

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

(Tesis)

Oleh

**HERNAWAN**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

## ABSTRACT

### ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND MODIFICATION ALSO ANTIBACTERIAL BIOACTIVITY TEST OF FLAVONOID COMPOUND FROM SEMIPOLAR FRACTION THE ROOT BARKS OF KENANGKAN PLANT (*Artocarpus rigida*)

By

HERNAWAN

Diarrheal disease is an endemic in Indonesia and it is a potential illness of Extraordinary Occurrence which is often followed by death. Several organic compounds have been isolated from natural products which are common used as drugs. *Artocarpus rigida* or Kenangkan is one of natural products that contains flavonoid as derivate compounds. Flavonoid is known as a good antibacterial agent. This research purposes are isolation, identification flavonoid compound from semipolar fraction the root barks of kenangkan, modification and antibacterial bioactivity test. The research phases were conducted following; collection and preparation of sample, extraction, isolation and purification was obtained by some chromatograpy techniques (TLC and VLC), identification and characterization was determined by physical and spectroscopic data (UV-Vis, IR, and NMR). The obtained artonin E from the root barks of kenangkan has a yellow solid was 1.6343 g with melting point 250-252°C. Modification of artonin E with acetic anhydride was resulted acetyled artonin E has a white solid with melting point 190-192°C. In teh bioactivity test, the isolated artonin E and the modification result was showed antibacterial activity towards *Bacillus subtilis*, artonin E has better antibacterial activity than a modified result.

**Keywords:** *antibacterial, Artocarpus rigida, artonin E, Bacillus subtilis, modification.*

## ABSTRAK

### ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN MODIFIKASI SERTA UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI SEMIPOLAR KULIT AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

Oleh

HERNAWAN

Diare merupakan penyakit endemik di Indonesia dan berpotensi menjadi Kejadian Luar Biasa yang sering disertai dengan kematian. Banyak senyawa organik yang berhasil diisolasi dari produk alam yang telah digunakan sebagai obat. *Artocarpus rigida* atau tumbuhan kenangan merupakan salah satu produk alam yang mengandung banyak senyawa derivat flavonoid yang salah satunya memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid dari fraksi semi polar kulit akar tumbuhan kenangan, memodifikasi dan menguji aktivitas antibakterinya. Tahapan penelitian meliputi pengumpulan dan persiapan sampel, ekstraksi, isolasi dan pemurnian senyawa menggunakan beberapa teknik kromatografi (KLT dan KCV), identifikasi dan karakterisasi senyawa menggunakan data fisik dan spektroskopi (UV-Vis, IR, dan NMR). Senyawa artonin E dari kulit akar kenangan yang telah diisolasi berupa padatan amorf warna kuning sebanyak 1,6343 g dengan titik leleh 250 – 252°C. Modifikasi senyawa Artonin E menggunakan anhidrida asetat menghasilkan artonin E yang terasetilasi berupa padatan amorf berwarna putih dengan titik leleh 190 – 192°C. Pada uji bioaktivitas, artonin E hasil isolasi dan senyawa hasil modifikasi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, artonin E memiliki aktivitas yang lebih baik daripada hasil modifikasinya.

**Kata Kunci :** antibakteri, *Artocarpus rigida*, artonin E, *Bacillus subtilis*, modifikasi.

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

**Oleh**

**HERNAWAN**

**Tesis**

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

**Pada**

**Program Studi Magister Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

Judul Tesis

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

Nama Mahasiswa

**: Hernawan**

Nomor Pokok Mahasiswa

**: 1427011004**

Program Studi

**: Magister Kimia**

Jurusan

**: Kimia**

Fakultas

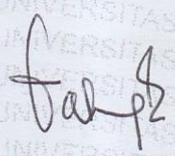
**: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

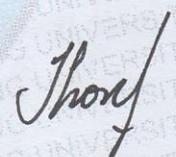
**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

Pembimbing I

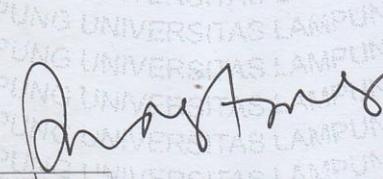
Pembimbing II

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

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

**MENGETAHUI**

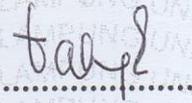
**2. Ketua Program Studi Magister Kimia**

  
**Dr. Rudy T.M. Situmeang, M.Sc.**  
NIP 19600616 198811 1 001

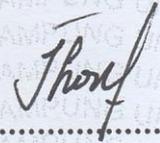
# MENGESAHKAN

## 1. Tim Penguji

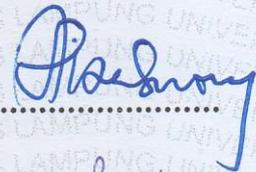
Ketua : **Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.** .....



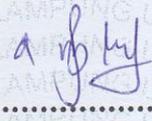
Sekretaris : **Dr. dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes.** .....



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Noviany, M.Si.** .....



: **Dr. Mita Rilyanti, M.Si.** .....



: **Dr. Ni Luh Gede Ratna J., M.Si.** .....



## 2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

## 3. Direktur Program Pascasarjana



**Prof. Dr. Sudjarwo, M.S.**  
NIP 19530528 198103 1 002

Tanggal Lulus Ujian Tesis : **07 Agustus 2017**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul “Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi serta Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Fraksi Semipolar Kulit Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*)” adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiatisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya; saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, Agustus 2017

at Pernyataan



Hernawan  
NPM. 1427011004

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Way Layap 1, pada tanggal 16 Oktober 1986 sebagai anak terakhir dari tujuh bersaudara, terlahir dari pasangan Sudi Raharjo (*Allahu Yarham*) dan Sriati (*Allahu Yarham*). Penulis menikah dengan Sri Handayani dan dikaruniai dua orang anak, Hayyana Jabira dan Haytsam.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN 1 Kebagusan pada tahun 1997, sekolah menengah pertama di SMPN 1 Gedongtataan pada tahun 2000, dan sekolah menengah atas di SMAN 1 Gedongtataan pada tahun 2003. Penulis menyelesaikan kuliah Strata satu (S1) di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung pada tahun 2008 dan diterima di Program Studi Magister Kimia, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung pada 2014.

Penulis pernah menjadi guru honorer di Madrasah Pondok Pesantren Daarul Huffazh dari tahun 2007 – 2013, SMP Adikara Gedongtataan dari tahun 2008 – 2013, dan SMA Taman Siswa dari tahun 2010 – 2012. Penulis adalah guru IPA dan wakil kepala sekolah bidang kurikulum di SMP Islam Terpadu Ar Raihan dan guru Kimia di SMA Islam Terpadu Ar Raihan Bandar Lampung dari tahun 2012 sampai dengan sekarang.

# PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahilabbil 'alamien, bismillahirrahmanirrahim.*  
Kupersembahkan sebuah karya kecilku ini untuk:

*Mas dan Ummi tercinta (Allahu yarham)*

*Pendamping hidupku tercinta, istriku Sri Handayani  
dan anak-anakku Hayyana dan Haytsam*

*Keluarga besar Raharjo Family*

*Rekan seperjuangan dalam dakwah*

*Ar Raihan Islamic High School*

*Almamater Universitas Lampung*

# MOTTO

“Hai orang-orang yang beriman, jika kamu menolong (agama) Allah,  
niscaya Dia akan menolongmu dan meneguhkan kedudukanmu”  
(QS. Muhammad: 7)

“Barangsiapa yang dikehendaki Allah dalam kebaikan,  
maka Allah menjadikannya pandai agama”  
(HR. Bukhori)

“Bahwa hidup haruslah bermanfaat”  
(Hernawan)

## SANWACANA

*Alhamdulillah rabbil 'alamiin*, segala puji hanya bagi Allah *Subhanahu wa Ta'ala*, Rabb semesta alam penggenggam ilmu pengetahuan atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Sholawat dan salam selalu tercurah kepada suri tauladan umat Nabi Muhammad *Shalallahu 'alaihi was Salaam*, sholawat serta salam juga semoga tercurah kepada keluarganya, para sahabatnya, dan umatnya yang tetap *istiqomah* dalam menjalankan sunnah-sunnahnya, semoga kita juga termasuk ke dalam umatnya yang mendapatkan *syafa'at* beliau nanti di akhir zaman, *amiin Ya Rabbal 'alamiin*

Tesis dengan judul "*Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi serta Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Fraksi Semipolar Kulit Akar Tumbuhan Kenangan (Artocarpus rigida)*" merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis ingin bersyukur dan mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah *Subhanahu wa Ta'ala* yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya hingga penulis benar-benar merasakan kasih sayang yang teramat mendalam.
2. Bapak Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika

dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Rudy T.M. Situmeang, M.Sc. selaku Kepala Program Studi Magister Kimia atas bimbingannya untuk menyelesaikan kuliah dan penelitian ini.
5. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku Pembimbing Utama dan Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk memberikan masukan, arahan, dan bimbingan dalam proses penyelesaian kuliah, penelitian, dan penyusunan tesis ini. Atas kesabaran dan dedikasinya semoga Allah memberikan kebaikan dan rahmat-Nya, *jazaakillah khoiron katsiro*.
6. Bapak Dr. dr. Jhons F. Suwandi, M.Kes selaku Pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, keikhlasan, dan ketelatenan dalam memberi ilmu kedokteran dan dalam proses penulisan tesis ini.
7. Ibu Dr. Noviany, M.Si. selaku Penguji I, atas semua nasihat, bimbingan, dan kesabarannya sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.
8. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku Penguji II, atas semua nasihat, bimbingan, dan kesabarannya sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasi, M.Si. selaku Penguji I, atas semua nasihat, bimbingan, dan kesabarannya sehingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik.
10. Abi Dr. Gunadi Rusydi, M.Kom serta Umami Rina selaku Ketua Yayasan Lampung Cerdas dan keluarga atas kepercayaannya dalam memberi amanah

kepada saya sebagai guru di SMP-SMA Islam Terpadu Ar Raihan serta beasiswa studi lanjut Strata Dua (S2) ini, semoga semua ini menjadi amal kebaikan bagi kita. Semoga Allah senantiasa memberi kesehatan dan rahmat-Nya kepada abi dan keluarga.

11. Bapak/Ibu Dosen Program Studi Magister Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu dan bimbingan yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan, khususnya Bapak Prof. Yandri A.S., M.S. atas bimbingan dan kesabaran dalam mendampingi penelitian ini, serta seluruh karyawan dan staf Jurusan Kimia, *Jazaakumullah khoiron katsiro*.
12. Abi Zaiyad Namiri, M.Pd.I. selaku kepala Ar Raihan *Islamic High School* atas izin kuliah dan penelitian ini, serta teman-teman *Management Team* lainnya: Abi Fahrul Rozi, Abi M. Farhan S., Abi Ashepi Zulham, Abi A. Sofwan, Ummi Citra Puspita A., dan Abi Zulfikar atas dukungan penuh kepada kuliah dan penelitian ini. Semoga kita tetap solid dan mampu memberikan yang terbaik untuk yayasan dan Ar Raihan tercinta.
13. Teman pendamping hidupku tercinta Sri Handayani atas cinta, kesabaran, dan keikhlasannya, perlahan kita tapaki jalan panjang ini dengan anak-anak kita menuju surga yang dijanjikan.
14. Anak-anakku Hayyana dan Haytsam, motivator yang selalu memberikan kebahagiaan dalam senyum terindahannya, semoga kelak engkau jadi anak-anak yang sholih kebanggaan semua orang dan jauh lebih baik dari abi, lanjutkan perjuangan abi. Abi sayang Ummi, Hayyana, dan Haytsam.
15. Keluarga Besar *Raharjo Family*: Mas dan Ummi tersayang (*Allahu yarham*) atas kasih sayang yang terdalam, semoga kini kau telah tenang di alam

keabadian semoga kau bahagia dengan amal dan doa dari kami untukmu, kelak kami akan menyusulmu. Mba-mba dan Mas-mas yang merawat dan menjaga ku atas dukungan harta dan jiwa, serta keponakan-keponakan yang selalu menyemangati Om Nawan. Semoga kita dikumpulkan kembali menjadi keluarga di surga.

16. Bapak/Ibuku dari istriku yang telah memberiku kasih sayang sebagai orang tua ku kini, serta adik, atas segala pengorbanan yang dicurahkan untuk kami sekeluarga khususnya kasih sayang dan kerepotan untuk anak-anakku.
17. Rekan-rekan Magister Kimia 2014: Yuli, Tini, Endah, Ratu, Bu Rahma, Bu Iis, Bu Romi, Hapin, Putri, Shinta, dan Pak Basuki atas kerjasama dan kebersamaannya.
18. Rekan rekan Magister Kimia angkatan 2013 dan 2015 atas bimbingannya dan kebersamaannya.
19. Rekan *peer group* kimia organik: Ismi, Susi, Ajeng atas bantuan dan kerjasamanya; Vicka, Badi, Nurul, Arni, Inggit, Rio, Ridho, Siti, Dona, Erva serta adik-adikku semua atas kebersamaan di laboratorium kita.
20. Rekan-rekan seperjuangan di SMP-SMA Islam Terpadu Ar Raihan Bandar Lampung atas semangat dan kerjasamanya, khususnya Tim IPA.
21. Anak-anakku semua di Daarul Huffazh, Adikara, Taman Siswa, khususnya di Ar Raihan tercinta, semoga kelak engkau menjadi anak bangsa yang membanggakan dan pemuda islam yang tangguh.
22. Rekan-rekan seperjuangan dakwah di Pesawaran, Ikatan Mahasiswa Muslim (IKAMM) Pesawaran, Forum Silaturahmi Alumni Rohis (FSAR), Forum Ukhuwah Rohis (FOKUS), Rohani Islam (ROHIS) SMAN 1 Gedongtataan,

Badan Koordinasi Pemuda Remaja Masjid (BKPRMI), serta Kabinet Remaja Islam Masjid (KARISMA) Kebagusan, semoga perjuangan ini menjadikan kita sebagai ahli surga.

23. Adik-adikku tercinta BBQ Nabilla atas semangat dan inspirasinya, kakak sayang kalian semua. Dari sini, kita akan bangun peradaban baru di bumi ini. Semoga kita dapat saling meraih tangan, menarik kita ke dalam surga dan menyelamatkan dari api neraka.
24. Semua pihak terkait yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah membantu dan bekerjasama, semoga Allah membalas segala kebaikan yang telah diberikan.
25. Almamater tercinta Universitas Lampung

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih terdapat kekurangan. Akan tetapi, penulis berharap tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua. *Aamiin*.

Bandar Lampung, Agustus 2017

**Hernawan**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian .....	4
C. Manfaat Penelitian .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
A. <i>Artocarpus</i> .....	5
B. Kenangan ( <i>Artocarpus rigida</i> ).....	7
C. Flavonoid .....	10
1. Klasifikasi Flavonoid .....	11
2. Biosintesis Flavonoid .....	13
3. Manfaat Flavonoid .....	15
4. Flavonoid pada <i>Artocarpus</i> .....	17
5. Isolasi Flavonoid .....	18
D. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi .....	18
1. Kromatografi Cair Vakum (KCV) .....	19
2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	21
E. Modifikasi Menggunakan Anhidrida Asetat .....	23
F. Identifikasi Secara Spektroskopi .....	24
1. Spektroskopi Ultraviolet-tampak atau <i>Ultraviolet-visible</i> (UV-Vis).....	24
2. Spektroskopi Inframerah atau <i>Infrared</i> (IR) .....	26
3. Spektrometri Resonansi Magnetik Inti .....	28
G. Bakteri.....	30
H. <i>Bacillus subtilis</i> .....	33

I. Metode Uji Bioaktivitas .....	35
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>39</b>
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	39
B. Alat dan Bahan.....	39
1. Alat-alat yang digunakan.....	39
2. Bahan-bahan yang digunakan.....	40
C. Prosedur Penelitian .....	40
1. Pengumpulan dan Persiapan sampel.....	40
2. Ekstraksi .....	41
a. Ekstraksi dengan <i>n</i> -heksana .....	41
b. Ekstraksi dengan metanol : etil asetat (1:1) .....	41
3. Kromatografi.....	41
a. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	41
b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	43
4. Analisis Kemurnian .....	43
5. Modifikasi Senyawa Hasil Isolasi .....	44
6. Spektrofotometri.....	45
a. Spektrofotometri Ultraviolet-tampak (UV-Vis) .....	45
b. Spektrofotometri Inframerah (IR) .....	45
c. Spektrometri Resonansi Magnetik Inti (NMR) .....	46
7. Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	46
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>48</b>
A. Isolasi Senyawa Flavonoid .....	48
B. Modifikasi Senyawa Hasil Isolasi.....	58
C. Analisis Spektrofotometri .....	60
1. Spektrofotometri Ultraviolet-tampak (UV-Vis) .....	60
2. Spektrofotometri Inframerah (IR) .....	63
3. Spektrometri Resonansi Magnetik Inti (NMR) .....	65
D. Uji Bioaktivitas Antibakteri.....	75
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>81</b>
A. Simpulan.....	81
B. Saran .....	82
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>83</b>

<b>LAMPIRAN</b> .....	90
1. Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan.....	91
2. Diagram Alir Penelitian.....	92
3. Kromatogram KLT hasil KCV tahap awal.....	94
4. Perhitungan Tetapan Kopling $^1\text{H-NMR}$ .....	98

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tipe aktivitas biologi dan biokimia senyawa flavonoid .....	16
2. Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak .....	19
3. Rentang serapan spektrum ultraviolet-tampak untuk flavonoid. ....	25
4. Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi.....	27
5. Nilai geseran kimia untuk <sup>1</sup> H-NMR dan <sup>13</sup> C-NMR.....	29
6. Sifat- sifat bakteri <i>Bacillus subtilis</i> . ....	33
7. Data pertumbuhan kristal pada KCV awal .....	52
8. Data penggabungan fraksi-fraksi hasil KCV awal.....	53
9. Data penggabungan fraksi-fraksi hasil KCV fraksi A dan B.....	56
10. Perbandingan data <sup>1</sup> H-NMR antara senyawa artonin E tetraasetat (1) dan senyawa hasil modifikasi (2).....	68
11. Perbandingan data <sup>13</sup> C-NMR antara senyawa artonin E tetraasetat (1) dan senyawa hasil modifikasi (2).....	70
12. Data spektrum HSQC senyawa modifikasi.....	72
13. Ukuran zona hambat dari senyawa hasil isolasi dan hasil modifikasi terhadap bakteri <i>Bacillus subtilis</i> . ....	78

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Artocarpus rigida</i> : (a) pohon/batang utama; (b) akar; dan (c) buah.....	8
2. Kerangka dasar flavon .....	11
3. Tiga jenis flavonoid .....	11
4. Kelompok-kelompok struktur yang penting dari flavonoid alami. Tingkat oksidasi dari tiga atom karbon pusat .....	12
5. Jalur biogenesis pembentukkan senyawa-senyawa flavonoid dalam genus <i>Artocarpus</i> .....	14
6. Struktur beberapa senyawa flavonoid dari <i>Artocarpus</i> .....	17
7. Urutan eluen kromatografi berdasarkan tingkat kepolarannya .....	20
8. Kromatogram lapis tipis ekstrak kasar methanol:etil asetat (1:1) menggunakan eluen etil asetat : n-heksana (1:1) .....	49
9. Proses KCV: (a) pengelusan sampel; (b) pita yang terbentuk setelah pengelusan; dan (c) fraksi hasil KCV. ....	51
10. Kromatogram fraksi hasil KCV 1 ke-5.....	51
11. Kromatogram KLT fraksi A bagian 1.....	53
12. Kromatogram KLT fraksi A bagian 2.....	54
13. Kromatogram KLT fraksi A bagian 3.....	55
14. Kromatogram KLT fraksi B bagian 1 .....	55
15. Kromatogram KLT fraksi B bagian 2.....	56
16. Kromatogram KLT kristal K1 – K22 dan senyawa standar artonin E dengan eluen: (a) etil asetat : benzena (10%); (b) etil asetat : n-heksana	

(40%); dan (c) aseton : diklorometana (20%).....	57
17. Kromatogram KLT senyawa artonin E (hasil isolasi) dan senyawa hasil modifikasi dengan menggunakan eluen etil asetat : n-heksana 40% : (a) 24 jam; (b) 48 jam; dan (c) 72 jam. ....	58
18. Reaksi asetilasi artonin E dengan anhidrida asetat menggunakan katalis piridina.....	59
19. Artonin E yang terasetilasi pada posisi 5, 2', 4', dan 5' (artonin E tetraasetat). ....	60
20. Spektrum UV: (a) senyawa hasil isolasi dan (b) senyawa hasil modifikasi dalam pelarut metanol.....	61
21. Spektrum inframerah (IR) senyawa hasil modifikasi. ....	63
22. Perbandingan spektrum IR: (a) senyawa artonin E dan (b) senyawa hasil modifikasi. ....	64
23. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR senyawa hasil modifikasi .....	66
24. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR senyawa hasil modifikasi .....	69
25. Spektrum HSQC senyawa hasil modifikasi .....	71
26. Struktur senyawa modifikasi berdasarkan spektrum HSQC.....	72
27. Spektrum HMBC senyawa hasil modifikasi.....	73
28. Struktur senyawa modifikasi berdasarkan spektrum HMBC.....	74
29. Struktur senyawa hasil modifikasi berdasarkan analisis.....	75
30. Hasil uji antibakteri terhadap <i>Bacillus subtilis</i> oleh senyawa hasil isolasi (AE) dan senyawa hasil modifikasi (AEM) dengan kontrol negatif metanol dan kontrol positif amoxycilin: a. Konsentrasi 0,5 mg/disk dan b. Konsentrasi 1 mg/disk.....	78

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit diare merupakan penyakit endemis di Indonesia dan juga merupakan penyakit potensial Kejadian Luar Biasa (KLB) yang sering disertai dengan kematian. Pada tahun 2015 terjadi 18 kali KLB diare yang tersebar di 11 provinsi, 18 kabupaten/kota, dengan jumlah penderita 1.213 orang dan kematian 30 orang. Angka kematian atau *Case Fatality Rate* (CFR) saat KLB diharapkan  $< 1\%$ . Provinsi Lampung, khususnya kabupaten Pesisir Barat angka kematian mencapai 100%, sedangkan di kabupaten Pesawaran angka kematian 3,33% (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Ada beberapa penyebab penyakit diare, antara lain adalah infeksi bakteri dan keracunan makanan (Widoyono, 2008). Kerusakan oleh keberadaan mikroorganisme dalam kemasan kaleng, selain menurunkan kualitas produk juga sangat membahayakan kesehatan bahkan kematian (Pratiwi, 2004). Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng yang juga dapat mengakibatkan gastroenteritis pada manusia yang mengkonsumsinya adalah *Bacillus subtilis* (Nursal, 1998). Gastroenteritis ditandai dengan gejala utamanya yaitu diare, muntah, mual dan kadang disertai demam dan nyeri abdomen (Beers *et al.*, 2004).

Penanganan terhadap bakteri ini yang telah dilakukan adalah dengan memberikan antibiotik tetrasiklin dan kloramfenikol (Yassin *and* Ahmad, 2012). Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan menjadi ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik (Permenkes RI, 2011). *Bacillus subtilis* menunjukkan *multi-drug resistant* di lingkungan rumah sakit di Duhok City, Irak (Yassin *and* Ahmad, 2012).

Banyak senyawa organik yang berhasil diisolasi dari produk alam yang telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, namun kebutuhan terhadap obat untuk berbagai jenis penyakit terus bertambah. Maka pencarian senyawa baru dari produk alam terus dilakukan untuk mengatasi berbagai macam penyakit (Herbert, 1996). Ekstrak suku Zingiberaceae dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab keracunan makanan atau penyebab infeksi saluran pencernaan, seperti *Bacillus subtilis* (Utami dan Puspaningtyas, 2013).

Pemanfaatan tumbuhan *Artocarpus* sebagai obat tradisional secara konvensional telah banyak dilakukan oleh masyarakat karena banyak mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai senyawa obat (Nurachman, 2002). *Artocarpus rigida* yang dikenal sebagai kenangan sudah pernah diteliti sebelumnya dan diperoleh beberapa senyawa derivat flavonoid seperti artonin E, artobilosanton, dan sikloartobilosanton (Hano *et al.*, 1990). Artonin E memiliki sifat sitotoksik yang tinggi dalam menyerang sel murine leukemia P-388 (Suhartati *et al.*, 2008), selanjutnya artonin E juga memiliki aktivitas antimalaria (Suhartati *et al.*, 2010).

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi artonin E dari kulit batang tumbuhan *Artocarpus rigida* sedangkan sampel yang digunakan pada penelitian ini

adalah kulit akarnya. Pemilihan kulit akar sebagai sampel dikarenakan pada kulit akar diperkirakan memiliki senyawa hasil metabolit sekunder yang bervariasi. Pemilihan metode isolasi dan pemurnian mempengaruhi senyawa murni yang didapat. Perbedaan dalam pemilihan dan pemisahan terhadap fraksi-fraksi yang diperoleh dan penggunaan eluen yang berbeda jenis maupun tingkat kepolarannya merupakan salah satu hal yang dapat mempengaruhi senyawa yang diperoleh.

Pada rentang tahun 1981 – 2010, dari 1355 buah obat-obatan yang beredar 4,4% berasal dari pemurnian bahan alam, 0,4% ekstrak, dan 43% merupakan senyawa alami yang dimodifikasi (Newman *et al.*, 2012). Pemurnian molekul dari bahan alam bukanlah pekerjaan final dan langsung bisa digunakan sebagai obat, akan tetapi masih perlu langkah lain. Jadi hanya sekitar 5% senyawa yang dihasilkan ekstraksi langsung bisa digunakan untuk obat, kebanyakan menemukan senyawa model untuk disintesis atau dimodifikasi lebih lanjut (Saifudin, 2014).

Tahapan penting dari penemuan obat baru setelah pemilihan senyawa target dan penelusuran jalur sintesisnya adalah mengujinya baik secara *in vivo* maupun *in vitro* untuk menilai aktivitas dan daya toksisitas senyawanya (Thomas, 2003). Sistem uji selular memiliki potensi untuk menjelaskan banyaknya interaksi obat, karena itu berkontribusi pada pemahaman yang lebih baik dari kerja obat dan pemilihan obat (Dingermann *et al.*, 2004).

Dengan memperhatikan kebutuhan manusia agar terhindar dan terobati dari penyakit yang disebabkan oleh *Bacillus subtilis* serta banyaknya senyawa bioaktif dari bahan alam yang berpotensi sebagai obat, maka dilakukan penelitian ini.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka penting untuk dapat mengetahui apakah akan didapat senyawa flavonoid hasil isolasi dari fraksi semipolar dari kulit akar *Artocarpus rigida* serta menentukan strukturnya, kemudian senyawa tersebut apakah dapat dimodifikasi membentuk senyawa baru yang keduanya kemudian diuji hingga diketahui apakah kedua senyawa tersebut dapat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah

1. Mengisolasi senyawa flavonoid dari fraksi semipolar kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) yang tumbuh di Desa Kaputren Sukoharjo Kabupaten Pringsewu.
2. Menentukan struktur senyawa flavonoid yang diisolasi.
3. Memodifikasi senyawa flavonoid hasil isolasi.
4. Menguji aktivitas antibakteri dari senyawa flavonoid yang diisolasi dan hasil modifikasi.

## **C. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa flavonoid fraksi semipolar yang terkandung dalam kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) dan dapat memodifikasi senyawa flavonoid hasil isolasi serta memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri dari senyawa flavonoid hasil isolasi maupun hasil modifikasi.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Artocarpus*

*Artocarpus* dengan jumlah anggota sekitar 70 spesies merupakan genus terbesar ketiga pada famili Moraceae. *Artocarpus* terdiri dari tumbuhan bernilai ekonomi tinggi yang merupakan asli dari Asia Tenggara (Zerega *at al*, 2005). *Artocarpus* merupakan tumbuhan penghasil buah. Tumbuhan ini mempunyai buah dengan ukuran kecil sampai ukuran besar. Buah segar dari tumbuhan ini dapat langsung dikonsumsi sebagai sayur, terutama buah dari *Artocarpus heterophyllus* (Ashari, 1995).

Genus *Artocarpus* tidak hanya dimanfaatkan buahnya sebagai bahan pangan, tetapi daunnya juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional, misalnya untuk obat demam, disentri, atau malaria (Nurachman, 2002). Kandungan senyawa metabolit sekunder digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri dan virus (Herbert, 1996).

*Artocarpus* adalah salah satu genus penting dari famili Moraceae. Tumbuhan kelompok ini tersebar luas di daerah tropika dan subtropika. Indonesia dilaporkan memiliki sekitar 40 spesies dari genus *Artocarpus*. Lebih dari 60 senyawa fenolik yang telah diteliti dan dikarakterisasi, termasuk 27 senyawa baru dari 13 spesies dari genus *Artocarpus* yang ada di Indonesia yang meliputi: *Artocarpus*

*champeden*, *Artocarpus lanceifolius*, *Artocarpus teysmanii*, *Artocarpus scortechinii*, *Artocarpus gomezianus*, *Artocarpus reticulatus* dan *Artocarpus glaucus* (Hakim *et al.*, 2006).

Beberapa contoh anggota genus *Artocarpus* penghasil buah yang populer, di antaranya adalah *Artocarpus altilis* (sukun), *Artocarpus elasticus* (benda), *Artocarpus heterophyllus* (nangka), *Artocarpus integer* (cempedak). *Artocarpus* penghasil kayu, di antaranya adalah *Artocarpus altissimus* Miq. (kelutum), *Artocarpus anisophyllus* Miq. (mentawa), *Artocarpus dadah* (dadad/tampang), *Artocarpus fulvicortex* (tampang gajah), *Artocarpus glaucus* (sembir), *Artocarpus gomezianus* (sampang), *Artocarpus kemando* (cempedak air, pudu), *Artocarpus lanceifolius* (keledang), *Artocarpus lowii*, *Artocarpus maingayi* (pudu), *Artocarpus nitidus* (tampang), *Artocarpus rigidus* (tempuni/kundang), *Artocarpus scortechinii* (terap hitam) dan *Artocarpus teysmannii* (tipulu) (Anonim, 2017).

Beberapa senyawa yang pernah berhasil diisolasi antara lain tiga senyawa flavon dari kulit batang *Artocarpus teysmanii* yaitu artonin E, sikloartobilosanton, dan afzelekik-3-*o*- $\alpha$ -L-ramnosia (Tukiran, 1997). Artoindonesianin P dari *Artocarpus lanceifolius* memiliki aktivitas sitotoksik yang baik (Hakim *et al.*, 2002). Kulit batang dan kulit akar *A.bracteata* pernah berhasil diisolasi beberapa senyawa seperti artoindonesianin J, kanzonol C, kerapakromen, dan 6-preniapigenin (Ersam, 2001). Sejumlah senyawa diantaranya memiliki efek biologis yang menarik, seperti antiinflamasi, sitotoksik, dan sebagai inhibitor transport asam amino yang tergantung kepada K<sup>+</sup> pada usus *Bombyx mori* (Parenti *et al.*, 1998).

Keistimewaan dari flavonoid yang dihasilkan oleh *Artocarpus* ialah adanya substituen isoprenil pada C-3 dan pola 2',4',5'-trioksigenasi pada cincin B dari kerangka dasar flavon. Senyawa-senyawa jenis ini belum pernah ditemukan pada tumbuhan lain. Selain mempunyai struktur molekul yang unik, beberapa senyawa flavon yang berasal dari *Artocarpus* juga memperlihatkan bioaktivitas antitumor yang tinggi pada sel leukemia L-1210 (Hano *et al.*, 1990).

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

Tumbuhan ini merupakan tumbuhan hutan, mempunyai batang yang kokoh seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1a, tingginya dapat mencapai 20 m, berkayu keras, kulit kayunya berserat kasar dan menghasilkan getah yang banyak. Gambar 1b menunjukkan kulit akar yang berwarna kemerahan dan bergetah. Daun kenangkan tidak lebar, menjari, dan berbulu kasar. Buahnya yang masih muda berwarna kuning pucat seperti yang tampak pada Gambar 1c, apabila buah tersebut sudah masak menjadi berwarna lembayung. Buah ini dapat dimakan tetapi memiliki rasa yang masam dan kurang enak (Hernawan, 2008).

Buah ini dikenal di masyarakat dengan nama yang berbeda-beda. Nama lain dari buah ini adalah peusar ataupun tempunik (Rukmana, 1997). Pohon dan buah ini dikenal juga dengan nama mandalika. Saat ini sudah sulit untuk menemukan tumbuhan ini, karena itu tumbuhan ini dapat dikategorikan sebagai tumbuhan langka. Tumbuhan ini dikenal dengan nama kenangkan di Sukoharjo Pringsewu karena memiliki ciri-ciri dan sifatnya mirip dengan nangka (Hernawan, 2008).



**Gambar 1.** *Artocarpus rigida*: (a) pohon/batang utama; (b) akar; dan (c) buah

Dalam taksonomi, tumbuhan ini diklafikasikan sebagai berikut :

Superregnum	: Eukaryota
Regnum	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliophyta
Ordo	: Rosales
Famili	: Moraceae
Sub famili	: Artocarpeae
Genus	: Artocarpus
Spesies	: <i>Artocarpus rigidus</i> atau <b><u>Artocarpus rigida</u></b>

Sumber : (Anonim, 2013).

Analisis senyawa kimia dari akar *Artocarpus rigida* telah berhasil didapatkan senyawa dengan struktur senyawa fenolik, termasuk dua senyawa baru dengan kerangka flavonoid yang dimodifikasi yaitu 7-demetilartonol E dan kromon artorigidusin, bersamaan 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*. Semua senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikobakterial terhadap *Micobacterium tuberculosis* (Namdaung, 2006).

Salah satu *Artocarpus rigida* yang ada di Indonesia pernah berhasil diisolasi dua senyawa baru dari flavon terisoprenilasi yaitu artonin G dan H yang diisolasi bersamaan dengan tiga senyawa flavon terisoprenilasi yang telah diketahui, yaitu artonin E, sikloartobilosanton, dan artobilosanton (Nomura, 1990).

Jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan terdistribusi pada berbagai bagian tumbuhan, dalam masing-masing bagian itu mempunyai jenis dan kuantitas senyawa yang relatif tidak sama (Mursito, 2002).

Kecenderungan pembentukan senyawa-senyawa kimiawi tumbuhan pada satu spesies secara kualitatif pada dasarnya sama, namun perbedaan kuantitas dapat dipengaruhi oleh keadaan geografis dari tumbuhan tersebut.

Sebelumnya, pernah berhasil diisolasi senyawa metabolit sekunder dari kulit akar tumbuhan ini, namun belum dapat ditentukan strukturnya (Farid, 1998).

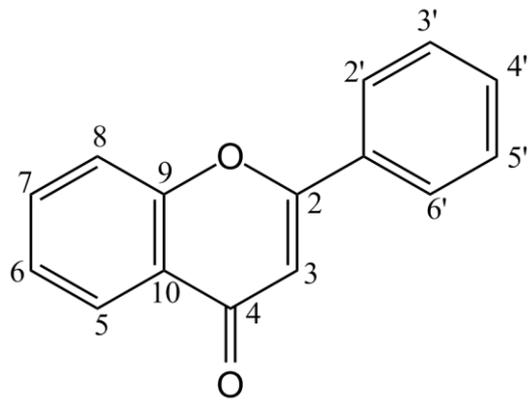
Hernawan (2008) berhasil mengisolasi senyawa Artonin E dari kulit batang *Artocarpus rigida*. Sementara itu, senyawa Artokarpol A telah berhasil diisolasi

dari kulit akar (Chung *et al.*, 2000). Artokarpol F juga telah berhasil diisolasi (Ko *et al.*, 2001). Selain itu, juga telah berhasil diisolasi Artokarpol I dan J dari tumbuhan ini (Lu *et al.*, 2003).

### **C. Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa fenol ini terdiri dari beragam senyawa dengan ciri yang sama atau cincin aromatik yang mempunyai satu atau lebih substituen hidroksil (Harborne, 1996). Banyaknya senyawa flavonoid di alam bukan disebabkan oleh banyak variasi struktur, akan tetapi disebabkan oleh tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi dari struktur flavonoid (Achmad, 1986).

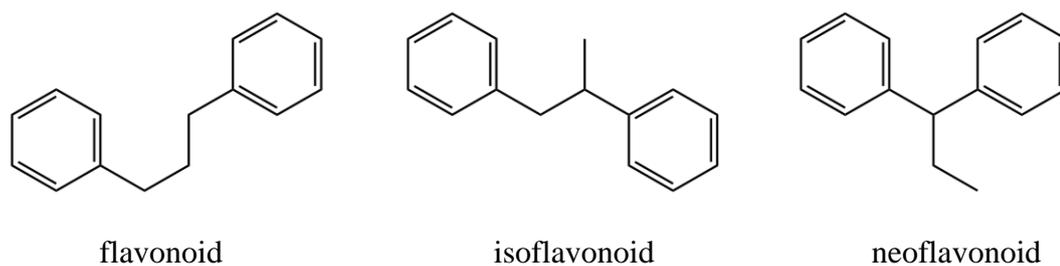
Flavonoid merupakan salah satu produk metabolisme sekunder yang penyebarannya terbatas, yaitu pada tumbuhan dan mikroorganisme. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tumbuhan, termasuk akar, daun, kayu, kulit, bunga, buah, dan biji. Adanya flavonoid pada hewan seperti kelenjar bau berang-berang, propolis (sekresi lebah), dan dalam sayap kupu-kupu, dianggap berasal dari tumbuhan yang menjadi makanannya dan tidak mengalami biosintesis dalam tubuh hewan tersebut (Markham, 1988). Flavonoid merupakan istilah yang dikenakan pada suatu golongan besar senyawa yang berasal dari kelompok senyawa yang paling umum, yaitu senyawa flavon yang ditunjukkan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Kerangka dasar flavon (Manitto, 1992).

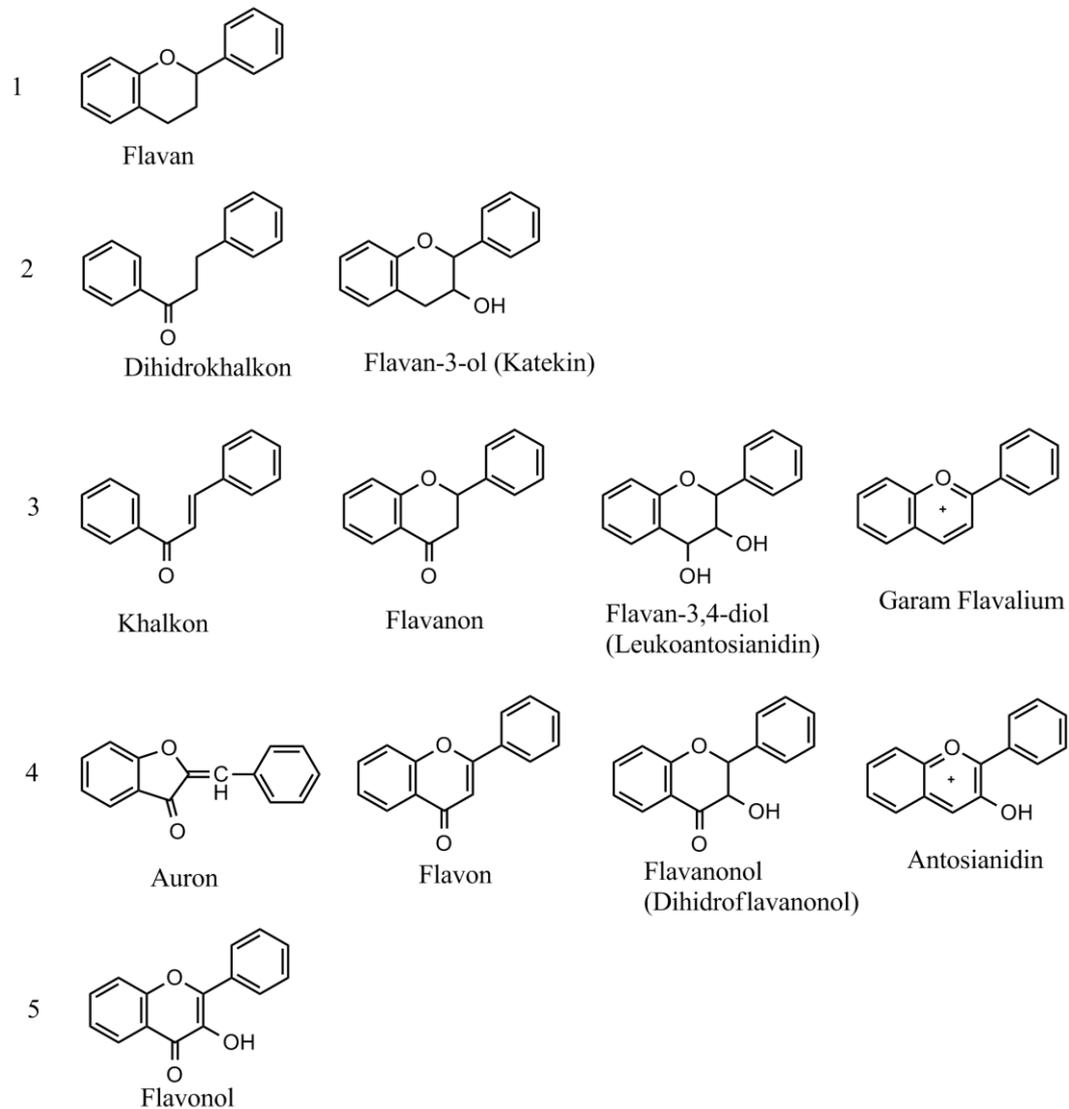
### 1. Klasifikasi Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar tersusun atas 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon, dapat ditulis sebagai  $C_6-C_3-C_6$  (Manitto, 1992). Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid (1,3-diaril propana), isoflavonoid (1,2-diaril propana), dan neoflavonoid (1,1-diaril propana), seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Tiga jenis flavonoid (Achmad, 1986)

Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis, tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dari sistem 1,3-diaril propana. Beberapa jenis struktur flavonoid alami beserta tingkat oksidasinya ditunjukkan pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Kelompok-kelompok struktur yang penting dari flavonoid alami. Tingkat oksidasi dari tiga atom karbon pusat (Manitto, 1992).

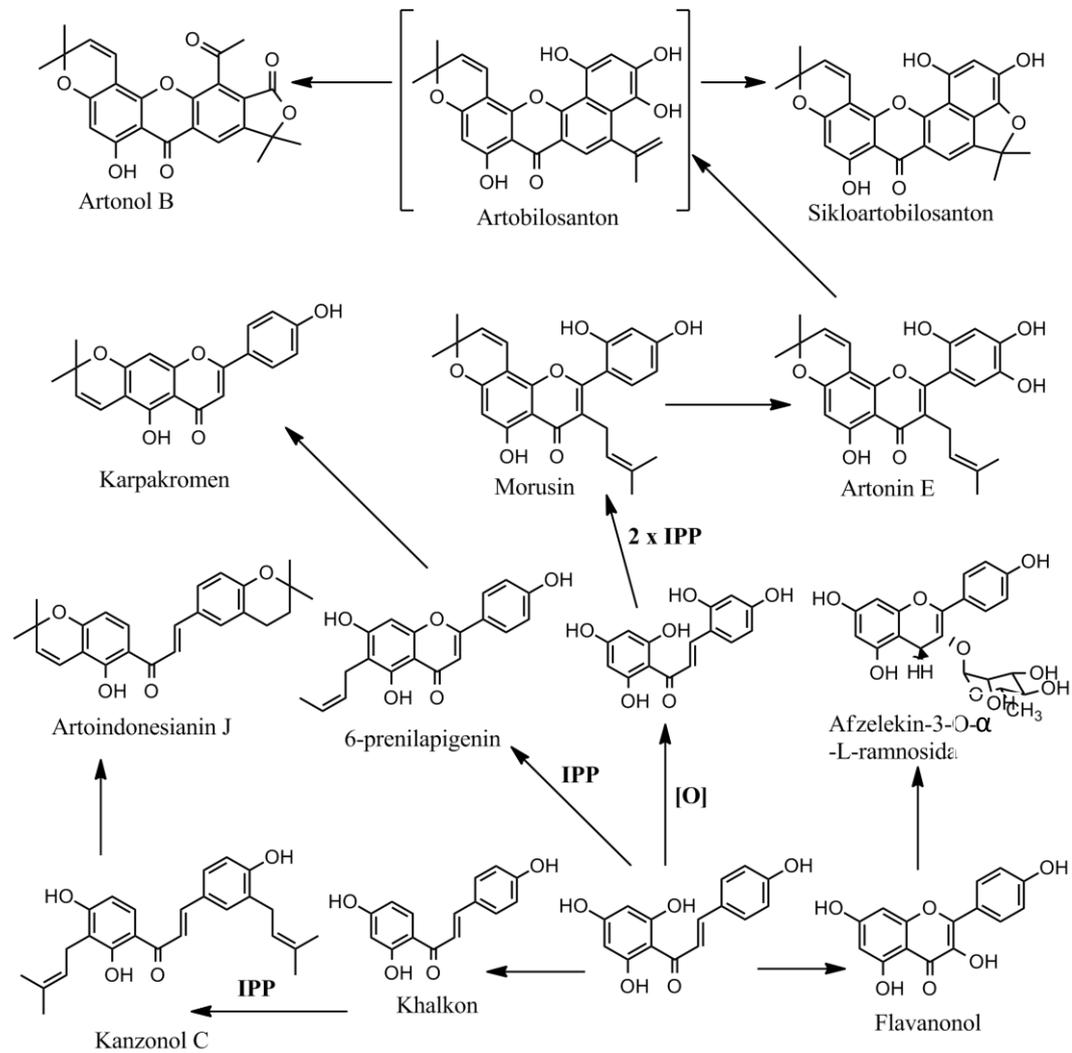
## 2. Biosintesis Flavonoid

Suatu penelitian tentang struktur flavonoid alami membuktikan bahwa senyawa yang mempunyai tingkat oksidasi pada ketiga atom karbon sentral sama atau lebih tinggi dari pasangan kalkon-flavanon, ternyata jumlahnya lebih besar. Karena itu, dapat dimengerti bila kemudian banyak yang berpendapat bahwa kebanyakan

flavonoid dibentuk melalui proses oksidasi enzimatis, yang biasanya selektif dan terkontrol secara genetik. Hipotesis “oksidatif” pertama kali tentang biosintesis flavonoid dikemukakan oleh Grisebach. Hal yang penting dari hipotesis Grisebach adalah pembentukan khalkon-epoksida yang kemudian menjadi senyawa-senyawa flavonol, auron, isoflavon (Manitto, 1992).

Modifikasi flavonoid lebih lanjut terjadi pada berbagai tahap dan menghasilkan penambahan atau pengurangan hidroksilasi, metilasi gugus hidroksi atau inti flavonoid, isoprenilasi gugus hidroksi atau inti flavonoid, metilasi gugus orto-dihidroksi, dimerisasi, pembentukan bisulfat, dan glikosida gugus hidroksi (Markham, 1988).

Penemuan senyawa-senyawa flavonoid dari *Artocarpus* dapat memperkaya keanekaragaman model molekul yang dilaporkan dari genus *Artocarpus*. Sembilan senyawa turunan fenolat yang ditemukan dari genus *Artocarpus* memiliki hubungan kekerabatan molekul, seperti pada saran jalur reaksi biogenesis pembentukan senyawa-senyawa flavonoid pada genus *Artocarpus* pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Jalur biogenesis pembentukan senyawa-senyawa flavonoid dalam genus *Artocarpus* (Ersam, 2004)

### 3. Manfaat Flavonoid

Flavonoid mempunyai manfaat beragam terhadap organisme sehingga tumbuhan yang mengandung flavonoid umumnya digunakan dalam pengobatan tradisional. Tumbuhan yang secara tradisional digunakan untuk mengobati gangguan fungsi hati, ternyata mengandung komponen aktif senyawa flavonoid yang mempunyai aktivitas antioksidan. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik dan dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non-enzim (Robinson, 1995).

Isolat flavonoid dari benalu mangga mampu menghambat pertumbuhan kanker (Sukardiman, 1999). Beberapa turunan flavonoid dari isoflavon, misalnya rotenon, merupakan insektisida alam yang kuat (Harborne, 1996). Selain itu, senyawa tersebut memiliki bioktivitas yang menarik seperti antileismania, antiinflamasi, antidiuretik, dan antihipertensi (Ersam, 2001).

Senyawa flavonoid dan turunannya dari tanaman *Artocarpus* juga memiliki fungsi fisiologi tertentu yaitu sebagai antimikroba atau antibakteri dan juga sebagai anti virus (Nurachman, 2002). Selain mempunyai struktur molekul yang unik, beberapa senyawa flavon yang berasal dari *Artocarpus* juga memperlihatkan bioaktivitas antitumor yang tinggi pada sel leukemia L-1210 (Suhartati *et al.*, 2010).

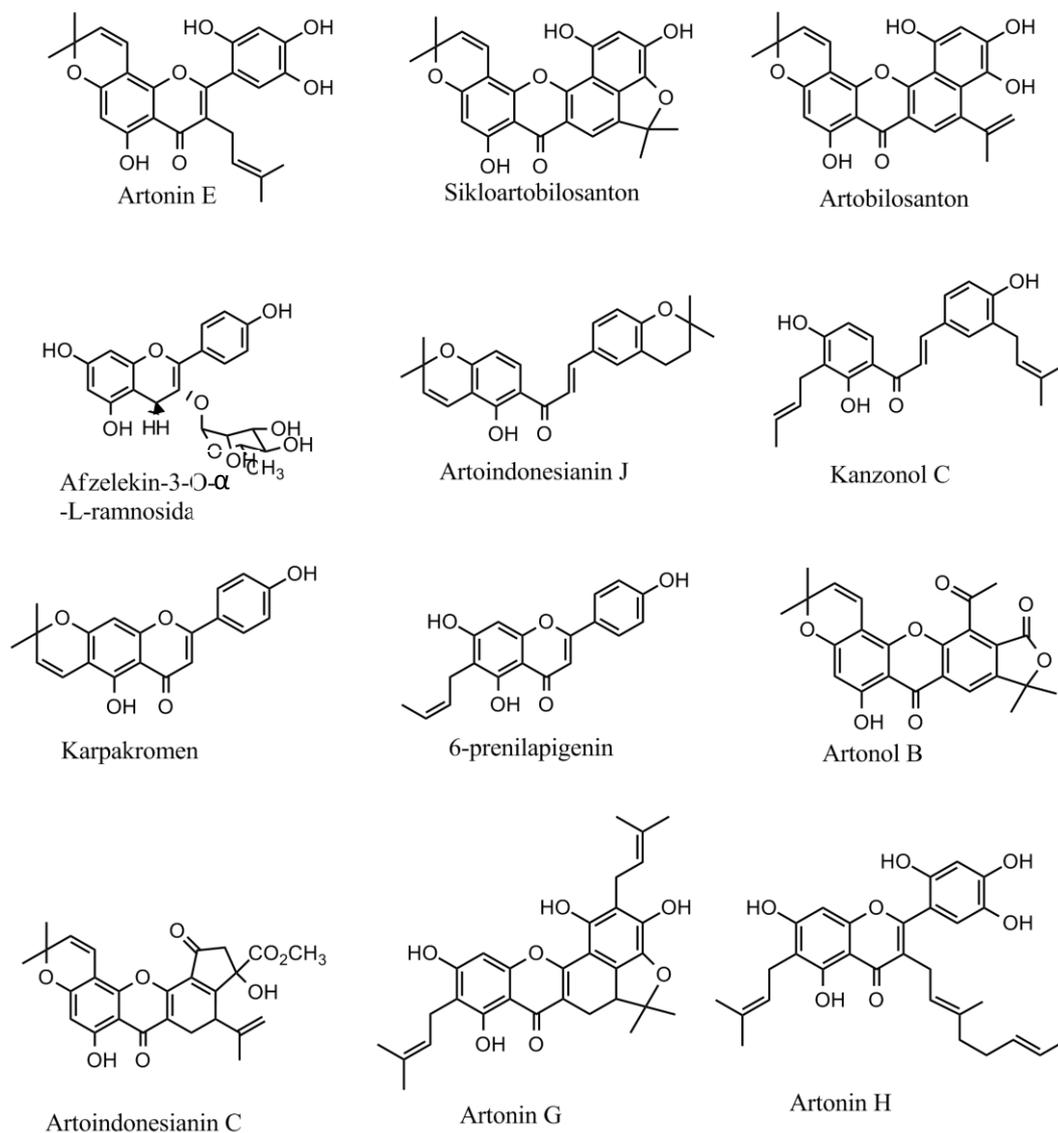
Willaman juga melaporkan bahwa senyawa turunan flavonoid mempunyai 33 aktivitas biologi dan biokimia, seperti yang tercantum dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Tipe aktivitas biologi dan biokimia senyawa flavonoid (Willaman, 1955).

<b>Senyawa Flavonoid</b>	<b>Tipe Aktivitas Biologis</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Flavonol</b>		1. Aktivitas esterogenik
Kalikopterin	7, 8, 14, 15, 17, 28	2. Bakterisida
Krisin	7, 14, 15, 17, 28	3. Spermisida
Flavon	2	4. Pereduksi tumor
Galangin	7	5. Reduksi-oksido pada sitokrom c
Genkwanin	14, 15, 17, 28	6. Racun pada anggur albedo
Gosipetin	12, 16	7. Racun pada ikan
Isoramnetin	24	8. Peluruh cacing
Kaempferol	7, 11, 30	9. Pemacu jantung
Luteolin	22	10. Penekan jantung
Morin	2, 11, 13, 16, 23	11. Peluruh air seni
Mirisetin	7, 9, 11, 18	12. Penyempit kapiler darah
Primuletin	16	13. Perlindungan irradiasi
Quarsetagetin	16	14. Kontraksi uterus
Quarsetin	3, 4, 5, 7, 9, 12, 16, 19-23, 25, 26, 29, 31	15. Penghambat gerakan otot
		16. Potensiasi epinefrin
		17. Penurun tekanan darah
Ramnetin	2, 9, 17, 23	18. Penaik tekanan darah
Trisin	15	19. Penghambat antibiotik
Ulexflavon	11	20. Penghambat bakterisida
<b>Isoflavonol</b>		21. Penghambat oksidasi pada lemak
Biokanin A	1	22. Pengaktivasi enzim
Daidzein	1	23. Penghambat aktivitas enzim
Formonetin	1	24. Penormal fungsi sel kelamin
Genistein	1	25. Pereduksi iodin di kelenjar toroid
Santal	15	26. Antialergi
Taktorigenim	11	27. Efisiensi asam askorbat
<b>Flavanol</b>		28. Peningkat gerakan pernafasan
Butin	7	29. Antivirus
Katekin	3, 13, 21, 23, 27, 31, 33	30. Peluruh kentut
		31. Pelindung kedinginan
Epikatekin	32	32. Peningkat cadangan basa
Eriodiktiol	11, 23	33. Pelindung <i>islets of Langerhans</i>
Hesperetin	10, 13, 21	
Homoeriodiktiol	11, 13, 23	
Naringenin	6, 17, 21	

#### 4. Flavonoid pada Artocarpus

Flavonoid memiliki beragam jenis struktur yang tersusun oleh kerangka-kerangka dasarnya. Struktur beberapa senyawa flavonoid yang telah diperoleh dari Artocarpus ditunjukkan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Struktur beberapa senyawa flavonoid dari Artocarpus

## **5. Isolasi Flavonoid**

Tumbuhan segar merupakan bahan awal yang ideal untuk menganalisis flavonoid, walaupun cuplikan kering yang telah disimpan hati-hati selama bertahun-tahun mungkin masih tetap dapat memberikan hasil yang memuaskan. Tetapi, dalam bahan tumbuhan yang sudah lama, ada kecenderungan glikosida diubah menjadi aglikon karena pengaruh fungi, aglikon yang peka menjadi teroksidasi. Aglikon flavonoid merupakan flavonoid tanpa gugus gula terikat dan bersifat kurang polar. Karena sifatnya yang kurang polar ini, maka aglikon flavonoid cenderung mudah larut dalam pelarut eter dan kloroform. Contoh flavonoid ini adalah isoflavon, flavanon, dan flavon (Markham, 1988).

Selanjutnya, bahan tumbuhan yang telah dikeringkan digiling menjadi serbuk halus untuk diekstraksi dengan pelarut. Ekstraksi harus dilakukan beberapa kali dan ekstrak kemudian disatukan, lalu diuapkan dengan menggunakan penguap-putar. Flavonoid akan larut dengan baik dalam pelarut semipolar, hal ini didasarkan pada banyaknya variasi senyawa flavonoid yang telah berhasil diperoleh merupakan senyawa yang bersifat semipolar hingga polar (Markham, 1988).

### **D. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi**

Salah satu cara pemisahan adalah kromatografi, metode ini didasarkan pada perbedaan distribusi komponen-komponen campuran antara fasa gerak dengan fasa diam. Pemisahan dengan metode kromatografi dilakukan dengan cara memanfaatkan sifat-sifat fisik dari sampel, seperti kelarutan, adsorpsi, keatsirian,

dan kepolaran. Suatu cuplikan dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya karena adanya perbedaan waktu migrasi dari komponen-komponen cuplikan (Johnson *and* Stevenson, 1991).

**Tabel 2.** Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak (Johnson *and* Stevenson, 1991).

<b>Fasa Diam</b>	<b>Fasa Gerak</b>	<b>Sistem Kromatografi</b>
<b>Padat</b>	Cair	Cair – Adsorpsi
<b>Padat</b>	Gas	Gas – Adsorpsi
<b>Cair</b>	Cair	Cair – Partisi
<b>Cair</b>	Gas	Gas – Partisi

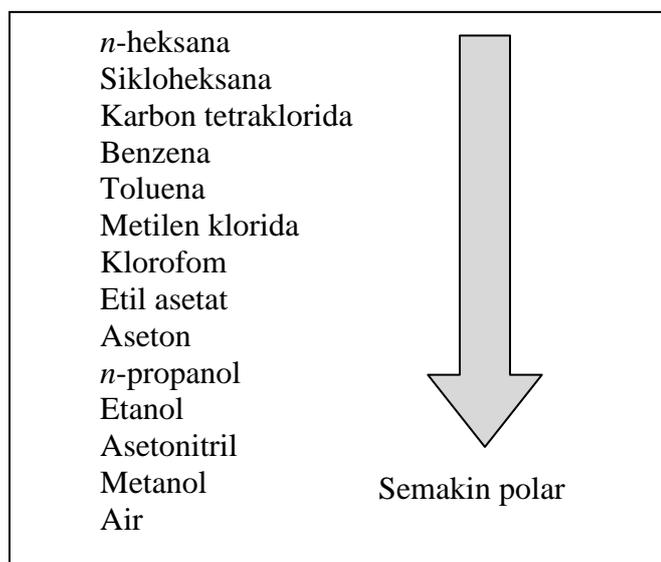
Didasarkan pada jenis fasa diam dan fasa gerak yang dipartisinya, kromatografi dapat dibedakan menjadi beberapa golongan. Penggolongan tersebut dapat dilihat pada Tabel 2. Pada penelitian ini digunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG).

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

Teknik KCV, pada dasarnya cara ini meliputi penempatan campuran flavonoid (berupa larutan) di atas kolom yang berisi serbuk penjerap, seperti selulosa, silika atau poliamida (Markham, 1988). Penjerap yang digunakan harus rata dan tak terjadi rongga-rongga dalam kolom karena dapat mempengaruhi hasil preparasi.

Teknik KCV dilakukan dengan suatu sistem yang bekerja pada kondisi vakum secara kontinyu, 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 (Hostettman *et al.*, 1995).

Pengumpulan fraksi dalam kromatografi kolom dilakukan dengan mengumpulkan setiap pita dengan laju yang berbeda atau dengan membagi eluen menjadi sejumlah cuplikan yang berurutan (Gritter *et al.*, 1991). Urutan eluen pada kromatografi berdasarkan pada tingkat kepolarannya dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Urutan eluen kromatografi berdasarkan tingkat kepolarannya (Gritter *et al.*, 1991).

## 2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fasa 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 (fasa gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Stahl, 1985).

Pemisahan secara KLT didasarkan pada perbedaan pendistribusian campuran dua atau lebih senyawa dalam fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam adalah lapisan tipis dari penjerat pada plat. Fasa gerak adalah cairan pengembang yang bergerak naik pada fasa diam dengan membawa komponen-komponen sampel (Gritter *et al.*, 1991).

Teknik KLT memiliki kelebihan dibandingkan dengan teknik kromatografi yang lain. Kelebihan KLT terletak pada pemakaian pelarut yang jumlahnya sedikit sehingga memerlukan biaya yang relatif murah, selain itu peralatan yang digunakan sederhana dan waktu yang diperlukan untuk mengerjakan metode ini relatif singkat. KLT terutama berguna untuk tujuan berikut :

1. Mencari pelarut untuk kromatografi kolom
2. Analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom
3. Menyigi arah atau perkembangan reaksi seperti hidrolisis atau metilasi
4. Mengidentifikasi flavonoid secara ko-kromatografi
5. Isolasi flavonoid murni skala kecil (Gritter *et al.*, 1991).

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).

Pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunannya tidak jauh berbeda, seringkali harga Rf berdekatan satu sama lainnya. Metode sederhana dalam KLT ialah dengan menggunakan nilai *Retention factor* (Rf) yang didefinisikan dengan persamaan 1 (Sastrohamidjojo, 2002).

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh permukaan pelarut}} \dots\dots\dots(1)$$

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

### E. Modifikasi Menggunakan Anhidrida Asetat

Asetat anhidrat merupakan anhidrat dari asam asetat yang struktur antar molekulnya simetris. Asetat anhidrat memiliki berbagai macam kegunaan antara lain sebagai fungisida dan bakterisida, pelarut senyawa organik, berperan dalam proses asetilasi, pembuatan aspirin, dan dapat digunakan untuk membuat *acetylmorphine*. Asam asetat anhidrat paling banyak digunakan dalam industri selulosa asetat untuk menghasilkan serat asetat, plastik serat kain dan lapisan (Celanese, 2011).

Asetilasi semua gugus hidroksi pada aglikon flavonoid, kecuali gugus hidroksi yang sangat terlindung dapat dilakukan dengan cara melarutkan 20 mg flavonoid dalam 0,5 ml piridin dan tambahkan 0,5 ml anhidrida asetat. Larutan ini selanjutnya dibiarkan semalam pada suhu kamar dalam labu tertutup. Campuran reaksi kemudian dituang ke dalam kira-kira 30 ml air sambil diaduk, biarkan satu jam (Markham, 1988). Namun, pada asetilasi kuersetin dengan penambahan trietilamina dapat mempercepat asetilasi kuersetin menurut metode Markham (Hadiyanto, 2002).

Asetilasi khas gugus 5-hidroksi di samping adanya gugus 7-hidroksi, dapat dilakukan jika piridin diganti dengan asam perklorat dan reaksi dilangsungkan pada suhu  $-10^{\circ}\text{C}$  (Markham, 1988). Akan tetapi, asetilasi dengan menggunakan katalis magnesium perklorat, flavonoid tidak bereaksi dengan katalisnya (Bandyukova *and* Ponomarev, 1970). Reaksi umum asetilasi dengan menggunakan anhidrida asetat dengan katalis piridin sebagaimana persamaan 2.



## F. Identifikasi Secara Spektrofotometri

Spektroskopi adalah studi mengenai antaraksi antara energi cahaya dengan materi. Teknik spektrofotometri dapat digunakan untuk mengidentifikasi struktur suatu senyawa dan mempelajari karakteristik ikatan dari suatu senyawa tersebut karena senyawa akan menyerap energi cahaya pada panjang gelombang tertentu (Fessenden *and* Fessenden, 1999).

### 1. Spektrofotometri Ultraviolet-tampak atau *Ultraviolet-visible* (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 spektrofotometri 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 3.

**Tabel 3.** Rentang serapan spektrum ultraviolet-tampak untuk flavonoid (Markham, 1988).

Pita II (nm)	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

Absorptivitas molar senyawa yang diperoleh dapat diketahui dengan menggunakan data yang diperoleh dari analisis spektrofotometer ultraviolet-tampak. Absorptivitas molar senyawa dihitung dengan menggunakan persamaan Lambert-Beer seperti yang ditunjukkan pada persamaan 3.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ atau } \epsilon = \frac{A}{b \cdot c} \dots\dots\dots(3)$$

Keterangan:           A       = absorbansi  
                                $\epsilon$        = 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 4.

$$\text{Konsentrasi (c)} = \frac{\text{mol}}{L} = \frac{g}{\text{BM} \cdot L} \dots\dots\dots (4)$$

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

## 2. Spektrofotometri Inframerah atau *Infrared* (IR)

Spektrofotometri inframerah adalah teknik spektrofotometri yang paling umum digunakan oleh kimiawan organik dan anorganik. Secara sederhana, spektrofotometri 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 spektrofotometri IR adalah menentukan gugus fungsi dari suatu sampel (Settle, 1997).

Gugus fungsi yang berbeda memberikan serapan radiasi IR pada frekuensi yang spesifik. Spektrometer IR dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi pada jenis sampel yang beragam, seperti sampel berupa gas, cairan, dan padatan. Selain itu, spektrofotometri IR juga penting dan populer untuk penentuan struktur molekul dan identifikasi suatu senyawa (Settle, 1997).

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 inframerah berhubungan dengan energi dari kebanyakan vibrasi molekul.

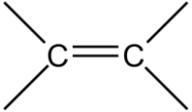
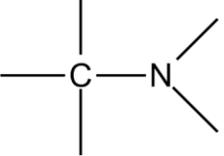
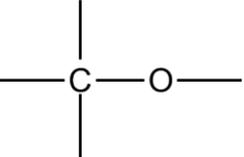
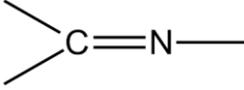
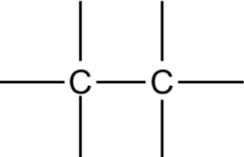
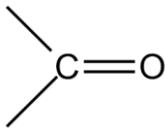
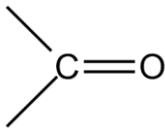
Vibrasi molekul dapat dideteksi dan diukur pada spektrum inframerah.

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).

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 fungsi ditampilkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi (Banwell *and* McCash, 1994).

Gugus	Serapan ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gugus	Serapan ( $\text{cm}^{-1}$ )
—OH	3600		1650
—NH <sub>2</sub>	3400		1600
$\equiv\text{CH}$	3300		1200-1000
Ar—H	3060		1200-1000
$=\text{CH}_2$	3030 2870 1460 1375		1200-1000
—CH <sub>2</sub> —	2930 2860 1470		1750-1600
	1750-1600		

### 3. Spektrometri Resonansi Magnetik Inti

Spektrometri resonansi magnet inti atau spektrometri *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) berhubungan dengan sifat magnet dari inti atom. Spektrometri NMR terdapat dua jenis yaitu spektrometri  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR. Dari spektrum  $^1\text{H}$ -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. Dari spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR dapat diketahui bagaimana keadaan lingkungan karbon tetangga, apakah berada dalam bentuk karbon primer, sekunder, tersier, atau kuarternar (Sudjadi, 1983).

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 5 memberikan nilai geseran kimia dari beberapa jenis senyawa dengan TMS sebagai titik nol-nya (Settle, 1997).

Luas di bawah pita absorpsi ditentukan oleh banyaknya proton ekuivalen yang menimbulkan pita absorpsi itu. Pemisahan spin-spin dari suatu isyarat bergantung

pada banyaknya proton tetangga yang tak ekuivalen dengan proton yang menimbulkan isyarat itu (Settle, 1997).

**Tabel 5.** Nilai geseran kimia untuk  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR (Settle, 1997).

Jenis Senyawa	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
Alkana	0.5 – 1.3	5 – 35
Alkana monosubstitusi	2 – 5	25 – 65
Alkana disubstitusi	3 – 7	20 – 75
Siklopropil	-0.5 – 0.5	0 – 10
R-CH <sub>2</sub> -NR <sub>2</sub>	2 – 3	42 – 70
R-CH <sub>2</sub> -SR <sub>2</sub>	2 – 3	20 – 40
R-CH <sub>2</sub> -PR <sub>2</sub>	2.2 – 3.2	50 – 75
R-CH <sub>2</sub> -OH	3.5 – 4.5	50 – 75
R-CH <sub>2</sub> -NO <sub>2</sub>	4 – 4.6	70 – 85
R-CH <sub>2</sub> -F	4.2 – 5	70 – 80
R-CH <sub>2</sub> -Cl	3 – 4	25 – 50
R-CH <sub>2</sub> -Br	2.5 – 4	10 – 30
R-CH <sub>2</sub> -I	2 – 4	-20 – 0
Epoksida	2.2 – 2.7	35 – 45
Nitril	–	100 – 120
Alkena	4.5 – 7.5	100 – 150
Alil	1.6 – 2.1	18 – 30
Alkuna	2 – 3	75 – 95
Aromatik	6 – 9	110 – 145
Benzilik	2.2 – 2.8	18 – 30
Asam	10 – 13	160 – 180
Ester	–	160 – 175
Amida	5 – 9	150 – 180
Aldehida	9 – 11	185 – 205
Keton	–	190 – 220
Hidroksil	4 – 6	–

*Heteronuclear Single Quantum Correlation* (HSQC) merupakan salah satu NMR dua dimensi. Teknik HSQC pada dasarnya memberikan informasi tentang korelasi antara proton dengan karbon dalam satu ikatan (Reinmaier, 2002). Data hasil HSQC adalah hubungan C-H dua dimensi yang ditunjukkan sebagai sinyal  $\delta\text{C}$  Vs

$\delta$ H. Pergeseran dari hubungan karbon proton berguna dalam elusidasi struktur karena memberikan jawaban inti  $^1\text{H}$  mana yang terikat pada inti  $^{13}\text{C}$ . Sedangkan *Heteronuclear Multiple Bond Correlation* (HMBC) merupakan salah satu jenis NMR dua dimensi yang dapat digunakan untuk mengetahui hubungan antara proton dengan karbon yang berjarak 2 sampai 3 ikatan, sehingga dapat diketahui atom karbon tetangganya (Breitmaier, 2002).

### **G. Bakteri**

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 (Gupte, 1990).

Bakteri jika diberi antibiotik lama kelamaan akan menjadi resisten sehingga diperlukan penelitian mengenai obat baru untuk membunuh bakteri tersebut (Blair *et al.*, 2014). 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 menyasar 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.*, 2014).

Antibakteri adalah zat yang dapat digunakan sebagai pembasmi bakteri yang merugikan manusia (Vincent, 1987), yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) ataupun membunuh bakteri (bakterisidal) (Spicer, 2008). 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, paraaminosalicylat, tetrasiklin, dan lainnya.

b. Antibakteri bakterisidal

Antibakteri ini bekerja dengan cara membunuh atau secara aktif membasmi bakteri. Golongan antibiotik ini adalah penisilin, 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).

Mekanisme antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri adalah:

- a. Penghambatan sintesis dinding sel, dengan cara menghambat pembentukan peptidoglikan sehingga menimbulkan lisis pada sel. Contohnya sefalosporin, penisilin, dan  $\beta$ -laktam.
- b. Merusak membran sel sehingga makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Contohnya polimiksin B dan daptomisin.
- c. Penghambatan sintesis protein pada ribosom bakteri. Contohnya aminoglikosida, tetrasiklin, kloramfenikol, makrolida.

- d. Penghambatan sintesis asam nukleat dengan penghambatan proses transkripsi dan replikasi. Contohnya rifampisin dan kuinolon.
- e. Mengganggu jalur metabolisme bakteri. Contohnya sulfonamid dan trimetoprim (Nester *et al.*, 2012).

#### H. *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang berperan dalam proses pembusukan daging. Sifat sifat bakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada Tabel 6.

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: Bacteria
<i>Phylum</i>	: Firmicutes
<i>Class</i>	: Bacilli
<i>Order</i>	: Bacillales
<i>Family</i>	: Bacillaceae
<i>Genus</i>	: Bacillus
<i>Species</i>	: <i>Bacillus subtilis</i> (Anonim, 2017).

**Tabel 6.** Sifat- sifat bakteri *Bacillus subtilis* (Graumann, 2007).

<b>Karakter</b>	<b><i>Bacillus subtilis</i></b>
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 mengonsumsinya. 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).

*Bacillus subtilis* adalah bakteri yang dapat mengontaminasi makanan sehingga dapat menyebabkan keracunan makanan (Constantin *et al.*, 2009). Bakteri ini menghasilkan toksin ekstraseluler subtilisin yang dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas jika terpapar berkali-kali (Sundaram *et al.*, 2011). Bakteri ini mengkontaminasi dan mengeluarkan asam dan gas CO<sub>2</sub> (Ray, 2004).

Meskipun bakteri ini patogenik rendah atau bahkan non patogen, bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi yang serius bahkan penyakit yang fatal bagi anak-anak, orang tua, atau seseorang dengan sistem imun yang lemah (Gray, 2009). Selain itu, bakteri ini juga dapat menyebabkan iritasi sinus dan mata, sakit tenggorokan, endokarditis, pneumonia, bakteremia, dan septikemia (Samiullah *and* Bano, 2011).

Untuk mencegah makanan dari kemungkinan adanya bahaya, baik karena cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia, maka persyaratan keamanan makanan harus dipenuhi (BPOM, 2009). Penanganan terhadap bakteri ini yang telah dilakukan adalah dengan memberikan antibiotik tetrasiklin dan kloramfenikol. Selain itu dapat juga menggunakan vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, dan klindamisin dengan lama pemberian antara 7-14 hari (Yassin *and* Ahmad, 2012).

Pada penelitian kualitas penggunaan antibiotik di berbagai bagian rumah sakit

ditemukan 30% sampai dengan 80% tidak didasarkan pada indikasi. Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Berbagai studi menemukan bahwa sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat antara lain untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik (Hadi, 2009). Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Pada awalnya resistensi terjadi di tingkat rumah sakit, tetapi lambat laun juga berkembang di lingkungan masyarakat (Permenkes RI., 2011).

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 dkk., 2008).

## **I. Metode Uji Bioaktivitas**

Uji aktivitas antibakteri digunakan untuk mengukur kemampuan suatu agen antibakteri *in vitro* sehingga dapat menentukan potensi antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan, dan kepekaan mikroorganisme penyebabnya terhadap obat yang digunakan untuk pengobatan (Jawetz *et al.*, 2013).

Uji bioaktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan tiga metode, yaitu metode difusi, dilusi, dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif, karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya aktivitas antibakteri suatu senyawa. Di sisi lain, metode dilusi digunakan untuk

kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Jawetz *et al.*, 2013).

a. Metode Difusi

Metode uji antibakteri yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang berisi sejumlah antibakteri tertentu, diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri uji. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur untuk mengukur kekuatan penghambatan antibakteri terhadap bakteri uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisika dan kimia, selain interaksi sederhana antara obat dan organisme misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat (Jawetz *et al.*, 2013).

Metode difusi dibagi menjadi beberapa cara yaitu:

1. Metode Silinder Gelas

Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambat di sekeliling silinder (Ratnasari, 2009).

2. Metode Kertas Cakram (*Disc Diffusion*)

Metode kertas cakram yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambat di sekeliling cakram (Ratnasari, 2009).

### 3. Metode Cetak Lubang (Metode Sumur)

Metode cetak lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambat di sekeliling lubang (Ratnasari, 2009).

Daerah hambatan dimaksudkan untuk menentukan kekuatan antibakteri. Daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis *and* Stout, 1971).

#### b. Metode Dilusi

Sejumlah zat antibakteri dimasukkan ke dalam media yang padat atau cair, biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antibakteri. Media akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji dan diinkubasi. Tujuan akhir dari metode dilusi adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji (Jawetz *et al.*, 2013).

Metode dilusi membutuhkan waktu yang banyak dan kegunaannya terbatas pada keadaan-keadaan tertentu. Keuntungan uji dilusi adalah bahwa uji ini memungkinkan adanya hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh bakteri yang diuji (Jawetz *et al.*, 2013).

### c. Metode Bioautografi

Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Bioautografi didasarkan atas efek biologi berupa antibakteri, antiprotozoa, antitumor dan lain-lain dari substansi yang diteliti. Bioautografi dapat dipertimbangkan karena paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba, sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat pula diisolasi langsung dari komponen yang aktif (Betina, 1973).

### **III. METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2016 - Juni 2017, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Identifikasi atau determinasi sampel di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis spektrofotometri yang digunakan adalah spektrofotometri ultraviolet-tampak (UV-Vis) di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung, spektrofotometri inframerah (IR) dan analisis spektrofotometri NMR di Institut Teknologi Bandung. Uji bioaktivitas antibakteri 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, penguap putar vakum, inkubator, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), satu set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), lampu UV, pipet kapiler, corong buchner, spektrofotometer FT-IR Carry 600, spektrofotometer NMR Agilent frekuensi 500 MHz <sup>1</sup>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 kulit akar kenangan (*Artocarpus rigida*) yang diperoleh dari Desa Kaputren Kecamatan Sukoharjo Kabupaten Pringsewu yang telah dikeringkan dan dihaluskan. 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 (CHCl<sub>3</sub>), 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 F<sub>254</sub> 0,25 mm. Bahan-bahan uji bioaktivitas antibakteri meliputi bakteri *Bacillus subtilis*, *Nutrient Agar* (NA), *amoxycilin*, dan akuades steril.

## **C. Prosedur Penelitian**

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

Sampel berupa kulit akar diambil dari akar tumbuhan kenangan yang telah dipisahkan antara kulit dan kayu akarnya. Kulit akar lalu dibersihkan dan dipotong kecil-kecil. Sampel kulit akar yang telah dipotong kemudian dikeringkan dengan tidak di bawah sinar matahari langsung. Kulit akar yang telah kering kemudian digiling menjadi serbuk halus untuk diekstraksi dengan pelarut.

## **2. Ekstraksi**

### **a. Ekstraksi dengan *n*-heksana**

Sebanyak 3 kg kulit akar tanaman kenangan yang telah dihaluskan, dimaserasi dengan pelarut yang bersifat non polar untuk dapat menarik senyawa organik yang bersifat non polar juga, dipilih *n*-heksana dan dimaserasi selama 3x24 jam. Setelah itu ekstrak disaring dan kemudian dipekatkan dengan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 50-60°C dengan laju putaran 90 rpm hingga didapatkan ekstrak pekat.

### **b. Ekstraksi dengan metanol : etil asetat (1:1)**

Residu dari maserasi *n*-heksana kemudian dimaserasi kembali dengan pelarut yang bersifat semipolar untuk mendapatkan senyawa flavonoid target yang bersifat semipolar, digunakan gabungan pelarut metanol : etil asetat (1:1) selama 3x24 jam. Ekstrak metanol : etil asetat (1:1) yang diperoleh disaring, kemudian dipekatkan dengan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 20-40°C dengan laju putaran 70-90 rpm.

## **3. Kromatografi**

### **a. 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 dengan menggunakan alat vakum, kolom dikemas kering.

Setelah itu, eluen dengan tingkat kepolaran rendah, yaitu *n*-heksana terlebih dahulu dituangkan ke permukaan silika gel, kemudian divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum dan kolom siap digunakan. Ekstrak kering yang telah dilarutkan dengan aseton dan diimpregnasikan kepada silika gel, kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam dan kemudian dihisap dengan alat vakum secara perlahan-lahan.

Kolom yang telah siap kemudian dielusi secara bertahap dengan etil asetat/*n*-heksana 10% yang selanjutnya tingkat kepolaran eluen dinaikkan sampai dengan etil asetat 100%. Setiap kali penambahan eluen (elusi), kolom dihisap sampai kering. Fraksi-fraksi yang terbentuk kemudian dikumpulkan berdasarkan pola fraksinasinya. Proses pemurnian sampel dengan teknik KCV terhadap fraksi target dilakukan berulang kali dengan perlakuan yang sama seperti tahapan KCV awal.

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

Untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar maka dilakukan uji dengan KLT terlebih dahulu. Uji ini 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. Hasil kromatogram tersebut

kemudian disemprot dengan menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda hasil KLT.

Noda yang terbentuk dihitung dan dicatat Rf (*Retention factor*) masing-masing fraksinya. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan Rf yang sama pada kromatogram digabungkan menjadi satu dan dipekatkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang selanjutnya akan difraksinasi kembali.

### **c. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)**

Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dilakukan untuk fraksinasi sampel selanjutnya. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Sebagai fasa diamnya, digunakan silika gel di dalam kolom dalam bentuk *slurry*, diatur hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya sampel yang telah dijerapkan pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Agar proses elusi tidak terganggu, pada saat sampel dimasukkan, diusahakan agar kolom tidak kering/kehabisan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat.

## **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, plat KLT disemprot

menggunakan larutan serium sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut.

Sebelum dilakukan pengukuran uji titik leleh, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor yang ada, karena dengan adanya pengotor akan menaikkan atau menurunkan temperatur titik leleh padatan. Untuk padatan yang berukuran besar, padatan terlebih dahulu digerus hingga berbentuk serbuk. Kemudian padatan 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. Titik leleh senyawa merupakan suhu pada saat padatan pertama kali meleleh.

## **5. Modifikasi Senyawa Hasil Isolasi**

Modifikasi senyawa hasil isolasi dengan menggunakan pereaksi anhidrida asetat dan katalis piridin. Sebanyak 9,5 mg senyawa hasil isolasi dicampur dengan 0,1 ml katalis piridin, kemudian ditambahkan 0,3 ml pereaksi anhidrida asetat dan dimasukkan ke dalam labu reaksi yang tertutup. Diamkan campuran tersebut hingga 3 x 24 jam. Setelah itu campuran ini ditambahkan akuades hingga campuran bening berubah menjadi keruh dan membentuk gumpalan-gumpalan. Kemudian campuran yang keruh ini disaring dan divakum sehingga diperoleh endapan berupa padatan berwarna putih (Hano *et al.*, 1990).

Pemurnian padatan hasil modifikasi dilakukan dengan rekristalisasi.

Rekristalisasi dilakukan dengan melarutkan padatan hasil isolasi pada

pelarut eter hingga semua padatan melarut. Setelah padatan melarut seluruhnya, larutan ini kemudian ditetesi dengan *n*-heksana sedikit demi sedikit hingga larutan berubah menjadi keruh. Setelah itu, larutan keruh tadi disaring dengan menggunakan corong buchner hingga diperoleh padatan kering berwarna putih yang telah murni.

## **6. Spektrofotometri**

### **a. Spektrofotometri Ultraviolet-tampak (UV-Vis)**

Sampel berupa padatan murni sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol AR (= *analytical reagent*, pereaksi analisis), lalu diencerkan sampai diperoleh tingkat serapan (daya serap) puncak utama di sekitar 0,6. Selanjutnya, larutan persediaan tersebut digunakan untuk semua pengukuran berikutnya. Sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Nilai serapan maksimum untuk senyawa target turunan flavon terdiri atas dua maksima pada rentang 250 – 280 nm (pita II) dan 310 – 350 nm (pita I) (Markham, 1988).

### **b. Spektrofotometri Inframerah (IR)**

Sampel padatan hasil modifikasi yang telah murni selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah. Setelah itu, padatan yang telah murni dibebaskan dari air kemudian digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Gerasan padatan murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton per satuan luas. Kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya (Sudjadi, 1983).

### c. Spektrometri 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 CS<sub>2</sub>, CCl<sub>4</sub>. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang berdeuterium, yaitu CDCl<sub>3</sub> (Supratman, 2010).

## 7. Pengujian Bioaktivitas Antibakteri

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). Sebanyak 4,2 gram NA 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 dua konsentrasi: 0,5 mg/disk dan 1,0 mg/disk. Padatan sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150 µL metanol, kemudian diambil 50 µL; 40 µL + 10 µL akuades; dan 30 µL + 20 µL akuades untuk ditotolkan ke dalam *paper disc*.

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 sebanyak 1 ose. Kemudian *paper disc* 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

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

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa murni flavonoid dari fraksi semipolar kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) sebanyak 1,6343 gram dan memiliki sifat fisik berupa padatan berwarna kuning dengan titik leleh 250 – 252°C.
2. Berdasarkan analisis data fisik dan spektroskopi, senyawa flavonoid hasil isolasi merupakan senyawa artonin E.
3. Modifikasi senyawa artonin E dengan menggunakan anhidrida asetat dan katalis piridina menghasilkan senyawa artonin E tetraasetat yang memiliki sifat fisik berupa padatan berwarna putih dengan titik leleh 190 – 192 °C.
4. Senyawa hasil isolasi dan hasil modifikasi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dengan kategori sedang, meskipun senyawa hasil modifikasi menunjukkan aktivitas yang lebih rendah daripada senyawa hasil isolasi.

## B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka didapatkan saran untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Penelitian lebih lanjut terhadap fraksi lain dari sampel kulit akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) perlu dilakukan sehingga memperoleh informasi lebih tentang jenis senyawa flavonoid lainnya yang terkandung di dalamnya.
2. Melakukan modifikasi senyawa artonin E dengan pereaksi lainnya dan kemudian melakukan analisis IR, NMR, dan HMBC untuk memastikan bahwa modifikasi senyawa telah berhasil dan mampu menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik daripada senyawa artonin E.
3. Melakukan uji antibakteri dengan minimal tiga kali pengulangan agar dapat dianalisis secara statistik keaktifan senyawa yang diuji.
4. Melakukan uji bioaktivitas lain seperti antikanker dan antimalaria dari 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*. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta. Halaman 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**, 878 – 879.
- Anonim. *Artocarpus rigidus*. 16 Maret 2013. [https://species.wikimedia.org/wiki/Artocarpus\\_rigidus](https://species.wikimedia.org/wiki/Artocarpus_rigidus). Diakses pada 15 Februari 2016.
- Anonim. *Artocarpus*. 23 Januari 2017. <https://id.wikipedia.org/wiki/Artocarpus>. Diakses pada 10 Agustus 2017.
- Anonim. *Bacillus subtilis*. 8 Agustus 2017. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/397521>. Diakses pada 10 Agustus 2017.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Penerbit UI Press. Jakarta. Halaman 358 – 360.
- Betina, V. 1973. Bioautography In Paper and Thin-Layer Chromatography and Its Scope In The Antibiotic Field. *Journal of Chromatography*; **78**, 41 – 51.
- Blair, J.M.A., M.A. Webber, A.J. Baylay, D.O. Ogbolu and L.J.V. Piddock. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*. 10 halaman.
- Bandyukova, V.A. and V.D. Ponomarev. 1970. Catalytic Acetilation of Flavonoids. *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*; **6** (4), 418 – 421.
- Banwell, C.N. and E.M. McCash. 1994. *Fundamental of Molecular Spectroscopy*. Mc Graw-Hill Book Company. London. Halaman 1204 – 1206.
- Beers, M.H. 2004. *The Merck Manual of Medical Information: Home Edition*. Simon & Schuster, Inc. New York. Halaman 514 – 520.

- BPOM. 2009. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011 Tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dan Kimia Dalam Makanan*. Jakarta. Halaman 3.
- Celanese. 2011. Product Description and Handling Guide Acetic Anhydride. *PDHG – AC2O*: 1 – 8.
- Chung, M.I., H.H. Ko, M.H. Yen, C.N. Lin, S.Z. Yang, L.T. Tsao and J.P. Wang. 2000. Artocarpol A, a Novel Constituent with Potent Anti-inflammatory Effect, Isolated from *Artocarpus rigida*. *Helvetica Chimica Acta*; **83** (6), 1200 – 1204.
- Constantin, C.A., R. Mikkola, M. Andersson, V. Teplova, I. Suominen, T. Johansson, and M.S. Salonen. 2009. *Bacillus subtilis* and *B. mojavensis* Strains Connected to Food Poisoning Produce the Heat Stable Toxin Amylosin. *Journal of Applied Microbiology*; **106**, 1976 – 1985.
- Davis W.W. and T.R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Appl Microbiol*; **22** (4), 659 – 665.
- Dingermann, T., D. Steinhilber, and G. Folkers. 2004. *Molecular Biology in Medicinal Chemistry*. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Halaman 3 – 5.
- Ersam, T. 2001. *Senyawa Kimia Makromolekul Beberapa Tumbuhan Artocarpus Hutan Tropika Sumatera Barat*. Tesis Magister Kimia ITB. JBPTITBPP. 1 file.
- Ersam, T. 2004. *Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami*. Prosiding Seminar Nasional Kimia VI, ITS. Surabaya. Halaman 12.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden. 1999. *Kimia Organik Jilid 1*. Alih Bahasa Hadyana Pujaatmaka. Erlangga. Jakarta.
- Graumann, P. 2007. *Bacillus : Cellular and Molecular Biology*. Caister Academic Press. Norfolk. Halaman 143.
- Gray, J.D., 2009. *Deadly Mist: Upaya Amerika Merusak Kesehatan Manusia*. Alih bahasa Tim GIP. Sinergi Publishing. Jakarta. Halaman 57.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbitt, and A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 266.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Diterjemahkan oleh Julius E.S. Binarupa Aksara. Jakarta. Halaman 261 – 265.

- Hadi, U. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam: "Resistensi Antibiotik" (Edisi 5 Jilid III)*. Interna Publishing. Jakarta. Halaman 2901 – 2902.
- Hadiyanto, U. 2002. *Pengaruh Trimetilamina Terhadap Kecepatan Asetilasi Kuersetin Dengan Pereaksi Anhidrida Asetat*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- 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**, 668 – 673.
- Hakim, E.H., E.L. Ghisalberty, 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**, 161 – 184.
- Hakim, A. 2011. Keanekaragaman Metabolit sekunder Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Bioteknologi*; **8** (2), 86 – 98.
- Hano, Y., Y. Yamagami, M. Kobayashi, R. Isohata, and T. Nomura. 1990. Artonin E and F, Two New Prenylflavones From The Bark of *Artocarpus communis* Forst. *Heterocycles*; **31** (5), 877 – 882.
- Hano, Y., R. Inami, and T. Nomura. 1990. Components of The Bark of *Artocarpus rigida* Bl. 1. Structures of Two New Isoprenylated Flavones, Artonin G and H. *Heterocycles*; **31** (12), 2173 – 2179.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. ITB Bandung. Halaman 35 – 50.
- Hart, H., E.C. Leslie, and J.H. David. 2003. *Kimia Organik Suatu Kuliah Singkat*. Terjemahan Suminar Setiati Achmadi. Erlangga. Jakarta. Halaman 141.
- Herbert, R.B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang. Halaman 103-123.
- Hernawan. 2008. *Isolasi Senyawa Flavonoid dari kulit Batang Artocarpus rigida*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hostettman, K., M. Hostettman, and A. Manson. 1995. *Cara kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 27 – 34.
- Jawetz, E. and M. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Ke-3*. Alih Bahasa: Huriwati Hartanto dkk. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, and Adelberg's. 2013. *Medical Microbiology Twenty-Sixth Edition*. The McGraw-Hill Companies. New York.

- Johnson, L.E. and R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 365.
- Kementerian Kesehatan RI. 2015. *Profil Kesehatan Indonesia 2015*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Halaman 179 – 181.
- Ko, H.H., S.Z. Yang, and C.N. Lin. 2001. Artocarpol F, a phenolic compound with a novel skeleton, isolated from *Artocarpus rigida*. *Tetrahedron Letters*; **42**, 5269 – 5270.
- Lu, Y.H., C.N. Lin, H.H. Ko, S.Z. Yang, L.T. Tsao, and J.P. Wang. 2003. Novel Anti-Inflammatory Constituents of *Artocarpus rigida*. *Helvetica Chimica Acta*; **86** (7), 2566 – 2572.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoid*. Spinger-Verlag, New York. Halaman 3 – 56, 165 – 171.
- Madigan, M. T. and J. Martinko. 2006. *Brock Biology of Microorganisms. Eleventh Edition*. By Pearson Education, Inc. USA. Halaman 641 – 645.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 117.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Alih bahasa Koensomardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Mursito, B. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Malaria*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- 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.
- Nester, E. 2012. *Microbiology: A Human Perspective 6th Edition*. McGraw-Hill. New York.
- Newman, D.J. and G.M. Cragg, 2012. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod*; **75**, 311 – 335.
- Nursal. 1997. Pengaruh Ekstrak Akar *Acanthusilicifolius* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrilo parahaemolyticus*. *Jurnal Biosains*; **2** (1), 2 – 37.
- Noerdin, D. 1985. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 54 – 55.

- 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), 2173 – 2179.
- Nurachman, Z. 2002. *Artoindonesianin Untuk Antitumor*. PT. Kompas Cyber Media. Jakarta.
- Parenti, P., A. Pizzigoni, G. Hanozet, E.H. Hakim, L. Makmur, S.A. Achmad, and B. Giordana. 1998. A New Prenylated Flavone from *Artocarpus champeden* Inhibits the K<sup>+</sup> - Dependent Amino Acid Transport in *Bombyx mori* Midgut. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; **244** (2), 445 – 448.
- Permenkes RI. 2011. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Kemenkes RI. 64 halaman.
- Pratiwi, R. 2004. *Aspek Mikrobiologi Produk Makanan Kaleng*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 11 halaman.
- Ratnasari. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Diklorometan dan Etil Asetat Daun Mimba (Azadiracta indica A. Juss) Terhadap Bakteri Staphilococcus aureus dan Eschericia coli*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Microbiology Third Edition*. CRC Press. Washington DC. Halaman 285.
- Reinmaier, E. 2002. *Structure Elucidation by NMR In Organic Chemistry. A Practical Guide. Third Revised Edition*. John Wiley & Sons Ltd. England.
- Rizqina, N. 2014. *Uji Efektivitas Antibakteri Infusum Daun Jambu Biji (Psidium guajava Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Karies Streptococcus Mutans Secara In Vitro*. Universitas Andalas. Padang. Halaman 37.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 191 – 193.
- Rukmana, R. 1997. *Budidaya Nangka*. Penerbit Kanisius. Jakarta. Halaman 15 – 27.
- Saifuddin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder; Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta. Halaman 5.
- Samiullah and A. Bano. 2011. In Vitro Inhibition Potential of Four Chenopod Halophytes Against Microbial Growth. *Pak. J. Bot*; **43**, 123 – 127.

- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. Halaman 35 – 36.
- Settle, F.A. 1997. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. Halaman 25 – 30.
- Siswandono dan Sukardjo. 2000. *Kimia Medisinal 2*. Airlangga University Press. Surabaya. Halaman 99 – 151.
- Spicer, W.J. 2008. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2nd Edition*. Churchill Livingstone Elsevier. London.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Halaman 3 – 17.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Halaman 283.
- Suhartati, T., Yandri., J.F. Suwandi, and S. Hadi. 2010. In vitro and invivo antiplasmodial activity of oxyresveratrol an artonine isolated from two artocarpus plant in Indonesia. *Oriental Journal of Chemistry*; **26** (3), 825 – 830.
- Suhartati, T., Yandri, and S. Hadi. 2008. The Bioactivity Test of Artonin E from the Bark of *Artocarpus rigida* Blume. *European Journal of Scientific Research*; **23** (2), 330 – 337.
- Sukardiman, I.G.P. Santa, dan Rahmadany. 1999. Efek Antikanker Isolat Flavonoid Dari Herba Benalu Mangga (*Dendrophloe petandra*). *J. Cer. Dun. Ked*, 122.
- Sundaram, S., P. Dwivedi, and S. Purwar. 2011. In vitro Evaluation of Antibacterial Activities of Crude Extracts of *Withania somnifera* (Ashwagandha) to Bacterial Pathogens. *Asian Journal of Biotechnology*; **3** (2), 194 – 199.
- Supratman, U., 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik (Metode Spektroskopi untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik)*. Widya Pajajaran. Bandung. Halaman 602 – 978.
- Thomas, G. 2003. *Fundamentals of Medicinal Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, West Sussex, England. Halaman 57 – 61.
- Tukiran. 1997. *Tiga Senyawa Flavon Terisoprenilasi dari Kulit Batang Artocarpus Teismanny* Miq. (*Moraceae*). Tesis Magister Kimia ITB. Bandung.

- Utami, P. dan D.E. Puspaningtyas. 2013. *The Miracle of Herbs*. Agromedia. Jakarta. Halaman 83.
- Vincent, G. 1987. *Farmakologi dan Terapi Edisi Ke-3*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. Jakarta. Halaman 514 – 520.
- Volk, W.A dan M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Jilid I*. Erlangga. Jakarta.
- Widoyono. 2008. *Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan dan Pemberantasannya*. Erlangga. Jakarta.
- Willaman, J.J. 1955. Some Biological Effects of the Flavonoids. *Journal of the American Pharmaceutical Association*; **XLIV** (7), 404 – 408.
- Yassin, N.A. and A.M. Ahmad. 2012. Incidence and Resistotyping Profiles of *Bacillus subtilis* Isolated from Azadi Teaching Hospital in Duhok City, Iraq. *Mat Soc Med*; **24** (3), 194 – 197.
- Zerega, N.J.C., D. Ragone, and T.J. Motley. 2005. Systematics and Species Limits of Breadfruit (*Artocarpus*, Moraceae). *Systematic Botany*; **30** (3), 603 – 615.