

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI NON POLAR KULIT AKAR
TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)**

(Skripsi)

Oleh

ISMI KHOMSIAH



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND ANTIBACTERIAL BIOACTIVITY TEST OF FLAVONOID COMPOUND FROM NON POLAR FRACTION THE ROOT BARK OF KENANGKAN PLANT (*Artocarpus rigida*)

By

ISMI KHOMSI AH

This study has been carried out the isolation and identification of flavonoid compounds and antibacterial bioactivity test from the root bark of Kenangkan (*Artocarpus rigida*). Extraction of flavonoids was done by maceration method using methanol: ethyl acetate (1: 1), followed by fractionation and purification using TLC, VLC, and CC. The purity of the compounds was based on the melting point test, and determining the structure of the compounds was determined by UV-Vis, IR, ¹H-NMR and MS. Isolated compounds was obtained shaped red-brown crystals with a melting point 201-203°C, it was a prenylated flavonoids, Artonin O 22.5 mg. In bioactivity test antibacterial, isolated compounds showed antibacterial activity in the three variations of the concentration of Artonin O, respectively at concentrations of 0.5; 0.4; and 0.3 mg / disc, with a diameter of inhibition of 7.5; 7.5; and 7 mm. This showed that artonin O had antibacterial activity against *E. coli* was classified as moderate.

Keyword : *Artonin O*, *Artocarpus rigida*, *antibacterial*, *Eschericia coli*, *flavonoid*

ABSTRAK

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI NON POLAR KULIT AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

Oleh

ISMI KHOMSIAH

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid serta uji bioaktivitas antibakteri dari kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*). Ekstraksi senyawa flavonoid dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol:etil asetat (1:1), dilanjutkan dengan fraksinasi dan pemurnian menggunakan metode KLT, KCV, dan KK. Kemurnian dilakukan berdasarkan uji titik leleh, dan penentuan struktur senyawa ditentukan dengan spektroskopi UV-Vis, IR, ¹H-NMR dan MS. Senyawa hasil isolasi diperoleh berbentuk kristal berwarna merah-kecoklatan dengan titik leleh 201-203°C, merupakan suatu senyawa flavon terprenilasi yaitu senyawa Artonin O sebanyak 22,5 mg. Pada uji bioaktivitas antibakteri, senyawa hasil isolasi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada tiga variasi konsentrasi Artonin O, berturut-turut pada konsentrasi 0,5; 0,4; dan 0,3 mg/disk, dengan diameter daya hambat sebesar 7,5; 7,5; dan 7 mm. Hal ini menunjukkan bahwa artonin O mempunyai bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yang tergolong sedang.

Kata Kunci : *artoinin O, Artocarpus rigida, antibakteri, Eschericia coli, flavonoid*

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI NON POLAR KULIT AKAR
TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)**

Oleh

ISMI KHOMSIAH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi

: **ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI
BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA
FLAVONOID DARI FRAKSI NON POLAR
KULIT AKAR TUMBUHAN KENANGKAN
(*Artocarpus rigida*)**

Nama Mahasiswa

: **Ismi Khomsiah**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1217011032

Jurusan

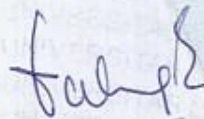
: Kimia

Fakultas

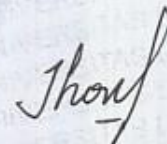
: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
NIP 19540510 198803 2 001



Dr. dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes.
NIP 19760831 200312 1 003

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung

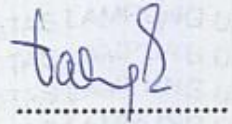


Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

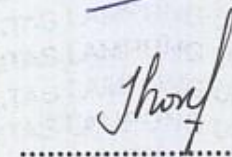
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

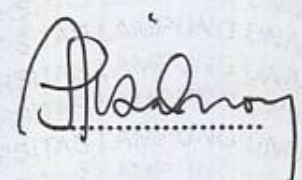
Ketua : **Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**



Sekretaris : **Dr. dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes.**



Anggota : **Noviany, Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.
NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **16 Agustus 2016**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Karang Anyar pada tanggal 05 Februari 1995, anak kelima dari enam bersaudara dari pasangan Bapak Jiman dan Ibu Manisah.

Penulis mengawali pendidikan formal di SD Negeri 3 Kelaten yang diselesaikan pada tahun 2006, melanjutkan di SMP Negeri 1 Penengahan Lampung Selatan yang diselesaikan pada tahun 2009 dan masuk SMA Negeri 1 Penengahan Lampung Selatan yang diselesaikan pada tahun 2012. Pada tahun 2012 penulis diterima di jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur tertulis Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan di jurusan kimia, penulis memiliki pengalaman organisasi yaitu, Anggota Departemen Sosial UKM Penelitian, Anggota Biro Khusus BBQ Rois FMIPA Unila, Magang UKMF Natural FMIPA Unila, Anggota Dinas Kominfotek BEM FMIPA Unila, Kader Muda Himaki periode 2012-2013, Anggota Biro Penerbitan Himaki FMIPA Unila periode 2013-2014, Sekretaris Umum Himpunan Mahasiswa Kimia Periode 2014-2015, dan Sekretaris Umum Ikatan Alumni SMA N 1 Penengahan 2014-2016.

Selama menjalani perkuliahan, penulis menjadi salah satu mahasiswa penerima beasiswa Bidikmisi. Penulis juga pernah menjadi peserta Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) 29 Tahun 2016 yang diselenggarakan di IPB di bawah bimbingan Prof. Wasinton Simanjuntak, Ph.D. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Dasar Pertanian dan Sains Dasar pada tahun 2015, asisten Praktikum Kimia Dasar Pertanian, Kimia Organik, dan STIKES Muhammadiyah Pringsewu pada tahun 2016.

MOTTO

“Telah pasti datangnya ketetapan Allah, maka janganlah kamu meminta agar disegerekan datangnya,...”

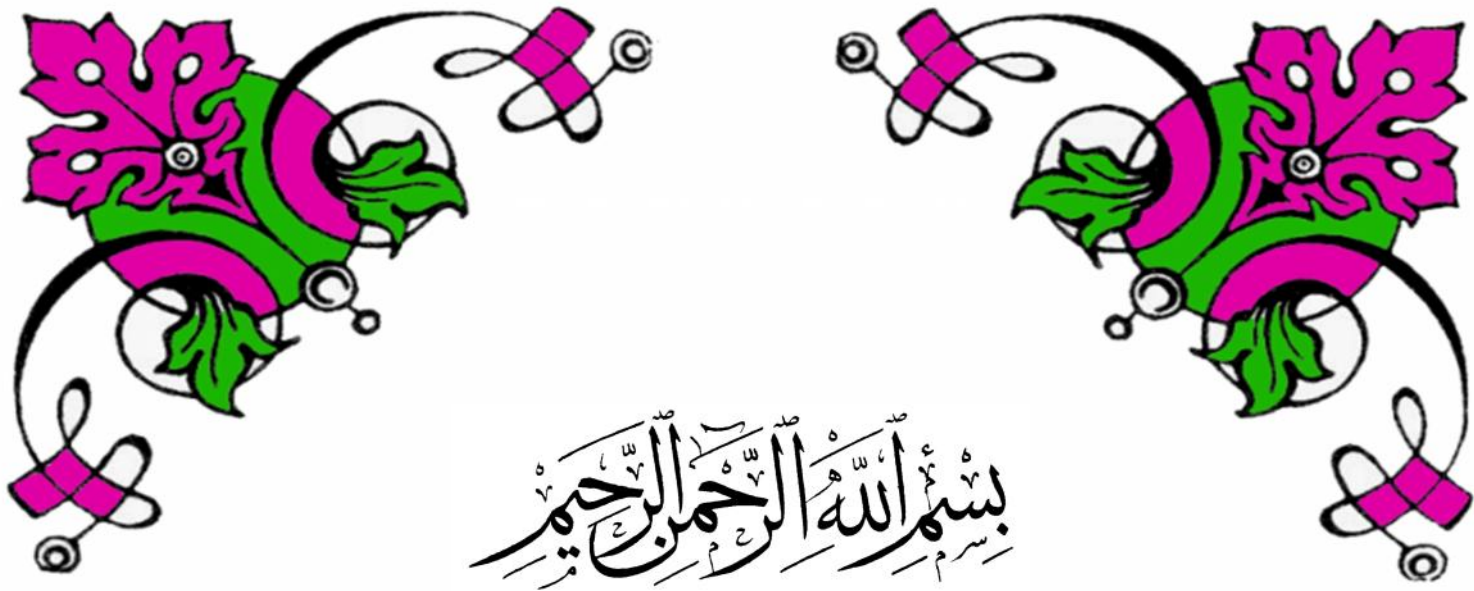
(Qs. An-Nahl : 1)

“Cara yang paling baik untuk menghadapi masa depan ialah dengan seluruh tenaga, semangat dan kecakapan melaksanakan pekerjaan yang Anda hadapi sekarang, sesempurna-sempurnanya”

(Sir William Osler).

“Dunia akan terus berputar dan selama itu pasti akan ada masalah, kecuali jika kamu yang berhenti untuk melihat dunia itu, jadi jangan mudah menyerah, karena hidup tak sepercanda itu. Yakinlah jika kita mau berusaha because from nothing to be something”

(Ismi Khomsiah)



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**Segala Puji dan Syukur Kepada Allah SWT
Kupersembahkan Karya Sederhanaku ini Teruntuk...**

**Kedua Orang Tuaku
Yang selalu memberikan Cinta, Kasih Sayang, Motivasi,
Semangat, dan Doa serta Pengorbanan demi Keberhasilanku**

**Seluruh Keluarga Besaraku
Mbak, Kakak, dan Adik Tercinta serta Sahabat-sahabatku**

**Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., Prof. Dr. Jr. Vandri
AS., M.S., Dr. dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes., dan
Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D., yang membimbing dan
memotivasi selama di Perkuliahan.**

Seseorang yang kelak menjadi pendamping hidupku

**Almamater Tercinta
Universitas Lampung**



SANWACANA

Alhamdulillah segala puji hanya bagi Allah SWT, atas rahmat dan ridho-Nya Sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Fraksi Non Polar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*)”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang yang paling luar biasa dalam hidup, Bapak Jiman dan Ibu Manisah, yang telah mendidik, memberikan kasih sayang, dukungan, doa, dan motivasi kepada penulis hingga saat ini.
2. Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku Pembimbing I yang telah memotivasi, membimbing, dan mengarahkan penulis selama penelitian dan penulisan skripsi.
3. Dr. dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes., selaku Pembimbing II, atas kesabarannya dalam memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis selama menyelesaikan skripsi.

4. Noviany, Ph.D., selaku Pembahas yang banyak memberikan masukan dan kritik yang bersifat positif dan membangun.
5. Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D., selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, arahan dan motivasinya selama diperkuliahan ini.
6. Prof. Dr. Ir. Yandri AS., M.S., yang selalu memberikan bimbingan dan motivasinya.
7. Dr. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu Dosen beserta staf jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing penulis selama belajar di Universitas Lampung.
10. Kakak tercinta kang Bejo Istanto, Kang Iswadi, Mbak Esti Windari, Kang Isarifa'i, dan Adik tercinta Iszulkarnain Ashari atas bantuan moril maupun materinya, semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian. Kakak/mbak Ipar yang selalu peduli, Mbak Siti, Mbak Kesyati, Kang Sardi, dan Mbak Dwi. Ponakanku Tercinta, M. Hanif Wicaksana, Murni Fenilia, Zahra Khoirunnisa, Azzam Faizul Khoir, dan sikembar Zakira & Nadira Soleha yang menjadi pelepas lelah penulis.
11. Pimpinan Himaki periode 2014-2015, Anwar, Elsa, Rifki, Ais, Kamto, Fenti, Tri, Della, Erlita, Ajeng, Sofian, Didi, Nila, dan Ningrum serta pengurus Himaki periode 2014-2015 atas kebersamaan dan pembelajarannya selama ini.
12. Sahabatku, Ajeng, Susy, Fenti, Imah, Ana, Fifi, dan Eka, *"Thank you for staying, even when you had every reason to leave"*.

13. Keluargaku Chemistry'12, Dona, Arif, Radius, Taskiya, Yepi, Tiara, Dewi, Intan, Jeje, Adi, Reno, Indry, Indah, Debo, Dinand, Ruli, Edi, Arya, Feby, Ruwai, Maul, Putri, Syathira, Rizal, Imani, Meta, Dwi, Wiwin, Ulfatun, Febita, Atma, Yunsi, Riandra, Rio, Adit, Dery, Ubay, Debi.
14. Partner yang luar biasa, Kak Hernawan, Ajeng, Susy, dan Dona serta adik-adik satu bimbingan Arni, Vicka, Badi, Inggit, dan Nurul atas bantuan, dukungan dan kerjasamanya.
15. Sahabat sekaligus kakak tersayang, Ngah Lusi, Teh Vevi, Mbak Windi, Mbak April dan Mbak Us yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.
16. Adik – adik tersayang, Anton, Siti, Ismi, Arni, Hafid, Fendi, Fikri, Sifa, Kartika, dan Riri yang selalu memberikan keceriaan, semangat, dan dukungannya kepada penulis, semoga silaturahmi kita tetap terjalin.
17. *My roommate* Murni (racun) dan Sinta untuk semua kekonyolan yang pernah kita lakuin bareng dan juga untuk semangat dan motivasinya.
18. Keluarga KKN Kibang Budi Jaya, Steven, Sandy, Risqon, Wulan, Winy, dan Mbak Rika atas kebersamaan dan semangatnya.
19. Rekan-rekan Penghuni Lab Organik, Mbak Wit, Kak Hernawan, Kak Fajri, Kak Juned, Mbak Mirfat, Kak Ridho, Kak Andri, Mbak Lili, Ajeng, Susy, Dona, Arif, Ningrum, Radius, Taskiya, Yepi, Tiara, Arni, Vicka, Badi, Inggit, Nurul, Siti, Shela, Imah, Aul, Dona, Ines, Anggun, Nita, Erva, Wahyuni Dewi atas bantuan dan kerjasamanya.

20. Guru-guruku, mama Lia Nurmelia, papa Kuslani, abah Asep Nedyana, umi Anisa, bunda Ida, bu Non Reni, dan semua guruku. Terimakasih untuk ilmu dan pembelajarannya.
21. Kakak tingkat angkatan 2008, 2009, 2010, 2011 atas bimbingannya dan Adik tingkat 2013, 2014, dan 2015 atas semangat yang diberikan kepada penulis.
22. Almamaterku tercinta Universitas Lampung.
23. Kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan mereka. *Aamiin*. Dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan yang terjadi. Kritik dan saran sangat diharapkan penulis untuk perbaikan dalam penelitian selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat. *Aamiin*.

Bandar Lampung, Agustus 2016
Penulis,

Ismi Khomsiah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Artocarpus.....	5
B. Kenangkan (<i>Artocarpus rigida</i>).....	6
C. Flavonoid	7
D. Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Flavonoid.....	10
1. Kromatografi cair vakum (KCV)	11
2. Kromatografi lapis tipis (KLT)	12
3. Kromatografi kolom gravitasi (KKG).....	13
E. Identifikasi Spektroskopi	13
1. Spektroskopi UV-VIS	13
2. Spektroskopi Inframerah.....	15
3. Spektrometri H-NMR dan C-NMR.....	16
4. Spektrometri Massa.....	18
F. Antibakteri.....	19
III. METODE PENELITIAN	21
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
B. Alat dan Bahan.....	21

1. Alat-alat yang digunakan.....	21
2. Bahan-bahan yang digunakan.....	22
C. Prosedur Penelitian	22
1. Pengumpulan dan Persiapan sampel.....	22
2. Ekstraksi	23
3. Kromatografi	23
4. Analisis kemurnian	25
5. Spektrofotometri.....	26
6. Pengujian Aktivitas.....	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
A. Isolasi Senyawa Flavonoid	28
B. Karakterisasi menggunakan Spektrofotometer.....	40
C. Uji Bioaktivitas.....	45
V. SIMPULAN DAN SARAN	47
A. Simpulan	47
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	53
1. Skema Penelitian.....	54
2. Spektrum UV-Vis Artonin O hasil isolasi	55
3. Spektrum IR Artonin O hasil isolasi	56
4. Spektrum ¹ HNMR Artonin O hasil isolasi.....	57
5. Spektrum Massa Artonin O hasil Isolasi	59
6. Perhitungan ketetapan kopling (J) pada ¹ HNMR.....	60
7. Perhitungan 3 variasi konsentrasi Artonin O untuk uji antibakteri.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak (Johnson and Stevenson,1991).....	11
2. Rentang serapan spektrum ultraungu-tampak untuk flavonoid.....	14
3. Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi (Banwell and McCash, 1994)	16
4. Nilai geseran kimia untuk ^1H dan ^{13}C NMR.....	18
5. Pembagian fraksi non polar dari masing-masing tahap KCV.....	33
6. Pembagian fraksi dari tahap KCV fraksi fA	35
7. Pembagian fraksi dari tahap KCV fraksi fB.....	35
8. Perbandingan nilai serapan senyawa artonin O (Suhartati, 2001) dengan senyawa hasil isolasi.....	41
9. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa artonin O (Suhartati, 2005) dengan senyawa hasil isolasi.....	42
10. Hasil uji antibakteri senyawa hasil isolasi.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka dasar flavonoid.....	8
2. Tiga jenis flavonoid.....	8
3. Struktur kimia dari beberapa jenis flavonoid.....	9
4. Kromatogram lapis tipis ekstrak kasar methanol:etil asetat(1:1) menggunakan eluen etil asetat : <i>n</i> -heksana (1:1)	29
5. Proses KCV (a) pengelusan sampel, (b) pita yang terbentuk setelah pengelusan, dan (c) fraksi hasil KCV.....	30
6. Penggabungan fraksi hasil KCV dari beberapa tahap.....	32
7. Kromatogram lapis tipis fraksi fA dengan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 15%....	33
8. Kromatogram lapis tipis dari fraksi A (a)fA1, (b)fA2, dan (c)fA3.....	34
9. Kromatogram lapis tipis fB1.....	36
10. Kromatogram lapis tipis fB1A.....	37
11. Kromatogram lapis tipis fB2.....	37
12. Kromatogram lapis tipis fraksi FB12B.....	38
13. Kromatogram lapis tipis fB1A.....	38
14. Kromatogram lapis tipis kristal hasil isolasi dengan sistem 3 eluen.....	39
15. Spektra UV-Vis senyawa fB12B.....	40
16. Spektrum IR dari senyawa hasil isolasi.....	41
17. Spektrum ¹ H-NMR dari senyawa hasil isolasi.....	43

18. Struktur senyawa Artonin O hasil isolasi.....	44
19. Spektrum HRMS dari senyawa hasil isolasi.....	44
20. Hasil uji antibakteri senyawa Artonin O hasil isolasi dengan konsentrasi (a) 0.5 mg/disk, (b) 0.4 mg/disk, dan (c) 0.3 mg/disk.....	45

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit diare merupakan penyebab kematian nomor satu pada bayi (31,4%), pada balita (25,2%), dan pada golongan semua umur merupakan penyebab kematian yang ke-empat (13,2%). Diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial Kejadian Luar Biasa (KLB) yang sering disertai dengan kematian. Pada tahun 2012 angka kesakitan diare pada semua umur sebesar 214 per 1.000 penduduk dan angka kesakitan diare pada balita 900 per 1.000 penduduk pada Kajian Morbiditas Diare 2012 (Kemenkes, 2015).

Salah satu faktor penyebab kematian tersebut adalah bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare akut, dan dikelompokkan menjadi 3 katagori yaitu enteropatogenik (penyebab gastroenteritis akut pada bayi yang baru lahir sampai pada yang berumur 2 tahun), enteroinaktif dan enterotoksigenik (penyebab diare pada anak anak yang lebih besar dan pada orang dewasa) (Melliawati, 2009).

Dilaporkan pula bila *E.coli* di dalam usus memasuki kandung kemih, maka dapat menyebabkan sintitis yaitu suatu peradangan pada selaput lendir organ tersebut.

Bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri penghuni tubuh. Di dalam kehidupan kita *E.coli* mempunyai peranan yang cukup penting yaitu selain sebagai penghuni tubuh (di dalam usus besar) yang menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogenik. *E. coli* akan menjadi patogen bila pindah dari habitatnya yang normal ke bagian lain dalam inang. Bakteri *E. coli* juga dapat membahayakan kesehatan, karena telah terbukti bahwa galur galur tertentu mampu menyebabkan gastroenteritis taraf sedang sampai parah pada manusia dan hewan.

Salah satu cara untuk menanggulangi atau mencegah pertumbuhan bakteri *E. coli* yang bersifat patogeni adalah dengan memanfaatkan bahan aktif dari tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Prasad *et al.*, 2008). Antibakteri merupakan senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat digunakan untuk kepentingan pengobatan terhadap gangguan kesehatan yang disebabkan oleh bakteri (Goldberg, 1959).

Berdasarkan permasalahan-permasalahan tersebut maka diperlukan senyawa bahan alam yang memiliki efek samping seminimum mungkin untuk mengatasi aktivitas dari bakteri sekaligus resistensi terhadap obat. Hal tersebut dapat dilakukan dengan memanfaatkan beberapa tumbuhan yang ada di lingkungan sekitar yang mengandung senyawa metabolit sekunder serta telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Isolasi senyawa metabolit sekunder tersebut dapat diperoleh dari tumbuhan tertentu seperti tumbuhan dari jenis *Artocarpus*. Dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa flavonoid dari tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*).

Pada penelitian sebelumnya, diperoleh beberapa derivat flavonoid seperti artonin E, sikloartobilosanton, dan artobilosanton pada tumbuhan kenangan (*A. rigida*) (Nomura *et al.*, 1990). Selain itu, diketahui pula adanya kandungan derivat flavonoid lain yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri.

Pada penelitian ini digunakan kulit akar tumbuhan kenangan karena memiliki variasi dan kompleksitas senyawa metabolit sekunder yang lebih tinggi. Hal tersebut dikarenakan akar merupakan bagian yang digunakan oleh tumbuhan untuk berinteraksi secara langsung dengan zat-zat atau senyawa yang terkandung di dalam tanah.

Pada penelitian ini senyawa target diisolasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol yang masing-masing merupakan senyawa non polar, semipolar, dan polar untuk menghasilkan senyawa dengan kemurnian tinggi. Oleh karena flavonoid merupakan senyawa polar maka flavonoid akan larut dengan baik dalam pelarut polar, salah satunya yaitu metanol (Markham, 1988). Hal tersebut didasarkan pada teori "*Like Dissolves Like*" yaitu pelarut sejenis akan melarutkan molekul yang sejenis sehingga pelarut dan molekul zat terlarut yang sejenis, keduanya saling berinteraksi dengan membentuk suatu ikatan tertentu sehingga secara termodinamika zat terlarut akan larut dalam pelarut tersebut (Keenan, 1990).

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. Mengisolasi senyawa Flavonoid dari fraksi non polar kulit akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*).
2. Mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi.
3. Menguji aktivitas antibakteri dari senyawa hasil isolasi.

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai jenis senyawa flavonoid yang terkandung dalam fraksi non polar kulit akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*) dan memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri dari senyawa hasil isolasi tersebut.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Artocarpus*

Tanaman *Artocarpus* merupakan salah satu genus dari tanaman famili Moreceae. Tanaman dari genus ini terdiri 50 spesies dan 40 spesies diantaranya terdapat di Indonesia. Tanaman ini umumnya digunakan oleh masyarakat sebagai bahan bangunan (kayu batang), dan bahan makanan (buah) (Hakim *et al.*, 2006). Genus *Artocarpus* tidak hanya dimanfaatkan buah dan batangnya sebagai bahan pangan ataupun bangunan, tetapi kulit batang dan daunnya juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional, misalnya untuk obat demam, disentri, atau malaria.

Kandungan senyawa metabolit sekunder digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri dan virus (Herbert,1996). Beberapa spesies yang termasuk dalam Genus *Artocarpus* antara lain cempedak (*A. champeden*), keluwih (*A. altilis*), benda (*A. elastica*) dan salah satu species tanaman dalam genus *Artocarpus* yang belum diteliti seluruh bagiannya adalah buah kenangkan (*A. rigida*) (Hernawan, 2008).

Berdasarkan studi literatur, diketahui bahwa sejumlah spesies *Artocarpus* banyak menghasilkan senyawa golongan terpenoid, flavonoid, dan stilbenoid (Hakim, 2011). Keunikan struktur metabolit sekunder pada *Artocarpus* menghasilkan efek

fisiologis yang luas, antara lain sebagai anti bakteri (Khan *et al.*, 2003), anti platelet (Weng *et al.*, 2006), anti fungal (Jayasinghe *et al.*, 2004), anti malaria (Boonlaksiri *et al.*, 2000; Widyawaruyanti *et al.*, 2007) dan sitotoksik (Ko *et al.*, 2005; Hakim *et al.*, 2002; Syah *et al.*, 2006).

Pada Penelitian sebelumnya juga telah dipaparkan oleh Hakim (2011) bahwa senyawa terpenoid dengan kerangka sikloarten berhasil disolasi dari tanaman *Artocarpus* antara lain, sikoartenol yang telah berhasil diperoleh dari *A. champeden* (Achmad *et al.*, 1996) dan *A. altilis* (Altman and Zito 1976).

Senyawa-senyawa terpenoid lainnya yang telah berhasil diisolasi dari tanaman yang sama yaitu sikloeukalenol, 2,4-metilensikloartenon, dan sikloartenon (Achmad *et al.*, 1996) yang juga telah berhasil diisolasi dari *A. heterophyllus* (Dayal and Seshadri, 1974). Senyawa (24R) dan (24S0-9,19- siklolanost-3-on-24,25-diol telah berhasil diisolasi dari *A. heterophyllus* (Barik *et al.*, 1997).

Senyawa glutinol sejauh ini merupakan satu-satunya senyawa triterpenoid pentasiklik dengan kerangka glutan yang telah diisolasi dari *Artocarpus* yaitu *A. chempeden* (Achmad *et al.*, 1996).

B. Kenangkan (*Artocarpus rigida*)

Tanaman ini merupakan tanaman hutan, mempunyai batang yang kokoh, dengan tinggi dapat mencapai 20 m, berkayu keras, kulit kayunya berserat kasar dan menghasilkan getah yang banyak. Daunnya tidak lebar, menjalar dan berbulu kasar. Buahnya yang masih muda berwarna kuning pucat, apabila buah tersebut sudah masak menjadi berwarna lembayung. Buah ini bisa dimakan tetapi memiliki

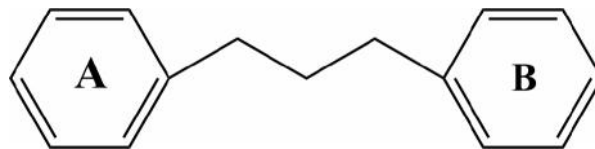
rasa yang masam dan kurang enak. Dalam taksonomi, tanaman ini diklasifikasikan dari Superregnum Eukaryota, Regnum Plantae, Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Ordo Urticales, Famili Moraceae, Sub family Artocarpea, Genus *Artocarpus*, Spesies *Artocarpus rigidus* atau *Artocarpus rigida* (Tjitrosoepomo, 1993).

Analisis senyawa kimia dari akar *A. rigida* telah berhasil didapatkan senyawa dengan struktur senyawa fenolik. Termasuk dua senyawa baru dengan kerangka flavonoid yang dimodifikasi yaitu 7-demitartonol E dan kromon artorigidus, bersama dengan beberapa senyawa fenolik yang telah diketahui meliputi santon ortonol B, flavonoid sikloartobilosanton, dan santon artoindoesianin C. Senyawa santon artoindoesianin C ini mempunyai aktivitas sebagai antiplasmodial terhadap *Plasmodium falciparum*. Semua senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dari *A. rigida* yang ada di Indonesia (Namdaung *et al.*, 2006). Dua senyawa baru dari flavon terisoprenilasi yaitu artonin G dan H diisolasi bersama dengan tiga senyawa flavon terisoprenilasi yang telah diketahui, yaitu artonin E, sikloartobilosanton, dan artobilosanton (Nomura *et al.*, 1990).

C. Flavonoid

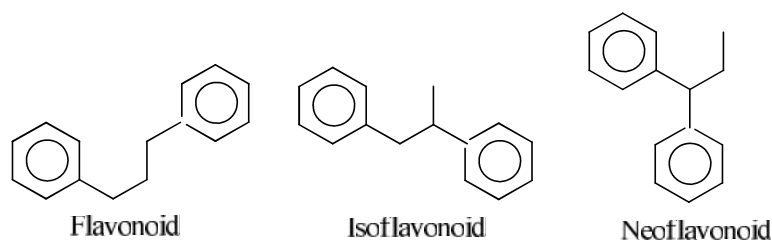
Flavonoid adalah sebuah kelas metabolit sekunder tanaman. Flavonoid merupakan kandungan khas tanaman hijau dengan mengecualikan alga, dan *hornwort*. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah buni, dan biji. Hanya

sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang-berang, 'propolis' (sekresi lebah) dan di dalam sayap kupu-kupu; itu pun dengan anggapan bahwa flavonoid tersebut berasal dari tanaman yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak di biosintesis di dalam tubuh mereka (Markham, 1988). Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mengandung C_{15} terdiri dari dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Golongan flavonoid dapat juga digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$ Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka dasar flavonoid (Robinson, 1995).

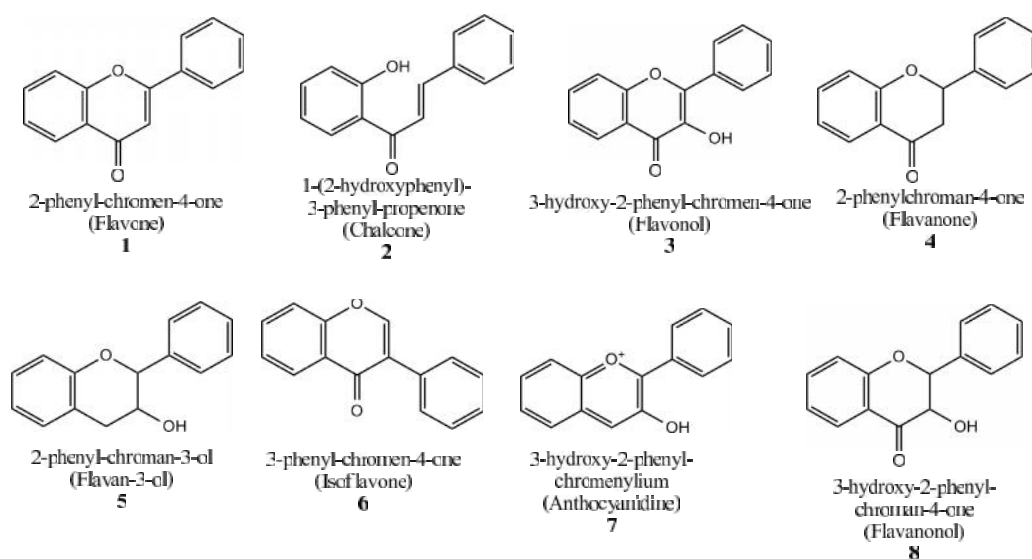
Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid (1,3-diaril propana), isoflavonoid (1,2-diaril propana), neoflavonoid (1,1-diaril propana) seperti ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Tiga jenis flavonoid (Achmad, 1986).

Menurut Harborne (1987) dan Markham (1988) flavonoid yang terdapat pada tanaman dapat digolongkan menjadi dua yaitu glikosida dan aglikon. Glikosida merupakan flavonoid yang mengandung gugusan gula dan cenderung bersifat polar sehingga mudah larut dalam air, metanol, etanol, dan lain-lain. Aglikon sendiri merupakan flavonoid tanpa gugusan gula terikat, aglikon yang kurang polar ini lebih larut dalam pelarut eter dan kloroform. Aglikon yang kurang polar tersebut antara lain isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol termetoksilasi. Menurut Achmad (1986) suatu bentuk glikosida akan terurai menghasilkan gugus gula dan aglikon apabila dihidrolisis oleh asam. Glikosilasi menyebabkan flavonoid kurang efektif dan lebih mudah larut dalam air sehingga memungkinkan penyimpanan flavonoid di dalam vakuola sel, tempat di mana flavonoid bisa ditemukan (Markham, 1988).

Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis, tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dari sistem 1,3-diaril propana. Struktur kimia dari beberapa jenis flavonoid ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia dari beberapa jenis flavonoid (Tapas *et al.*, 2008).

D. Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Flavonoid

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Lenny, 2006). Proses ini dilakukan beberapa kali dan ekstrak kemudian disatukan lalu diuapkan dengan menggunakan penguap-putar vakum (Markham, 1988). Setelah dilakukan proses ekstraksi, tahap isolasi selanjutnya adalah analisis senyawa dengan menggunakan beberapa jenis kromatografi.

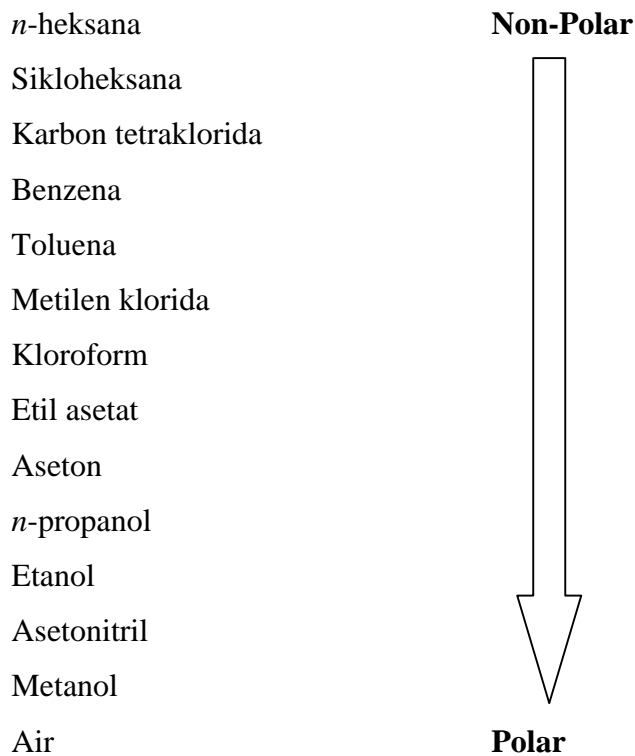
Metode kromatografi adalah pemisahan berdasarkan distribusi senyawa dalam fase gerak dan fase diam (Murniasih, 2003). Kromatografi merupakan metode pemisahan suatu senyawa yang didasarkan atas perbedaan laju perpindahan dari komponen-komponen dalam campuran. Pemisahan dengan metode kromatografi dilakukan dengan memanfaatkan sifat-sifat fisik dari sampel, seperti kelarutan, adsorpsi, keatsirian dan kepolaran. Kelarutan merupakan kecenderungan molekul untuk dapat melarut dalam cairan. Adsorpsi penyerapan merupakan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus (Johnson and Stevenson, 1991). Berdasarkan jenis fasa diam dan fasa gerak yang dipartisi, kromatografi digolongkan menjadi beberapa golongan (Tabel 1).

Tabel 1. Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak (Johnson and Stevenson, 1991).

Fasa diam	Fasa gerak	Sistem kromatografi
Padat	Cair	Cair-adsorpsi
Padat	Gas	Gas-adsorpsi
Cair	Cair	Cair-partisi
Cair	Gas	Gas-partisi

1. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Teknik **KCV** dilakukan dengan suatu sistem yang bekerja pada kondisi vakum secara kontinu, sehingga diperoleh kerapatan kemasan yang maksimum atau dengan menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju alir fasa gerak. Urutan eluen yang digunakan dalam kromatografi cair diawali mulai dari eluen yang mempunyai tingkat kepolaran rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan-lahan. Urutan eluen yang digunakan dalam kromatografi diawali dari eluen yang mempunyai tingkat kepolaran rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan-lahan (Hostettmann *et al.*, 1995). Berikut ini merupakan urutan kenaikan tingkat kepolaran eluen pada kromatografi:



(Sumber: Gritter *et al.*, 1991).

2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah plat atau lapisan diletakkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan).

Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

3. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Pada prinsipnya Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) digunakan untuk memisahkan campuran beberapa senyawa yang diperoleh dari isolasi. Dengan menggunakan fase padat dan fasa cair maka fraksi-fraksi senyawa akan menghasilkan kemurnian yang cukup tinggi. Kromatografi kolom merupakan kromatografi cair-adsorpsi yang dilakukan hanya berdasarkan gaya gravitasi bumi (Gritter *et al.*, 1991).

Teknik KKG, pada dasarnya sama dengan KCV, yaitu kromatografi cair-adsorpsi, hanya saja KKG dilakukan pada sistem yang bekerja pada kondisi normal tanpa vakum. Waktu yang dibutuhkan dalam pelaksanaannya lebih lama, namun diharapkan akan mendapat hasil dengan pemisahan yang lebih baik dan lebih murni (Hernawan, 2008).

E. Identifikasi Spektroskopi

1. Spektroskopi UV-Vis

Dalam spektroskopi UV-VIS penyerapan sinar tampak dan ultraviolet oleh suatu molekul akan menghasilkan transisi diantara tingkat energi elektronik molekul tersebut. Transisi tersebut pada umumnya antara orbital ikatan, orbital *non*-ikatan atau orbital anti-ikatan. Panjang gelombang serapan yang muncul merupakan ukuran perbedaan tingkat-tingkat energi dari orbital suatu molekul (Sudjadi, 1983).

Metode spektroskopi ini berguna untuk mengetahui jenis flavonoid. Selain itu, kedudukan gugus fungsi hidroksil pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan cara menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak yang terjadi. Spektrum khas flavonoid terdiri dari dua pita yaitu pada rentang 240-285 nm (Pita II) dan 300-550 nm (Pita I). Letak serapan pita tepat dan kekuatan dari pita tersebut akan memberikan informasi yang berguna mengenai sifat flavonoid (Markham, 1988). Rentang utama yang diperkirakan untuk setiap jenis flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rentang serapan spektrum ultraungu-tampak untuk flavonoid.

Pita II	Pita I (nm)	Jenis Flavonoid
250-280	310-350	Flavon
250-280	330-360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250-280	350-385	Flavonol (3- OH bebas)
245-275	310-330	Isoflavon
275-295	300-390	Flavanon dan dihidroflavon
230-270	340-390	Calkon
270-280	465-560	Antosianidin dan antosianin

Dengan menggunakan data yang diperoleh dari analisis berdasarkan spektrofotometer ultraviolet-visible ini kita dapat mengetahui absorptivitas molar senyawa yang diperoleh. Absorptivitas molar senyawa dihitung dengan menggunakan persamaan Lambert-Beer berikut :

$$A = b c \text{ atau } = \frac{A}{b \cdot c}$$

Keterangan:

- A = absorbansi
- = absorptivitas molar
- b = tebal sel (*cm*)
- c = konsentrasi (mol/liter)

Absorbansi (A) ini diperoleh dari data spektrum dimana terdapat puncak-puncak serapannya. Tebal sel (b) adalah ketebalan sel dalam alat yang digunakan, sedangkan konsentrasi (c) dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Konsentrasi (c)} = \frac{\text{mol}}{L} = \frac{g}{\text{BM} \cdot L}$$

Keterangan: g = Massa senyawa hasil isolasi (gram)
 BM = Berat molekul relatif (gram/mol)
 L = Volume larutan yang digunakan (L)

2. Spektroskopi *Infra red* (IR)

Spektroskopi inframerah adalah teknik spektroskopi yang paling umum digunakan oleh kimiawan organik dan anorganik. Secara sederhana, spektroskopi inframerah adalah pengukuran absorpsi dari frekuensi *Infra Red* (IR) yang berbeda-beda oleh suatu sampel yang diletakkan pada suatu jalur radiasi IR. Tujuan utama dari spektroskopi IR adalah menentukan gugus fungsi dari suatu sampel. Gugus fungsi yang berbeda memberikan serapan radiasi IR pada frekuensi yang spesifik.

Spektrometer IR dapat menentukan gugus fungsi pada jenis sampel yang beragam, seperti sampel berupa gas, cairan, dan padatan. Selain itu juga, spektroskopi IR adalah alat yang penting dan populer untuk penentuan struktur molekul dan identifikasi suatu senyawa (Settle, 1997).

Energi dari kebanyakan vibrasi molekul berhubungan dengan daerah inframerah.

Vibrasi molekul dapat dideteksi dan diukur pada spektrum inframerah.

Penggunaan spektrum inframerah untuk penentuan struktur senyawa organik

biasanya antara $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ($15,4\text{-}2,5\text{ }\mu\text{m}$) (Sudjadi, 1983). Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi (Banwell and McCash 1994).

Gugus	Serapan (cm^{-1})	Gugus	Serapan (cm^{-1})
$\text{—}\Theta$	3600	$\text{—}\Theta\text{—}_2$	2930
$\text{—}\text{N}_2$	3400		2860
$\equiv\Theta$	3300		1470
A $\text{—}\text{H}$	3060	$\begin{array}{c} \\ \text{—}\text{C}\text{—}\text{O}\text{—} \\ \end{array}$	1200-1000
$\equiv\Theta_2$	3030	$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \end{array}$	1650
	2870		
	1460	$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{N} \\ \diagdown \quad \diagup \end{array}$	1600
	1375		
$\begin{array}{c} \\ \text{—}\text{C}\text{—}\text{N} \\ \end{array}$	1200-1000	$\begin{array}{c} \quad \\ \text{—}\text{C}\text{—}\text{C}\text{—} \\ \quad \end{array}$	1200-1000
$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagdown \end{array}$	1750-1600		

3. Spektrometri H-NMR dan C-NMR

Spektrometri NMR atau spektrometri resonansi magnet inti berhubungan dengan sifat magnet dari inti atom. Spektrometri NMR terdapat dua jenis yaitu spektrometri H-NMR dan C-NMR. Dari spektrum H-NMR, akan dapat diduga ada berapa banyak jenis lingkungan hidrogen yang ada dalam molekul, dan juga jumlah atom hidrogen yang ada pada atom karbon tetangga (Sudjadi, 1983). Dari

spektrum C-NMR dapat diketahui bagaimana keadaan lingkungan karbon tetangga, apakah berada dalam bentuk karbon primer, sekunder, tersier, atau kuarternar.

Inti dari suatu atom yang dianalisis dengan menggunakan spektrometer NMR, akan mengalami efek dari medan magnet kecil pada lingkungan didekatnya. Elektron yang bersirkulasi menyebabkan terjadinya medan magnet pada inti atom. Saat medan magnet lokal dalam atom berlawanan dengan medan magnet diluarnya, hal ini dinamakan inti atom tersebut “terperisai”. Inti yang terperisai memiliki kekuatan medan efektif yang lebih rendah dan beresonansi pada frekuensi yang lebih rendah. Hal ini menghasilkan setiap jenis inti dalam molekul akan memiliki frekuensi resonansi yang agak berbeda. Perbedaan ini dinamakan geseran kimia. Nilai geseran kimia ini memiliki satuan ppm. Tabel 4 memberikan nilai geseran kimia dari beberapa jenis senyawa dengan TMS sebagai titik nol-nya (Settle, 1997).

Tabel 4. Nilai geseran kimia untuk ^1H dan ^{13}C .

Jenis Senyawa	^1H	^{13}C
Alkanes	0.5-1.3	5-35
Monosubstitued alkanes	2-5	25-65
Disubstitued alkanes	3-7	20-75
Cyclopropyl	-0.5-0.5	0-10
R-CH ₂ -NR ₂	2-3	42-70
R-CH ₂ -SR ₂	2-3	20-40
R-CH ₂ -PR ₂	2.2-3.2	50-75
R-CH ₂ -OH	3.5-4.5	50-75
R-CH ₂ -NO ₂	4-4.6	70-85
R-CH ₂ -F	4.2-5	70-80
R-CH ₂ -Cl	3-4	25-50
R-CH ₂ -Br	2.5-4	10-30
R-CH ₂ -I	2-4	-20-0
Epoxides	2.2-2.7	35-45
Nitriles	-	100-120
Alkenes	4.5-7.5	100-150
Allylic	1.6-2.1	18-30
Alkynes	2-3	75-95
Aromatic	6-9	110-145
Benzylic	2.2-2.8	18-30
Acids	10-13	160-180
Ester	-	160-175
Amida	5-9	150-180
Aldehydes	9-11	185-205
Ketones	-	190-220
Hydroxyl	4-6	-

4. Spektrometri Massa

Penafsiran spektrometri massa flavonoid adalah untuk mengidentifikasi ion molekul utuh atau ion induk (M^+). Kemudian menghubungkan fragmentasi utama yang lain dengan ion induk dengan menjelaskan secara jelas. Hal ini dilakukan dengan memperhatikan bobot molekul molekul ion induk dan fragmentasi

molekul serta alur pola fragmentasi yang telah diketahui. Spektroskopi ini akan memberikan gambaran umum suatu molekul (Markham, 1988).

F. Anti Bakteri

Di alam, jarang sekali ditemukan zat-zat kimia yang mematikan bakteri. Hanya usaha manusia untuk membebaskan kegiatan bakteri, dengan cara membuat atau meramu zat-zat untuk meracuni bakteri tetapi tidak membahayakan kehidupan hewan dan manusia. Zat-zat yang hanya menghambat kegiatan bakteri tanpa membunuhnya disebut antiseptik atau bakteriostatik sedang zat-zat yang dapat membunuh bakteri disebut adalah desinfektan, germisida atau bakterisida. Sifat kerusakan bakteri sebagai akibat dari suatu desinfektan, belum diketahui seluruhnya, ada desinfektan yang membunuh bakteri dengan tidak merusaknya sama sekali ada juga zat-zat kimia seperti basa dan asam organik, menyebabkan hancurnya bakteri, mungkin sekali kehancuran ini akibat dari suatu hidrolisis (Melliawati, 2009).

Antibakteri adalah senyawa khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup, termasuk struktur analognya dibuat sintetik dan dengan kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu atau lebih mikroorganisme (Myllyniemi, 2004).

Mekanisme kerja obat antibiotik atau antibakteri terhadap mikroorganisme dapat berupa :

1. Menghambat sintesa metabolit-metabolit yang esensial, protein, dan asam nukleat.

2. Menghambat sintesa dinding sel atau membran plasma.
3. Merusak dinding sel atau membran plasma.

Dilihat dari mekanisme kerjanya maka antibiotika ini dapat mempunyai efek :

- A. *Bactericidal*, bila menyebabkan sel mikroorganisme tersebut mati oleh karena efek obat yang merubah, menghambat atau merusak sel mikroorganisme.
- B. *Bacteriostatic*, bila menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme terhenti oleh karena ada hambatan terhadap metabolisme mikroorganisme (Gondo, 2007).

Kadar minimal yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Tumbuh Minimal (KHTM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat terbagi: sangat kuat (zona hambat lebih dari 20 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), sedang (zona hambat 5-10 mm), dan lemah (zona hambat kurang dari 5 mm) (Davis and stout, 1971).

Kerja antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: konsentrasi zat antibakteri, jumlah spesies bakteri, dan latar belakang kehidupan bakteri, resistensi, sifat fisik dan kimia substrat seperti pH lingkungan, jenis, dan substrat zat terlarut.

Beberapa grup senyawa kimia utama yang bersifat antimikroba adalah fenol dan senyawa fenolik, alkohol, halogen, logam berat dan senyawanya, zat warna detergen, senyawa ammonium kuarterner, senyawa asam dan basa, dan gas khemosterilan (Myllyniemi, 2004).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2015 - Juni 2016, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah spektroskopi Ultraungu-tampak (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, sedangkan analisis spektroskopi inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Spektroskopi NMR dan MS dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBA) Institut Teknologi Bandung. Uji aktivitas Antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum, Inkubator, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vacum (KCV), Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), lampu

UV, pipet kapiler, spektrofotometer FT-IR merk varian Cary 600, spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis) merk Cary 50, spektrofotometer NMR merk Agilent dengan sistem konsol DD2 yang beroperasi pada frekuensi 500 MHz pada $^1\text{H-NMR}$, dan spektrofotometer MS jenis ES-TOF merk LCT Premier XE ESI-TOP.

2. Bahan-bahan yang digunakan

Tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) yang diperoleh di Desa Sukoharjo, Pringsewu. Proses Ekstraksi dan fraksinasi senyawa aktif dari Tumbuhan kenangan ini dengan menggunakan akuades, *n*-heksana, etil asetat, metanol, Silika gel 60 GF 254, Pereaksi *dragendorff*, *Mayer*, dan *Wagner*. Media yang digunakan untuk pembiakan dan pemeliharaan bakteri *E. coli* yaitu *Nutrient Agar* (NA).

C. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan dan persiapan sampel

Sampel berupa tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) yang didapatkan dari daerah Pringsewu. Sampel tersebut telah diketahui spesiesnya melalui determinasi herbarium Bogoriense yang dilakukan di Pusat Penelitian Biologi bidang Botani Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Sampel kemudian dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan sampai menghasilkan serbuk halus.

2. Ekstraksi

➤ Ekstraksi dengan *n*-heksana

Sebanyak 3 kg kulit akar tumbuhan kenangan yang telah dihaluskan, dimaserasi dengan *n*-heksana selama 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 50°C dengan laju putaran 120 rpm hingga didapatkan ekstrak pekat.

➤ Ekstraksi dengan metanol : etil asetat (1:1)

Sebanyak 3 kg kulit akar tumbuhan kenangan hasil maserasi *n*-heksana dimaserasi kembali dengan metanol : etil asetat (1:1) selama 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak metanol : etil asetat (1:1) yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 50°C dengan laju putaran 120 rpm.

3. Kromatografi

➤ Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak kering (kasar) hasil maserasi metanol : etil asetat (1:1) dilarutkan dalam aseton kemudian difraksinasi dengan KCV. Terlebih dahulu fasa diam silika gel Merck G 60 sebanyak 10 kali berat sampel dimasukkan ke dalam kolom. Kemudian kolom dikemas kering dalam keadaan vakum menggunakan alat vakum. Eluen yang kepolarannya rendah, yaitu *n*-heksana dituangkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu kemudian di vakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum dan kolom siap digunakan. Ekstrak

kering yang telah dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasikan kepada silika gel, kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam dan kemudian dihisap secara perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan cara memvakumkannya. Setelah itu kolom dielusi secara bertahap dengan etil asetat/ *n*-heksana 0% yang ditingkatkan kepolarannya sampai dengan etil asetat 100%. Kolom dihisap sampai kering pada setiap penambahan eluen (tiap kali elusi dilakukan). Kemudian fraksi-fraksi yang terbentuk dikumpulkan berdasarkan pola fraksinasinya. Proses pemurnian sampel dengan teknik KCV terhadap fraksi target dilakukan berulang kali dengan perlakuan yang sama seperti tahapan KCV awal.

➤ **Kromatografi Lapis Tipis**

Uji KLT terlebih dahulu dilakukan untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar. Uji KLT juga dilakukan terhadap fraksi-fraksi yang akan difraksinasi dan juga fraksi yang didapat setelah fraksinasi. Uji KLT dilakukan dengan menggunakan sistem campuran eluen menggunakan pelarut yang sesuai yaitu dapat berupa kombinasi antara *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dengan persentase yang sesuai. Setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT, bercak/noda dilihat dibawah lampu UV. Untuk menampakkan noda hasil KLT, hasil kromatogram tersebut kemudian disemprot dengan menggunakan larutan serum sulfat. *R_f* (*Retention factor*) dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan *R_f* yang sama pada kromatogram, disatukan dan dipekatkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut.

➤ **Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)**

Fraksinasi sampel dilakukan dengan teknik kromatografi kolom. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. *Slurry* dari silika gel, diatur sebagai fasa diam di dalam kolom hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya sampel yang telah dijerapkan pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Pada saat sampel dimasukkan, usahakan agar kolom tidak kering/kehabisan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu.

4. Analisis Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan metode KLT dan uji titik leleh. Uji kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Jika noda yang terjadi tidak berwarna, untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut plat KLT kemudian disemprot menggunakan larutan serium sulfat. Untuk uji titik leleh, sebelum dilakukan pengukuran, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor yang ada, karena dengan adanya pengotor akan menaikkan atau menurunkan temperatur titik leleh kristal. Untuk kristal yang berukuran besar, kristal terlebih dahulu digerus hingga berbentuk serbuk. Kemudian kristal yang akan ditentukan titik lelehnya diletakkan pada lempeng kaca, diambil sedikit dengan menggunakan pipet kapiler, alat dihidupkan dan titik leleh diamati

dengan bantuan kaca pembesar. Suhu pada saat kristal pertama kali meleleh, itulah titik leleh dari senyawa tersebut.

5. Spektrofotometri

➤ Spektrofotometri UV-Vis

Sampel berupa kristal murni sebanyak 0,001 g dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran. Pertama, sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol.

➤ Spektrofotometri *Infra Red* (IR)

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah. Kristal yang telah murni dibebaskan dari air kemudian digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Gerasan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm^2 . Kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya (Sudjadi, 1983).

➤ Spektrofotometri H-NMR dan C-NMR

Sampel berupa kristal murni yang akan diidentifikasi dilarutkan ke dalam pelarut inert yang tidak mengandung proton seperti CCl_4 dan CDCl_3 , kemudian ditambahkan sedikit senyawa acuan. Larutan ini ditempatkan dalam tabung gelas tipis dengan tebal 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (rf) di antara dua kutub magnet yang sangat kuat kemudian energi dari kumparan rf ditambah secara terus-menerus.

Energi pada frekuensi terpasang dari kumparan rf yang diserap cuplikan direkam dan memberikan spektrum NMR.

➤ Spektrofotometri Massa

Dalam spektroskopi massa, molekul–molekul senyawa organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion positif yang bertenaga tinggi (ion- ion molekuler atau ion - ion induk), yang dapat dipecah-pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (ion- ion pecahan).

6. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 4,2 gram *Nutrient Agar* (NA) ditambahkan 150 mL aquades kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer dan dipanaskan hingga NA larut. Media agar yang sudah larut hingga berubah jadi bening dan 65 mL Aquades dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit bersama dengan cawan petri yang akan digunakan yang telah diberi tanda 3 daerah yaitu sampel, kontrol positif dan kontrol negatif. Media yang disterilkan dimasukkan ke dalam *laminar air flow* selama 15 menit. Setelah itu media dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan. Setelah media di dalam cawan petri memadat, dituangkan suspensi bakteri *E. coli* (sebanyak 1 ose yang dimasukkan ke dalam akuades steril dan dihomogenkan ke dalam media agar). Setelah media siap dimasukkan *disk* yang berisi senyawa antibakteri, kontrol positif dan kontrol negatif. Kemudian cawan petri ditutup dan dibungkus kembali dengan kertas dan disimpan dalam inkubator selama 24 jam.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa Artonin O hasil isolasi dari fraksi non polar tumbuhan kenangan dihasilkan sebanyak 22,5 mg berbentuk kristal berwarna merah kecoklatan, uji titik leleh sebesar 201-203°C, uji KLT menunjukkan noda tunggal dan nilai Rf yang sama dengan senyawa standar yaitu sebesar 0,48 pada eluen etil asetat:heksan 15%.
2. Hasil karakterisasi spektro UV, IR, ¹H-NMR, serta MS mendukung bahwa senyawa hasil isolasi adalah Artonin O.
3. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa senyawa Artonin O mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* kategori sedang, yaitu menghasilkan zona bening dengan diameter sekitar 7-7,5 mm.

B. Saran

Saran yang berkaitan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa flavonoid lain dari fraksi non polar dari kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bioaktivitas lain dari senyawa flavonoid pada kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*).

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm 39.
- Achmad, S.A., E.H. Hakim, L.D. Juliawaty, L. Makmur, Suyatno, N. Aimi, and E.L. Ghisalberti. 1996. *A new prenylated flavone from Artocarpus chempeden*. *J. Nat. Prod.* **59**. Hlm 878-879.
- Altman, L.J. and Zito S.W. 1976. *Sterols and triterpenes from the fruit of Artocarpus altilis*. *Phytochem.* **15**. Hlm 829-830.
- Banwell, C.N. and E.M. McCash. 1994. *Fundamental of Molecular Spectroscopy*. Mc Graw-Hill Book Company. London. Hlm 1204-1206.
- Barik, B.R., T. Bhaunik, A.K. Kundu, and A.B. Kundu. 1997. *Triterpenoids of Artocarpus heterophyllus*. *J. Indian. Chem. Soc.* **74**. Hlm 163-164.
- Boonlaksiri, C., W. Oonanant, P. Kongsaree, P. Kittakoop, M. Tanticharoen, and Y. Thebtaranonth. 2000. *An antimalarial stilbene from Artocarpus integer*. *Phytochem.* **54**. Hlm 415-417.
- Dayal, R. and T.R. Seshadri. 1976. *Colourless compounds of the roots of Artocarpus heterophyllus. Isolation of new compound artoflavone*. *Indian J. Chem.* **12**. Hlm 895-898.
- Davis & Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*; **22**:(4): Hlm 659-665.
- Freshney, I.R. and Freshney, M.G. 2002. *Culture of specialized cells Culture of epithelial cell*. John Wiley & Sons Inc. Publ, New York.
- Goldberg, HS. 1959. *Antibiotics: Their Chemistry and Non-Medical Uses*. Van Nostrand Company. New York.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbitt, dan A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 266.

- Hakim, E.H., Asnizar, Yurnawilis, N. Aimi, M. Kitajima, and H. Takayama. 2002. *Artoindonesianin P, A New Prenylated Flavone With Cytotoxic Activity from Artocarpus lanceifolius. Fitoterapia. 73.* Hlm 668-673.
- Hakim, E.H., E.L. Ghisalberti, S.A. Achmad, L.D. Juliawati, L. Makmur, Y.M. Syah, N.Aimi, M.Kitajima, and H. Takayama. 2006. *Prenylated Flavonoid and Related Compounds of The Indonesian Artocarpus (Moraceae). J. Nat. Med. 60.* Hlm 161-184.
- Hakim, A. 2011. *Keanekaragaman Metabolit sekunder Genus Artocarpus (Moraceae). Bioteknologi. 8 (2).* Hlm 86-98.
- Herbert, R.B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder.* Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang. Hlm 103-123.
- Hernawan. 2008. *Isolasi Senyawa Flavonoid dari kulit Batang Artocarpus rigida.* (Skripsi). Universitas lampung. Bandar lampung.
- Hostettman, K., M. Hostettman, dan A. Manson. 1995. *Cara kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam.* Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 27-34.
- Jayasinghe, L., B. Balasooriya, W.C Padmini, N. Hara, and Y. Fujimoto. 2004. *Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging. Phytochem. 65.* Hlm 1287-1290.
- Johnson, L.E. dan R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair.* Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 365.
- Kemenkes. 2015. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia.* Jakarta.
- Khan, MR., A.D. Omoloso, and M. Kihara. 2003. *Antibacterial activity of Artocarpus heterophyllus. Fitoterapia. 74.* Hlm 501-505.
- Ko, HH., Y.H. Lu, S.Z. Yang, S.J. Won, and C.N. Lin. 2005. *Cytotoxic prenylflavonoids from Artocarpus elasticus. J. Nat. Prod. 68.* Hlm 1692-1695.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan alkaloid.* Karya Ilmiah Departemen Kimia. FMIPA.Universitas Sumatera Utara. Medan. Hlm 7.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 117.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp : A Comvenient general Bioassay For Active Plant Constituents.* Plant Medica.

- Murniasih, T. 2003. *Metabolit Sekunder dari Spons Sebagai Bahan Obat-obatan. Oseana*. **28** (3). Hlm 27-33.
- Murray, K.R., D.A. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 2003. *Biokimia Harper*. Mc Graw Hill. Jakarta.
- Myllyniemi AL. 2004. Development of Microbiological Methods for The Detection and Identification of Antimicrobial Residues In Meat. Helsinki. Departement of Food and Environmental Hygiene Faculty Of Veterinary Medicine University of Helsinki.
- Namdaung, U., N. Aroonrerk, S. Suksamrarn, K. Danwisetkanjana, J. Saenboongrueng, W. Arjchomphu, and A. Suksamrar. 2006. *Bioactive Constituents of the Root Bark of Artocarpus rigidus subsp. Rigidus*. *Chem. Pharm. Bull.* **54** (10) : 1433.
- Nomura, Y., S. Hano, and R. Inami. 1990. *Components of the bark of Artocarpus rigida Bl. I, structures of two new isoprenylated flavones, Artonins G and H. Heterocycles*. **31** (12). Hlm 2173-2179.
- Prasad, R.N., Viswanathan, S., Devi, J.R., Nayak, Swetha, V.V.C., Archana, B.R., Parathasarathy, N., and Rajkumar, J. 2008, Short Communication, Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of Samanea saman, *Journal of Medicinal Plants Research*, **2** (10) : 268-270
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Settle, Frank A. 1997. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. Hlm. 25-30; 247-252; 309-311; 481-485.
- Sienko, Plane, and Marcus. 1984. *Experimental Chemistry, 6th Edition*. Mc Graw Hill Book Co. Singapore.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 3-17.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hlm 283.
- Suhartati, T, S.A. Achmad, A. Norio, dan E.H. Hakim. 2005. Artonin M, Turunan Flavon Tergeranilasi dari *Artocarpus rotunda*. *J. Sains Tek.* **11** (2) : Hlm 61-65.

- Syah, YM., L.D. Juliawaty, S.A. Achmad, E.H. Hakim, and E.L. Ghisalberti. 2006. *Cytotoxic prenylated flavones from Artocarpus champeden. J. Natural Med.* **60**. Hlm 308-312.
- Tapas, AR., DM Sakarkar, and RB Kakde. 2008. *Flavonoids as nutraceuticals : A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* **7** (3): 1089-1099. Hlm. 1090.
- Tjitrosoepomo, G. 1993. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm 447.
- Weng, JR., S.C. Chan, Y.H. Lu, H.C. Lin, H.H. Ko, and C.N. Lin. 2006. *Antiplatelet prenylflavonoids from Artocarpus communis. Phytochemistry.* **67**. Hlm 824-829.