

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN MODIFIKASI SERTA UJI  
BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR SENYAWA  
ARTONIN E DARI FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN  
KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)**

(Skripsi)

Oleh

**SUSY ISNAINI HASANAH**



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

## ABSTRACT

### ISOLATION, CHARACTERIZATION, MODIFICATION, ALSO ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL BIOACTIVITY OF ARTONIN E FROM POLAR FRACTION OF ROOTS WOOD KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

By

**Susy Isnaini Hasanah**

*Artocarpus rigida* is a species of the genus *Artocarpus* of Moraceae family known as Kenangkan. This plant is known as a major source of flavonoids derived compounds, and also has bioactivity as anticancer, antibacterial, antifungal and others. This study aimed to isolate and identify artonin E contained in the polar fraction roots wood Kenangkan (*Artocarpus rigida*) obtained from the Village Keputran Pringsewu Sukoharjo regency of Lampung Province, then isolated compounds modified using  $AlCl_3$ . The study was conducted on the collection and preparation of plant material later extraction, isolation, visualization using TLC and purification of compounds using methods VLC and CC whereas the molecular structure of these compounds is determined by physical and spectroscopic data (UV-Vis, IR,  $^1H$ NMR,  $^{13}C$ NMR, and HMBC). Isolated compounds was obtained in the form of yellow solid with a melting point of 255-256°C while the modified compound tanned solid form with a melting point 240-245°C. Based on the results of spectroscopic analysis indicated that it had successfully isolated a prenylated flavonoids, artonin E 151.5 mg of the polar fraction roots wood Kenangkan (*Artocarpus rigida*). In the test of bioactivity, artonin E isolated and modified compounds did not show any antifungal activity against *Rhizopus sp.* but showed antibacterial activity against *Bacillus subtilis* in a weak category.

Keywords: *Artocarpus rigida*, artonin E, *Bacillus subtilis*, flavonoids, *Rhizopus sp.*

## ABSTRAK

### ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN MODIFIKASI SERTA UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR SENYAWA ARTONIN E DARI FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

Oleh

Susy Isnaini Hasanah

Tumbuhan *Artocarpus rigida* merupakan salah satu spesies dari genus *Artocarpus* dari famili Moraceae yang dikenal dengan nama kenangkan. Tumbuhan ini diketahui sebagai sumber utama senyawa derivat flavonoid, dan juga memiliki bioaktivitas sebagai antikanker, antibakteri, antijamur dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa artonin E yang terkandung dalam fraksi polar kayu akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*) yang diperoleh dari Desa Keputran Sukoharjo Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung, kemudian senyawa hasil isolasi dimodifikasi menggunakan  $AlCl_3$ . Penelitian yang dilakukan meliputi pengumpulan dan persiapan bahan tumbuhan kemudian ekstraksi, isolasi, visualisasi menggunakan KLT dan pemurnian senyawa menggunakan metode KCV dan KK sedangkan struktur molekul senyawa tersebut ditentukan berdasarkan data fisika dan spektroskopi (UV-Vis, IR,  $^1H$ NMR,  $^{13}C$ NMR, dan HMBC). Senyawa hasil isolasi yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning dengan titik leleh 255-256°C sedangkan senyawa hasil modifikasi berupa padatan kecokelatan dengan titik leleh 240-245°C. Berdasarkan hasil analisis spektroskopi menunjukkan bahwa telah berhasil diisolasi suatu senyawa flavon terprenilasi, yaitu artonin E 151,5 mg dari fraksi polar kayu akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*). Pada uji bioaktivitas, artonin E hasil isolasi dan senyawa hasil modifikasi tidak menunjukkan adanya aktivitas antijamur terhadap *Rhizopus sp.* tetapi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dalam kategori lemah.

Kata Kunci: *Artocarpus rigida*, artonin E, *Bacillus subtilis*, flavonoid, *Rhizopus sp.*

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN MODIFIKASI SERTA UJI  
BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR SENYAWA  
ARTONIN E DARI FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN  
KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)**

**Oleh**

**Susy Isnaini Hasanah**

**Skripsi**

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

**Pada**

**Jurusan Kimia**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



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

**Judul Skripsi**

**: ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN  
MODIFIKASI SERTA UJI BIOAKTIVITAS  
ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR SENYAWA  
ARTONIN E DARI FRAKSI POLAR KAYU  
AKAR TUMBUHAN KENANGKAN  
(*Artocarpus rigida*)**

**Nama Mahasiswa**

**: Susy Isnaini Hasanah**

**Nomor Pokok Mahasiswa**

**: 1217011057**

**Jurusan**

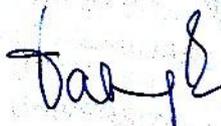
**: Kimia**

**Fakultas**

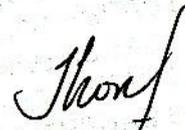
**: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**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**

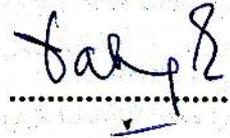


**Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP 19740705 200003 1 001

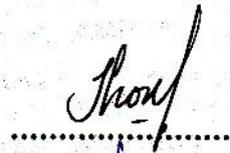
## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

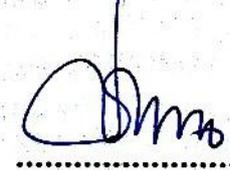
**Ketua : Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**



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



**Anggota : Prof. Dr. Ir. Yandri AS., M.S.**



**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



Susy Isnaini Hasanah dilahirkan di Kota Bumi, pada tanggal 04 Juni 1997 sebagai anak ke-2 dari pasangan bapak Syueb Subarkah dan ibu Sutarmi. Penulis telah menyelesaikan pendidikan mulai dari Sekolah Dasar di SD Negeri 3 Yukum Jaya Lampung Tengah tahun 2002-2008, selanjutnya penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah

Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Terbanggi Besar Lampung Tengah tahun 2008-2010 dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas di MA Negeri 1 Lampung Tengah tahun 2010-2012. Pada tahun 2012 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN tertulis.

Penulis pernah mendapatkan beasiswa PPA selama dua periode yaitu pada tahun 2013/2014 dan 2014/2015. Penulis terdaftar sebagai Kader Muda Himaki (KAMI) periode 2012-2013 dan anggota Biro Penerbitan (BP) Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) tahun 2013-2014. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar Budidaya Perairan (BDP), Sains Dasar, Kimia Dasar, Kimia Organik Biologi 2015, Praktikum Kimia Organik II, dan asisten praktikum di STIKes Muhammadiyah Pringsewu pada tahun 2016.



## *PERSEMBAHAN*

**Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sholawat serta salam kepada suri tauladan terbaik nabi Muhammad SAW.**

*Ku persembahkan karya kecilku ini kepada:*

*Ayah dan Ibu tercinta (Bapak Syueb Subarkah & Ibu Sutarmi)*

*Yang telah mendidik dan membesarkanku dengan penuh kesabaran dan limpahan kasih sayang serta selalu mendoakan, menguatkan, mendukung segala langkahku untuk menuju kesuksesan.*

*Kakak dan Adik-adikku tersayang: Dini, Aisyah, Meila, Agung, Fira, dan Mikail*

*Yang memberikan motivasi dan semangatnya*

*Rasa hormatku kepada*

*Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.*

*Guru, dosen, yang telah mambantuku dalam belajar untuk mendapatkan ilmu dunia dan akhirat serta memberikan motivasi agar menjadi insan yang lebih baik*

*Teman-teman dan sahabatku  
Yang selalu berbagi kebahagiaan*

*Serta*

*Almamaterku tercinta*

## *MOTTO*

*....niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah maha mengetahui apa yang kamu kerjakan (QS. Al Mujaadilah : 11)*

*Learn from yesterday, live for today, hope for tomorrow (Albert Einstein)*

*“Berdoalah kepada Allah dalam keadaan yakin akan dikabulkan, dan ketahuilah bahwa Allah tidak mengabulkan doa dari hati yang lalai.”  
(HR. Tirmidzi)*

*Sabar menguatkan dan menenangkan hati (Anonim)*

## SANWACANA

*Alhamdulillahirrobbil'alamiin.* Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala petunjuk-Nya yang telah menganugerahkan rahmat, sehat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi serta Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur Senyawa Artonin E dari Fraksi Polar Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*)” sebagai salah satu syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains pada program studi kimia FMIPA Universitas Lampung.

Sholawat teriring salam selalu tercurah kepada suri tauladan terbaik nabi Muhammad SAW beserta para sahabat dan keluarganya, semoga kita termasuk umatnya yang mendapatkan *syafa'at* beliau di *yaumul akhir* nanti, *amiin*.

Teriring doa yang tulus *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiro*, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayah dan Ibu tercinta, atas seluruh doa, kasih sayang, dukungan dan motivasi kepada penulis serta semua pengorbanan yang sudah diberikan kepada penulis, semoga Allah membalas-Nya, *amiin yarobbal alamin*.

2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku pembimbing I yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, keikhlasan, memberikan arahan, motivasi, dan membantu penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah membalas kebaikan beliau dengan kebaikan serta keberkahan yang tak terhingga.
3. Bapak Dr.dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes. selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, keikhlasan sehingga skripsi penulis dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S. selaku pembahas dalam penelitian yang telah memberikan nasihat, bimbingan dengan kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.
5. Bapak Prof. Wasinton Simanjuntak, Ph.D. selaku pembimbing akademik atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, bantuan, nasihat yang bermanfaat kepada penulis.
6. Ibu Noviany, Ph.D. selaku Kepala Laboratorium Kimia Organik atas izinnya untuk menyelesaikan penelitian.
7. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku ketua jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Ibu dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu dan bimbingan yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan. Semoga Allah SWT melimpahkan keberkahan yang tak terhingga kepada Bapak dan Ibu.

9. Bapak Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Kakakku tercinta Rizki Ahadini Syskah, S.Pd. dan Adik-adikku tercinta: Aisyah Aprilia Achlawy, Meila Manshurina Khomsiati, M. Agung Agustianto, Yulia Zafira Faradina dan M. Mikail Abdullah atas kasih sayang, semangat, motivasi yang diberikan kepada penulis.
11. *Partner* penelitianku Ajeng Wulandari dan Ismi Khomsiah yang senantiasa memberikan motivasi kepada penulis dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan keberkahan-Nya kepada kita semua.
12. Kepada rekan-rekan peneliti di Laboratorium Kimia Organik (Ajeng Wulandari, Ismi Khomsiah, Putri Ramadhona, Tazkiya Nurul, Yepi Triapriani, Tiara Dewi Astuti, Arif Nur Hidayat, Ayu Setia Ningrum, Radius Ully Artha), Kakak-Kakak (Kak Hernawan, Kak Rio, Mb Ratu, Kak Andri Nosya, S.Si., Kak Rahmat Kurniawan, S.Si., Kak Junaidi Permana, S.Si., Mb Mirfat Salim Abdat, S.Si., Mb Yulia Ningsih, S.Si., Mb Jelita Siahaan, S.Si., Kak Ridho Nahrowi, S.Si., Pak Erwan, M.Si.) dan Adik-adik (Badi, Vicka, Nurul, Arni, Inggit, Dona M., Aul, Shela, Siti, Ima, Erva, Nesia, dkk), semoga Allah memudahkan segala urusan.
13. Rekan-rekan peneliti di Laboratorium Biokimia ( Mb Putri Amalia, M.Si., Mb Ariyanti, S.Si., Mba April, Mba Windi, Mba Uus, Mba Ana, Kak Azis, Didi, Uway, Maul, Mba Lita, Fifi, Putri, Meta, Syathira) yang telah membantu dalam proses penyelesaian penelitian.

14. Teman-teman tercinta kimia 2012: Adi, Adit, Adam, Ajeng, Ana, Welda, Arif, Arya, Atma, Imani, Ningrum, Debby, Dery, Dedew, Didi, Dwi, Edi, Eka, Elsa, Lita, Febi, Fenti, Dinan, Febita, Fifi, Iin, Indri, Intan, Ismi, Jeje, Jenny, Anwar, Maul, Meta, Rijal, Murni, Nila, Dona, Abang Debo, Radius, Rio, Riandra, Rifki, Putri, Rully, Mak Way, Ais, Imah, Sopian, Dela, Tira, Tazkiya, Tiara, Reno, Ubay, Tri, Fatun, Wiwin, Yepi, dan Yunsi. Terima kasih untuk kebersamaan dan keceriaan selama menjalankan perkuliahan, tetap semangat dan jangan menyerah, perjuangan masih panjang, sukses selalu untuk kita semua.
15. Mbak Wid, Mbak Liza, Mbak Nora, Pak Gani, Mas Nomo, Pak Jon, Uni Kidas terima kasih atas bantuan yang diberikan kepada penulis.
16. Sahabat-sahabat terbaikku “ Jocam Sweet” : Mami Mila, Mbak Tina, Mbak Eka Yul, Mbak Feni, Mbak Nikken Mbak Intan, Mbak Uus, Kakak Hepi, Indah, dan Aisyah . *Jazakumullahu Khoiro* atas kebersamaan dan keceriaan kalian, selalu memberikan canda tawa dan kegilaan yang dapat menghilangkan kepenatan dari rutinitas kuliah. Semoga kita selalu diberi kemudahan dalam segala urusan.
17. Keluarga Besar Jocam Rajabasa (KEJORA) *Alhamdullilahi Jaza Kumullahu Khoiro* terima kasih atas segala sesuatu yang telah diberikan kepada penulis.
18. Teman-teman Accel G3 MA Negeri 1 Lampung Tengah (Siti, Nurul, Afifah, Riski, Mifta, Eja, Arbhi, Fian, Bili, Siska, Dede, Atik, Vici, Nenden, Sandra, Asoly, Fahri, Usamah, Luluk) sukses selalu untuk kita.
19. Teman-teman KKN Tiyuh Murni Jaya Tulang Bawang Barat (Mba Gita, Siti, Yanti, Abi, Dipa, Kepin), semoga dimudahkan dalam segala urusan.

20. Seluruh keluarga besar Jurusan Kimia FMIPA Angkatan 2010-2015.
21. Almamater tercinta Universitas Lampung.
22. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

*Amin.*

Bandar Lampung, Agustus 2016

Penulis

**Susy Isnaini Hasanah**

## DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL .....	iii
--------------------	-----

DAFTAR GAMBAR.....	iv
--------------------	----

### I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	4
C. Manfaat Penelitian .....	5

### II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Artocarpus .....	6
1. Kenangan ( <i>Artocarpus rigida</i> ) .....	6
2. Senyawa Flavonoid .....	8
B. Senyawa Metabolit Sekunder.....	10
C. Pemisahan Senyawa secara Kromatografi .....	11
1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	12
2. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	13
3. Kromatografi Kolom (KK).....	14
D. Identifikasi secara Spektroskopi .....	15
1. Spektroskopi Inframerah (IR) .....	15
2. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) .....	16
3. Spektroskopi UV-Vis .....	17
E. Modifikasi dengan menggunakan $AlCl_3$ .....	18
F. Bakteri dan Jamur .....	20
1. <i>Bacillus subtilis</i> .....	23
2. <i>Rhizopus sp.</i> .....	25

### III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	27
B. Alat dan Bahan .....	27
1. Alat-Alat yang Digunakan .....	27
2. Bahan-Bahan yang Digunakan.....	28
C. Prosedur Penelitian .....	29
1. Pengumpulan dan Persiapan Sampel .....	29
2. Ekstraksi dengan Metanol dan Etil Asetat .....	29
3. Kromatografi Cair Vakum (KCV) .....	29

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	30
5. Kromatografi Kolom (KK) .....	31
6. Analisis Kemurnian.....	31
7. Modifikasi Gugus Fungsi dengan Pereaksi $AlCl_3$ .....	32
8. Spektrofotometri UV-Vis .....	33
9. Spektrofotometri Inframerah (IR) .....	33
10. Spektrofotometri Resonansi Magnetik Inti (NMR) .....	34
11. Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur .....	34
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Isolasi Senyawa Flavonoid.....	36
B. Penentuan Titik Leleh .....	47
C. Analisis Spektrofotometri .....	47
1. Analisis Spektrofotometri UV-Vis.....	47
2. Analisis Spektrofotometri Inframerah (IR).....	52
3. Analisis Spektroskopi Resonansi Magnet Inti (NMR) .....	54
D. Modifikasi Gugus Fungsi.....	59
E. Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur .....	63
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Simpulan.....	67
B. Saran .....	68
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	
1. Diagram alir penelitian .....	75
2. Kromatogram hasil KLT fraksi-fraksi KCV awal tahap I-XII .....	79
3. Perhitungan koefisien absorptivitas molar .....	82
4. Modifikasi senyawa artonin E .....	84
5. Perhitungan tetapan kopling $^1H$ NMR dan perbesaran spektrum NMR .....	85
6. Perhitungan pembuatan larutan uji bioaktivitas antibakteri dan antijamur .....	90
7. Hasil uji bioaktivitas antijamur terhadap <i>Rhizopus sp.</i> dan antibakteri terhadap <i>Bacillus subtilis</i> .....	91

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis fase gerak dan fase diam kromatografi .....	12
2. Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi .....	16
3. Letak pergeseran kimia proton dalam molekul organik.....	17
4. Rentang serapan spektrum ultraungu-tampak untuk flavonoid .....	18
5. Sifat-sifat bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	24
6. Penggabungan fraksi utama C (fraksi A) hasil KCV tahap I-XII .....	38
7. Penggabungan fraksi utama D (fraksi B) hasil KCV tahap I-XII .....	39
8. Perbandingan data spektrum UV-Vis senyawa artonin E dan senyawa hasil isolasi kayu akar tumbuhan kenangan <i>A. rigida</i> .....	52
9. Perbandingan data IR senyawa artonin E standar (A) dengan senyawa hasil isolasi (B) .....	54
10. Perbandingan data <sup>1</sup> HNMR dan <sup>13</sup> CNMR antara senyawa artonin E dan senyawa hasil isolasi.....	57
11. Ukuran zona hambat dari senyawa hasil isolasi dan hasil modifikasi terhadap bakteri <i>Bacillus subtilis</i> .....	64

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Batang tumbuhan kenangan ( <i>A. rigida</i> ).....	7
2. Tiga jenis flavonoid. ....	8
3. Kerangka dasar flavon .....9	
4. Senyawa-senyawa flavonoid dalam <i>A. rigida</i> ..... 10	
5. Urutan tingkat kepolaran eluen..... 14	
6. Struktur aluminium klorida..... 19	
7. Struktur kompleks flavon- $\text{AlCl}_3$ ..... 20	
8. Kromatogram KLT ekstrak kasar etil asetat: metanol menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 ..... 37	
9. Kromatogram hasil KLT fraksi-fraksi KCV awal tahap VI menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1..... 38	
10. Kromatogram hasil KLT kristal, (a) kristal 11(10),12(13), dan 12(14) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 3:7, (b) kristal 11(10) dan 12(14) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 ..... 39	
11. Kromatogram hasil KLT, (a) fraksi A menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 3:7, (b) fraksi A menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 7:3, (c) fraksi B menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 3:7, (d) fraksi B menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 7:3 ..... 40	
12. Kromatogram KLT fraksi A KCV tahap I-II menggunakan eluen etil asetat/ heksana 1:1 ..... 40	
13. Kromatogram hasil KLT fraksi 12(13) dan A1B” dibandingkan dengan standar artokarpin dan sikloartokarpin menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1..... 41	

14.	Kromatogram hasil KLT kristal A1A” dan A1B” dibandingkan dengan standar artokarpin menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 .....	42
15.	Kromatogram KLT fraksi B KCV tahap I-II menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 .....	42
16.	Kromatogram kristal Re (fraksi 14,15,16) menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1.....	43
17.	Kromatogram hasil KLT kristal Re.....	43
18.	Kromatogram kristal 20 dan 21 .....	44
19.	Kromatogram kristal 20 dan 21 menggunakan sistem 3 eluen .....	45
20.	Kromatogram kristal-kristal yang dihasilkan menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 .....	45
21.	Kromatogram kristal B2A dan 12(13) dibandingkan dengan standar artokarpin menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 .....	46
22.	Kromatogram kristal A1A” dibandingkan dengan standar artokarpin menggunakan etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 .....	46
23.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH .....	48
24.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam (a) MeOH, (b) MeOH+NaOH .....	48
25.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam (a) MeOH, (c) MeOH+NaOH+NaOAc.....	49
26.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam (a) MeOH, (d) MeOH+NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	49
27.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam (a) MeOH, (e) MeOH+AlCl <sub>3</sub> .....	51
28.	Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam (e) MeOH+AlCl <sub>3</sub> , (f) MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCl.....	51
29.	Spektrum IR senyawa hasil isolasi.....	53
30.	Spektrum <sup>1</sup> HNMR senyawa hasil isolasi .....	55
31.	Spektrum <sup>13</sup> CNMR senyawa hasil isolasi .....	56
32.	Spektrum korelasi heteronuklir jarak jauh (HMBC) senyawa hasil isolasi .....	58

33.	Struktur senyawa hasil isolasi serta beberapa korelasi HMBC senyawa hasil isolasi .....	59
34.	Struktur kompleks Artonin E-AlCl <sub>3</sub> .....	60
35.	Larutan hasil reaksi artonin-AlCl <sub>3</sub> .....	60
36.	Kromatogram hasil KLT larutan kompleks artonin E-AlCl <sub>3</sub> dan standar artonin E menggunakan eluen menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1 .....	61
37.	Spektrum UV senyawa hasil modifikasi menggunakan AlCl <sub>3</sub> .....	62

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penggunaan tanaman sebagai obat sangat luas baik secara tradisional maupun modern. Lebih dari 80% populasi di dunia menggunakan tanaman sebagai bahan obat-obatan (Canter *et al.*, 2005). Di Indonesia spesies tumbuhan yang banyak dimanfaatkan sebagai obat salah satunya berasal dari famili Moraceae. Beberapa genus yang terpenting dari famili Moraceae di antaranya *Ficus*, *Artocarpus*, *Morus*, dan *Cudraina* (Achmad, 1986).

Tumbuhan famili moraceae memiliki beragam kegunaan dan aktivitas biologi yang menarik untuk diteliti seluruh bagian tumbuhannya. Berdasarkan studi literatur, sejumlah spesies *Artocarpus* telah menghasilkan flavonoid dengan variasi struktur yang beragam seperti flavanon, flavon, santon, calkon, serta stilbena. Keunikan struktur flavonoid pada *Artocarpus* menghasilkan efek fisiologis yang luas seperti artonin E, artobilosanton, dan heterofilin menyebabkan terhambatnya kerja enzim yang memberikan aktivitas sebagai antitumor (Khan *et al.*, 2003), antijamur (Jayasinghe *et al.*, 2004), antimalaria (Widyawaruyanti *et al.*, 2007) dan sitotoksik (Ko *et al.*, 2005).

Genus *Artocarpus* tidak hanya dimanfaatkan buahnya sebagai bahan pangan, tetapi daunnya juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional, misalnya untuk obat demam, diare, disentri, atau malaria (Herbert, 1996). Salah satu penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri atau organisme parasit adalah diare. WHO (2013) menyebutkan bahwa diare merupakan penyakit kedua yang menyebabkan kematian ada anak-anak balita. Anak-anak yang mengalami kekurangan gizi atau sistem imun yang kurang baik seperti pada manusia yang terkena HIV sangat rentan terhadap penyakit diare.

Di dunia terdapat 1,7 miliar kasus diare setiap tahunnya. Menurut prevalensi yang didapat dari berbagai sumber, salah satunya berasal dari hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013, penderita diare di Indonesia berasal dari semua umur, namun prevalensi tertinggi penyakit diare diderita oleh balita, terutama pada usia <1 tahun sekitar 7% dan usia 1-4 tahun sekitar 6,7% (KemenKes, 2013).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan penyebab utama penyakit diare (WHO, 2013). Oleh sebab itu, banyak dilakukan penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Selain *E.coli*, *Bacillus subtilis* juga banyak digunakan para peneliti untuk menguji aktivitas antibakteri suatu senyawa. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng yang juga dapat mengakibatkan gastroenteritis (infeksi usus/perut) pada manusia yang mengkonsumsinya. Untuk mencegah dan mengendalikan pertumbuhan bakteri pada bahan makanan umumnya digunakan bahan kimia pengawet berupa zat kimia sintetik. Alternatif lain yang

memungkinkan untuk dikembangkan adalah pemanfaatan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tumbuhan (Nursal, 1998). Salah satunya senyawa artonin E yang telah diisolasi dari kulit *Artocarpus rigida* Blume yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dan sitotoksik terhadap sel leukemia murine P388 (Suhartati *et al.*, 2008).

Pada penelitian sebelumnya, telah diisolasi senyawa flavon terprenilasi baru artoindonesianin L bersama-sama dengan empat senyawa fenolik yang telah diketahui yaitu artonin M dan E, sikloartobilosanton, dan artonin O dari kulit akar *Artocarpus rotunda* (Hout) Panzer. Kelima senyawa ini memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia murine P388 (Suhartati *et al.*, 2001). Boonphong *et al.*, (2007) mengisolasi senyawa morusin, kudraflavon B, sikloartobilosanton, artonin E dan artobilosanton dari kulit akar *Artocarpus altilis* dan kelima senyawa menunjukkan aktivitas antiplasmodial pada konsentrasi 1,9 -4,3 µg/mL.

Hernawan (2008) telah melakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid artonin E yang berasal dari kulit akar *Artocarpus rigida*. Dendiko (2013) melakukan modifikasi artonin E dari tumbuhan *A. rigida* dengan menggunakan  $AlCl_3$ . Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai tumbuhan *A. rigida* kemudian melakukan modifikasi serta uji bioaktivitas senyawa yang dihasilkan. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) yang tumbuh di Desa Keputran Sukoharjo Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung. Bagian kayu akar dipilih karena bagian tumbuhan ini diperkirakan memiliki senyawa hasil metabolit sekunder yang bermacam-macam. Hal ini disebabkan

karena bagian akar merupakan bagian yang digunakan oleh tumbuhan untuk berinteraksi dengan lingkungan dalam memenuhi kelangsungan hidup dan mempertahankan diri terhadap perubahan lingkungan yang terjadi (Eprianti, 2011).

Metode isolasi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan metanol, etil asetat dan heksana. Pemisahan dilakukan dengan cara kromatografi. Identifikasi kemurnian dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji titik leleh. Uji bioaktivitas yang dilakukan yaitu uji antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan uji antijamur terhadap *Rhizopus sp.*

Identifikasi struktur molekul dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis, spektroskopi inframerah (IR), dan spektroskopi resonansi magnet inti (NMR) meliputi  $^1\text{H}$ NMR,  $^{13}\text{C}$ NMR dan HMBC. Setelah dihasilkan senyawa murni, dilanjutkan proses modifikasi menggunakan  $\text{AlCl}_3$ . Kemudian dilakukan analisis menggunakan spektroskopi UV-Vis, uji titik leleh, dan uji bioaktivitas antibakteri dan antijamur.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah

1. Mengisolasi senyawa artonin E dari fraksi polar kayu akar tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*) dari Desa Keputran Sukoharjo Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung.

2. Melakukan karakterisasi dan modifikasi senyawa artonin E dari fraksi polar kayu akar Kenangkan (*Artocarpus rigida*).
3. Melakukan uji bioaktivitas antibakteri senyawa artonin E terhadap *Bacillus subtilis* dan antijamur terhadap *Rhizopus sp.*

### **C. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa artonin E yang terdapat dalam kayu akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*). Informasi tersebut diharapkan dapat memperkaya pengetahuan tentang senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan *Artocarpus*. Khususnya tumbuhan *Artocarpus rigida*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Artocarpus*

Tumbuhan *Artocarpus* merupakan salah satu genus dari tumbuhan famili Moreceae. Tumbuhan dari genus ini terdiri 50 spesies dan 40 spesies diantaranya terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat sebagai bahan bangunan (kayu batang), dan bahan makanan (buah) (Hakim *et al.*, 2006). 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 spesies tumbuhan dalam genus *Artocarpus* yang belum diteliti seluruh bagiannya adalah buah kenangkan (*A. rigida*) (Hernawan, 2008).

#### 1. Kenangkan (*Artocarpus rigida*)

Tumbuhan ini 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.

Buah ini bisa dimakan tetapi memiliki rasa yang masam dan kurang enak. Dalam taksonomi, tumbuhan ini diklasifikasikan superregnum eukariot, regnum plantae, divisi magnoliophyta, kelas magnoliopsida, ordo urticales, famili moraceae, sub famili artocarpeae, genus *Artocarpus*, spesies *Artocarpus rigidus* atau *Artocarpus rigida* (Tjitrosoepomo, 1994).



**Gambar 1.** Batang tumbuhan kenangkan (*A. rigida*)

Buah ini dikenal di masyarakat dengan nama yang berbeda-beda. Pohon dan buah ini dengan nama mandalika, ada juga yang menyebutnya sebagai peusar atau tempunik (Rukmana, 1997). Di Sukoharjo Pringsewu buah ini dikenal dengan nama kenangkan karena memiliki ciri-ciri yang sifatnya mirip dengan nangka (Gambar 1).

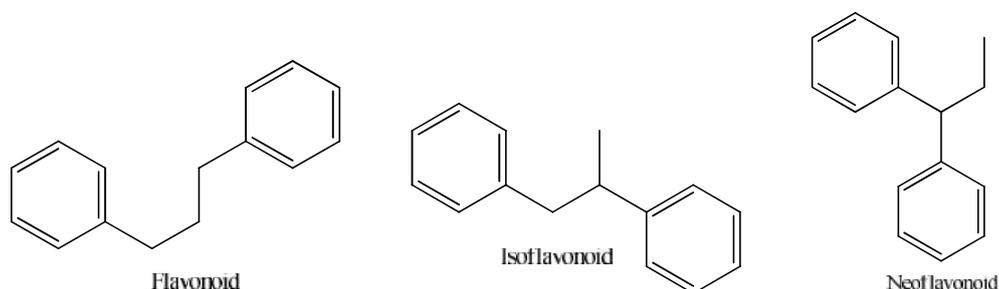
Analisis senyawa kimia dari akar *A. rigida* telah berhasil didapatkan senyawa dengan struktur senyawa fenolik. Termasuk dua senyawa baru dengan kerangka

flavonoid yang dimodifikasi yaitu 7-demitonol E dan kromon artorigidus, bersama dengan beberapa senyawa fenolik yang telah diketahui meliputi santon, artonol B, flavonoid sikloartobilosanton, dan santon artoindonesianin C.

Senyawa santon artoindonesianin C ini mempunyai aktivitas sebagai antiplasmodial terhadap *Plasmodium falciparum* (Namdaung *et al.*, 2006). Dua senyawa baru dari flavon terisoprenilasi yaitu artonin G dan H diisolasi bersama-sama dengan tiga senyawa flavon terisoprenilasi yang telah diketahui, yaitu artonin E, sikloartobilosanton, dan artobilosanton (Nomura *et al.*, 1990).

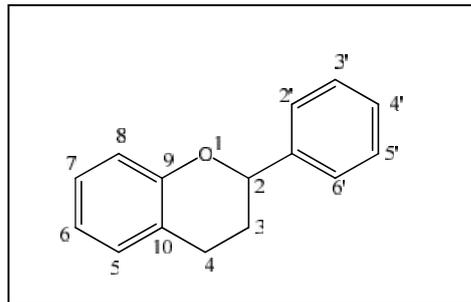
## 2. Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk akar, daun, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji (Markham, 1988). Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Atom karbon ini membentuk dua cincin benzena dan satu rantai propana dengan susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. 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.



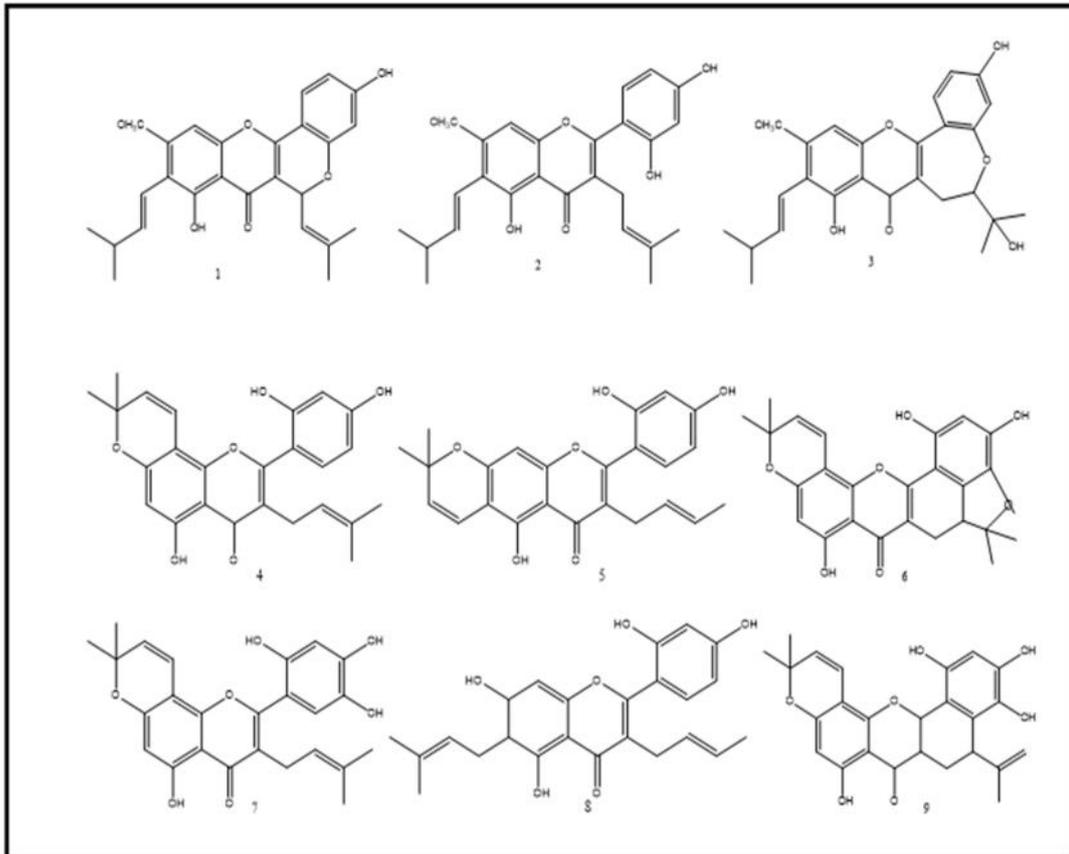
**Gambar 2.** Tiga jenis flavonoid (Achmad, 1986).

Istilah flavonoid yang diberikan untuk senyawa fenolik ini berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan yang paling umum ditemukan. Flavon mempunyai tingkat oksidasi yang terendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tata nama senyawa-senyawa turunan flavon seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Kerangka dasar flavon (Manitto,1992).

Hasil isolasi dari *Artocarpus* mengandung sembilan senyawa flavon terprenilasi yaitu sikloartokarpin (1), artokarpin (2), dan khaplashin (3), morusin (4), kudraflavon B (5), sikloartobilosanton (6), artonin E (7), kudraflavon C (8) dan artobilosanton (9). Struktur senyawa flavonoid yang telah diisolasi dari tanaman *Artocarpus* dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Senyawa-senyawa flavonoid dalam tumbuhan *A. rigida* (Hakim, *et al.*, 2006).

## B. Senyawa Metabolit Sekunder

Interaksi tumbuhan dengan lingkungannya untuk mempertahankan diri berhubungan dengan pembentukan senyawa metabolit sekundernya.

Kandungan metabolit sekunder dari famili moraceae telah lama diteliti dan beberapa tahun belakangan ini banyak kelompok penelitian yang meneliti metabolit sekunder spesies *Artocarpus* (Nomura *et al.*, 1998; Sultanbawa *et al.*, 1989; Hakim *et al.*, 1999, 2006). Berdasarkan penelusuran literatur terhadap genus *Artocarpus*, diketahui bahwa telah diisolasi berbagai jenis senyawa metabolit sekunder dengan bioaktivitas yang sangat menarik. Hasil penelitian tersebut telah menemukan banyak metabolit sekunder yang tergolong ke dalam

kelompok senyawa terpenoid, flavonoid, stilbenoid, arilbenzofuran, neolignan, dan *adduct* Diels- Alder (Hakim *et al.*, 2006). Isolasi senyawa triterpenoid yang juga merupakan metabolit sekunder banyak dilakukan terhadap tumbuhan genus *Artocarpus*, tetapi pada spesies *Artocarpus rigida* belum banyak ditemukan.

Senyawa metabolit sekunder merupakan bahan alam yang dihasilkan dari metabolit primer seperti fotosintesis dan respirasi. Beberapa jenis senyawa sekunder tanaman antara lain alkaloid, terpenoid, flavanoid, hormon pertumbuhan, lignin, dan kutikula. Senyawa metabolit sekunder tersebut dibentuk, terutama melalui jalur asetat mevalonat dan asam sikhimat dengan glukosa 6 fosfat sebagai prekursor utamanya (Vickery and Vickery, 1981).

### **C. Pemisahan Senyawa secara Kromatografi**

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.** Jenis fase gerak dan fase diam kromatografi (Johnson and Stevenson, 1991).

<b>Fase diam</b>	<b>Fase gerak</b>	<b>Sistem Kromatografi</b>
Padat	Cair	Cair- adsorpsi
Padat	Gas	Gas- adsorpsi
Cair	Cair	Cair- partisi
Cair	Gas	Gas- partisi

### 1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

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

Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985). Kromatografi Lapis Tipis merupakan salah satu metode analisis cepat yang memerlukan bahan yang sedikit. Untuk peneliti pendahuluan kandungan flavonoid suatu ekstrak, sudah menjadi kebiasaan umum untuk menggunakan pengembang beralkohol pada pengembangan pertama dengan Kromatografi Lapis Tipis (Markham, 1988).

Kromatografi Lapis Tipis dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon. Sebagai fase diam digunakan senyawa yang tidak bereaksi seperti *silica gel* atau alumina. *Silica gel*

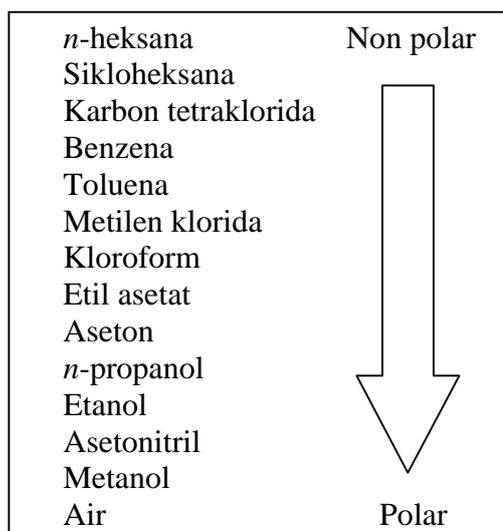
biasa diberi pengikat yang dimaksudkan untuk memberikan kekuatan pada lapisan dan menambah adesi pada gelas penyokong. Pengikat yang biasa digunakan adalah kalsium sulfat (Sastrohamidjojo, 2002). Metode sederhana dalam KLT ialah dengan menggunakan nilai *Retardation factor* (Rf) yang didefinisikan dengan persamaan:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh permukaan pelarut}}$$

Tetapi pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunannya tidak jauh berbeda, seringkali harga Rf berdekatan satu sama lainnya (Sastrohamidjojo, 2002).

## **2. 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 seperti pada Gambar 5 (Hostettmann *et al.*, 1995).



**Gambar 5.** Urutan tingkat kepolaran eluen ( Gritter *et al.*, 1991).

### 3. Kromatografi Kolom (KK)

Pada prinsipnya Kromatografi Kolom (KK) 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, sedangkan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode yang melibatkan pendistribusian campuran dua atau lebih senyawa antara fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dapat berupa lapisan tipis dari penyerapan pada plat, dan pada fasa gerak adalah cairan pengembang yang bergerak naik pada fasa diam membawa komponen-komponen sampel. *Monitoring* dengan KLT ini dilakukan hingga mendapatkan komposisi eluen yang sesuai (Gritter *et al.*, 1991).

## **D. Identifikasi Secara Spektroskopi**

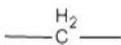
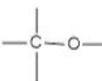
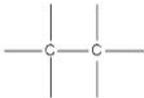
### **1. Spektroskopi Inframerah (IR)**

Penggunaan spektrum inframerah dalam menentukan struktur senyawa organik berada antara  $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ . Daerah di bawah frekuensi  $650\text{ cm}^{-1}$  dinamakan daerah inframerah jauh dan daerah di atas frekuensi  $4000\text{ cm}^{-1}$  dinamakan inframerah dekat (Sudjadi, 1983).

Energi suatu molekul terdiri dari sebagian energi translasi, sebagian rotasi, sebagian energi vibrasi, dan sebagian lagi energi elektronik. Transisi elektronik biasanya menyebabkan serapan atau emisi di daerah ultraviolet dan daerah tampak spektrum elektromagnet. Rotasi murni menyebabkan serapan di daerah gelombang mikro atau inframerah jauh. Vibrasi molekul menyebabkan pita serapan hampir seluruhnya di daerah spektrum inframerah (Noerdin, 1985).

Daerah antara  $1400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  merupakan daerah khusus yang berguna untuk identifikasi gugus fungsional. Daerah ini menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh vibrasi uluran. Daerah antara  $1400\text{-}700\text{ cm}^{-1}$  (daerah sidik jari) seringkali sangat rumit karena menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh vibrasi uluran dan tekukan (Fessenden and Fessenden, 1986). Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus molekul ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi (Fessenden and Fessenden, 1986).

Gugus	Frekuensi uluran (cm <sup>-1</sup> )	Gugus	Frekuensi uluran (cm <sup>-1</sup> )
—OH	3600		2930
—NH <sub>2</sub>	3400		2860
≡CH <sub>3</sub>	3300		1470
Ar—H	3060		1200-1000
	3030	H <sub>2</sub> C=CH <sub>2</sub>	1650
=CH <sub>2</sub>	2870	H <sub>2</sub> C=NH <sub>2</sub>	1600
	1460		1200-1000
	1375		
	1200-1000		1750-1600

## 2. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR)

Analisis spektroskopi NMR akan memberikan informasi tentang posisi dimana atom-atom karbon yang memiliki proton atau yang tidak memiliki proton. Selain itu juga untuk mengenali atom-atom lainnya yang berkaitan dengan proton. Spektroskopi NMR juga dapat memberikan informasi tentang jumlah dan jenis atom karbon yang ada pada struktur suatu senyawa organik. Teknik spektroskopi ini didasarkan pada penyerapan gelombang radio elektromagnetik oleh inti atom hidrogen atau karbon (Silverstein *et al.*, 1986). Spektroskopi NMR terdiri dari <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR, *Heteronuclear Multiple Bond Connectivity* (HMBC),

*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence (HMQC)* dan *Homonuclear Correlated Spectroscopy (COSY)*. Letak pergeseran kimia untuk proton pada beberapa molekul organik dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Letak pergeseran kimia untuk proton dalam molekul organik (Sudjadi, 1983).

Jenis Senyawa	Jenis Proton	<sup>1</sup> H (ppm)
Alkana	C—CH <sub>3</sub>	0,5-2
Alkuna	C≡C—H	2,5-3,5
Eter	CH <sub>3</sub> —O—	3,5-3,8
Alkena	H <sub>2</sub> C=C	4,5-7,5
Fenol	Ar—OH	4-8
Alkohol	R—OH	5-5,5
Aromatik	Ar—H	6-9
Aldehid	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HC—H} \end{array}$	9,8-10,5
Karboksilat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HC—OH} \end{array}$	11,5-12,5

### 3. Spektroskopi ultraungu-tampak (UV-Vis)

Serapan molekul di daerah ultraungu-tampak menggambarkan struktur elektronik dari suatu molekul. Penyerapan sejumlah energi menghasilkan sejumlah percepatan dari elektron dalam orbital tingkat dasar ke orbital yang berenergi lebih tinggi dalam keadaan tereksitasi. Spektrofotometer ini berguna pada sistem konjugasi (Silverstein *et al.*, 1986).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode spektroskopi ini berguna untuk mengetahui dan sifat dari flavonoid dengan melihat letak serapan pita tepat dan kekuatan dari pita. Rentang utama yang diperkirakan untuk setiap jenis flavonoid dapat dilihat pada Tabel 4.

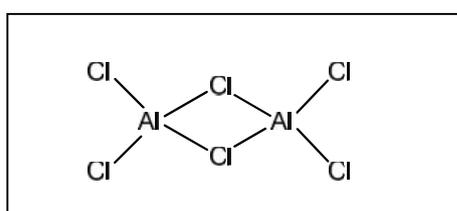
**Tabel 4.** Rentang serapan spektrum ultraungu-tampak untuk flavonoid (Markham, 1988).

<b>Pita II</b>	<b>Pita I</b>	<b>Jenis Flavonoid</b>
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
230-270	380-430	Auron
270-280	465-560	Antosianidin dan antosianin

#### **E. Modifikasi dengan Menggunakan $AlCl_3$**

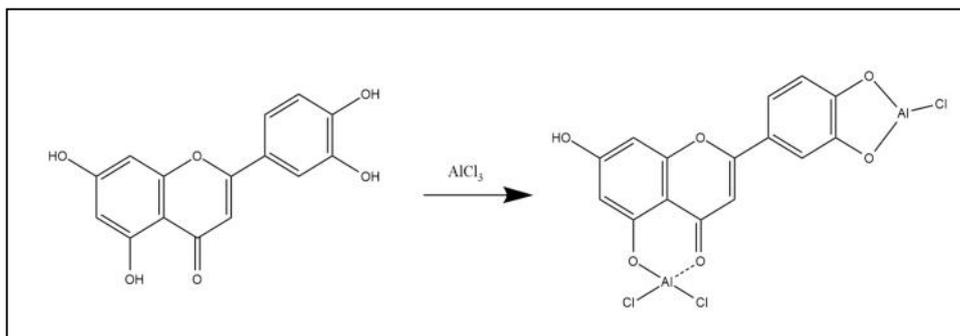
Modifikasi dalam hal ini bertujuan untuk menguji kestabilan senyawa hasil isolasi dengan menggunakan suatu agen penghubung (*coupling agent*).

Modifikasi kimia dalam kimia bahan alam khususnya pada senyawa organik dapat digunakan pereaksi  $\text{AlCl}_3$ . Alumunium triklorida ( $\text{AlCl}_3$ ) berupa kristal tak berwarna yang memiliki titik leleh pada suhu  $190^\circ\text{C}$  (2,5 atm) dan titik didih  $183^\circ\text{C}$ .  $\text{AlCl}_3$  merupakan suatu asam lewis dan dapat menyatu dengan berbagai basa. Dalam bentuk cairan dan gas,  $\text{AlCl}_3$  terdiri atas molekul yang berupa dimer alumunium tetrakoordinasi dengan jembatan klorin (Gambar 6).



**Gambar 6.** Struktur Alumunium Klorida

Pereaksi ini dapat membentuk kompleks tahan asam antara gugus hidroksil ( $\text{C}_3$  dan  $\text{C}_5$ ) dan keton, juga membentuk kompleks tak tahan asam dengan gugus orto-hidroksi, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi kedua gugus tersebut. Pada spektrum UV,  $\text{AlCl}_3$  hanya berguna untuk mendeteksi gugus hidroksi yang bertetangga dengan gugus keton, karena gugus tersebut dengan  $\text{AlCl}_3$  akan membentuk senyawa kompleks yang tahan asam. Reaksi antara  $\text{AlCl}_3$  dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dengan keton yang bertetangga yang tahan asam atau dengan gugus ortohidroksil yang bertetangga tetapi tidak tahan asam seperti pada Gambar 7 (Markham, 1988).



**Gambar 7.** Struktur kompleks Flavon- $\text{AlCl}_3$

### E. Bakteri dan Jamur

Bakteri merupakan organisme tunggal, tidak memiliki klorofil, memiliki DNA dan RNA. Bakteri dapat melakukan metabolisme, tumbuh, dan berkembang biak.. Sebagian besar bakteri berukuran sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat oleh mata. Lapisan terluar bakteri terdiri dari dua komponen yakni dinding sel yang kaku dan membran sitoplasma atau membran plasma. Sel bakteri dapat diliputi oleh lapisan berupa gel yang mudah lepas atau tersusun sebagai suatu simpai. Selain itu, beberapa bakteri juga mempunyai struktur tumbuhan lain seperti filamen yang menonjol keluar dari permukaan sel yaitu flagella atau pili yang berfungsi sebagai alat penggerak dan fimbria sebagai alat untuk melekatkan diri (Gupte, 1990).

Bakteri jika diberi antibiotik lama kelamaan akan menjadi resisten sehingga diperlukan penelitian mengenai obat baru untuk membunuh bakteri tersebut (Blair *et al.*, 2015). Adapun mekanisme resistensi antibiotik yaitu:

- a. Memblok antibiotik dengan cara mengubah dinding sel sehingga tidak dapat ditembus. Kelompok bakteri ini secara alami resisten terhadap antibiotik

tertentu karena kurangnya target bagi antibiotik untuk berikatan, dan juga karena membran selnya tidak dapat ditembus.

- b. Perubahan area target yang menurunkan daya ikat antibiotik. Pada mekanisme ini, bakteri memperoleh mutasi gen yang mengubah target antibiotik sehingga menurunkan efektivitasnya. Masing-masing antibiotika dirancang untuk menasar proses penting dalam tubuh bakteri. Sebagai contohnya, antibiotika fluorokuinolon bekerja dengan cara mengganggu fungsi protein yang terlibat dalam proses replikasi DNA bakteri. Mutasi yang menyebabkan resistensi terhadap fluorokuinolon seringkali mengubah konformasi protein ini, sehingga mengurangi pengikatan antibiotik ke sasarannya.
- c. Menghasilkan enzim pengurai antibiotik sehingga antibiotik menjadi tidak aktif. Bakteri ini mengkode gen yang menghasilkan enzim yang mengurai molekul antibiotik sebelum antibiotik ini membunuh bakteri. Contohnya adalah enzim beta laktamase, enzim ini akan menguraikan struktur beta laktam pada antibiotik, sehingga antibiotik menjadi tidak aktif lagi dan tidak dapat membunuh bakteri.
- d. Menurunkan akumulasi antibiotik intraseluler dengan cara menurunkan permeabilitas dan atau meningkatkan efluks aktif antibiotik. Mekanisme efluks terjadi ketika gen resisten mengkode protein yang secara aktif mendorong antibiotik keluar dari sel bakteri, sehingga kadar antibiotik di dalam sel menjadi rendah dan tidak mampu untuk membunuh bakteri (Blair *et al.*, 2015).

Antibakteri adalah zat yang dapat digunakan sebagai pembasmi bakteri yang merugikan manusia (Vincent, 1987). Berdasarkan daya bunuhnya, antibakteri dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu:

(a) Antibakteri bakteriostatik

Bakteri ini bekerja dengan menghambat atau mencegah pertumbuhan bakteri, tidak membunuhnya sehingga sangat bergantung pada daya tahan tubuh. Kerjanya menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom (Madigan and Martinko, 2006). Antibakteri yang termasuk golongan ini adalah *eritromycin, chloramphenicol, sulfonamida, linkomicin, paraaminosalicilat, tetrasiklin*, dan lainnya.

(b) Antibakteri bakterisidal

Antibakteri ini bekerja dengan cara membunuh atau secara aktif membasmi bakteri. Golongan antibiotik ini adalah *penicilin, sefalosporin, aminoglycoside* dalam dosis besar, *isoniazid*, dan lainnya.

(c) Antibakteri bakterilitik

Antibakteri ini bekerja dengan cara membuat lisis sel-sel bakteri. Proses lisisnya sel bakteri terlihat dari penurunan jumlah sel ataupun kekeruhan setelah bahan tersebut ditambahkan (Madigan and Martinko, 2006).

Fungi atau jamur adalah mikroorganisme tidak berklorofil, berbentuk hifa atau sel tunggal, eukariotik, berdinding sel dari kitin atau selulosa, bereproduksi seksual atau aseksual. Dalam dunia kehidupan fungi merupakan kingdom tersendiri,

karena cara mendapatkan makanannya berbeda dengan organisme eukariotik lainnya yaitu melalui absorpsi (Gandjar, 1999).

Fungi ada yang bersifat parasit dan ada pula yang bersifat saprofit. Parasit apabila dalam memenuhi kebutuhan makanannya mengambil dari benda hidup yang ditumpanginya, sedangkan bersifat saprofit apabila memperoleh makanan dari benda mati dan tidak merugikan benda itu sendiri. Fungi dapat mensintesis protein dengan mengambil sumber karbon dari karbohidrat (misalnya glukosa, sukrosa, atau maltosa), sumber nitrogen dari bahan organik atau anorganik, dan mineral dari substratnya. Ada juga beberapa fungi yang dapat mensintesis vitamin-vitamin yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sendiri, tetapi juga ada yang tidak dapat mensintesis sendiri sehingga harus mendapatkan dari substrat misalkan tiamin dan biotin (Dwijoseputro, 2005).

### **1. *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang berperan dalam proses pembusukan daging. Adapun klasifikasi bakteri ini yaitu termasuk *kingdom bacteria*, filum *firmicutes*, kelas *bacilli*, orde *bacillales*, family *bacillaceae*, genus *Bacillus*, dan spesies *B. subtilis* (Graumann, 2007).

**Tabel 5.** Sifat- sifat bakteri *Bacillus subtilis* (Graumann, 2007).

Karakter	<i>Bacillus subtilis</i>
Bentuk	Batang (tebal maupun tipis), rantai maupun tunggal
Gram	Positif
Sumber	tanah, air, udara dan materi tumbuhan yang terdekomposisi
Berdasarkan spora	Bakteri penghasil endospora
Respirasi	Aerob obligat
Pergerakan	Motil dengan adanya flagella
Suhu Optimum Pertumbuhan	25-35 <sup>0</sup> C
pH Optimum Pertumbuhan	7-8
Katalase	Positif

*Bacillus subtilis* dapat menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng yang juga dapat mengakibatkan gastroenteritis pada manusia yang mengkonsumsinya. Gastroenteritis adalah peradangan yang terjadi pada lambung, usus besar dan usus halus disebabkan oleh infeksi makanan yang mengandung bakteri atau virus yang memberikan gejala diare kadang disertai dengan muntah-muntah. Oleh sebab itu, makanan yang disimpan terlalu lama perlu dilakukan pengawetan agar tidak membahayakan konsumen (Graumann, 2007).

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya diketahui bahwa senyawa artonin E (konsentrasi 250 µg/disk) yang diisolasi dari kulit *Artocarpus rigida* menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *E.coli* dan *Bacillus subtilis* menghasilkan zona hambat 1,2 dan 0,9 cm. Kontrol positif yang digunakan yaitu *canamycin* sulfat (konsentrasi 240 µg/disk) (Suhartati *et al.*, 2008).

## 2. *Rhizopus sp.*

Jamur *Rhizopus* berbentuk koloni berwarna putih berangsur-angsur menjadi abu-abu, stolon halus atau sedikit kasar dan tidak berwarna hingga kuning kecoklatan, sporangiofora tumbuh dari stolon dan mengarah ke udara, baik tunggal atau dalam kelompok (hingga 5 sporangiofora), rhizoid tumbuh berlawanan dan terletak pada posisi yang sama dengan sporangiofora. Suhu optimal untuk pertumbuhan 35°C, minimal 5-7°C dan maksimal 44°C (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988).

Kemampuan jamur dalam mengurai berbagai jenis substrat atau bersifat dekomposer tersebut dapat membawa masalah apabila jamur tumbuh kemudian menyerang produk-produk industri. Kapang penghasil enzim selulase dapat merugikan industri kayu, kertas atau tekstil (Anonim, 2013). Akibat timbulnya banyak kerugian yang diakibatkan jamur dan bakteri, maka dilakukan banyak penelitian mengenai senyawa bioaktif alami yang mempunyai aktivitas antibakteri dan antijamur.

Uji bioaktivitas antimikroba terdiri dari dua metode utama yaitu

### (a) Metode Difusi

Pada metode ini sampel akan berdifusi ke lempeng agar yang telah ditanami bakteri. Teknik ini dilakukan dengan menginokulasikan mikroba secara merata diseluruh permukaan media agar, lalu sampel yang diuji ditempatkan di atas permukaan tersebut. Setelah waktu inkubasi selama 18-24 jam akan terbentuk zona hambat di sekeliling *reservoir* sampel. Pengamatan didasarkan

ada atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling kertas cakram (Jawetz and Adelberg., 1986).

(b) Metode Dilusi

Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sampel antimikroba terhadap mikroba. Metode dilusi ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dengan media yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba. Pengamatannya dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan mikroba (Lorian, 1980).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Desember 2015-Juni 2016, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Lampung. Analisis Spektroskopi Ultraungu-Tampak (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung. Analisis Spektroskopi Inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Lampung. Analisis Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) dan HMBC dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Institut Teknologi Bandung. Uji bioaktivitas antibakteri dan antijamur dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung.

#### **B. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat-alat yang digunakan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, satu set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom (KK), pengukur titik leleh MP-10 Stuart, lampu UV, pipet kapiler, *rotary evaporator*, *incubator*, spektrofotometer FT-IR Carry 600, spektrofotometer NMR Agilent frekuensi 500 MHz  $^1\text{H}$ NMR, 125 MHz pada  $^{13}\text{C}$ NMR, spektrofotometer

UV-Vis Carry 50, tabung Eppendorf, *laminar air flow*, *autoclave*, lemari pendingin, *Oven*, dan mikropipet.

## **2. Bahan-bahan yang digunakan**

Bahan yang digunakan adalah kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) yang telah dikeringkan dan dihaluskan yang diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi berkualitas teknis yang telah didestilasi sedangkan untuk analisis spektrofotometer berkualitas pro-analisis (p.a). Bahan kimia yang dipakai meliputi etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), benzen (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>), aseton (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), akuades (H<sub>2</sub>O), serium sulfat (CeSO<sub>4</sub>) 15% dalam asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 15%, kloroform (CH<sub>3</sub>Cl), diklorometana (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk KCV dan KK, untuk KLT digunakan plat KLT silika gel Merck kiesegal 60 F254 0,25 mm. Pereaksi geser untuk analisis spektroskopi ultraungu-tampak adalah AlCl<sub>3</sub>, HCl pekat, NaOAc, NaOH, dan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Bahan-bahan uji bioaktivitas antibakteri dan antijamur meliputi bakteri *Bacillus subtilis*, jamur *Rhizopus sp.*, *Nutrient Agar* (NA), *Potato Dektrose Agar* (PDA), *amoxycilin*, *ketoconazole*, dan akuades steril.

## **C. Prosedur Penelitian**

### **1. Pengumpulan dan Persiapan Sampel**

Sampel berupa kayu akar tumbuhan *A. rigida* yang dipisahkan antara kulit batang dan kayunya. Kayu akar kemudian dibersihkan dan dipotong kecil-kecil. Sampel kayu akar yang telah dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan. Kayu akar yang telah kering kemudian digiling hingga berbentuk serbuk halus.

### **2. Ekstraksi dengan *n*-Heksana, Metanol dan Etil Asetat**

Sebanyak 3 kg kayu akar *A. rigida* yang telah digiling kemudian dimaserasi dengan *n*-heksana. Maserasi menggunakan heksana bertujuan untuk menghilangkan senyawa non polar dari kayu akar. Setelah itu, sampel dikeringkan dan dilanjutkan maserasi dengan metanol : etil asetat. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa lebih efektif maserasi menggunakan metanol: etil asetat dengan perbandingan 1:1 (Hernawan, 2008). Ekstrak yang diperoleh lalu disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 35°C-40°C dengan laju putaran 120-150 rpm.

### **3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)**

Ekstrak kasar kemudian difraksinasi dengan KCV. Silika sebanyak 10 kali lipat dari berat sampel dimasukkan ke dalam kolom vakum. Kemudian kolom dibuat kering dalam keadaan vakum menggunakan alat vakum. Eluen yang kepolarannya lebih rendah dimasukkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu

kemudian divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum dan siap digunakan. Ekstrak kasar yang telah dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasikan dengan silika gel, kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam dan kemudian dihisap secara perlahan-lahan dengan cara memvakumkannya. Setelah itu kolom dielusi dengan etil asetat : *n*-heksana (0% : 100%) sampai dengan etil asetat : *n*-heksana (100% : 0%) Kolom dihisap sampai kering pada setiap penambahan eluen (tiap kali elusi dilakukan). Kemudian fraksi-fraksi yang terbentuk dikumpulkan berdasarkan pola fraksinasi.

#### **4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Sebelum difraksinasi, terlebih dahulu dilakukan uji KLT untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar hasil KCV. Uji KLT dilakukan terhadap fraksi-fraksi yang akan difraksinasi dan juga fraksi-fraksi yang didapat setelah perlakuan fraksinasi. Uji KLT dilakukan menggunakan sistem campuran eluen menggunakan pelarut *n*-heksana, diklorometana, benzena, kloroform, dan metanol. Sampel yang akan difraksinasi terlebih dahulu diencerkan menggunakan diklorometana atau aseton, kemudian sampel ditotolkan menggunakan pipet kapiler kedalam plat silika. Langkah selanjutnya adalah mengelusi plat tersebut kedalam eluen tertentu kemudian dilihat di bawah lampu UV. Hasil kromatogram tersebut kemudian disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Larutan serum sulfat merupakan larutan penampak noda yang spesifik terhadap flavonoid. Ketika diperoleh fraksi yang lebih sedikit,

bercak/noda setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan Rf (*Retention factor*) yang sama pada kromatogram, digabung dan dipekatkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut.

## **5. Kromatografi Kolom (KK)**

Setelah dihasilkan fraksi-fraksi dengan jumlah yang lebih sedikit, tahapan fraksinasi selanjutnya dilakukan menggunakan teknik kromatografi kolom.

Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. *Slurry* dari silika gel dimasukkan ke dalam kolom terlebih dahulu, atur fasa diam hingga rapat (tidak berongga) dan rata.

Selanjutnya masukkan sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel 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 (Gritter *et al.*, 1992).

## **6. 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, kemudian disemprot menggunakan larutan serium sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut.

Untuk uji titik leleh, sebelum dilakukan pengukuran, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor karena pengotor akan menaikkan atau menurunkan temperatur titik leleh kristal yang diperoleh. 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 leleh kristal merupakan suhu pada saat kristal pertama kali meleleh.

### **7. Modifikasi Gugus Fungsi dengan Pereaksi $\text{AlCl}_3$**

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni, diambil sebanyak 15 mg kemudian diencerkan dengan pelarut polar berupa metanol sebanyak 1 mL, kemudian dengan cara yang sama diambil sebanyak 250 mg pereaksi  $\text{AlCl}_3$  lalu diencerkan dengan menggunakan pelarut polar berupa metanol sebanyak 5 mL. Kemudian larutan sampel ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  0,8 mL lalu diaduk 5 menit sampai terjadi perubahan warna. Setelah itu, larutan divisualisasi menggunakan KLT. Dalam hal ini uji positif terbentuknya kompleks  $\text{AlCl}_3$ -flavonoid ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna kuning pada sinar tampak (Markham, 1988).

Larutan  $\text{AlCl}_3$ -artonin E direfluks 10 menit agar ikatan kompleks yang terbentuk lebih kuat. Campuran dari kedua larutan tersebut ditambahkan dengan kloroform untuk mengambil artonin E yang berlebih pada campuran senyawa. Setelah itu ditambahkan akuades, penambahan ini berfungsi untuk memisahkan senyawa kompleks  $\text{AlCl}_3$ -artonin E yang berupa endapan.

## 8. Spektrofotometri Ultraungu-tampak (UV-Vis)

Sampel berupa kristal murni sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran dengan cara pengenceran larutan secara bertahap. Pertama, sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Kemudian dibandingkan dengan larutan blanko metanol. Selanjutnya larutan persediaan dibagi menjadi beberapa bagian. Kemudian masing-masing larutan persediaan ditambah dengan pereaksi-pereaksi geser seperti natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 gr NaOH dalam 10 mL akuades),  $\text{AlCl}_3$  5 % (0,25 gram  $\text{AlCl}_3$  dalam 5 mL metanol), HCl 50% (5 mL HCl dalam 10 mL akuades), padatan natrium asetat (NaOAc), dan asam borat ( $\text{H}_3\text{BO}_3^-$ ). Masing-masing larutan diukur serapan maksimumnya kemudian dibandingkan spektrum yang dihasilkan dengan literatur.

## 9. Spektrofotometri Inframerah (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). Gerusan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton  $\text{cm}^2$ . Kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya Informasi Spektroskopi Inframerah menunjukkan tipe-tipe dari adanya gugus fungsi dalam suatu molekul (Pavia *et al.*, 1979).

## 10. Spektrofotometri Resonansi Magnetik Inti (NMR)

Untuk analisis NMR sampel tidak boleh terlalu kental. Biasanya digunakan konsentrasi larutan 2-15%. Pelarut yang baik untuk NMR sebaiknya tidak mengandung proton seperti  $\text{CS}_2$ ,  $\text{CCl}_4$ . Pelarut-pelarut berdeuterium juga sering digunakan seperti  $\text{CDCl}_3$  atau  $\text{C}_6\text{D}_6$  (Supratman, 2010).

Spektroskopi resonansi magnet inti dapat dilakukan pada inti yang memiliki momen magnet, seperti  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$ . Sampel yang mengandung  $^1\text{H}$  atau  $^{13}\text{C}$  (bahkan semua senyawa organik) ditempatkan dalam medan magnet, akan timbul interaksi antara medan magnet luar tadi dengan magnet kecil (inti). Adanya interaksi ini menyebabkan magnet kecil akan terbagi atas dua tingkat energi yang berbeda, karena inti merupakan materi mikroskopik, maka energi yang berkaitan dengan inti ini terkuantisasi, artinya tidak kontinyu (Supratman, 2010).

Pengukuran menggunakan resonansi magnet inti menghasilkan spektrum  $^1\text{H}$ NMR yang memberikan informasi mengenai jumlah setiap jenis hidrogen yang terdapat dalam suatu molekul dan sifat lingkungan dari setiap jenis atom hidrogen tersebut. Spektrum  $^{13}\text{C}$ NMR memberikan informasi tentang jumlah karbon yang terdapat dalam molekul dengan semua pergeseran kimianya sehingga dapat diketahui sifat lingkungannya (Hart *et al.*, 2003).

## 11. Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur

Pada uji bioaktivitas ini, yang pertama dilakukan adalah sterilisasi alat dan media dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit. Sebelumnya, telah disiapkan bahan yang akan digunakan sebagai media. Untuk uji antibakteri

menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan antijamur menggunakan *Potato Dekstrose Agar* (PDA). Sebanyak 4,2 gram NA/PDA dilarutkan ke dalam 150 mL akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit sampai homogen. Setelah itu, media agar dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/ tabung reaksi. Media sebanyak 5 mL/ tabung reaksi dan 1 mL akuades/ tabung reaksi juga disiapkan. Selanjutnya, semua alat dan bahan disterilisasi selama 15 menit.

Sampel senyawa hasil isolasi dan hasil modifikasi dibuat variasi tiga konsentrasi: 0,5 mg/*disk*; 0,4 mg/*disk* dan 0,3 mg/*disk*. Kristal sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150  $\mu$ L, kemudian diambil 50  $\mu$ L; 40  $\mu$ L + 10  $\mu$ L akuades; dan 30  $\mu$ L + 20  $\mu$ L akuades untuk ditotolkan ke dalam *paper disk*.

Pada uji antijamur digunakan kontrol positif berupa *ketoconazole*, pada uji antibakteri digunakan *amoxycilin*. *Ketoconazole* dan *amoxycilin* dibuat tiga variasi konsentrasi: 0,15 mg/*disk*; 0,10 mg/*disk*; 0,05 mg/*disk*. Padatan untuk kontrol positif sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 500  $\mu$ L metanol pro analisis, kemudian diambil 50  $\mu$ L; 33,3  $\mu$ L + 16,7  $\mu$ L; 16,7  $\mu$ L + 33,3  $\mu$ L untuk ditotolkan ke dalam *paper disk*.

Alat dan bahan yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam *laminar air flow*. Media agar 15 mL/ tabung reaksi dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah media keras, dimasukkan media agar 5 mL yang sudah ditambahkan dengan akuades berisi bakteri/jamur sebanyak 1 *ose*. Kemudian *paper disk* yang berisi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam media yang telah dibuat. Cawan petri ditutup dengan *plastic wrap* dan kertas kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

Dari pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa murni flavonoid yang dikenal dengan nama artonin E dari fraksi polar kayu akar tanaman kenangan (*Artocarpus rigida*) sebanyak 151,5 mg dan memiliki sifat fisik berupa padatan berwarna kuning dengan titik leleh 255-256°C.
2. Dari data-data UV-Vis, IR, <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR dan HMBC mendukung terbentuknya suatu kerangka struktur senyawa artonin E. Senyawa hasil modifikasi memiliki sifat fisik berupa padatan berwarna kecokelatan dengan titik leleh 240-245°C dan memiliki pola KLT yang berbeda dengan senyawa artonin E.
3. Senyawa hasil isolasi dan hasil modifikasi tidak menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *Rhizopus sp.* Pada uji antibakteri kedua senyawa menunjukkan aktivitas kategori lemah sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*.

## B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Penelitian lebih lanjut terhadap sampel kayu akar tanaman kenangan (*Artocarpus rigida*) perlu dilakukan sehingga memperoleh informasi lebih tentang jenis senyawa flavonoid yang terkandung dalamnya.
2. Melakukan modifikasi senyawa artonin E kemudian melakukan analisis IR, NMR, dan HMBC untuk memastikan bahwa modifikasi senyawa telah berhasil.
3. *Monitoring* menggunakan KLT pada saat melakukan modifikasi senyawa artonin E.
4. Melakukan uji bioaktivitas lain senyawa artonin E kemudian dibandingkan aktivitasnya dengan senyawa hasil modifikasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A.1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. Penerbit Karunia Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm 39.
- Anonim, 2013. *Keuntungan dan Kerugian Adanya Jamur*. www.Google.co.id/keuntungan dan kerugian adanya jamur. 17 Juli 2016. Diakses pukul 20.59.
- Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O., And Piddock, L.J.V., 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*. **13**. Hlm. 42-51.
- Boonphong, S., Baramée, A., Kittakoop, P., Puangsombat, P., 2007. Antitubercular and antiplasmodial prenylated flavones from the roots of *Artocarpus altilis*. *Chiang Mai Journal of Science*. **34**. Hlm. 339-344.
- Canter, P.H., Thomas, H., Ernst, E., 2005. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *Trends in Biotechnology*. **23**. Hlm 180-185.
- Dendiko, M. 2013. *Isolasi dan Modifikasi Senyawa Artonin E dari Artocarpus rigida menggunakan AlCl<sub>3</sub>*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hlm. 1-20.
- Dwijoseputro, D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta. Hlm. 21-25.
- Eprianti, Eka. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Sukun Artocarpus Altilis (Parkinson) Fosberg*. (skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hlm. 2-3.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden.1986. *Kimia Organik Jilid I*.Alih Bahasa Hadyana Pujaatmaka. Erlangga. Jakarta. Hlm. 525.
- Gandjar. 2009. *Mikrobiologi*. Remaja Rosdakarya. Bandung. Hlm. 20-25.
- Graumann, P. 2007. *Bacillus : Cellular and Molecular Biology*. Caister Academic Press. Norfolk. Hlm. 143.

- Gritter, R.J., J.M. Bobbit, dan A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. Hlm. 266.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Diterjemahkan oleh Julius E.S. Binarupa Aksara. Jakarta. Hlm. 261-265.
- Hadiprabowo, T. 2009. *Optimasi Sintesis Analog Kurkumin 1,3-Bis-(4-Hidroksi-3-Metoksi Benzilidin) Urea pada Rentang pH 3-4*. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Hlm. 10-11.
- Hakim, E.H., A. Fahriyati. M.S. Kau, S.A. Achmad, L. Makmur, E.L. Ghisalberti, dan T. Nomura. 1999. Artoindonesianin A and B, Two New Prenylated Flavones from the Roor Bark of *Artocarpus champeden*. *Proc.* **30**. Hlm 31-36.
- Hakim, E.H., Achmad, S.A., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Syah, Y.M., Aimi, N., Kitajima, M., Ghisalberti, E.L., 2006. Prenylated flavonoids and related compounds of the Indonesian *Artocarpus* (Moraceae). *Journal of Natural Medicine.* **60**. Hlm.161–184.
- Hart, H., Leslie, E. C., dan David, J.H. 2003. *Kimia Organik Suatu Kuliah Singkat*. Terjemahan Suminar Setiati Achmadi. Erlangga. Jakarta. Hlm. 141.
- 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. Hlm. 16.
- Hostettmann, 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.
- Jawetz, E. and M. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Ke-3*. Alih Bahasa: Huriwati Hartanto dkk. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- Jayasinghe, L., Balasooriya, B.A.I.S., Padmini, W.C., Hara, N., Fujimoto, Y., 2004. Geranylchalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of *Artocarpusnobilis*. *Phytochemistry.* **65**. Hlm 1287–1290.
- Johnson, L.E. and R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Alih Bahasa oleh Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 365.

- Kaban, J. 2009. Modifikasi Kimia dari Kitosan dan Aplikasi Produk yang Dihasilkan. *Penguahan Guru Besar Tetap dalam Bidang Kimia Organik Sintesis*. Universitas Sumatera Utara. Medan. Hlm. 5.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013*. Jakarta. Hlm. 20-22.
- Khan, M.R., Omoloso, A.D., Kihara, M., 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*. **74**. Hlm 501–505.
- Ko, H.H., Lu, Y.H., Yang, S.Z., Won, S.J., Lin, C.N., 2005. Cytotoxic prenylflavonoids from *Artocarpus elasticus*. *Journal of Natural Products*. **68**. Hlm 1692–1695.
- Kuswanto, K.R. dan Slamet Sudarmadji. 1988. *Proses-proses Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Hlm. 56-57.
- Lorian, V. 1980. *Antibiotics in Laboratory Medical*. Wiliam and Wilkins Co., Baltimore. London. Hlm. 170-178.
- Madigan, M. T. and J. Martinko. 2006. *Brock Biology of Microorganisms*. Eleventh Edition. By Pearson Education, Inc. USA. Hlm. 641-645.
- Mannito, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Alih Bahasa Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang. Hlm. 235.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 117.
- Namdaung, U., N. Aroonrerk, S. Suksamram, K. Danwisetkanjana, J. Saenboonrueng, W. Arjchompu, dan A. Suksamrar. 2006. Bioactive Constituents of the Root Bark of *artocarpus rigidus* subps. Rigidus. *Chem. Pharm. Bull.* **54** (10). Hlm. 1433-1436.
- Noerdin, Dasli. 1985. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 54-55.
- Nomura, Y., S. Hano, dan R. Inami. 1990. Component of the Bark of *Artocarpus rigida* B.L.I, Structure of two new isoprenylated flavones, *Artonin G and H*. *Heterocycles*. **31** (12). Hlm. 2173-2179.
- Nomura, T., S. Hano, and M. Aida. 1998. Isoprenoid-Substitued Flavonoid from *Artocarpus* Plants (Moraceae). *Heterocycles*. **47** (2). Hlm 1179-1205.
- Nursal. 1997. Pengaruh Ekstrak Akar *Acanthusilicifolius* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrilopara haemolyticus*. *Jurnal Biosains*. **2**(1). Hlm.2-37.

- Pavia, D.L., Lampman G.M., Kriz G.S. 1979. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Students of Organic Chemistry*. Saundes Golden Sunburst Series. Philadelphia. Hlm. 11-26.
- Rowell, R.M., J.F. Phillips, and G.O. Wiliam. 1993. *Cellulosic: Pulp, Fiber, and Environment Aspect*. Kennedy. Ellis Horwood. London. Hlm. 234-241.
- Rukmana, R. 1997. *Budidaya Nangka*. Kanisius. Jakarta. Hlm. 15-27.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. Hlm. 35-36.
- Silverstein, R.M., G.B. Bassler, and T.C.D. Morcill. 1986. *Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Alih Bahasa: A.J. Hartomo, dan Anny Victor Purba. Erlangga. Jakarta. Hlm. 191-195.
- Siswandono dan Sukardjo. 2000. *Kimia Medisinal 2*. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm. 99-151.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hlm. 283.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung. Hlm. 3-17.
- Suhartati, T., Achmad S.A., Aimi N., Hakim E.H. 1999b. Artonin E, Suatu Senyawa Flavonoid dari *Artocarpus rotunda*. *J. Mat & Sains*. **4** (2). Hlm. 178-184.
- Suhartati, T., Achmad, S.A., Aimi, N., Hakim, E.H., Kitajima, M., Takayama, H., Takeya, K., 2001. Artoindonesianin L, a new prenylated flavone with cytotoxicity activity from *Artocarpus rotunda*. *Fitoterapia*. **72**. Hlm. 912-918.
- Suhartati, T., Achmad, S.A., Aimi, N., Hakim E.H. 2005. Artonin M Turunan Flavon Tergeranilasi dari *Artocarpus rotunda*. *J. Sains Tek*. **11**(2). Hlm. 62-63.
- Suhartati, T., Yandri, and Hadi, S., 2008. The Bioactivity Test of Artonin E from the Bark of *Artocarpus rigida Blume*. *E. J. S.R.* **23**(2). Hlm. 330-337.
- Sultanbawa MUS, Surendrakumar, Sivagnanasundram. 1989. *Two pyranodihydrobenzoxanthones from Artocarpus nobilis*. *Phytochem*. **28** (2). Hlm. 599-605.
- Supratman, U., 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik (Metode Spektroskopi untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik)*. Widya Pajajaran. Bandung. Hlm. 602-978.
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm. 447.

- Vickery, M. N and Vickery, B. 1981. *Secondary Plant Metabolism*. University Park Press. Maryland. Hlm. 21.
- Vincent, G. 1987. *Farmakologi dan Terapi Edisi Ke-3*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. Jakarta. Hlm. 514-520.
- Volk, W.A and M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid I. Erlangga. Jakarta.
- WHO. 2013. *Diarrhoeal Disease*. diakses dari <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/> pada tanggal 14 Juli 2016.
- Widyawaruyanti, A., Subehan, Kalauni, S.K., Awale, S., Nindatu, M., N.C. Zaini, D. Syafruddin, P.B.S Asih, Y. Tezuka, and S. Kadota. 2007. New prenylated flavones from *Artocarpus champenden*, and their antimalarial activity in vitro. *J. Nat. Med* .**61**. Hlm 410-413.