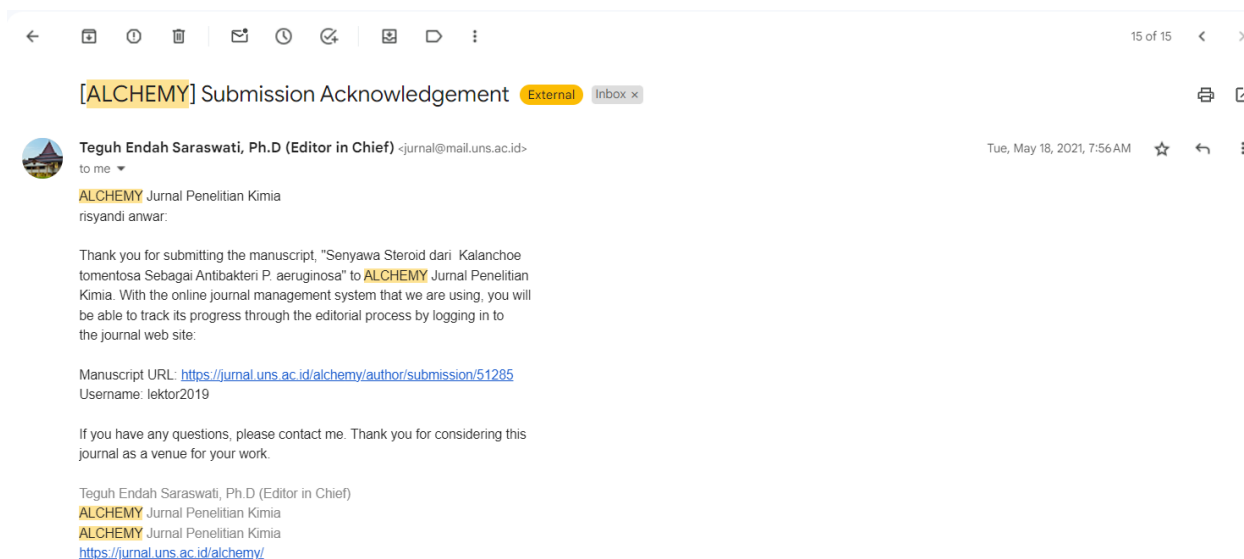


BUKTI KORESPONDENSI


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

- | | |
|--|---------------------------|
| 1. Pengiriman Artikel dan balasan dari jurnal | Tanggal 18 Mei 2021 |
| 2. Permintaan pembuatan pernyataan prereview | Tanggal 1 Juni 2021 |
| 3. Artikel harus direvisi sesuai arahan reviewer | Tanggal 6 Agustus 2021 |
| 4. Pengiriman hasil perbaikan | Tanggal 8 Agustus 2021 |
| 5. Redaksional akhir /proof reading artikel | Tanggal 2 September 2021 |
| 6. Pembayaran biaya proses artikel Publikasi | Tanggal 9 September 2021 |
| 7. Artikel Publish | Tanggal 22 September 2021 |

1. Pengiriman artikel ke jurnal dan ucapan dari pengelola jurnal



← [ALCHEMY] Submission Acknowledgement External Inbox x 15 of 15 < >

 **Teguh Endah Saraswati, Ph.D (Editor in Chief)** <jurnal@mail.uns.ac.id>
to me ▾ Tue, May 18, 2021, 7:56 AM ☆ ↶ ⋮

ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
risyandi anwar:

Thank you for submitting the manuscript, "Senyawa Steroid dari *Kalanchoe tomentosa* Sebagai Antibakteri *P. aeruginosa*" to **ALCHEMY** Jurnal Penelitian Kimia. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/author/submission/51285>
Username: lektor2019

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Teguh Endah Saraswati, Ph.D (Editor in Chief)
ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
<https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/>

2. Permintaan pembuatan pernyataan pre review

14 of 15 < >

[ALCHEMY] Results of preliminary review External Inbox x

Teguh Endah Saraswati, Ph.D (Editor in Chief) <jurnal@mail.uns.ac.id> to me Tue, Jun 1, 2021, 10:33 AM ☆ ↶ ⋮

ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
Dear authors,

Thank you for submitting your work to **Alchemy** Jurnal Penelitian Kimia.

However, Surat Pernyataan (letter of statement) has not been submitted. It is mandatory to upload Surat Pernyataan as a supplementary file. Therefore, please upload "Surat Pernyataan (letter of statement)" as a supplementary file or you may send it to alchemy@mipa.uns.ac.id before Jun 8, 2021.

You may find the template on the left side menu of **Alchemy** website. Please do not hesitate to contact us at alchemy@mipa.uns.ac.id should you need assistance.

Best regards,
Teguh Endah Saraswati (Ph.D)
ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
<https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/>
ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
<https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/>

3. Permintaan revisi artikel sesuai dengan arahan reviewer

11 of 15 < >

[ALCHEMY] Editor Decision External Inbox x

Teguh Endah Saraswati, Ph.D (Editor in Chief) <jurnal@mail.uns.ac.id> to me Fri, Aug 6, 2021, 3:13 PM ☆ ↶ ⋮

ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
risyandi anwar.

Your article submitted to **ALCHEMY** Jurnal Penelitian Kimia, entitled of "Senyawa Steroid dari *Kalanchoe tomentosa* Sebagai Antibakteri *P. aeruginosa*" has pass peer review system. The review result can be accessed by login by using your username and password.
Your article needs to be revised as suggested by reviewers.

a. Please send also a list of corrections based on the reviewer's comments. Any changes in your articles should be marked with red fonts or highlights.


b. Please send the revised article including the author's response and similarity report (checked by Turnitin or iThenticate) within 3 weeks.


Dr. Triana Kusumaningsih
(SCOPUS ID : 36053216800), Chemistry Department,
Sebelas Maret University
[triana_kusumaningsih@staff.uns.ac.id](mailto: triana_kusumaningsih@staff.uns.ac.id)
Chief Editor **Alchemy**
ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia
<https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/>


4. Pengiriman hasil revisi ke jurnal

← 📄 🕒 🗑️ 📧 🕒 🔄 📧 🗑️ ⋮ 10 of 15 < >

bertanya External Inbox x ✕ 🖨️ 🗑️

 **Risyandi Risyandi** <drg.risyandi@unimus.ac.id> Sun, Aug 8, 2021, 9:40 PM ☆ ↶ ⋮
to triana_kusumaningsih ▾
assalamualaikum .selamat malam .saya sudah memperbaiki artikel saya sesuai koreksi dari reviewer 1 dan 2...artikel yang sudah saya perbaiki saya kirimkan lagi kemana dan dan bagaimana caranya...terimakasih


 **Triana Kusumaningsih** <triana_kusumaningsih@staff.uns.ac.id> Mon, Aug 9, 2021, 8:00 AM ☆ ↶ ⋮
to me ▾
[Translate to English](#) ✕
Walaikum salam bapak. Lewat sistem <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy>
...

 **Triana Kusumaningsih** <triana_kusumaningsih@staff.uns.ac.id> Mon, Aug 9, 2021, 8:13 AM ☆ ↶ ⋮
to me ▾
[Translate to English](#) ✕
sekiranya lewat sistem tidak bisa silahkan via email ke alchemy@mipa.uns.ac.id



Salam: Triana K / 081227051745
...

← 📄 🕒 🗑️ 📧 🕒 🔄 📧 🗑️ ⋮ 8 of 15 < >

Archive
artikel hasil perbaikan dan hasil cek plagiasi 🖨️ 🗑️

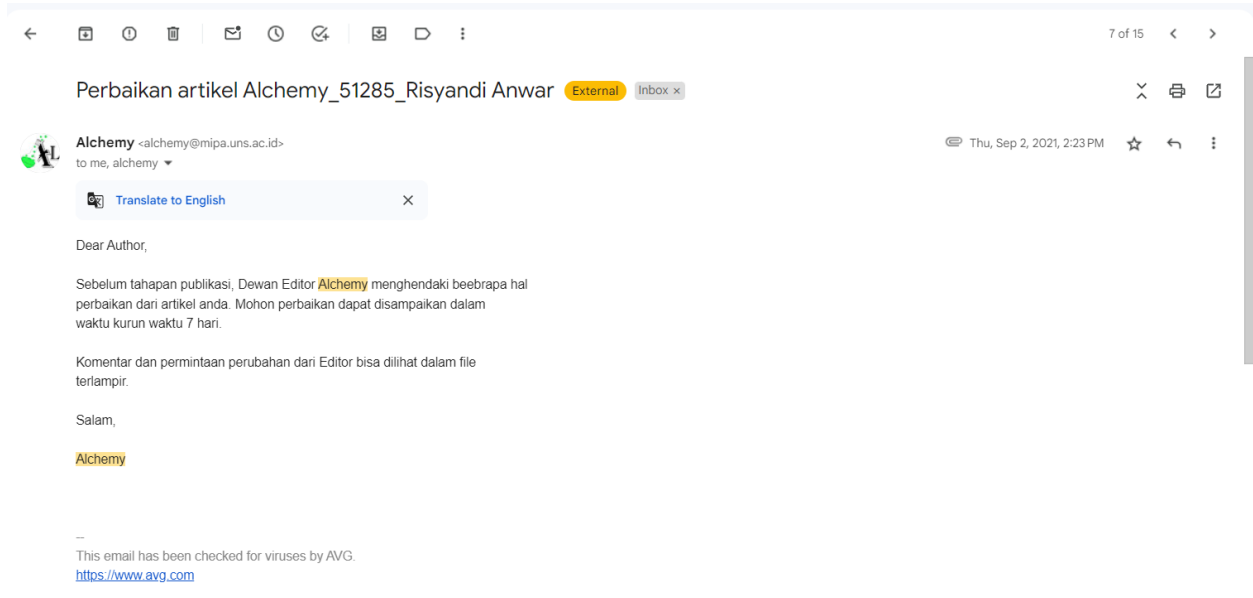
 **Risyandi Risyandi** <drg.risyandi@unimus.ac.id> Sun, Aug 22, 2021, 11:30 AM ☆ ↶ ⋮
to alchemy ▾

2 Attachments • Scanned by Gmail 🕒 📄 🗑️

↶ Reply ↷ Forward

5. Permintaan perbaikan akhir/ proof reading



Perbaikan artikel Alchemy_51285_Risyandi Anwar External Inbox x

Alchemy <alchemy@mipa.uns.ac.id>
to me, alchemy

Thu, Sep 2, 2021, 2:23 PM

[Translate to English](#)

Dear Author,

Sebelum tahapan publikasi, Dewan Editor **Alchemy** menghendaki beberapa hal perbaikan dari artikel anda. Mohon perbaikan dapat disampaikan dalam waktu kurun waktu 7 hari.

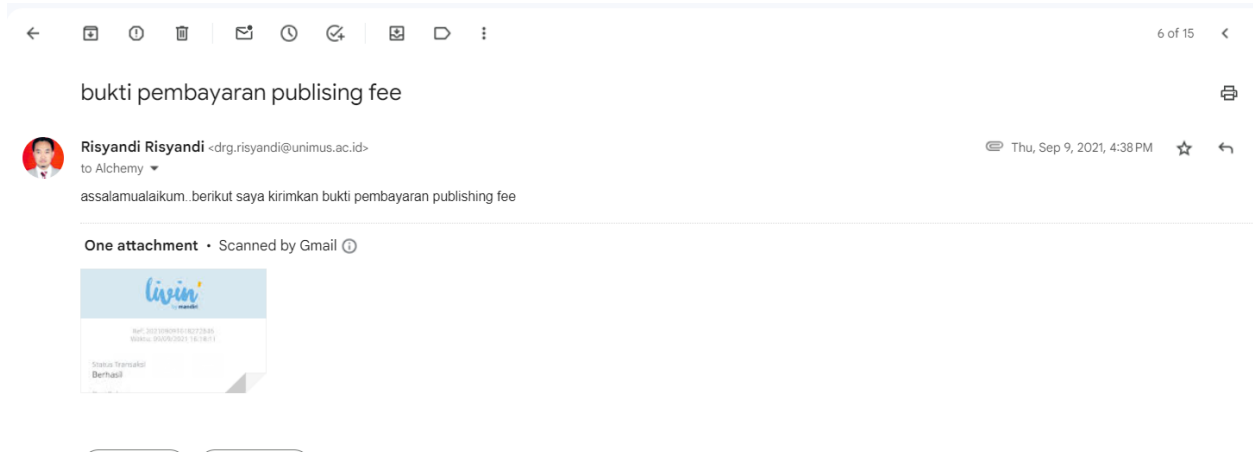
Komentar dan permintaan perubahan dari Editor bisa dilihat dalam file terlampir.

Salam,

Alchemy

This email has been checked for viruses by AVG.
<https://www.avg.com>

6. Pengiriman bukti pembayaran publikasi




bukti pembayaran publising fee

Risyandi Risyandi <drg.risyandi@unimus.ac.id>
to Alchemy

Thu, Sep 9, 2021, 4:38 PM

assalamualaikum..berikut saya kirimkan bukti pembayaran publising fee

One attachment • Scanned by Gmail



The image shows a bank transfer receipt from Livin' by Mandiri. The receipt includes the bank logo, a QR code, and the text 'Saldo Transaksi Berhasil' (Transaction Balance Successful).

7. Artikel Publish

HOME	ABOUT	CATEGORIES	CURRENT	ARCHIVES	ANNOUNCEMENTS	STATISTICS	INDEXING	IN PRESS
----------------------	-----------------------	----------------------------	-------------------------	--------------------------	-------------------------------	----------------------------	--------------------------	--------------------------

[Home](#) / [User](#) / [Author](#) / [Archive](#)

Archive

[Active](#) [Archive](#)

ID	MM-DD Submit	Sec	Authors	Title	Status
51285	05-18	ART	Anwar, Aisyah, Lestari, Ilfani, Yun,...	Senyawa Steroid dari Cocor Bebek (<i>Kalanchoe tomentosa</i>)...	Vol 17, No 2 (2021): September



Commented [U1]:

Senyawa Steroid dari *Kalanchoe tomentosa* Sebagai Antibakteri *P. aeruginosa*

Risyandi Anwar¹, Lilis Siti Aisyah², Faridia Puspita Lestari², Delia Ilfani², Yenny Febriani Yun², Pebrian Diki Prestya³

¹Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, FKG Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah

²Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Informatika, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi

³Departemen Bedah Mulut, FKG Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah

* Corresponding author

Email: drg.risyandi@unimus.ac.id

DOI:

Received, Accepted, Published

ABSTRAK

Plak merupakan lapisan tipis tidak berwarna yang melekat erat pada permukaan gigi serta mengandung kumpulan bakteri. Salah satu bakteri yang dapat membentuk plak gigi adalah *Porphyromonas aeruginosa*. Tanaman *Kalanchoe tomentosa* mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Tahapan penelitian diawali dengan maserasi menggunakan *n*-heksan dan diklorometan. Ekstrak diklorometan dipisahkan menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat bergradien kemudian di rekristalisasi dengan *n*-heksan, hasil rekristalisasi didapatkan isolat 1. Isolat 1 dikarakterisasi dengan spektroskopi IR, dan ¹HNMR serta dibandingkan dengan literatur. Isolat 1 diketahui merupakan stigmast-5-en-3 β -ol atau β -sitosterol. Pada ekstrak diklorometan dan senyawa β -sitosterol kemudian ditentukan aktivitas antibakteri secara mikrodilusi didapatkan hasil bahwa ekstrak diklorometan dan senyawa β -sitosterol bukan hanya menunjukkan sifat bakteriostatik tetapi juga bakterisid kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) <100 μ g/mL.

Kata kunci : plak, *Kalanchoe tomentosa*, β -sitosterol, bakteriostatik

ABSTRACT

Plaque is a thin, colorless layer that adheres tightly to the surface of the teeth and contains a collection of bacteria. One of the bacteria that can form dental plaque is *Porphyromonas aeruginosa*. *Kalanchoe tomentosa* contain secondary metabolite which can be used as antibacterial. Stages of the study begin with maceration using *n*-hexane and dichloromethane. Dichloromethane extract was separated using Vacuum Liquid Chromatography (KCV) using *n*-hexane and ethyl acetate solvents and then recrystallized with *n*-hexane, the recrystallization results were obtained by isolate 1. Isolate 1 was marked by IR spectroscopy, and ¹HNMR and compared with literature. Isolate 1 is known as stigmast-5-en-3 β -ol or β -sitosterol. In dichloromethane extracts and β -sitosterol is determined by microdilution by microdilution. The results showed that dichloromethane extract and β -sitosterol compound not only showed strong bacteriostatic but also bactericidal activity against *P. aeruginosa* with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) <100 μ g / mL.

Keywords: Plaque, *Kalanchoe tomentosa*, β -sitosterol, bacteriostatic

Commented [U2]: direkristalisasi

Commented [U3]: Tambahkan spektroskopi UV

Commented [U4]: Tambahkan spektroskopi UV

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit periodontal **didunia** 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% (Kemenkes, 2018)

Commented [U5]: di dunia

Commented [U6]: tidak ada di daftar pustaka

Masalah tersebut bersumber karena terbaikannya kebersihan gigi dan mulut sehingga berakibat terjadinya akumulasi plak. Plak bukanlah suatu penyakit gigi akan tetapi bisa menjadi penyebab lokal dari terjadinya berbagai kasus penyakit gigi dan mulut (Marsh *et al*, 2015). Plak merupakan lapisan tipis tidak berwarna yang melekat erat pada permukaan gigi serta mengandung kumpulan bakteri (Murakami *et al*, 2018). Salah satu bakteri yang dapat membentuk plak gigi adalah *Porphyromonas aeruginosa* (Souto *et al*, 2018; Rivas *et al*, 2015).

Commented [U7]:

Commented [U8]: tidak ada di daftar pustaka

Kumpulan bakteri tersebut akan berkembang biak dan melekat erat pada permukaan gigi yang tidak dibersihkan dan tidak dapat di hilangkan dengan berkumur air saja. Berbagai upaya pengendalian plak dilakukan dengan tujuan untuk mencegah dan membuang penumpukan plak pada permukaan gigi dan gusi (Van der Weijden *et al*, 2015). Pembersihan plak dapat dilakukan seperti menggosok gigi, penggunaan benang gigi, dan penggunaan pasta gigi. 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). Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik memberikan peluang besar untuk mendapatkan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari kekayaan keanekaragaman hayati (Lee *et al*, 2013). Selain itu seiring perkembangan zaman dengan melimpahnya sumber alam, dalam perkembangan ilmu bahan kedokteran gigi ini banyak dilakukan penelitian-penelitian dengan memanfaatkan sumber alam yang banyak manfaatnya bagi dunia kedokteran khususnya dalam dunia kedokteran gigi (Gyawali *et al*, 2017; Sakagami and Tomomura, 2018).

Commented [U9]: Gyawali and Ibrahim
Di daftar pustaka tahun 2014 bukan 2017

Indonesia merupakan salah satu negara yang beriklim tropis, sehingga berbagai jenis tumbuhan dapat hidup dan berkembang. Berbagai jenis tumbuhan tersebut diketahui memiliki khasiat sebagai obat tradisional (Porras *et al*, 2021). Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat dalam pengobatan tradisional secara turun temurun telah dikenal oleh masyarakat Indonesia karena diyakini memiliki efek penyembuhan terhadap suatu penyakit. Keanekaragaman hayati (*biodiversity*) yang dimiliki Indonesia dapat digunakan sebagai pustaka kimia alam (*chemodiversity*) yang dapat diberdayakan secara maksimal melalui

proses isolasi senyawa aktif maupun skrining bioaktivitasnya (Susiarti *et al*, 2018). Salah satu tanaman yang terdapat di Indonesia dan memiliki khasiat sebagai obat tradisional adalah tanaman *Kalanchoe* (Aisyah *et al*, 2016).

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, diantaranya adalah penelitian dari Saleh (2014), memperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai ekstrak *K. tomentosa* diantara 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 latar belakang diatas perlu dilakukan penelitian pada *Kalanchoe* spesies *K. tomentosa* untuk dapat dieksplorasi kandungan fitofarmakanya mengingat bahwa *K. tomentosa* merupakan salah satu spesies *Kalanchoe* yang belum banyak dieksplorasi dalam hal identifikasi senyawa. Permasalahan yang akan diungkap pada penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder apa yang berhasil diisolasi dari ekstrak diklorometan *K. tomentosa* yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri yang ada pada plak gigi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat gelas laboratorium, satu set alat meserasi, satu set alat KCV, blender, chamber, pipa kapiler, botol-botol vial, neraca analitik, pinset, lampu *Ultraviolet* merk *Vilber Lourmat VL-8.LC*, *rotary evaporator* merk *Heidolph Laborota 4000*, satu set alat kromatografi cair vakum, spektrofotometer Ultraviolet *Hewlett Packard 8453*, Spektrofotometer Inframerah merk *Shimadzu Tipe Prestige-21*, Spektrometer NMR ¹H merk JEOL Tipe JNM-ECA 500 MHz,

Bahan yang digunakan

Daun *Kalanchoe tomentosa*, akuades, aseton (CH₃COCH₃) redest, etil asetat (CH₃COOC₂H₅) redest, diklorometana (CH₂Cl₂) redest, metanol (CH₃OH) redest, *n*-heksana (C₆H₁₄) redest, kloroform (CHCl₃) p.a, plat Kromatografi Lapis Tipis F254 Merck, silika gel Merck 60 (0,2- 0,5 mm), silika gel Merck 60G.

Metode

1. Ekstraksi dan Isolasi

1.1 Ekstraksi

Daun segar *K. tomentosa* sebanyak 20 kg diekstraksi menggunakan pelarut *n*-heksana selama 24 jam. Lakukan pengulangan proses maserasi hingga filtrat tidak berwarna dengan pembuktian kontrol KLT. Kemudian lakukan penyaringan, ekstraksi kembali residu hasil penyaringan dengan cara maserasi menggunakan metilen klorida selama 24 jam. Saring kembali, lakukan pengulangan proses maserasi hingga filtrat tidak berwarna dengan pembuktian kontrol KLT. Lakukan penyaringan, tampung filtrat dan pekatkan menggunakan rotary evaporator untuk menghasilkan ekstrak metilen klorida yang berwarna hijau tua pekat (35 g), kemudian dilakukan uji antibakteri *P. aeruginosa*.

1.2. Isolasi ekstrak diklorometan

Setelah diketahui bahwa ekstrak diklorometan mempunyai sifat antibakteri *P. aeruginosa*, ekstrak diklorometan 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. Kemudian dilakukan uji KLT untuk mengetahui kemurniannya dan dibandingkan dengan senyawa β -sitosterol murni menggunakan eluen *n*-heksan-EtOAc.

2. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pada kolom pertama sebanyak 100 μ L NB dimasukkan ke dalam 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. Dari kolom kedua, diambil 100 μ L 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 NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati. Konsentrasi terendah dimana tidak ada pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KBM.

Commented [U10]: Peralatan uji aktivitas anti bakteri belum ada di daftar alat (pelat mikro, alat vortex). Apakah kepanjangan dari NB, NA, KBM ? buat dalam kurung !

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi dan Isolasi Senyawa

Daun *Kalanchoe tomentosa* dihaluskan dengan bertujuan untuk memperluas permukaan sampel, sehingga pelarut lebih mudah masuk ke dalam jaringan daun dalam mengekstrak senyawa yang terdapat di dalamnya dan 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. Kemudian dilakukan uji antibakteri *P. aeruginosa*. Setelah diketahui bahwa ekstrak diklorometan mempunyai sifat antibakteri *P. aeruginosa* (Tabel. 1), sebanyak 35 g ekstrak diklorometan 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 dan serapan lemah pada 364 nm, hal ini menunjukkan adanya sistem alkena yang tidak terkonjugasi. dan tidak adanya sistem aromatik. Endapan fraksi 5 berupa serbuk putih berbentuk jarum, hasil KLT dibandingkan dengan standar β -sitosterol menunjukkan kesamaan nilai Rf. Endapan 5 dapat diperdiksi sebagai β -sitosterol.



Gambar 1 Perbandingan β sitosterol standar dengan endapan fraksi 5

Hal ini diperkuat dengan data elusidasi struktur dengan menggunakan $^1\text{HNMR}$. Hasil analisis spektrum data $^1\text{HNMR}$ (500 MHz, CDCl_3) isolat 1 memperlihatkan sinyal karakteristik untuk senyawa steroid, dimana hanya terdapat satu sinyal di atas δH 5 ppm, dan terlihat sinyal yang menumpuk pada daerah di bawah δH 2 ppm. Selanjutnya terdapat sinyal yang khas untuk proton olefinik pada δH 5 ppm dan terdapat sinyal proton

Commented [U11]: Tabel. 1 tidak ada
Perbaiki nomor urutan tabel selanjutnya

Commented [U12]: pada

teroksidasi pada δ H 3 ppm yang lazim ditemukan pada golongan senyawa steroid (Darwati, 2019), selain itu karakteristik ditunjukkan pula dengan adanya pergeseran kimia pada δ H 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). 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 (CH_2). 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, 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 , pada δ H 5,35 (1H, t) menunjukkan sinyal proton metin olefinik yang mengindikasikan adanya ikatan rangkap dua pada C-5 (Darwati, 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, 2016). Pada daerah alifatik (substituen pada C-17) terlihat pula beberapa sinyal yang mengindikasikan suatu unit alkana yaitu 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, 2016). Dari pergeseran tersebut kemudian dibandingkan dengan senyawa β -sitosterol (Yun, 2015) dan memiliki banyak kesamaan. Maka dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa β -sitosterol.

Commented [U13]: (Salempa, dkk. 2016)

Commented [U14]: (Salempa, dkk. 2016)

Commented [U15]: di daftar pustaka tahun 2017

Tabel 2. Perbandingan Data $^1\text{HNMR}$ senyawa 1 dan β -Sitosterol

Posisi atom C	Senyawa 1	β -sitosterol*
	$^1\text{HNMR } \delta\text{H (ppm) } (\Sigma\text{H:multiplet : J=Hz})$	
1	0,82 : 0,86 (2H, dd, 10,5 : 5,5)	1,07 : 1,02 (2H,dd, 10,5 :5,5)
2	1,44 : 1,47 (2H, td, 9,5 : 6,0)	1,44 : 1,48 (2H,td,9,5: 6,0)
3	3,49 : 3,55 (1H, m)	3,51 (1H,m)
4	2,23 : 2,31 (2H, m)	2,22 : 2,29 (2H,m)
5	-	-

6	5,35 (1H,t, 2.5)	5,35 (1H,br)
7	2,01 (2H, dt, 5,6 : 8,5)	1,85 : 2,01 (2H,dt, 5,6: 8,5)
8	1,60 (1H, m)	1,57 (1H,m)
9	0,93 (1H, m)	0,93 (1H,m)
10	-	-
11	1,42 : 1,47 (2H, m)	1,42 : 1,49 (2H,m)
12	1,95 (2H, d, 5,6)	1,15 : 1,98 (2H,d, 5,6)
13	-	-
14	1,01 (1H, m)	1,00 (1H,m)
15	1,94 : 2,03 (2H, m)	1,57 (2H,m)
16	1,95 (2H, m)	1,84 (2H, m)
17	1,09 (1H, dt, 5,2 : 8,5)	1,09 (1H,dt, 5,2 : 8,5)
18	0,68 (3H, s)	0,68 (3H,s)
19	1,01 (3H, s)	1,01 (3H,s)
20	1,31 (1H, m)	1,36 (1H,m)
21	0,69 (3H, d : 6,1)	0,92 (3H,d, 6,1)
22	1,80 (2H, m)	1,38 (2H,m)
23	1,50 (2H, m)	1,54 (2H,m)
24	0,94 : 0,98 (1H, m)	0,93 (1H,m)
25	1,66 (1H, m)	1,66 (1H,m)
26	0,84 (3H, d, 6,2)	0,84 (3H,d, 6,2)
27	0,92 (3H, d, 6,7)	0,92 (3H, d, 6,7)
28	1,25 (2H, m)	1,26 (2H, m)
29	0,82 (3H, s)	0,83 (3H,s,)

Hal tersebut diperkuat juga dengan spektrofotometri inframerah yang digunakan sebagai dasar untuk menafsirkan berbagai gugus fungsi yang terdapat pada senyawa sesuai dengan daerah spektrum serapan dan masing-masing gugus fungsi tersebut. Hasil dari identifikasi inframerah isolat 1 menunjukkan serapan pada daerah 3415 cm^{-1} menunjukkan intensitas melebar dan menurut Okwu (2011) merupakan ciri khas serapan untuk gugus fungsi -OH 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

Commented [U16]: Okwu dan Nnamdi (2011)

diperkuat dengan adanya serapan pada 835 dengan intensitas sedang menunjukkan gugus fungsi alkena =CH, menurut Ahmed (2017) adanya serapan pada 1649 cm⁻¹ menunjukkan adanya rentangan C=C nonkonjugasi yang memiliki kisaran panjang gelombang antara 1620-1680 cm⁻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 CH₂ dan CH₃. Berdasarkan hasil analisa inframerah isolat 1 dihasilkan serapan pada berbagai panjang gelombang yang kemudian dibandingkan dengan serapan senyawa β-sitosterol murni penelitian Creswell dkk., (1982) dan penelitian Fitriani (2013) dan menunjukkan serapan yang sama, hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Commented [U17]: Tambahkan cm⁻¹

Commented [U18]: menurut

Tabel 3 Perbandingan Data Spektrum IR Isolat 1 dan β-sitosterol

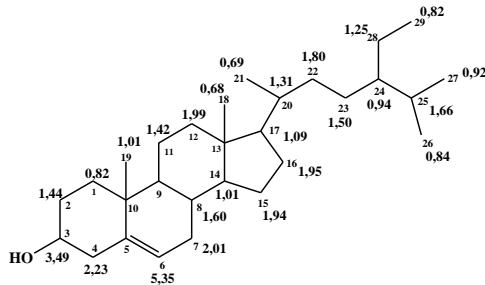
Isolat 1 (cm ⁻¹)	β-sitosterol* (cm ⁻¹)	Pustaka** (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi
3415,93	3440,62	3450-3200	O-H
2945,30	2936,69	2800-3000	C-H alifatik
1649,14	1646,55	1680-1620	C=C
1454,33	1463,42	1475-1300	C-H (pada CH ₂)
1371,39	1381,65	1475-1300	C-H (pada CH ₃)
1047,35	1053,89	1050-1260	C-O alkohol
962,48	970,32	995-710	=CH alkena

**Creswell dkk., 1982.

* Fitriani, 2013.

Berdasarkan data ¹HNMR, hasil analisis spektrum inframerah dan KLT isolat 1 dengan pembandingan β-sitosterol murni dapat disimpulkan bahwa isolat 1 hasil isolasi dari ekstrak diklorometan tanaman *K. tomentosa* diduga merupakan senyawa β-sitosterol yang mempunyai nama IUPAC stigmat-5-en-3β-ol senyawa tersebut merupakan kelompok stigmastan dalam hidrokarbon induk steroid yang memiliki rumus molekul C₂₉H₅₀O. Senyawa tersebut dapat dilihat seperti pada Gambar 1.

Commented [U19]: Gambar 2



Gambar 1. Senyawa stigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol)

Commented [U20]: Gambar 2

2. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Tabel 3. Hasil Uji antibakteri ekstrak diklorometana

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

Commented [U21]: Keterangan tabel ini dimiringkan, yang lain kenapa tidak

Tabel 4 hasil Uji antibakteri senyawa β -sitosterol

Sampel	Bakteri Uji	Hasil Uji	
		KHM ($\mu\text{g/mL}$)	KBM ($\mu\text{g/mL}$)
senyawa β -sitosterol	<i>P. aeruginosa</i>	7,81	7,81

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 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga dapat dikatakan ekstrak diklorometana memiliki aktivitas kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri β -sitosterol **Tabel 4.** menunjukkan bahwa β -sitosterol bersifat bakteriostatik maupun bakterisid terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan masing-masing nilai KHM sebesar 7,81 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai KBM 7,81 $\mu\text{g/mL}$, sehingga dapat dikatakan bahwa β -sitosterol memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Dari data KHM dan KBM tersebut terlihat bahwa ekstrak diklorometana dan β -sitosterol memiliki konsentrasi menghambat dan membunuh bakteri Gram negatif *P. aeruginosa* hal ini diduga karena dinding sel bakteri Gram negatif memiliki struktur peptidoglikan berlapis tunggal, bersifat nonpolar dan mempunyai kandungan lipid yang

tinggi (Pelczar, 2005), sehingga akan lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri yang bersifat nonpolar. Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki susunan dinding sel yang lebih kompleks yang memiliki kandungan lipid tinggi dan akan lebih bersifat nonpolar sehingga akan lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri yang bersifat nonpolar (Pelczar, 2005).

Commented [U22]: (Pelczar dan Chan Tahun 2008 di daftar pustaka

Jika dikaitkan dengan struktur β -sitosterol, isolat tersebut memiliki satu gugus hidroksil (-OH) yang dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri, gugus -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 antibiotik pada dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan. Lapisan ini sangat penting dalam mempertahankan kehidupan bakteri dari lingkungan yang hipotonik, sehingga kerusakan atau hilangnya lapisan ini akan menyebabkan hilangnya kekuatan dinding sel dan akan mengakibatkan kematian (Neu dan Gootz, 2001).

Commented [U23]: Pelczar dan Chan Tahun 2008 di daftar pustaka
Kalimat ini ulangan yang di atas?

KESIMPULAN

Hasil isolasi dari ekstrak diklorometan 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*. Departemen of Pharmaceutical Chemistry of Science. New Delhi.
- 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* Vol. 1 (1), 1-4
- 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. Vol 20. <https://doi.org/10.1155/2020/2829854>
- Creswell, C.J., dan 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*. Vol 16, 1155–1171. <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9525-1>
- Darwati., Nurlaela., dan Mayanti., 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* Vol. 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*. Vol 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
- Gyawali, R and Ibrahim, S.A. 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* Vol 46, 412-429.
- 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. *J. Trop. Pharm. Chem.* Vol 1(3).
- 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*. Vol 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*, Vol 57(4), 185-191. <https://doi.org/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*. Vol 45(20), 17–27. DOI: 10.1111/jcpe.12937
- Muzitano, M.F., Tinoco, L.W., Guette, C., Kaiser, C.R., Bergmann, B.R., and Costa, S.S. 2006. The antileishmanial activity assesment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. *Phytochemistry*. 67: 2071-2077.
- 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*. Volume, Article ID 2146160. <https://doi.org/10.1155/2020/2146160>
- Neu HC, dan 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.
- Parashar, A. 2015. Mouthwashes and Their Use in Different Oral Conditions. *Scholar Journal of Dental Science*. Vol 2(2B), 186-191.

- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 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*. Vol 121 (6), 3495–3560.
- Sakagami, H. and Tomomura, M. 2018. Dental Application of Natural Products. *Medicines* Vol 5 (21).
- 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.
- Suryani, D.I., Zaharah, T.A and Rudiyanayah. 2017. Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Fraksi Diklorometana Ranting durian Klawing (*Durio graveolens* Becc.) *Jurnal Kimia Kartika*. Vol 6(4), 45-48.
- Susiarti, S., Rahayu, M., and Rusayah. 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*. Vol. 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*. Vol 59,799–829. <http://dx.doi.org/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



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

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

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

^bJurusan Kimia, FSI UNJANI, Cimahi

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

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

DOI:

Received, Accepted, Published

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 direkrystalisasi dengan *n*-heksana, hasil rekrystalisasi didapatkan isolat 1. Isolat 1 dikarakterisasi dengan spektroskopi *infra-red* (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. Pada ekstrak diklorometana dan senyawa *β*-sitosterol kemudian ditentukan aktivitas antibakteri secara mikrodilusi didapatkan hasil bahwa ekstrak diklorometana dan senyawa *β*-sitosterol bukan hanya menunjukkan sifat bakteriostatik tetapi juga bakterisid kuat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) <100 μ g/mL.

Keywords:

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

ABSTRACT. Steroid Compounds from Cocor Bebek (*Kalanchoe tomentosa*) as Antibacterial *Pseudomonas aeruginosa*. ~~Title in English Should Be Written in English Abstract.~~ Plaque are bacteria community, colorless layer that adheres tightly to the surface of the teeth. One of the bacteria that can form dental plaque is *Pseudomonas aeruginosa*. *Kalanchoe tomentosa* contain secondary metabolite which can be used as antibacterial. Stages of the study begin with maceration using *n*-hexane and dichloromethane. Dichloromethane extract was separated using Vacuum Liquid Chromatography (KCV) using *n*-hexane and ethyl acetate solvents and then recrystallized with *n*-hexane, the recrystallization results were obtained by isolate 1. Isolate 1 was marked by *infrared* (IR), *ultraviolet* (UV) spectroscopy, and *nuclear magnetic resonance hydrogen* (¹H NMR) and compared with literature. Isolate 1 is known as stigmast-5-en-3 β -ol or *β*-sitosterol. In dichloromethane extracts and *β*-sitosterol is determined by microdilution by microdilution. The results showed that dichloromethane extract and *β*-sitosterol compound not only showed strong bacteriostatic but also bactericid activity against *P. aeruginosa*.

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 mengeliminasi bertumpuknya plak pada permukaan gigi dan gusi (Van der Weijden et al., 2015). Menggosok gigi, penggunaan benang gigi, dan penggunaan pasta gigi merupakan beberapa

Formatted: Right: 0 cm

Formatted: Space After: 0 pt

Formatted: Line spacing: single

Formatted: Line spacing: single

Commented [P1]: Tuliskan kepanjangannya dahulu, baru singkatannya

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 8,5 pt

Formatted: Font: Italic

Formatted: Line spacing: single

Commented [A2]: Belum ada judul dalam bahasa Inggris.

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 8,5 pt

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Space After: 6 pt, Line spacing: single

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

Commented [A3]: Sesuaikan abstract dalam bahasa inggris dengan bahasa indonesia

Formatted: Font: Italic

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: Font: Not Italic

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). Penelitian-penelitian dengan memanfaatkan kekayaan sumber daya alam merupakan arah pengembangan bidang kesehatan, khususnya di bidang kedokteran gigi dikarenakan melimpahnya sumber daya alam yang dapat diperbaharui di bumi kita ini (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, diantaranya adalah penelitian dari Saleh (2014), memperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan pada berbagai ekstrak *K. tomentosa* diantara 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* menunjukan adanya struktur flavonoid yang bisa meningkatkan aktivitas sitotoksik terhadap P-388 murine leukemia sel (Aisyah *et al.*, 2016).

Dengan adanya latar belakang seperti yang dikemukakan diatas, maka perlu dilakukan penelitian pada *Kalanchoe* spesies *K. tomentosa* untuk dapat dieksplorasi kandungan fitofarmakanya mengingat bahwa *K. tomentosa* merupakan salah satu spesies *Kalanchoe* yang 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 berbagai ukuran gelas laboratorium, 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 Resonance ¹H merk JEOL Tipe JNM-ECA 500 MHz, pelat mikro, vortex.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Kalanchoe tomentosa*, akuadestilasi, CH₃COCH₃ (aseton) redest, etil asetat (CH₃COOC₂H₅) redest, diklorometana (CH₂Cl₂) redest, metanol (CH₃OH) redest, *n*-heksana (C₆H₁₄) redest, 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

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 kita lakukan penyaringan, kemudian ekstraksi residu hasil penyaringan dengan cara maserasi menggunakan metilen klorida selama 24 jam. Kemudian saring kembali, lakukan pengulangan proses maserasi hingga filtrat tidak berwarna dengan pembuktian kontrol

Commented [P4]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Commented [P5]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Commented [P6]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [P7]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Berdasarkan penelusuran literatur, kandungan terkandung dalam *K. tomentosa* masih perlu dieksplorasi.

Commented [P8]: Mungkin maksudnya seperangkat alat gelas?

Commented [A9]: Ganti dengan (teknis)

Commented [A10]: Berikan spesifikasi (misal purity, supplier) bahan yg digunakan

Commented [A11]: Hindari penggunaan kata kita

Commented [P12]: Kata sambung tidak didepan kalimat

KLT. Kemudian lakukan penyaringan, tampung filtrat cair dan pekatkan menggunakan rotary evaporator untuk menghasilkan ekstrak metilen klorida yang berwarna hijau tua pekat (35 g), kemudian dilakukan uji antibakteri *P. aeruginosa*.

Isolasi Ekstrak Diklorometana

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*-heksana-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. Kemudian dilakukan uji KLT untuk mengetahui kemurniannya dan dibandingkan dengan senyawa β -sitosterol murni menggunakan eluen *n*-heksana-EtOAc.

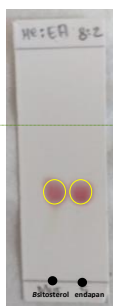
Pengujian Aktivitas Antibakteri

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. Dari kolom kedua, diambil 100 μ L 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 aliquot 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

Pada ekstraksi maserasi agar pelarut lebih mudah masuk ke dalam jaringan daun dalam mengekstrak senyawa yang terdapat di dalamnya dan dapat juga menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang besar, maka daun *Kalanchoe tomentosa* dihaluskan sampai menjadi simplisia. 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. Kemudian 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 dan serapan lemah pada 364 nm, hal ini menunjukkan adanya sistem alkena yang tidak terkonjugasi dan 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.

Commented [P13]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [A14]: Hindari emnggunakan kata perintah.

Misal: kemudian, hasil ekstraksi disaring kembali

Commented [P15]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [P16]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [A17]: Perhatian susunan kalimat yang baku SPOK

Dalam kalimat ini mana subjeknya? Komentar ini jg utk kalimat lain yg tdk bisa diberikan koemntar satu2.

Commented [P18]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Formatted: Space After: 6 pt

Commented [P19]: Kalimat terlalu bertele-tele. Harap Subyek predikat obyek maupun keterangannya diperhatikan.

Commented [P20]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [P21]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Commented [A22]: Tulisan dalam gambar tidak terlihat

Formatted: Space Before: 0 pt, After: 0 pt

Hal ini diperkuat dengan data elucidasi struktur dengan menggunakan $^1\text{H-NMR}$. 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 di atas δH 5 ppm, dan terlihat sinyal yang menumpuk pada daerah di bawah δH 2 ppm. Kemudian terdapat sinyal yang khas untuk proton olefinik pada δH 5 ppm dan terdapat hal yang lazim ditemukan pada golongan senyawa steroid yaitu adanya sinyal proton teroksidasi pada δH 3 ppm (Darwati *et al.*, 2019), selain itu karakteristik ditunjukkan pula dengan adanya pergeseran kimia pada δH 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).

Tabel 1. Perbandingan Data $^1\text{H-NMR}$ senyawa 1 dan β -Sitosterol*

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

Pada isolat 1 memperlihatkan adanya sinyal proton pada δH 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 (CH_2). Sinyal proton pada δH 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, pada δH 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 , pada δH 5,35 (1H, t) yang mengindikasikan adanya ikatan rangkap dua pada C-5 yang ditunjukkan adanya sinyal proton metin olefinik (Darwati *et al.*, 2019). Sinyal proton pada δH 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 yaitu tiga sinyal untuk gugus metilen δH 1,80 (2H, m); 1,50 (2H, m) dan 1,25 (2H, m), tiga metin pada δH 1,31 (1H, m); 0,94 (1H, m) dan 1,66 (1H, m), empat gugus metil pada δH 0,69 (3H, d); 0,84 (3H, d); 0,92 (3H, d) dan 0,82 (3H, d). Sepuluh

Formatted: Space After: 6 pt

Commented [P23]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [P24]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Commented [A25]: Editor menghendaki agar data spektra H-NMR dapat ditampilkan bukan hanya sekedar tabel. Gambar spektra yang ditampilkan harus dalam resolusi yang jelas dan baik dengan font terbaca oleh reader.

Formatted: Space Before: 0 pt, Line spacing: single

Formatted: Line spacing: single

Commented [P26]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Commented [P27]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

sinyal proton ini merupakan kerangka alkil (Salempa *et al.*, 2016). Dari 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 $^1\text{HNMR}$ senyawa 1 dan β -sitosterol ditampilkan pada Tabel 1.

Hal tersebut diperkuat juga dengan spektrofotometri FTIR 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 dan menurut Okwu and Nnamdi (2011) yang merupakan ciri khas serapan untuk gugus fungsi $-\text{OH}$ (Okwu and Nnamdi, 2011). Hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1047 cm^{-1} dengan intensitas tajam menunjukkan serapan untuk gugus fungsi $\text{C}-\text{O}$ alkohol. Serapan pada 2945 cm^{-1} dengan intensitas tajam menunjukkan serapan untuk gugus fungsi $-\text{CH}$ alifatik, serapan pada 1649 cm^{-1} dengan intensitas melebar menunjukkan serapan untuk gugus fungsi $\text{C}=\text{C}$. Hal ini diperkuat dengan adanya serapan pada 835 cm^{-1} dengan intensitas sedang menunjukkan gugus fungsi alkena $=\text{CH}$. menurut Ahmed (2017) adanya Serapan pada 1649 cm^{-1} menunjukkan adanya rentangan $\text{C}=\text{C}$ nonkonjugasi yang memiliki kisaran panjang gelombang antara $1620-1680\text{ cm}^{-1}$ (Ahmed, 2017).

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 $\text{C}-\text{H}$ 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) dan menunjukkan serapan yang sama, hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 3. 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 $^1\text{HNMR}$, hasil analisis spektrum FTIR dan KLT isolat 1 dengan pembandingan 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 $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$. Senyawa tersebut dapat dilihat seperti pada Gambar 2.

Commented [P28]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Formatted: Indent: First line: 0,76 cm, Space After: 0 pt

Commented [P29]: Letak titiknya kurang sesuai

Formatted: Not Highlight

Commented [em30]: Terlalu banyak kata dan

Commented [P31]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Formatted: Space After: 6 pt

Formatted: Indent: First line: 0,75 cm, Don't adjust space between Latin and Asian text, Don't adjust space between Asian text and numbers

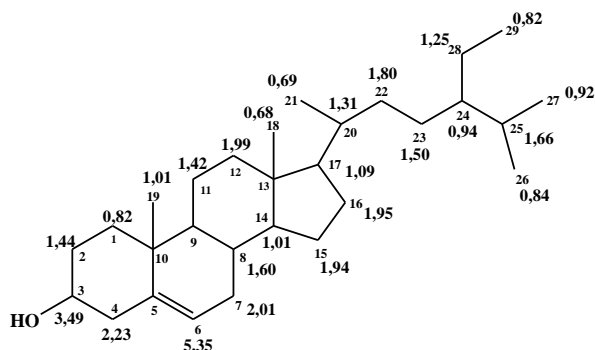
Commented [A32]: Editor menghendaki author menampilkan spektra FTIR kedua senyawa ini. Gambar spektra yang ditampilkan harus dalam resolusi yang jelas dan baik dengan font terbaca oleh reader.

Formatted: Line spacing: single

Formatted: Space After: 6 pt, Line spacing: single

Formatted: Space After: 6 pt

Formatted: Indent: First line: 0,75 cm, Space After: 6 pt



Gambar 2. Senyawa stigmaster-5-en-3 β -ol (β -sitosterol)

Pengujian Aktivitas Antibakteri

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

Tabel 3. Hasil uji antibakteri ekstrak diklorometana

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

Hasil pengujian aktivitas antibakteri β -sitosterol Tabel 4. menunjukkan bahwa β -sitosterol bersifat bakteristatik maupun bakterisid terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan masing-masing nilai KHM sebesar 7,81 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai KBM 7,81 $\mu\text{g/mL}$, sehingga dapat dikatakan bahwa β -sitosterol memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Tabel 4. Hasil uji antibakteri senyawa β -sitosterol

Sampel	Bakteri Uji	Hasil Uji	
		KHM ($\mu\text{g/mL}$)	KBM ($\mu\text{g/mL}$)
senyawa β -sitosterol	<i>P. aeruginosa</i>	7,81	7,81

Dari data KHM dan KBM tersebut terlihat bahwa ekstrak diklorometana dan β -sitosterol memiliki konsentrasi menghambat dan membunuh bakteri Gram negatif *P. aeruginosa*. Hal ini 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), sehingga akan lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri yang bersifat nonpolar.

Jika 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

Formatted: Line spacing: single

Commented [P33]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Commented [A34]: Tabel 3 dan 4 dijadikan satu, teks terkait disesuaikan.

Formatted: Line spacing: single

Formatted: Right: 0,47 cm, Space After: 6 pt, Line spacing: single

Formatted: Right: 0 cm, Space After: 6 pt

Commented [P35]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Formatted: Right: 0 cm, Line spacing: single

Formatted: Right: 0 cm

Formatted: Right: 0 cm

Formatted: Right: 0 cm, Space After: 6 pt, Line spacing: single

Commented [P36]: Kata sambung tidak didepan kalimat

Formatted: Right: 0 cm

Commented [P37]: Silahkan dipecah menjadi minimal 2 kalimat

Commented [P38]: Kata sambung tidak didepan kalimat

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

[Departemen of Pharmaceutical Chemistry of Science, New Delhi](#);

Aisyah, L.S., Yun, Y.F., Abdilla, A.A., Herlina, T., Julaha, 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 ITE, 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., Nurelasari, 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*, 412–429. 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

[Muzitano, M.F., Tinoco, L.W., Guette, C., Kaiser, C.R., Bergmann, B.R., and Costa, S.S., 2006. The Antileishmanial Activity Assesment of Unusual Flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. *Phytochemistry*, 67, 2071–2077.](#)

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.

Formatted: Right: 0 cm, Line spacing: single

Commented [P39]: Tidak ada dinaskah

Formatted: Right: 0 cm

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Commented [A40]: Tidak ada dalam sitasi.

- 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., Julaha, 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.
- Ahmed, B., 2017. *Chemistry of Natural Products*.

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt

Formatted: Font: (Default) Times New Roman, 10 pt



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 direkrustalisasi dengan *n*-heksana, hasil rekrustalisasi 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 ke dalam 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

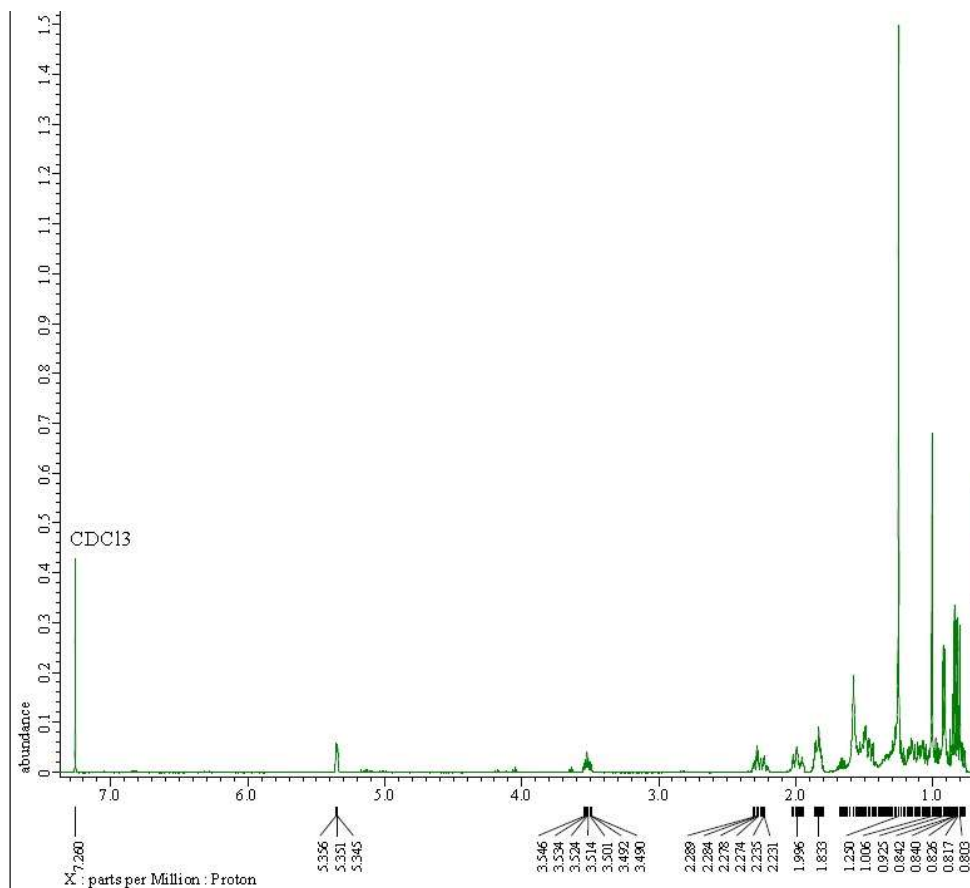
Ekstraksi dan Isolasi Senyawa

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 elusidasi struktur dengan menggunakan ^1H NMR (Gambar 2). Hasil analisis spektrum data ^1H 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 ^1H NMR Isolat 1.

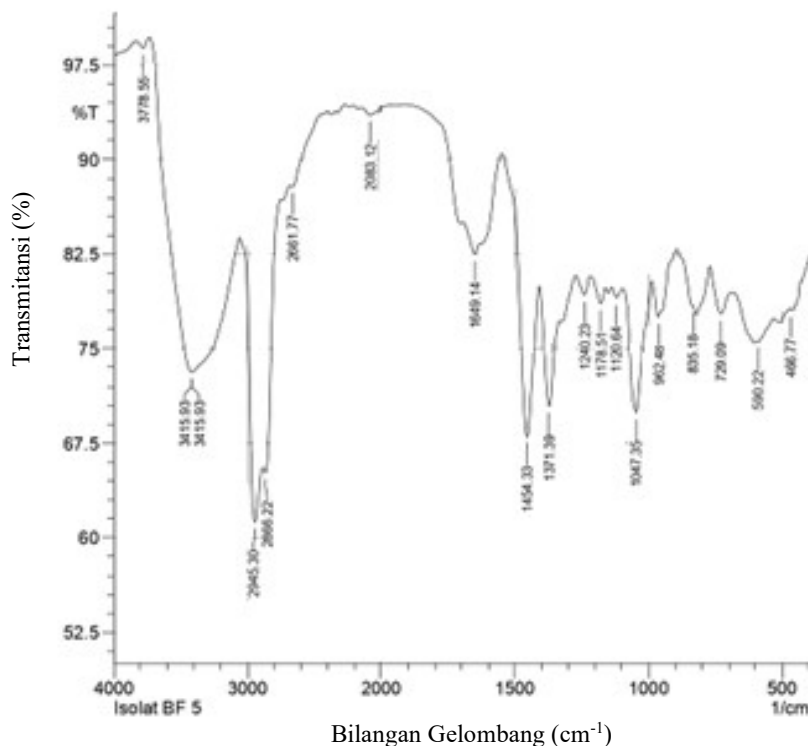
Tabel 1. Perbandingan data ¹HNMR senyawa 1 dan β -sitosterol.

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 molekuler 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.

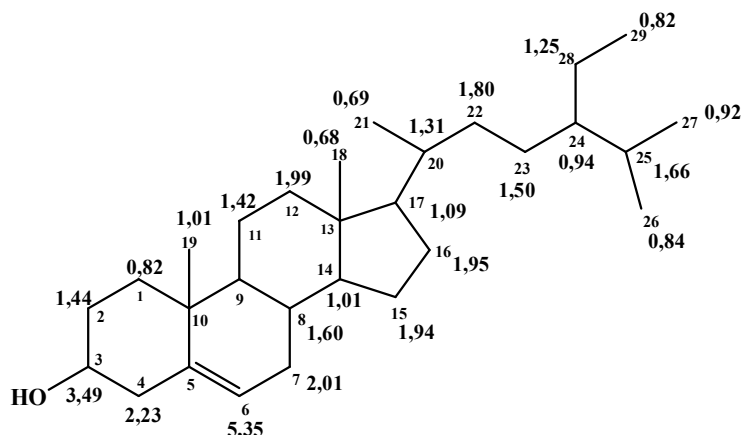
Isolat 1 (cm^{-1})	β -sitosterol* (cm^{-1})	Pustaka** (cm^{-1})	Gugus Fungsi
3415,93	3440,62	3450 – 3200	O–H
2945,30	2936,69	2800 – 3000	C–H alifatik
1649,14	1646,55	1680 – 1620	C=C
1454,33	1463,42	1475 – 1300	C–H (pada CH_2)
1371,39	1381,65	1475 – 1300	C–H (pada CH_3)
1047,35	1053,89	1050 – 1260	C–O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