu senyawa kimia, terutama kimia bahan alam metabolit sekunder telah merambah ke tingkat nano-partikel [9]. Keunggulan khas nanopartikel secara umum, yang tidak dimiliki oleh senyawa-senyawa molekuler maupun yang berukuran makro telah menarik perhatian yang besar para peneliti untuk melakukan berbagai cara membuat nanopartikel

metabolit sekunder. Besarnya rasio luas permukaan nanopartikel terhadap volumenya adalah merupakan faktor penentu bagi peningkatan bioaktivitas senyawa dibandingkan bentuk *bulk*-nya [10]. Dalam hubungan ini, Li *dkk.* [11] berhasil membuat nanopartikel katekin yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibanding katekin *bulk*-nya, baik terhadap bakteri gram negatif, *Eschericia coli* (*E.coli*) maupun gram positif, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Akan tetapi bagaimanapun juga, penelitian yang terkait dengan pembuatan nanopartikel alkaloid rimpang lengkuas merah belum pernah dilakukan. Oleh karena itu maka penelitian ini mencoba untuk membuat nanopartikel alkaloid dimulai dari membuat nanopartikel alkaloid ekstrak etanol. Peningkatan bioaktifitas nano-partikel ekstrak alkaloid diuji sifat antibakterinya terhadap bakteri *E.coli* maupun *S. aureus*. Cara isolasi alkaloid dari rimpang lengkuas merah dan karakterisasinya tentu saja juga dikaji secara detil dalam paper ini.

2. Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah meliputi alat-alat gelas yang biasa ada di dalam laboratorium seperti labu takar, gelas ukur, beaker gelas, pipet volum, pipet mikro dan sebagainya. Disamping itu, mesin *Blender*, Lampu detektor UV, satu set alat maserator, satu set alat Buchi *rotary evaporator*, Neraca analitik, Botol vial, Spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis), *Fourier-transformed infrared* (FT-IR), *Liquid chromatography-Mass spectrometer* (LC-MS), *Particles size analyzer* (PSA), *Magnetic stirrer*, Autoklaf, Spreader, kertas saring, inkubator, *Laminar air flow box*, dan Cawan petri. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi tiga, yang pertama adalah bahan untuk proses ekstraksi/maserasi yaitu etanol (C_2H_5OH) dan kloroform ($CHCl_3$), kedua nya berkualitas teknis, yang kedua adalah bahan untuk proses pengaraman (*salting out*) yaitu asam klorida (HCl) 37% dan larutan amoniak (NH_4OH), dan yang ketiga

adalah bahan untuk proses elusi yaitu etil asetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), aseton ($\text{CH}_3\text{CO}-\text{CH}_3$) dan campuran kloroform:etil asetat 9:2. Semua bahan tersebut berkualitas *pure analysis* (p.a) kecuali yang untuk proses ekstraksi. Semua bahan kimia itu diproduksi Sigma Aldrich Germany. Disamping itu juga digunakan plat KLT preparatif silika gel GF₂₅₄, pereaksi Dragendorff untuk uji adanya alkaloid pada plat KLT, Aquabides dan *virgin coconut oil* (VCO) untuk pembuatan nanopartikel, kultur bakteri *E. coli* maupun *S. aureus*, *nutrient agar* untuk pembuatan Kultur padat bakteri, dan tetrasiklin klorida untuk kontrol positif biakan bakteri.

Ekstraksi

Rimpang lengkuas merah sebanyak 1,8 kg diiris tipis, dikeringkan dan dibuat serbuk. Serbuk sebanyak 870 g direndam di dalam Etanol 70% (proses maserasi) selama 24 jam secara berulang dengan penggantian pelarut hingga diperoleh larutan bening. Larutan ini disebut ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang diharapkan mengandung alkaloid.

Uji Fitokimia

Serbuk kering rimpang lengkuas merah maupun ekstrak etanol dari rimpang tersebut selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui adanya atau tidak adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin. Sampel yang mengandung alkaloid saja yang kemudian dilakukan isolasi dan penelitian lebih lanjut.

Isolasi Alkaloid

Terhadap ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dilakukan penggaraman dengan penambahan HCl 2 M hingga pH 3, kemudian diekstraksi menggunakan pelarut kloroform sebanyak 3 kali. Ekstrak ini selanjutnya ditambah NH_4OH hingga pH 10 dan diekstraksi kembali dengan kloroform sebanyak 3 kali. Lapisan kloroform kemudian dipekatkan dengan *Buchi rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak alkaloid total. Setelah itu, senyawa-senyawa organik yang terdapat di dalam ekstrak alkaloid ini dipisahkan dengan menggunakan plat KLT silika gel GF₂₅₄ dan eluen kloroform : etil asetat (9:2). Noda yang terbentuk diambil dengan cara dikerok untuk dilakukan uji kandungan alkaloid total menggunakan pereaksi Dragendorff. Sampel yang positif mengandung alkaloid dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif silika gel GF₂₅₄ dan eluen kloroform:etil asetat (9:2) lagi. Isolat yang positif merupakan alkaloid dilakukan uji kemurnian dengan metoda KLT satu dimensi maupun dua dimensi. Dalam hal KLT satu dimensi digunakan berbagai eluen tunggal dengan tingkat kepolaran yang bervariasi, yaitu aseton, kloroform, etil asetat, etanol dan campuran kloroform : etil asetat 9:2. Sedangkan untuk KLT dua dimensi hanya digunakan eluen campuran kloroform:etil asetat 9:2 saja. Sampel merupakan senyawa tunggal (alkaloid murni) jika pada plat KLT terbentuk satu noda.

Analisis Struktur Alkaloid

Untuk mengetahui struktur isolat alkaloid yang diperoleh dilakukan elusidasi struktur dengan pendekatan spektroskopik menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan LC-MS.

Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Alkaloid

Ekstrak etanol alkaloid rimpang lengkuas merah dengan konsentrasi 2000 ppm (2 g/L) dalam akuabides dan ditambah VCO beberapa tetes sebagai stabiliser. Campuran ini kemudian diagitasi dengan gelombang suara frekwensi tinggi (*ultrasonic* 40 kHz, 50×2 watt) pada suhu 50°C selama 20 menit. Ukuran partikel yang terbentuk dianalisis dengan PSA. Partikel ini merupakan nanopartikel ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang mengandung alkaloid (EEAlkNPs).

Uji Aktivitas Antibakteri

Sifat antibakteri sampel yang berupa ekstrak etanol alkaloid normal (EEAlk) maupun yang berupa nanopartikel ekstrak etanol alkaloid (EEAlkNPs) diklarifikasi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Dalam hal ini, konsentrasi larutan EEAlk bervariasi sebesar 5000, 3000 dan 2000 g/L, sedangkan konsentrasi EEAlkNPs bervariasi sebesar 2000, 1000 dan 500 g/L, dengan kontrol positif tetrasiklin 100 g/L. Kultur bakteri yang sudah diremajakan dan dibiakan pada *nutrient agar* padat yang mengandung sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar dalam ruang steril.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil preparasi sampel lengkuas merah adalah berupa serbuk kering sebanyak 870 g. Sampel dibuat dalam bentuk serbuk guna memperbesar luas permukaan sehingga memudahkan molekul-molekul pelarut menerobos masuk kedalam jaringan lengkuas merah dan mengambil senyawa-senyawa golongan alkaloid keluar dari jaringannya selama proses maserasi berlangsung. Adapun hasil uji penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah secara kualitatif ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1: Hasil uji fitokimia rimpang lengkuas merah

Jenis Senyawa	Serbuk	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Fenolik	-	-
Triterpen	+	+
Steroid	+	+
Saponin	+	+

+ : berarti senyawa tersebut ada

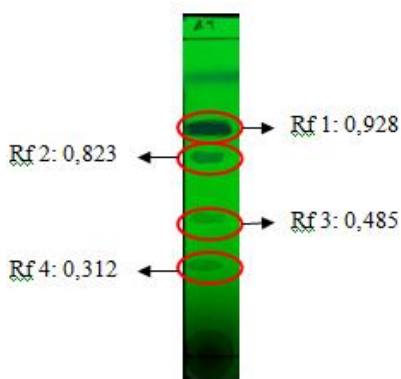
: berarti senyawa tersebut tidak ada

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada serbuk dan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpen. Data ini mirip dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Subramanian [12].

Mereka melaporkan bahwa ekstrak etanol dari rimpang *Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil maserasi serbuk rimpang lengkuas merah diperoleh 6 liter maserat etanol berwarna coklat kemerahan. Maserasi ini bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder rimpang lengkuas merah. Maserasi secara berulang dilakukan untuk memaksi-malkan proses pengambilan senyawa sehingga semua senyawa dari rimpang lengkuas merah terlarut dalam etanol. Hasil pemekatan maserat etanol rimpang lengkuas merah dengan *Buchi rotary evaporator* adalah berupa ekstrak etanol coklat kehitaman sebanyak 38 g, ini berarti rendemennya sekitar 4,6 %.

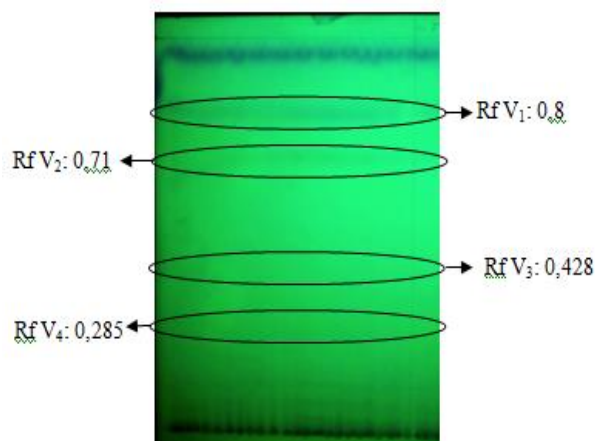
Selanjutnya alkaloid dapat diambil dengan cara mengubahnya menjadi garam alkaloid menggunakan asam klorida sehingga terbentuk dua lapisan, lapisan atas merupakan lapisan etanol, mengandung jauh lebih banyak garam alkaloid, dan lapisan bawah yang merupakan lapisan kloroform, mengandung lebih sedikit garam alkaloid. Lapisan etanol ini kemudian dipisahkan dari lapisan kloroform dan dibasakan kembali menggunakan larutan amoniak untuk menghidrolisis garam alkaloid menjadi senyawa alkaloid bebas. Alkaloid yang telah bebas bersifat sedikit polar sehingga dapat larut ke dalam lapisan kloroform. Oleh karena itu untuk mendapatkan alkaloid, lapisan etanol ini ditambah kloroform sehingga terbentuk dua lapisan dimana alkaloid akan berada di lapisan kloroform. Setelah kloroform diuapkan, diperoleh ekstrak alkaloid total sebanyak 3 g, yang berarti rendemennya sekitar 0.363 %.

Hasil KLT terhadap ekstrak alkaloid total ini diperoleh 4 noda dengan $Rf_1 = 0.928$, $Rf_2 = 0.823$, $Rf_3 = 0.485$ dan $Rf_4 = 0.312$ seperti yang ditampilkan pada Gambar 1. Setelah dilakukan uji penampak bercak dengan pereaksi Dragendorf dapat diketahui bercak yang positif merupakan alkaloid adalah yang memberikan warna merah bata, yaitu bercak pertama dengan $Rf = 0.928$. Rf merupakan waktu retensi senyawa pada plat KLT yang dihitung dengan rumus $Rf = L_n/L_b$ dimana L_n adalah jarak perjalanan noda dari titik totolan sampai berhentinya noda, L_b adalah panjang batas lintasan noda pada plat KLT yang telah ditentukan (jarak batas atas-batas bawah), $L_n < L_b$.



Gambar 1. Hasil KLT ekstrak alkaloid dengan eluen kloroform : etil asetat (9:2), diamati dengan sinar UV panjang gelombang (λ) 254 nm.

Bercak/noda pertama ($Rf = 0.928$) itu selanjutnya dikerok, dilarutkan kedalam kloroform, disaring dan dilakukan KLT preparatif pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ berukuran 20 cm×20 cm menggunakan eluen yang paling sesuai, yaitu campuran kloroform:etil asetat (9:2). Hasil pemisahan dengan KLT preparatif ini adalah munculnya empat pita yang dikode sebagai V_1 , V_2 , V_3 , dan V_4 seperti yang ditunjukkan pada gambar 2. Gambar 2 menunjukkan sampel yang diperoleh dari noda 1 ($Rf = 0,928$) pada Gambar 1 ternyata masih memberikan empat pita pada plat KLT preparatif. Hal ini mengindikasikan bahwa di dalam sampel tersebut terdapat empat kelompok senyawa golongan alkaloid.



Gambar 2. Hasil KLT preparatif ekstrak alkaloid total dengan eluen kloroform : etil asetat (9:2), diamati dengan sinar UV panjang gelombang (λ) 254 nm.

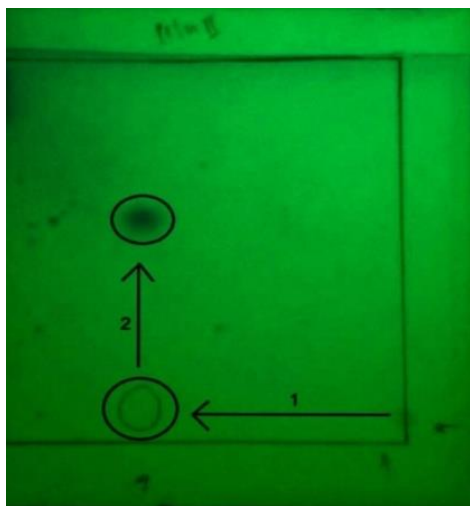
Dalam hal ini kita fokus untuk menginvestigasi lebih lanjut senyawa alkaloid yang memberikan pita V_1 ($Rf = 0,8$), yakni senyawa dengan Rf yang paling mendekati $Rf = 0,928$ pada Gambar 1.

Tabel 2: Hasil Uji Kemurnian Pita V_1

Eluen	Jumlah noda	Rf
Aseton	1 noda hijau gelap	0,93
Etil asetat	1 noda hijau gelap	0,67
Kloroform	1 noda hijau gelap	0,31
Metanol	1 noda hijau gelap	0,88
Kloroform:Etil asetat (9:2)	1 noda hijau gelap	0,83

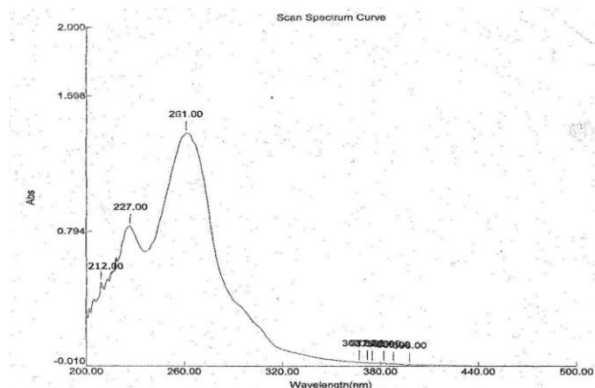
Pita V_1 itu dikerok, dilarutkan ke dalam kloroform, disaring dan dilakukan KLT satu dimensi maupun dua dimensi menggunakan berbagai variasi tingkat kepolaran eluen untuk mengklarifikasi apakah ia merupakan senyawa alkaloid tunggal atau masih merupakan campuran. Hasil uji kemurnian isolat pita V_1 ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan isolat pita V_1 pada Gambar 2 selalu memberikan satu noda ketika dielus dengan berbagai variasi kepolaran pelarut. Hasil KLT dua dimensi terhadap isolat V_1 ini dengan eluen kloroform:etil asetat (9:2) dan dengan eluen etil asetat saja ditampilkan pada gambar 3.



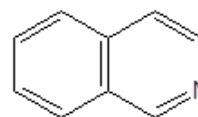
Gambar 3. Hasil KLT dua dimensi isolat pita V₁ dengan (1) eluen pertama kloroform:etil asetat (9:2) dan (2) eluen kedua etil asetat. Diamati dengan lampu UV panjang gelombang (λ)=254 nm.

Hasil KLT dua dimensi menunjukkan noda tunggal dengan eluen pertama kloroform:etil asetat (9:2) dan setelah diputar 90° dan dielusi kembali dengan etil asetat tetap menunjukkan noda tunggal. Data pada Tabel 2 dan Gambar 3 meyakinkan kita bahwa isolat pita V₁ merupakan senyawa murni golongan alkaloid. Isolat pita V₁ yang berhasil dikoleksi sebanyak 12 mg dengan, ini berarti rendemennya sekitar 0,0014% jika dihitung dari massa awal sampel. Selanjutnya, ketika isolat V₁ dilarutkan kedalam metanol dan dianalisis dengan spektrometer UV-Vis pada panjang 200–600 nm memberikan dua puncak maksimum panjang gelombang (λ maks), yakni 227 nm dan 261 nm seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.



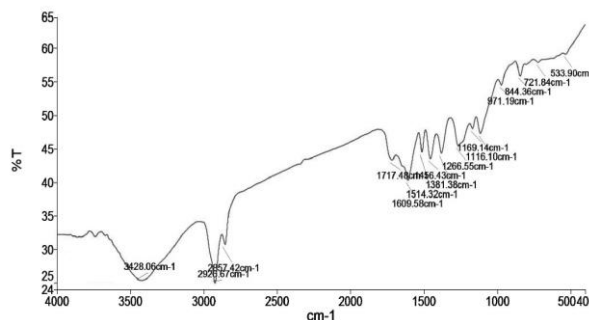
Gambar 4. Spektrogram UV-Vis Isolat pita V₁

Dalam kasus ini, λ maks 261 nm dihasilkan oleh energi eksitasi elektron π (π) yang terdapat pada orbital ikatan π (π) ke orbital anti ikatan π^* (π^*) sistem terkonjugasi struktur aromatik. Sementara itu λ maks 227 nm dihasilkan oleh eksitasi elektron bebas (*non bonding electrons*) yang terdapat pada orbital tak ikatan ke orbital anti ikatan π^* (π^*). Dalam konteks ini, struktur molekul yang memiliki ketiga jenis orbital itu, yaitu orbital ikatan π aromatis, orbital tak ikatan dan orbital anti ikatan π aromatis adalah senyawa golongan alkaloid yang memiliki struktur dasar isokuinolin gambar 5.



Gambar 5. Kerangka dasar alkaloid isokuinolin

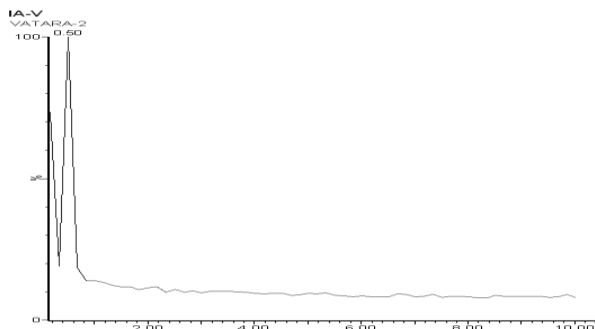
Terlihat dengan jelas pada Gambar 5 bahwa isokuinoline memiliki 10 elektron π yang menempati lima orbital π yang salah satunya adalah π C–N, empat lainnya π C–C. Disamping itu isokuinoline juga memiliki sepasang elektron bebas yang terletak pada orbital atom nitrogen yang tidak berikatan. Keadaan ini berarti sesuai dengan data spektra UV-Vis gambar 4. Lebih lanjut, hasil analisis isolat V₁ menggunakan spektrofotometer FTIR ditampilkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektrogram FTIR Isolat Pita V₁

Berdasarkan Silverstein *dkk.* [13] spektrogram gambar 6 ini dapat diinterpretasi sebagai berikut, puncak bilangan gelombang (ν) 3428,06 cm^{-1} merupakan spektra vibrasi ulur simetris ikatan O–H. Sedangkan ν 2926,67 cm^{-1} dan 2857,42 cm^{-1} berturut-turut merupakan spektra vibrasi ulur C–H asimetri dan simetri. Sementara vibrasi tekuk ikatan C–H ini muncul pada ν 1456,43 cm^{-1} dan 1381,38 cm^{-1} . Selanjutnya, ν 1717,48 cm^{-1} dan 1169,14 cm^{-1} berturut-turut merupakan spektra vibrasi ulur ikatan C=O dan C–O. Muncul pula ν 1514,32 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur ikatan C=N dalam kerangka, ν 1609,58 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur ikatan C=C aromatis. Demikian pula ν 971,19; 844,36 dan 721,54 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk ikatan C–H aromatis keluar bidang.

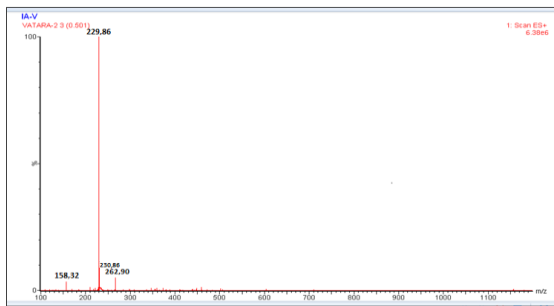
Selanjutnya, hasil analisis isolat pita V₁ menggunakan LC-MS ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Kromatogram LC isolat pita V₁

Gambar 7 ini menunjukkan bahwa isolat pita V₁ masih merupakan campuran dua senyawa golongan alkaloid berstruktur dasar isokuinolin sesuai dengan

munculnya dua puncak kromatogram. Terlihat intensitas yang lebih tinggi ditunjukkan oleh puncak kedua dengan waktu retensi 0,50 menit. Puncak kedua ini memberikan spektrogram massa seperti pada Gambar 8.

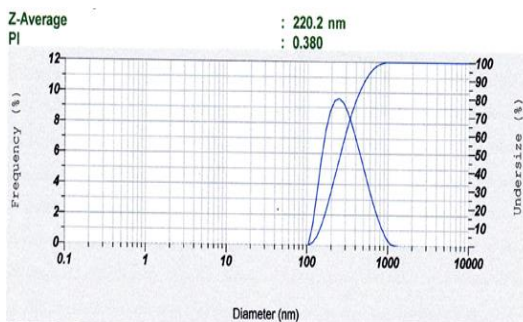


Gambar 8. Spektrogram massa puncak kedua gambar 7

Terlihat pada Gambar 8 puncak dengan protonasi ion molekular $[M]^+$ m/z 262.90. Ini berarti berat molekul senyawa alkaloid tersebut adalah 262,90 g/mol.

Dilain fihak, hasil pembuatan nano-partikel ekstrak etanol alkaloid rimpang lengkuas merah (EEAlkNPs) diperoleh larutan yang lebih keruh dibandingkan sampel ekstrak etanol normal (mula-mula). Mekanisme pembentukan EEAlkNPs dengan metoda *top-down approach* menggunakan ultrason ini diawali oleh terjadinya ruang kosong (kavitasi) pada medium sebesar satu molekul air karena rusaknya ikatan H–O–H akibat paparan gelombang ultrasonik yang merambat di dalam medium air yang bersangkutan [14]. Pada saat ruang kosong itu terbentuk, kumpulan molekul alkaloid ekstrak etanol menempel pada dinding bagian luar ruang kosong dan distabilkan oleh adanya molekul-molekul penyusun VCO. Bersamaan dengan itu, udara yang terlarut didalam medium terserap kedalam ruang kosong secara terus menerus secara difusi dan menyebabkan ukuran ruang kosong semakin membesar hingga mencapai titik kritis dan meledak. Ledakan ini menghamburkan molekul-molekul alkaloid yang kemudian terdispersi secara sempurna kedalam sistem water/oil (w/o) yang distabilkan oleh molekul-molekul VCO membentuk partikel-partikel alkaloid berukuran nano, yang dalam penelitian ini disebut EEAlkNPs.

Hasil analisis ukuran EEAlkNPs menggunakan alat particles size analyzer (PSA) ditampilkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil analisis ukuran nanopartikel ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan PSA

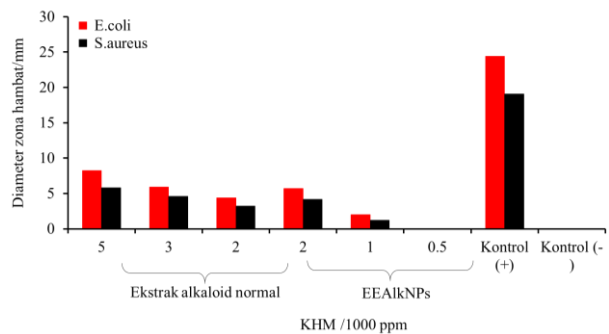
Gambar 9 menunjukkan bahwa ukuran rata-rata partikel EEAlkNPs secara keseluruhan (*Z-average*) adalah 220,2 nm dengan indeks polidispersi (PI) 0,380. Meskipun begitu, kurva distribusi ukuran partikel EEAlkNPs tersebut mengindikasikan bahwa sebenarnya populasi partikel itu bervariasi antara 100 nm hingga 1000 nm. Dari sejumlah populasi partikel EEAlkNPs itu lebih dari 65% mempunyai ukuran rata-rata 220,2 nm.

Lebih lanjut, hasil uji sifat antibakteri terhadap ekstrak etanol rimpang lengkuas merah berukuran normal maupun terhadap EEAlkNPs ditampilkan pada Tabel 3. Terlihat pada tabel ini bahwa sifat antibakteri kedua sampel tersebut, yang diungkapkan dengan nilai konsentrasi hambat pertumbuhan bakteri minimum (KHM) untuk bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), adalah berbeda secara signifikan.

Tabel 3: Hasil uji sifat antibakteri ekstrak alkaloid normal dan EEAlkNPs

KHM Sampel (ppm)	Diameter Zona Hambat								
	<i>E. coli</i>				<i>S. aureus</i>				
	1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata	
Ekstrak Alkaloid normal									
5000	8,2	8	8,5	8,23	5,3	6,1	6	5,80	
3000	6	5,9	5,8	5,9	4,4	5	4,6	4,6	
2000	4,1	4,8	4,3	4,4	3,5	3	3,2	3,23	
EEAlkNPs									
2000	5,4	5,8	5,9	5,7	4,1	4,1	4,3	4,16	
1000	2,2	2	1,9	2,03	1	1,5	1,2	1,23	
500	-	-	-	-	-	-	-	-	
Kontrol (+)	24,5	24,2	24,6	24,43	19	18,5	19,1	19,06	
Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	

Dalam kasus ini, tampak untuk KHM yang sama, yaitu 2000 ppm, zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstrak alkaloid normal terhadap *E.coli* dan *S.aureus* secara berturut-turut adalah rata-rata 4,4 mm dan 3,23 mm. Sementara itu, zona hambat yang ditimbulkan oleh EEAlkNPs terhadap kedua bakteri tersebut secara berturut-turut adalah 5,7 mm dan 4,16. Ini berarti EEAlkNPs memiliki sifat antibakteri yang lebih baik dibanding ekstrak alkaloid ukuran normalnya, terutama pada KHM 2000 ppm. Perbandingan sifat antibakteri antara ekstrak alkaloid normal dan EEAlkNPs secara lebih lengkap dapat ditampilkan dalam bentuk grafik seperti pada Gambar 10.



Gambar 10. Perbandingan sifat antibakteri antara ekstrak alkaloid normal dan EEAlkNPs terhadap *E.coli* dan *S.aureus*.

Terlihat pada Gambar 10 bahwa baik ekstrak alkaloid normal maupun EEAlkNPs lebih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* (gram negatif) dibanding bakteri *S.aureus* (gram positif) untuk setiap konsentrasi sampel yang diuji.

4. Kesimpulan

Isolasi senyawa alkaloid rimpang lengkuas merah yang memiliki struktur dasar isokuinolin berhasil dilakukan dengan menggunakan etanol. Demikian pula pembuatan nanopartikel ekstrak etanol alkaloid (EEAlkNPs) juga berhasil dilakukan dengan baik. Sifat antibakteri alkaloid dalam bentuk nanopartikelnya meskipun masih sebagai ekstrak etanol (EEAlkNPs) lebih baik dibanding masih dalam bentuk dan ukuran molekul normalnya, baik terhadap bakteri *E.coli* maupun *S.aureus*.

5. Daftar Pustaka

- [1] Narayan Das Prajapathi, S. S. Purohit, Arun K. Sharma, Tarun Kumar, A handbook of medicinal plants: A complete source book, Agrobios, India, 2003.
- [2] KP Kochuthressia, S John Britto, MO Jaseentha, L Joelri Michael Raj, SR Senthilkumar, Antimicrobial efficacy of extracts from *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. against human pathogenic bacteria and fungi, *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 6, (2010) 1249-1252 <http://dx.doi.org/10.5251/abjna.2010.1.6.1249.1252>
- [3] Chinthamony Arul Raj, Paramasivam Ragavendran, Dominic Sophia, Muthaiyan Ahalliya Rathi, Velliyur Kanniappan Gopalakrishnan, Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of *Alpinia purpurata*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10, 4, (2012) 263-268 [http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(12\)60053-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(12)60053-3)
- [4] Ayu Ni'mah Azifa, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah, Identifikasi Senyawa Sitotoksik dalam Ekstrak Kloroform Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan GC-MS, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 1, (2014) 23-26
- [5] Ika Pratiwi Khosimah Adinata, Khairul Anam, Dewi Kusriani, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Aktif Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Uji Aktivitas Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 2, (2013) 42-45
- [6] KR Subash, Bhaarathi G Muthulakshmi, Rao N Jagan, Vargheese Cheriyan Binoy, Phytochemical screening and acute toxicity study of ethanolic extract of *Alpinia galanga* in rodents, *International Journal of Medical Research and Health Sciences*, 2, 1, (2013) 93-100
- [7] Hasnah Mohd Sirat, Md Liamen, Chemical constituents of *Alpinia purpurata*, *Pertanika Journal of Science & Technology*, 3, 1, (1995) 67-71
- [8] Ratna Susilaningasih, Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*), Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [9] Ravichandran Veerasamy, Tiah Zi Xin, Subashini Gunasagaran, Terence Foo Wei Xiang, Eddy Fang Chou Yang, Nelson Jeyakumar, Sokkalingam Arumugam Dhanaraj, Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities, *Journal of Saudi Chemical Society*, 15, 2, (2011) 113-120 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.004>
- [10] R. Kelmani Chandrakanth, C. Ashajyothi, A. K. Oli, C. Prabhurajeshwar, Potential Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles Synthesised from Enterococcus Species, *Oriental Journal of Chemistry*, 30, 3, (2014) 1253-1262 <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300341>
- [11] Huanhuan Li, Quansheng Chen, Jiewen Zhao, Khulal Urmila, Enhancing the antimicrobial activity of natural extraction using the synthetic ultrasmall metal nanoparticles, *Scientific reports*, 5, (2015) 11033 <http://dx.doi.org/10.1038/srep11033>
- [12] Vadivel Subramanian, Evaluation of antioxidant activity of *Alpinia purpurata* rhizome (Vieill), *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 2, 4, (2016) 601-607
- [13] Robert M Silverstein, G Clayton Bassler, Terence C Morrill, Spectroscopic identification of organic compounds, Wiley, New York, (1981) 196
- [14] Inbar Yariv, Anat Lipovsky, Aharon Gedanken, Rachel Lubart, Dror Fixler, Enhanced pharmacological activity of vitamin B12 and penicillin as nanoparticles, *International journal of nanomedicine*, 10, (2015) 3593