

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN PUDAU
(*Artocarpus kemandu* Miq.)**

(Skripsi)

Oleh

NURUL FATIMAH



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND BIOACTIVITY ANTIBACTERIAL ASSAY OF FLAVONOID COMPOUND FROM WOOD ROOT OF PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

By

Nurul Fatimah

Pudau is one of Moraceae family, from genus *Artocarpus*, with species *Artocarpus kemando* Miq. Based on previous studies *Artocarpus* genus showed bioactivity against antimicrobial, anticancer, antifungal, antiplatelet, antiinflammatory, and cytotoxic. This study aims are to isolate and characterize the flavonoid compound from a wood root of Pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) obtained from Karang Anyar, Klaten, Penengahan, South Lampung. The steps of this study performed consisted of which sampel preparation, extraction using methanol maceration method, and purification method using liquid vacuum chromatography and column gravitation chromatography. Elucidation structure molecule and purity of the isolation result compound were determined based on data of physical properties and spectroscopy (UV-Vis and FT IR). The isolation result compound produced is a yellowish powder with melting point of 122-125°C. From the spectroscopy analysis data showed that the compound was obtained from the isolation was one of flavonoid of chalcone from wood root pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) with the amount of 15 mg. Bioactivity antibacterial assay to *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* performed with various concentrations of 0.3; 0.4; 0.5 mg/disk showed strong inhibition zone.

Keywords : *Artocarpus kemando* Miq., flavonoid, chalcone, antibacterial, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*.

ABSTRAK

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemandu* Miq.)

Oleh

Nurul Fatimah

Tumbuhan pudau termasuk dalam famili Moraceae, genus *Artocarpus* dan spesies *Artocarpus kemandu* Miq. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, genus *Artocarpus* menunjukkan bioaktivitas terhadap antimikroba, antikanker, antijamur, antiplatelet, antiinflamasi, dan sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa flavonoid yang terkandung dalam kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemandu* Miq.) yang diperoleh dari Karang Anyar, Klaten, Penengahan, Lampung Selatan. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi pengambilan dan persiapan sampel, ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol, serta proses pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom gravitasi. Penentuan struktur molekul dan kemurnian senyawa hasil isolasi ditentukan berdasarkan data sifat fisika dan spektroskopi (UV-Vis dan FT-IR). Senyawa hasil isolasi yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning dengan titik leleh 122-125°C. Dari hasil analisis spektroskopi menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil diisolasi adalah suatu senyawa flavonoid jenis calkon sebanyak 15 mg dari kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemandu* Miq.). Uji bioaktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* yang dilakukan pada konsentrasi 0,3; 0,4; 0,5 mg/disk semuanya menunjukkan daya penghambatan pada kategori kuat.

Kata Kunci: *Artocarpus kemandu* Miq., flavonoid, calkon, antibakteri, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*.

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI
SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN PUDAU
(*Artocarpus kemandu* Miq.)**

Oleh

Nurul Fatimah

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

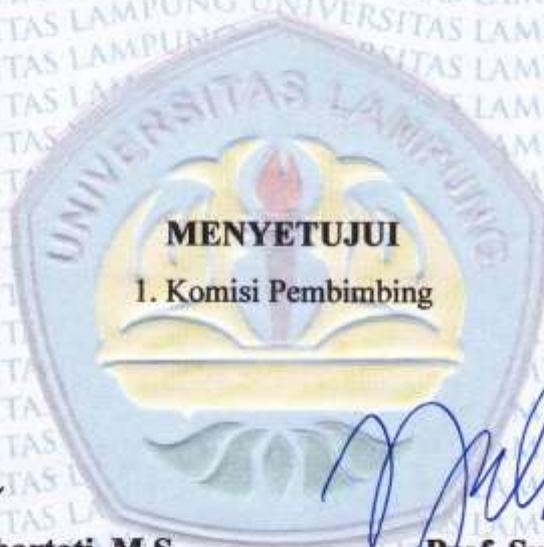
Judul Skripsi : **ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemandu* Miq.)**

Nama Mahasiswa : **Nurul Fatimah**

No. Pokok Mahasiswa : 1317011055

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Tati Suhartati

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

Suharso

Prof. Suharso, Ph.D.
NIP 19690530 199512 1 001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

Sriptto

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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Tati Suhartati

Sekretaris : Prof. Suharso, Ph.D.

Suharso

**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Buhani, M.Si.**

Buhani

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Warsito

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 November 2017

RIWAYAT HIDUP



Nurul Fatimah dilahirkan di Sidokayo, pada tanggal 26

Desember 1995 sebagai anak pertama dari dua

bersaudara, buah hati dari pasangan bapak Muskam

(Alm) dan ibu Sunarsih. Penulis menyelesaikan

pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri 2 Sidokayo

Lampung Utara tahun 2001-2007, Sekolah Menengah

Pertama di SMP Negeri 2 Abung Tinggi Lampung Utara tahun 2007-2010 dan

Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Bukit Kemuning tahun 2010-2013. Pada tahun

2013 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas

Lampung melalui jalur SBMPTN tertulis.

Penulis pernah mendapatkan beasiswa BBP-PPA selama dua periode yaitu pada

tahun 2014/2015 dan 2015/2016, serta beasiswa Mahasiswa Juara LAZIZ Al

Wasi'i 2016. Penulis terdaftar sebagai Kader Muda Himaki (KAMI) periode

2013-2014, Anggota Muda ROIS (AMAR) periode 2013-2014 anggota Biro

Usaha Mandiri (BUM) Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) tahun 2014-2015,

anggota Biro Keputrian Rohani Islam (ROIS), dan Sekretaris Biro Kesekretariatan

dan Rumah Tangga (KRT) ROIS FMIPA Universitas Lampung periode 2015-

2016. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata

kuliah Kimia Dasar Peternakan 2015, Kimia Dasar Fisika 2016, Kimia Dasar Agribisnis 2017, Kimia Organik Biologi 2016, dan Kimia Organik I 2017 .

MOTTO

Maka terhadap nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu ragukan ?

(Q.S. An-Najm: 55)

Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar

(Q.S. Al-Baqoroh 153)

Ingatlah, hanya dengan mengingat Allah lah hati menjadi tenteram

(Q.S. Ar Ra'du 28)

Proses hidupku tidak berhenti sampai di sini karena aku akan terus belajar untuk bisa berkembang tanpa batas dengan kerendahan hati untuk tetap membumi dan menginjak tanah tanpa dagu tertanggak karena aku tau di atas langit masih ada langit.

-Dean & NF-

The purpose to live a happy life is to always be grateful and don't forget the magic word : ikhlas, ikhlas, ikhlas.

-Gita Savitri Devi-



PERSEMBAHAN

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

Ku persembahkan karya kecilku ini kepada:

Ayah dan Ibu tercinta (Bapak Muskam (Alm) & Ibu Sunarsih)

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

Adikku tersayang Misbakhul Munir yang selalu membuatku semangat

Rasa hormatku kepada

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

Guru, dosen, dan ibu yang telah banyak mengajariku arti kejujuran, kesabaran, ketekunan, ketelitian, berbagi, kerjasama dan rasa bersyukur

Calon imamku yang telah tertulis di Lauhul mahfudz

*Teman-teman dan sahabatku
Yang selalu berbagi kebahagiaan*

Serta

Almamaterku tercinta

SANWACANA

Alhamdulillahirrobbil'alamiin. Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala petunjuk-Nya yang telah menganugerahkan rahmat, sehat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul:

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIKANKER SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

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

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

1. Ayah dan Ibu tercinta, atas seluruh doa, kasih sayang, dukungan dan motivasi kepada penulis serta semua pengorbanan yang sudah diberikan kepada penulis, semoga Allah membalas-Nya, *amiin yarobbal alamin*.
2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku pembimbing I yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, keikhlasan, memberikan arahan, motivasi, dan membantu penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah membalas kebaikan beliau dengan kebaikan serta keberkahan yang tak terhingga.
3. Bapak Prof. Suharso, Ph.D. selaku pembimbing II sekaligus pembimbing akademik yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran, keikhlasan sehingga skripsi penulis dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.

4. Ibu Prof. Dr. Buhani, M.Si. selaku pembahas dalam penelitian yang telah memberikan nasihat, bimbingan dengan kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.
5. Ibu Noviany, Ph.D. selaku Kepala Laboratorium Kimia Organik atas izinnya untuk menyelesaikan penelitian.
6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku ketua jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak Ibu dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu dan bimbingan yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan. Semoga Allah SWT melimpahkan keberkahan yang tak terhingga kepada Bapak dan Ibu.
8. Bapak Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Adikku tercinta Misbakhul Munir dengan keceriaannya yang selalu membuat penulis semangat untuk menyelesaikan perkuliahan dan penelitian sesegera mungkin. Semoga Allah SWT menjadikannya anak yang sholeh dan hafidz.
Aamiin Ya Robb.
10. *Partner* penelitianku dengan beberapa julukan Badiatul Niqmah (Queen/Arjuna), Vicka Andini (Jomblo/Bima), Arni Nadya Ardelita (Mbak Ani/Yudhistira), dan Inggit Borisha (Miss/Nakula) yang senantiasa memberikan motivasi kepada penulis (Bigboss/Sadewa) dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan keberkahan-Nya kepada kita semua.

11. Kepada rekan-rekan peneliti di Laboratorium Kimia Organik (Badiatul Niqmah, Vicka Andini, Arni N Ardelita, Inggit Borisha, Nessia Kurnia, Dona Mailani P, Khalimatus Sa'diah, Nita Yulian, Erva Alhusna, Aulia Pertiwi T, Siti Mudmainah, Shela Anggun S, Wahyuni Dewi L, dan Anggun F.), Kakak-Kakak (Mb Ajeng Wulandari, Mb Ismi Khomsiah, Mb Susy Isnaini H, Kak Hernawan, Kak Rio, Mb Ratu, Kak Junaidi Permana, S.Si., Mb Mirfat Salim Abdat, S.Si., Mb Putri Ramadhona, Kak Arif Nur Hidayat, Mb Tazkiya Nurul, Mb Yepi Triapriani, Mb Tiara Dewi Astuti, Mb Ayu Setia Ningrum, Kak Radius Ully Artha, dan Kak Ridho Nahrowi, S.Si.,) dan Adik-adik (Laili, Herda, Gabriel, Elizabeth, Astriva, Kartika, Ufi, Kiki, Ela, Khumil, Riza, Nella dkk), semoga Allah memudahkan segala urusan.
12. Rekan-rekan peneliti di Laboratorium Biokimia (Mb Putri Amalia, M.Si., Ezra Rheinsky T, Sinta Dewi O, Fathaniah S, Maya, Khomsatun, dkk) yang telah membantu dalam proses penyelesaian penelitian.
13. Teman-teman tercinta kimia 2013: Arief, Aulia, Arni, Anton, Anita, Anggi, Anggun, Andreas, Badiatul, Paul, Della, Dona, Dian, Dewi R, Citra, Eka S, Ezra, Esti, Erva, Eka M, Nia, Fatimah, Febri, Celli, Fika, Dicky, Fera, Fentri, Gesa, Hernora, Ismi, Inggit, Indah, Kartika, Khomsatun, Khalimah, Kurnia, Korina, Nissa, Linda, Lulu, Megafit, Mawar, Mia, Monica, Melita, Maya, Bara, Murnita, Mita, Melia, Nessia, Dilla, Nova, Nurma, Nur Hastriana, Nita, Netty, Rezky, Ryan W, Ryan F, Riska, Riski, Radho, Ridho, Oci, Sinta, Nabilla, Shela, Siti, Shelta, Tya G, Tika, Tyas, Uut, Vicka, Vyna, Verdi, Widya, Wahyuni, Yuni, Yuvica, Yunitri, Yolanda, Yudha, Yulia, dan Yuanita. Terima kasih untuk kebersamaan dan keceriaan selama menjalankan

perkuliahan, tetap semangat dan jangan menyerah, perjuangan masih panjang, sukses selalu untuk kita semua.

14. Mbak Wid, Mbak Liza, Mbak Ani, Pak Gani, Mas Nomo, Pak Jon, Uni Kidas terima kasih atas bantuan yang diberikan kepada penulis.
15. Member-member “Girls Generation (Best Enemy)”: Badiatul Niqmah (Emon *mangoh*), Della Mita Andini (Bubun lemah), Ezra Rheinsky T (Ketum buncit *ter-fashionable*), Fathaniah Sejati (Nia *nyolot*), Kartika Agus Kusuma (Oneng yang perkasa), Vicka Andini (Mbak Jahat yang Jomblo), dan Sri Wahyuni (Mbak Sri si Putri Solo). *Jazakumulloh Khoir* atas kebersamaan, kesetiaan, keceriaan kalian, makan gila, selalu memberikan canda tawa dan kegilaan terutama saat *hangout* yang dapat menghilangkan kepenatan dari rutinitas kuliah. Semoga kita selalu diberi kemudahan dalam segala urusan.
16. Keluarga 3 kosan, Asrama Sultan (Teteh kosan, Finni (Uwo), Ebok Dian, Nurul, Ayu, dokter Indah, mbak Fitri Mop, Mbak Fitri bubun, Asih, dan Yola), Kosan no name (Mbak Rani, Mbak Dwi, Mbak Silfi, Mbak Desi, Mbak Ambar, Shela, Wuni, dan Asri), dan Rumah kontrakan kuning (Sinta, Mbak Ismi, Irna, Ayu, Nuris, Mbak Hanum, Mami Shelta, dan Urfina) *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiro* terima kasih atas segala sesuatu yang telah diberikan kepada penulis.
17. KANCE tercinta yang selalu ku rindukan : Bi Dian Novita, Cak ia (Elia Apriliani, Ulee (Fitrian Yuliana) dan bebey Rene (Reni Renata Samosir) Semoga selalu diberi kesehatan dan dimudahkan segala urusannya.
18. Teman-teman KKN desa Joharan Lampung Tengah (Tya Gita (Toge), Fitria W (emak), Kak Fakh AR (Bagong), Ardyatama (Bejo), Ahmad Syaifudin

(Icai Petruk), dan Agung Prasetyo (Koko Jawa), semoga dimudahkan dalam segala urusan.

19. Para sahabat pimpinan ROIS periode 2015/2016 : Ukhti-ukhti tercinta (Putri, Sinta, Uci, Uut, Eria, Dini, Firyal, Fa'ni, Mega, Annisa, Citra, Eka, dan Dinati) serta ikhwah fiillah akhina Hamid, Efrizal, Suyitno, Pranoto, Agum, Aziz, Anis, Ansori, Aiman, dan Hafid. *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiron katsiron* atas segala ilmunya. Semoga Allah memudahkan segala urusan kalian.
20. Teman-teman SMP dan SD tercinta : Dian, Yesi, Ami Erlin, Tita, Rini, Kiki, Lela, Putri, Yasin, Mas Pudín, Burhan, Andri, Ubet, Tulis, Suhenda, Rusdi, Feri, Khotib, Irul, Akim (Alm), Yuyun, Pur, Tomi, Dasir, Ono, Rendi, dan lainnya yang tak bisa ku sebutkan semua. *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiron katsiron* atas segala doa dan apapun yang telah diberikan kepada penulis. Semoga Allah memudahkan segala urusan kalian.
21. Teman-teman D'LASPATU yang saya banggakan. Semoga kita semua menjadi orang yang bermanfaat dan sukses di dunia dan akhirat.
22. Seluruh Bapak/Ibu guru dari SD hingga SMA, *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiron katsiron* atas segala ilmu dan doa yang telah diberikan. Semoga Allah selalu memberi kesehatan dan memudahkan segala urusan Bapak/Ibu.
23. Seluruh Ustadz Annahl : Ust. Isnen, Ust. Bahaudin, Ust. Didi, Ust. Suhendar, Ust. Wahib, Ust. Samsuri, Ust. Imam, Ust. Sunar, Ust. Wawi, dan Ust. Sutik. *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiron katsiron* atas segala ilmu dan doa

yang telah diberikan. Semoga Allah selalu memberi kesehatan dan memudahkan segala urusan Ustadz.

24. Keluarga besarku : mboe, mbah urip, bude Rum, pak de Marno, bik sul, lek Sah, mbak Sih, lek Bari, dek Iyes, mas Pudrin, mas Hari, bude Minar, pakde Suri, bude maryam, mbak Lar, mbak Pi, bude Sri, lek Tun, pakde Sanio, bude nap, pak poh, Intan, dan mbak Linda. *Alhamdulillah Jaza Kumullahu Khoiron katsiron* atas segala doa dan dukungan yang telah diberikan. Semoga Allah selalu memberi kesehatan dan memudahkan segala urusan.
25. Seluruh keluarga besar Jurusan Kimia FMIPA Angkatan 2010-2015.
26. Almamater tercinta Universitas Lampung.
27. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

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

Bandar Lampung, November 2017

Penulis

Nurul Fatimah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian	5
C. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Moraceae.....	6
B. Artocarpus	7
C. Tumbuhan Puda (<i>Artocarpus kemando</i> Miq.)	9
D. Flavonoid	11
E. Ekstraksi Senyawa Flavonoid	18
F. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi.....	19
1. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	20
2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
3. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG).....	21
G. Identifikasi Spektroskopi	23
1. Spektroskopi Inframerah (FT-IR)	23
2. Spektroskopi UV-Vis	25
H. Bakteri.....	26
III. METODE PENELITIAN	30
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	30

B. Alat dan Bahan.....	30
1. Alat-alat yang digunakan.....	30
2. Bahan-bahan yang digunakan.....	31
C. Prosedur Penelitian	31
1. Pengumpulan dan persiapan sampel.....	31
2. Ekstraksi sampel dengan metode maserasi.....	32
3. Kromatografi	32
a. Kromatografi cair vakum (KCV)	32
b. Kromatografi lapis tipis (KLT)	34
c. Kromatografi kolom gravitasi (KKG).....	34
4. Analisis kemurnian	35
5. Analisis struktur.....	36
a. Spektrofotometer UV-Vis.....	36
b. Spektrofotometer Inframerah	37
6. Pengujian bioaktivitas antibakteri	37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
A. Isolasi Senyawa Flavonoid.....	39
B. Penentuan Titik Leleh.....	60
C. Analisis Spektrofotometri	61
1. Analisis Spektroskopi UV-Vis	61
2. Analisis Spektroskopi Inframerah.....	64
D. Uji Bioaktivitas Antibakteri.....	67
V. SIMPULAN DAN SARAN	70
A. Simpulan.....	70
B. Saran	71
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN.....	82
1. Diagram alir penelitian.....	83
2. Kromatogram hasil KLT fraksi KCV tahap I-VIII	87
3. Perhitungan absorptivitas molar.....	89
4. Pembuatan larutan uji aktivitas antibakteri	91
5. Hasil uji bioaktivitas antibakteri terhadap <i>B. subtilis</i> dan <i>E. coli</i>	92
6. Hasil identifikasi/determinasi tumbuhan	95

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Berbagai senyawa yang telah diisolasi dari beberapa spesies <i>Artocarpus</i>	8
2. Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak	19
3. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen dan elusi senyawa pada kromatografi	22
4. Absorpsi (bilangan gelombang) dari beberapa gugus fungsi	24
5. Pita absorpsi UV- <i>Vis</i> dari flavonoid	26
6. Penggabungan fraksi utama B hasil KCV tahap I-VIII	41
7. Penggabungan fraksi utama C hasil KCV tahap I-VIII	42
8. Perbandingan data spektrum UV- <i>Vis</i> senyawa calkon (Suhartati, 2001) dan senyawa hasil isolasi kayu akar tumbuhan pudau (<i>Artocarpus kemando</i> Miq.)	64
9. Perbandingan data IR senyawa calkon standar (A) dengan senyawa hasil isolasi (B)	66
10. Ukuran zona hambat dari senyawa hasil isolasi terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	68
11. Ukuran zona hambat dari senyawa hasil isolasi terhadap bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian-bagian tumbuhan <i>A. kemando</i> Miq. (a) Pohon, (b) Akar, dan (c) Daun.....	10
2. Kerangka dasar flavonoid	11
3. Sistem penomoran kerangka dasar flavonoid	12
4. Penggolongan struktur flavonoid	13
5. Struktur kimia dari flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan <i>Artocarpus</i>	14
6. Struktur kimia dari flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari kulit batang <i>Artocarpus kemando</i> Miq.....	16
7. Struktur dasar silika gel.....	23
8. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 6:4.	40
9. Kromatogram KLT fraksi-fraksi hasil KCV tahap I menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 6:4	41
10. Kromatogram KLT fraksi utama A, B, C, D, dan E hasil KCV menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 6:4	42
11. Kromatogram hasil KLT fraksi utama B KKG tahap 1 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 3,5:6,5	43
12. Kromatogram hasil KLT fraksi BIII KKG tahap 2 menggunakan eluen diklorometana/etil asetat/aseton 8:1,5:0,5.	44
13. Kromatogram hasil KLT fraksi K ₂ M KKG tahap 3 menggunakan eluen diklorometana/etil asetat/aseton 8:1,5:0,5	45

14. Kromatogram hasil KLT fraksi K ₃ L KKG tahap 4 menggunakan eluen diklorometana/etil asetat/aseton 9:0,5:0,5	46
15. Kromatogram hasil KLT fraksi K ₄ L ₂ KKG tahap 5 menggunakan eluen diklorometana/etil asetat/aseton 9:0,5:0,5.....	46
16. Kromatogram hasil KLT fraksi K ₅ L ₂ KKG tahap 6 menggunakan eluen <i>n</i> -heksana/aseton 6:4.	47
17. a) Kromatografi kolom menggunakan metode adsorben berlapis b)Kromatogram hasil KLT fraksi K ₆ N ₁ KKG tahap 7 menggunakan eluen <i>n</i> -heksana/aseton 6:4	48
18. Kromatogram hasil KLT fraksi K ₇ N ₃ KKG tahap 8 menggunakan eluen <i>n</i> -heksana/aseton 1:1	49
19. Kromatogram hasil KLT fraksi utama C KKG tahap 1 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1	49
20. Kromatogram hasil KLT fraksi K1C2 KKG tahap 2 menggunakan eluen <i>n</i> -heksana/aseton 6:4	50
21. Kromatogram hasil KLT fraksi K2C2b KKG tahap 3 menggunakan eluen diklorometana/ <i>n</i> -heksana/aseton 4:4:2.....	51
22. Kromatogram hasil KLT fraksi K2C2b4 KKG tahap 4 menggunakan eluen diklorometana/ <i>n</i> -heksana/aseton 4:3:3.	51
23. Kromatogram hasil KLT fraksi K2C2b5 KKG tahap 4 menggunakan eluen diklorometana/ <i>n</i> -heksana/aseton 4:4:2.	52
24. Kromatogram hasil KLT fraksi K2C2 KKG tahap 3 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6.	53
25. Kromatogram hasil KLT fraksi K3C2 KKG tahap 4 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	53
26. a) Kromatogram hasil KLT fraksi K4C2 KKG tahap 4 dan K ₇ N ₃ tahap 8 b) Kromatogram hasil KLT fraksi KH menggunakan eluen diklorometana/ <i>n</i> - heksana/aseton 4:4,5:1,5.....	54
27. Kromatogram hasil KLT fraksi KH ₁ menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1.....	55
28. Kromatogram hasil KLT fraksi NF menggunakan eluen diklorometana/ <i>n</i> -heksana/aseton 4:4:2.	55

29. Padatan berwarna kuning fraksi NF ₉	56
30. Kromatogram KLT serbuk berwarna kuning fraksi NF ₉ menggunakan 3 sistem eluen a) <i>n</i> -heksana/aseton 70%, b) etil asetat/ <i>n</i> -heksana 50%, dan c) etil asetat/diklorometana 40%	57
31. Kromatogram KLT serbuk berwarna kuning fraksi NF ₇ menggunakan 3 sistem eluen a) <i>n</i> -heksana/aseton 70%, b) etil asetat/ <i>n</i> -heksana 50%, dan c) etil asetat/diklorometana 40%.	58
32. Kromatogram KLT serbuk berwarna kuning fraksi NF _{7a} menggunakan 3 sistem eluen a) <i>n</i> -heksana/aseton 70%, b) etil asetat/ <i>n</i> -heksana 50%, dan c) etil asetat/diklorometana 40%.	58
33. Kromatogram KLT serbuk kuning fraksi NF ₉ , NF ₇ , dan NF _{7a} menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1	59
34. Kromatogram KLT serbuk fraksi NF dibandingkan dengan senyawa standar artonin E menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:1.....	60
35. Spektrum UV a) senyawa hasil isolasi dalam MeOH dan b) Senyawa calkon standar dalam MeOH.....	62
36. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam senyawa hasil isolasi dalam a) MeOH dan b) MeOH+ NaOH.....	63
37. Spektrum IR a) senyawa hasil isolasi dan b) senyawa calkon standar	65
38. Perkiraan struktur senyawa calkon hasil isolasi.	67

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi dan penyakit bawaan makanan (*foodborne illness*) terutama diare, merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Di Amerika Serikat, penyakit bawaan makanan oleh bakteri telah menyebabkan kesakitan sekitar 6,5 hingga 33 juta kasus dan 9.000 kasus kematian setiap tahunnya (Almutairi, 2011). Penyakit diare juga merupakan salah satu penyebab utama kematian balita di negara berkembang. Angka kejadian diare pada anak diperkirakan 2,5 milyar per tahun dan lebih dari setengahnya terjadi di Afrika dan Asia Selatan. Secara global setiap tahun penyakit ini menyebabkan kematian balita sebesar 1,6 juta jiwa (Hannif *et al.*, 2011).

Di Indonesia, diare merupakan masalah kesehatan masyarakat karena morbiditas dan mortalitasnya yang masih tinggi. Subdit Diare, Departemen Kesehatan telah melakukan survei morbiditas dari tahun 2000 s/d 2010 yang menunjukkan kecenderungan naiknya insiden. Pada tahun 2000 sebanyak 301/1000 penduduk mengalami penyakit diare, tahun 2003 naik menjadi 374/1000 penduduk, tahun 2006 naik menjadi 423/1000 penduduk, dan tahun 2010 naik hingga 411/1000 penduduk (Kemenkes RI, 2011).

Penyebab penyakit diare terbanyak adalah infeksi karena bakteri *Escherichia coli* atau biasa disingkat *E. coli* (Monem *et al.*, 2014). Bakteri ini merupakan salah satu dari famili *Enterobacteriaceae* yang tumbuh normal di dalam usus besar manusia, namun ada yang bersifat patogen yang dapat menyebabkan diare pada manusia (Bettelheim, 2000). Bakteri *E. coli* adalah salah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif (Arifah, 2010).

Selain diare, bakteri *E. coli* juga dapat menyebabkan penyakit infeksi seperti infeksi saluran kencing. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi, 2008). Penyakit infeksi juga bisa disebabkan oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Jika terdapat pada usus dalam jumlah banyak, bakteri *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan diare yang biasanya ditularkan melalui kontaminasi makanan (Rahmaningsih *et al.*, 2012).

Tanaman obat yang digunakan sebagai antibakteri atau mikroba di dalamnya terkandung berbagai macam senyawa, salah satunya senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang pada umumnya banyak terdapat pada tumbuhan berpembuluh (Saputra, 2000) dan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tumbuhan (Rajalakshmi dan Narasimhan, 1985). Senyawa flavonoid mempunyai kemampuan menghambat sintesis asam nukleat (Chusnie dan Lamb, 2005), fungsi membran sel (Li *et al.*, 2003), dan merusak dinding sel bakteri (Rustama dan Lingga, 2005).

Salah satu genus dari famili Moraceae yang kaya akan kandungan senyawa fenol termasuk flavonoid terprenilasi yaitu *Artocarpus* (Suhartati *et al.*, 2010).

Artocarpus terdiri dari 50 spesies yang tersebar mulai dari Asia Selatan, Asia Tenggara hingga kepulauan Solomon, kepulauan Pasifik, Australia Utara dan Amerika Tengah (Hakim, 2011). Senyawa flavonoid yang mengandung gugus prenil pada C3 dan turunannya merupakan senyawa utama yang terdapat dalam semua spesies *Artocarpus* (Suhartati dan Yandri, 2007). Keunikan struktur metabolit sekunder yang terdapat pada *Artocarpus* memiliki efek yang sangat luas sebagai antioksidan (Mulyani *et al.*, 2016), antibakteri (Khan *et al.*, 2003), antijamur (Jayasinghe *et al.*, 2004), antidiabetes (Nasution *et al.*, 2014), antimalaria (Hakim, 2010), antikanker (Ramadhani, 2009), dan sitotoksik terhadap sel kanker L-1210 (Hakim *et al.*, 2001) serta sel murine leukemia P-388 (Suhartati dan Yandri, 2007). Beberapa studi farmakologi, menunjukkan bahwa *Artocarpus* dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit seperti inflamasi, demam malaria, diare, diabetes dan infeksi cacing pita (Jagtap dan Bapat, 2010; Chen *et al.*, 2010; Baliga *et al.*, 2011).

Berbagai senyawa fenol turunan flavonoid dan santon yang memiliki kerangka karbon beraneka ragam telah di temukan pada tumbuhan *Artocarpus*, seperti artoindonesianin E (Hakim *et al.*, 2001), heteroflavanon A (Hakim *et al.*, 1998), artokarpin, artoindonesianin (Ahmad *et al.*, 1996), artoindonesianin A dan B (Hakim *et al.*, 1999), artoindonesianin C (Makmur *et al.*, 2000), artoindonesianin F (Boonlaksiri *et al.*, 2000), dan artonol B (Makmur *et al.*, 1999). Senyawa kalkon yang berhasil diisolasi yaitu kanzonol C dan artoindonesianin J dari *Artocarpus bracteata* (Ersam, 2001) sedangkan dari *Artocarpus communis* berhasil diisolasi senyawa AC-3-2, AC-5-1, dan AC-3-1 (Nomura *et al.*, 1998). Senyawa kalkon memiliki manfaat yang sama seperti senyawa flavonoid pada

umumnya yaitu sebagai antimalaria (Hafid *et al.*, 2012), antituberkulosis, antiinflamasi, sitotoksik, antioksidan, analgesik, antiviral, dan antimikroba (Sridhar *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, berhasil diisolasi senyawa artoindonesianin C, artomandin, artonol B, artosimmin (Ee *et al.*, 2011), artonin E, artonin O, artobilosanton dan sikloartobilsanton dari kulit batang *Artocarpus kemando* Miq. yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel KB (Seo *et al.*, 2003). Teo *et al.*, (2010) juga telah berhasil melakukan isolasi senyawa flavonoid dari kulit batang *Artocarpus kemando* Miq. yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HL-60 dan sel IMR-32.

Bagian kulit batang dari tumbuhan *A. kemando* Miq. telah diisolasi dan diidentifikasi oleh para peneliti sebelumnya. Oleh karena itu, penelitian kali ini dilakukan pada kayu akar *A. kemando* Miq. untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid yang terdapat di dalamnya serta uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah kayu akar tumbuhan puda (*A. kemando* Miq.) yang tumbuh di Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan, Provinsi Lampung.

Isolasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara maserasi menggunakan metanol. Pemisahan dilakukan dengan cara kromatografi. Identifikasi kemurnian dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji titik leleh.

Identifikasi struktur molekul dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV-*Vis* dan spektroskopi inframerah (IR). Setelah dihasilkan senyawa murni,

dilanjutkan uji bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtilis*.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengisolasi senyawa flavonoid dari kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.).
2. Melakukan karakterisasi senyawa flavonoid dari kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) menggunakan spektroskopi UV-Vis dan IR.
3. Melakukan uji bioaktivitas antibakteri senyawa flavonoid dari kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtilis*.

C. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa flavonoid yang terkandung dalam kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) dan uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri. Informasi tersebut diharapkan dapat memperkaya pengetahuan tentang senyawa flavonoid dari tumbuhan *Artocarpus*, khususnya tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Moraceae

Moraceae sering disebut sebagai keluarga ara atau murbei. Famili Moraceae merupakan tumbuhan berbatang, berkayu, menghasilkan getah (Tijthroepomo, 1994), dan berbunga (Judd *et al.*, 2008). Moraceae terdiri dari sekitar 40 genus dan lebih dari 1000 spesies yang sebagian besar tumbuh didaerah tropis maupun sub tropis, sedangkan pada daerah beriklim sedang hanya sedikit yang tumbuh (Judd *et al.*, 2008).

Tumbuhan yang berasal dari famili Moraceae dikenal memiliki kandungan utama senyawa fenolat dan santon dari turunan flavonoid, arilbenzofuran dan stilbenoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antiinflamasi, antitumor, antibakteri, antifungal dan antikanker (Ersam, 2004). Oleh karena itu, tumbuhan famili Moraceae sering digunakan sebagai tumbuhan obat. Genus terpenting dalam famili Moraceae yang sering digunakan sebagai tumbuhan obat yaitu *Artocarpus*, *Ficus*, *Morus* dan *Cudrania* (Heyne, 1987).

B. *Artocarpus*

Artocarpus merupakan salah satu genus tumbuhan dari famili Moraceae, dari seluruh spesies tumbuhan *Artocarpus*, 50 diantaranya merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara, New Guinea dan Pasifik Selatan. Tumbuhan *Artocarpus* merupakan tumbuhan yang telah dibudidayakan untuk diambil manfaatnya. Di Indonesia terdapat 24 spesies *Artocarpus* yang sebagian besar telah dimanfaatkan sebagai tanaman penghasil buah, papan dan obat-obatan tradisional (Djamilah, 2010). Tumbuhan ini menghasilkan kayu yang tergolong tahan terhadap rayap sehingga sesuai untuk berbagai keperluan perabot rumah tangga. Ciri yang menonjol dari kayu tumbuhan *Artocarpus* adalah tersimpannya zat-zat warna kuning atau jingga alami di dalamnya yang telah mendorong kajian fitokimia terhadap kelompok tumbuhan ini (Musthapa, 2009).

Tumbuhan *Artocarpus* mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, baik senyawa turunan fenol maupun non fenol. Senyawa non fenol yang telah ditemukan dalam tumbuhan *Artocarpus* berupa golongan steroid dan terpenoid. Senyawa steroid yang banyak ditemukan yaitu jenis stigmasterol dan -sterol, sedangkan jenis senyawa terpenoid yang telah banyak ditemukan yaitu triterpen. Akan tetapi, senyawa turunan fenol merupakan senyawa yang paling banyak terkandung dalam tumbuhan genus *Artocarpus*. Hingga saat ini terdapat ratusan senyawa fenol golongan flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari berbagai spesies tumbuhan *Artocarpus*. Tidak hanya flavonoid tetapi juga senyawa santon, stilbena, serta senyawa-senyawa *adduct* Diels-Alder yang umumnya mengandung

subtituen isoprena (Djamilah, 2010). Beberapa senyawa yang berhasil diisolasi dari tumbuhan genus *Artocarpus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Berbagai senyawa yang telah diisolasi dari beberapa spesies *Artocarpus*

Spesies	Bagian yang diisolasi	Nama Senyawa	Pustaka Rujukan
<i>A.heterophyllus</i>	Kayu akar	Oksiresveratrol, sikloartokapin A	Hano <i>et al.</i> , 1994
<i>A.communis</i>	Kulit Batang dan kulit akar	Artonin E dan F, siklomorusin, sikloartomunin, dihidrosikloarthomunin, sikoartomunosanton, artomunosanthotrione epoksida, siklokomunol, siklokomunin	Lin <i>et al.</i> , 1995 Chun-Nan dan Weng, 1990 Chan <i>et al.</i> , 2003
<i>A.champeden</i>	Kulit batang dan akar	Artopeden A, morachalkon A, artoindonesianin A dan B	Wahyuni dan Widyawaruyanti 2009 Hafid <i>et al.</i> , 2012
<i>A.altilis</i>	Kulit tunas, kulit akar	Sikloaltilisin, artonin V	Ashok <i>et al.</i> , 2001 Patil <i>et al.</i> , 2002 Hano <i>et al.</i> , 1994
<i>A.rigida</i>	Kulit batang	Oksiresveratrol, artonin E, artonol B	Suhartati <i>et al.</i> , 2010 Hano, 1993
<i>A.kemando</i>	Kulit batang	Artonin E artoindonesianin C, artomandin, artonol B, artosimmin, artonin O, artobilosanton dan sikloartobilsanton	Seo <i>et al.</i> , 2003 Ee <i>et al.</i> , 2011
<i>A.reticulatus</i>	Kulit akar	Katekin	Udjiana <i>et al.</i> , 1998
<i>A.teysmani</i>	Kulit akar dan batang	Artonol B, sikloartobilosanton	Makmur <i>et al.</i> , 1999
<i>A.dadah</i>	Kayu akar, kulit akar dan batang	Artonin E, oksiresveratrol, sikloartobilosanton	Suhartati <i>et al.</i> , 2010 Suhartati dan Yandri, 2007
<i>A.camansi</i>	Daun	-sitosterol propionate	Nasution <i>et al.</i> , 2014

Golongan flavonoid terprenilasi merupakan ciri utama senyawa turunan fenol dalam *Artocarpus* yaitu adanya gugus isoprenil yang terikat pada C-3 dan pola oksigenasi di cincin B pada kerangka flavon yang tidak lazim dimiliki oleh flavonoid yang berasal dari tumbuhan lain (Musthapa, 2009).

C. Tumbuhan Puda (*Artocarpus kemando* Miq.)

Artocarpus kemando Miq. merupakan tumbuhan liar, batangnya mempunyai bulu berwarna coklat, getahnya berwarna putih, memiliki daun berukuran kecil skitar 3-4 x 1,5-2 cm. Pertulangan daun menyirip dan buahnya berwarna kuning dengan bentuk lonjong. Tumbuhan ini tersebar pada beberapa pulau di Indonesia, seperti Sumatera, Jawa dan Kalimantan. Habitat tumbuhan *Artocarpus kemando* Miq. yaitu hutan sekunder bersuhu dingin (Mandia *et al.*, 2010), tanah dengan ketinggian 50-80 mdpl, kemiringan tanah 3-9°, pH tanah 5,6-6,2 dan ordo tanah ultisol/inseptisol dengan kandungan liat relatif dominan (Lestari *et al.*, 2009).

Tumbuhan ini tumbuh di dekat sungai, sehingga terdapat beberapa daerah yang menyebutnya sebagai cempedak air (Jambi), angka air ataupun temedak ayer (Bangka) sedangkan masyarakat borneo mengenal tumbuhan ini dengan sebutan pudu atau puda.



(a)

(b)



(c)

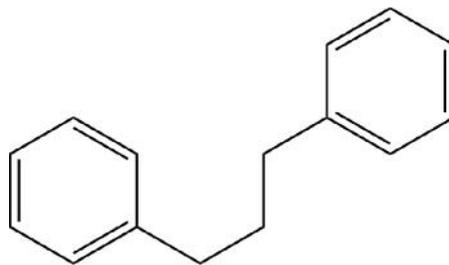
Gambar 1. Bagian-bagian tumbuhan *A. kemando* Miq. (a) Pohon, (b) Akar, dan (c) Daun.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, senyawa artoindonesianin C, artomandin, artonol B, artosimmin (Ee *et al.*, 2011), artonin E, artonin O, artobilosanton dan sikloartobilsanton berhasil diisolasi dari kulit batang *Artocarpus kemando* Miq. yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel KB (Seo *et al.*, 2003). Teo *et al.* (2010) juga telah berhasil melakukan isolasi senyawa flavonoid dari kulit batang *Artocarpus kemando* Miq. yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HL-60 dan sel IMR-32.

D. Flavonoid

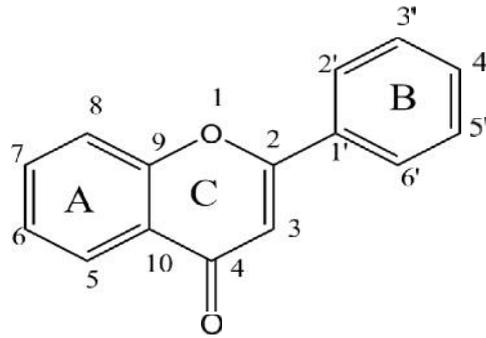
Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan hijau, kecuali alga. Flavonoid dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan akar. Flavonoid yang sering ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi adalah flavon dan flavonol dengan C- dan O-glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, flavanon C-dan O-glikosida, calkon dengan C- dan O-glikosida, dihidrocalkon, proantosianidin, antosianin, auron O-glikosida dan dihidroflavonol O-glikosida. Golongan flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan calkon juga sering ditemukan dalam bentuk aglikonnya. Flavonoid yang berupa aglikon bersifat non polar sementara yang berupa glikosida bersifat polar (Markham, 1988).

Flavonoid mengandung 15 atom karbon sebagai kerangka dasar yang tersusun dari dua cincin aromatis tetapi ada yang dapat dan tidak dapat membentuk cincin ketiga dengan susunan C6-C3-C6 seperti terlihat pada Gambar 2.



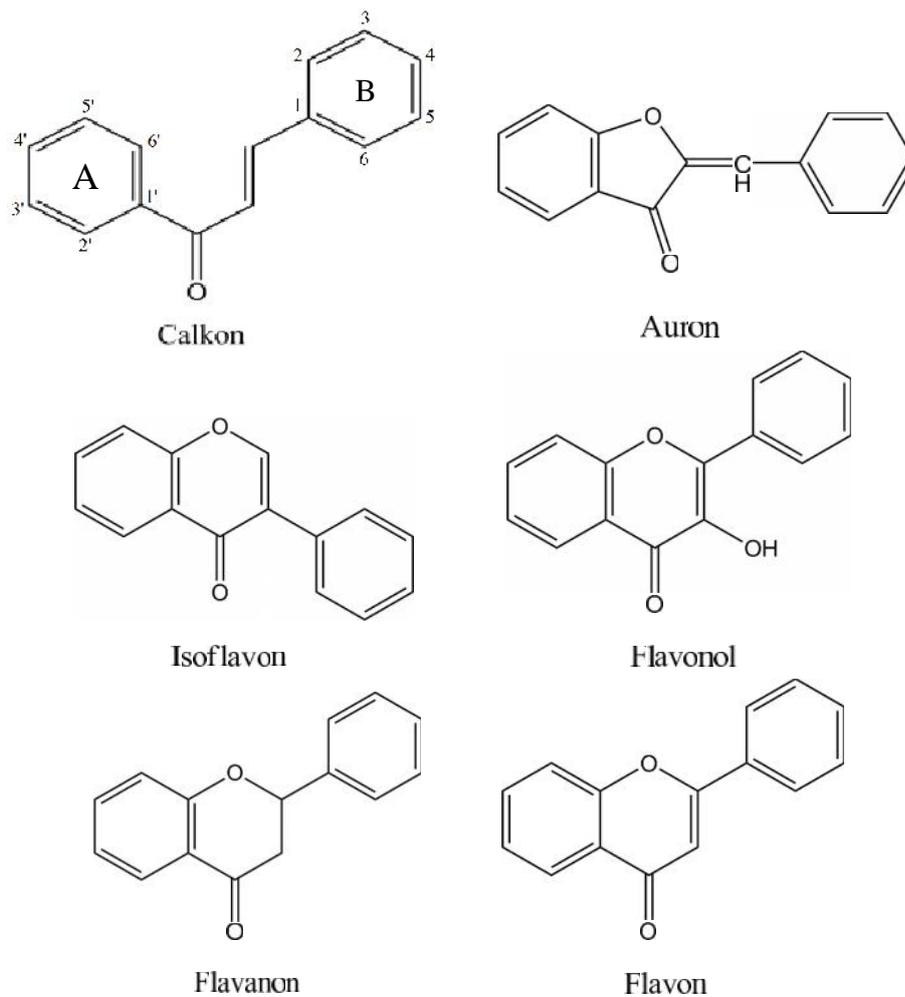
Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid (Achmad, 1986).

Ketiga cincin tersebut diberi tanda A, B dan C untuk memudahkan pemberian nama. Cincin A dan C diberi nomor dengan angka biasa, sedangkan cincin B diberi nomor dengan angka beraksen yang dapat dilihat pada Gambar 3.



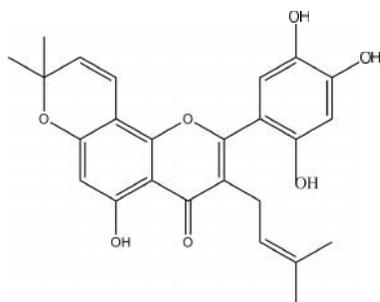
Gambar 3. Sistem penomoran kerangka dasar flavonoid (Markham, 1988).

Penggolongan flavonoid berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi gugus hidroksil ditunjukkan pada Gambar 4.

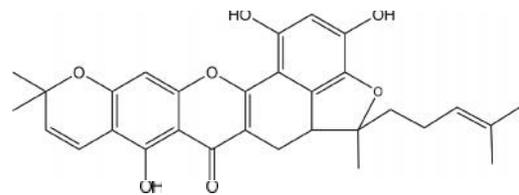


Gambar 4. Penggolongan struktur flavonoid (Mabry *et al.*, 1970)

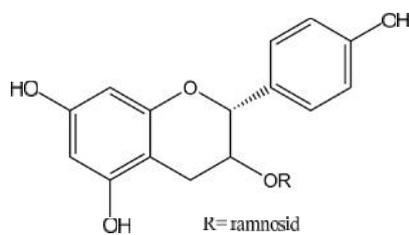
Beberapa struktur kimia senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari tanaman *Artocarpus* dapat dilihat pada Gambar 5. Senyawa flavonoid tersebut berasal dari berbagai kerangka dasar seperti calkon, flavanon, flavan-3-ol (katecin), flavon sederhana, prenilflavon, oksepinoflavon, piranoflavon, dihidrobenzosanton, furanodihidro benzosanton, piranodihidrobenzosanton, quinonosanton, siklopentenosanton, santonolid, dihidrosanton, dan siklopentenosanton (Hakim, 2010).



Artonin E

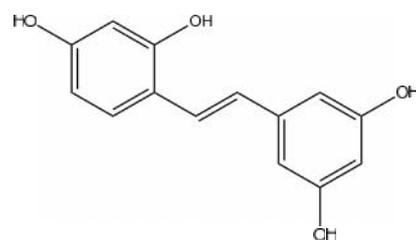


Artonin M

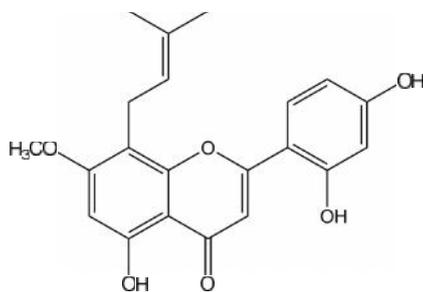


Katechin

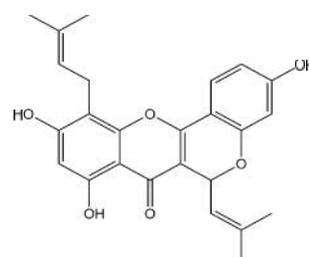
R= ramnosid



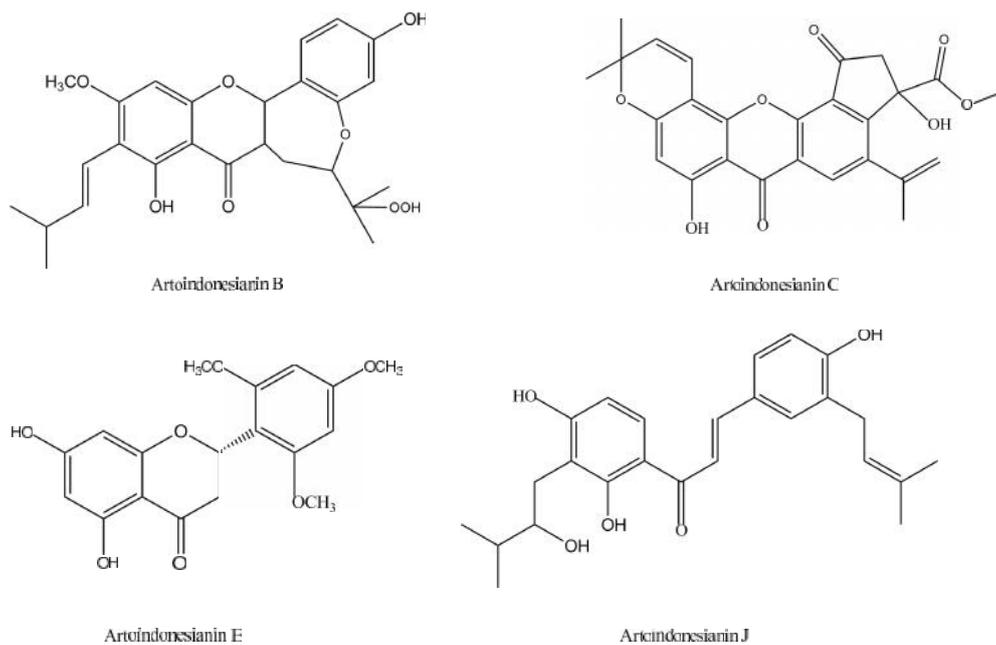
Oksiresveratrol



Sikloartokarpin A



Siklonulberin



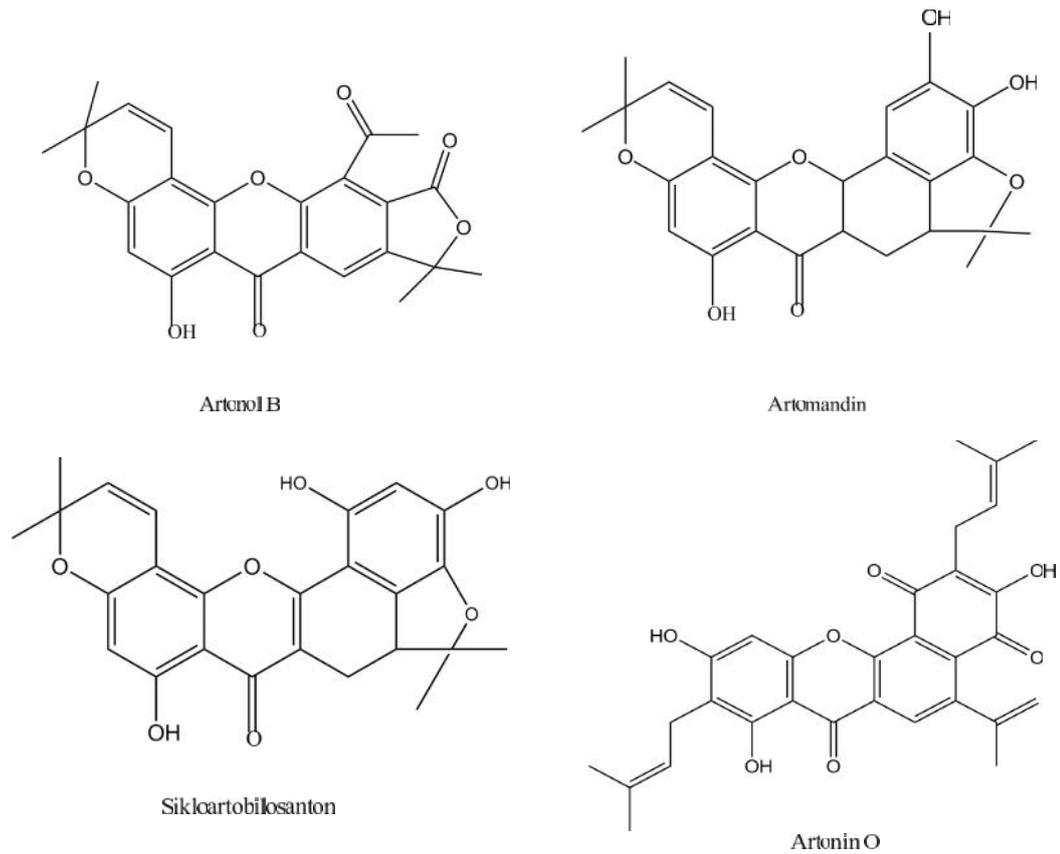
Gambar 5. Struktur kimia dari flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan *Artocarpus* (Hakim, 2010).

Senyawa flavonoid yang berasal dari kerangka dasar calkon lainnya yang berhasil diisolasi yaitu kanzonol C dan artoindonesianin J (Gambar 5) dari kulit batang *Artocarpus bracteata* (Ersam, 2001), senyawa AC-3-2, AC-5-1, dan AC-3-1 dari bagian bunga *Artocarpus communis* (Nomura *et al.*, 1998), senyawa paratokarpin A, B, C, D, E, F, dan G dari kulit tumbuhan *Paratocarpus venenosa* Zoll (Nomura *et al.*, 1998), moracalkon A dari kulit cabang *Artocarpus champeden* (Hafid *et al.*, 2012), serta senyawa 1-(2,4-dihidroksifenil)-3-(8-hidroksi-2-metil-2-(4 metil-3-pentenil) -2H-1-benzopiran-5-il)-1-propanon , 1-(2,4-dihidroksifenil)- 3-{4-hidroksi-6,6,9-trimetil-6a,7,8,10a-tetrahidro-6H-dibenzo(b,d)piran-5-il}-1-propanon dan 2-geranil-2',3,4,4'-tetrahidroksidihydrocalkon dari bagian daun *Artocarpus altilis* (Wang *et al.*, 2007).

Struktur kimia senyawa calkon terdiri dari dua cincin aromatik (cincin A dan B). Substituen isoprenil maupun geranil pada calkon dapat ditemukan pada cincin A atau B dan semua senyawa calkon tidak mengandung substituen isoprenil pada posisi C- yang sebanding dengan C-3 pada flavon (Hakim, 2010). Senyawa flavonoid jenis calkon yang telah diisolasi dari tumbuhan *Artocarpus* memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti senyawa AC-3-2, AC-5-1, dan AC-3-1 memiliki kemampuan menghambat efek 5-lipoksigenase (Nomura *et al.*, 1998), moracalkon A memiliki aktivitas antimalaria (Hafid *et al.*, 2012), serta senyawa 1-(2,4-dihidroksifenil)-3-(8-hidroksi-2-metil-2-(4 metil-3-pentenil) -2H-1-benzopiran-5-il)-1-propanon, 1-(2,4-dihidroksifenil)-3-{4-hidroksi-6,6,9-trimetil-6a,7,8,10a-tetrahidro-6H-dibenzo(b,d)piran-5-il}-1-propanon dan 2-geranil-2',3,4,4'-tetrahidroksidihidrocalkon menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker adenokarsinoma SPC-A-1, sel karsinoma usus manusia SW-480, dan sel karsinoma SMMC-7721 (Wang *et al.*, 2007).

Isolasi senyawa flavonoid yang telah dilakukan sebelumnya pada bagian kulit batang *Artocarpus kemando* telah diperoleh berbagai jenis flavonoid terprenilasi, seperti artoindonesianin C, artomandin, artonol B, artosimmin (Ee *et al.*, 2011), artonin E, artonin O, artobilosanton dan sikloartobilsanton (Seo *et al.*, 2003).

Struktur kimia dari flavonoid hasil isolasi bagian kulit batang *Artocarpus kemando* ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kimia dari flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari kulit batang *Artocarpus kemando* Miq. (Seo *et al.*, 2003; Ee *et al.*, 2011).

Senyawa flavonoid kebanyakan memiliki sifat antioksidan dan banyak digunakan sebagai bahan baku obat-obatan. Senyawa flavonoid dan turunannya yang berasal dari tumbuhan *Artocarpus* mempunyai fungsi fisiologis tertentu berdasarkan sebarannya di Indonesia. Misalnya, tumbuhan *Artocarpus* yang berasal dari wilayah Indonesia bagian barat yang berfungsi untuk mengatasi serangan penyakit akibat bakteri atau mikroba (antibakteri dan antimikroba) (Ramadhani, 2009).

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri atau antimikroba dibagi menjadi 3 yaitu:

1). Menghambat sintesis asam nukleat

Dalam penghambatan sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA.

Interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri juga menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Chusnie dan Lamb, 2005).

2). Menghambat fungsi membran sel

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Li *et al.*, 2003).

3). Merusak dinding sel bakteri

Menurut Rustama dan Lingga (2005), aktivitas senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino. Lipid dan asam amino pada dinding sel bakteri akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan flavonoid masuk ke dalam inti sel bakteri yang berkontak langsung dengan DNA dan menyebabkan rusaknya struktur lipid DNA sehingga bakteri akan lisis dan sel akan mati. Reaksi kerusakan struktur lipid DNA oleh flavonoid disebabkan oleh perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol flavonoid.

E. Ekstraksi Senyawa Flavonoid

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan (sampel) menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan apabila tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan sampel (bahan). Setelah proses ekstraksi, ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan. Ekstraksi terdiri dari beberapa metode, seperti maserasi, perkolasi, sokletasi, refluks dan destilasi uap. Pemilihan metode ekstraksi tergantung dari sifat bahan dan senyawa target yang akan diisolasi. Proses ekstraksi khususnya yang berasal dari bahan tumbuhan dilakukan dengan cara pengelompokan bagian tumbuhan, pengeringan, penggilingan dan pemilihan pelarut. Pelarut bersifat polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi yaitu air, metanol, etanol dan sebagainya, pelarut semipolar yaitu etilasetat, diklorometan dan sebagainya, sedangkan pelarut yang bersifat nonpolar yaitu n-heksana, petroleum eter, kloroform dan sebagainya. Ekstrak kasar ini sulit dipisahkan dengan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa murni, sehingga ekstrak kasar perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi.

Maserasi adalah metode paling sederhana yang banyak digunakan baik skala kecil maupun industri (Agoes, 2007). Maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk simplisa dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Metode maserasi dapat menghindari senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Untuk memperoleh ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi maka pemilihan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi merupakan faktor yang penting. Pelarut ideal yang sering digunakan untuk ekstraksi adalah alkohol, misalnya metanol atau campurannya dengan air. Pelarut tersebut merupakan pengekstraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti flavonoid dan saponin (Wijesekera, 1991). Pada maserasi kayu akar *A. kemando* ini, pemisahan ekstrak dari pelarutnya digunakan alat *rotary vacuum evaporator*. Alat ini dipilih karena mampu menguapkan pelarut dibawah titik didihnya sehingga senyawa yang terkandung di dalam ekstrak tersebut tidak rusak oleh suhu tinggi (Pangestu dan Handayani, 2011).

F. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi

Kromatografi adalah suatu cara pemisahan campuran komponen yang terdistribusi di antara dua fasa, yaitu fasa diam (stasioner) dengan permukaan yang luas berupa zat padat dan fasa gerak berupa cairan atau gas (Day dan Underwood, 1981). Berdasarkan jenis fasa diam dan fasa gerak yang dipartisi, kromatografi digolongkan menjadi beberapa golongan yang dapat dilihat pada Tabel 2.

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

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

1. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi Cair Vakum (KCV) merupakan salah satu metode fraksinasi dengan cara memisahkan *crude extract* menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana.

Pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fasa diam (*stationer*) dan aliran fasa geraknya (*mobile*) yang dibantu dengan pompa vakum. Fasa diam atau adsorben yang digunakan dapat berupa silika gel atau aluminium oksida (Ghisalberti, 2008).

Fasa diam atau adsorben yang digunakan dikemas dalam kolom yang digunakan dalam KCV. Proses penyiapan fasa diam dalam kolom terbagi menjadi dua macam, yaitu :

a. Cara Basah

Fasa diam dilarutkan terlebih dahulu ke dalam fasa gerak yang akan digunakan. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom secara merata dan fasa gerak dibiarkan mengalir hingga terbentuk fasa diam yang tetap dan rata, kemudian aliran dihentikan.

b. Cara Kering

Fasa diam atau adsorben yang akan digunakan pada KCV dimasukkan ke dalam kolom kromatografi, kemudian dibasahi dengan pelarut yang akan digunakan (Sarker *et al.*, 2006).

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan salah satu teknik pemisahan senyawa dengan menggunakan adsorben (fasa stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada

permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, plat aluminium atau plastik (Deinstrop dan Elke, 2007). KLT digunakan untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektivitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom serta untuk monitoring hasil kromatografi kolom dan KCV (Gandjar, 2008). Parameter pada KLT yang digunakan untuk identifikasi adalah nilai R_f (Hidayah, 2010). Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan harga R_f . Rentang harga R_f antara 0,00 – 1,00 (hanya dua desimal) (Stahl, 1985).

$$R_f = \frac{\text{jarak tempuh sampel}}{\text{jarak tempuh pelarut}}$$

Nilai R_f ini dapat digunakan sebagai analisis kualitatif suatu senyawa (Sastrohamidjojo, 2002).

2. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

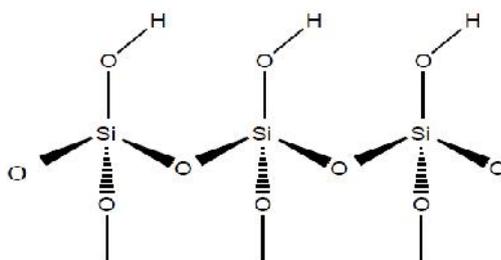
Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) merupakan proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fasa diam berupa kolom dan fasa gerak yang dibiarkan untuk mengalir (Christian, 1994) serta berdasarkan gaya gravitasi (Gritter *et al.*, 1991). KKG dilakukan pada kondisi normal tanpa vakum dan waktu yang diperlukan lebih lama, namun dengan kondisi tersebut diharapkan menghasilkan pemisahan yang lebih baik dan murni (Hernawan, 2008).

Pemisahan komponen campuran dengan kromatografi adsorpsi berdasarkan kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang terserap pada fasa diam dan fasa gerak. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan elusi senyawa dapat dilihat pada Tabel 3 karena tingkat adsorpsi tergantung pada polaritas molekul dan fasa gerak, serta aktivitas adsorben (Braithwaite dan Smith, 1995).

Tabel 3. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan elusi senyawa pada kromatografi (Braithwaite dan Smith, 1995).

Kekuatan Adsorben	Polaritas Eluen	Elusi Senyawa
Selulosa	<i>Petroleum Eter</i>	Hidrokarbon jenuh
Gula	Karbontetra Klorida	Alkena
Asam Silika (Silika Gel)	Benzena	Hidrokarbon Aromatik
Florisil (Magnesium Silikat)	Kloroform	Eter
Aluminium Oksida (Alumina) ↓	Dietil Eter	Aldehida, keton, ester
	Etil Asetat	Alkohol
	<i>Aseton</i>	Asam Karboksilat ↓
	Etanol	
	Metanol	
	Air	

Silika gel merupakan fasa stasioner yang paling sering digunakan untuk pemisahan bahan alam. Silika gel memiliki permukaan yang luas dengan ukuran partikel 40-200 μm dan ukuran pori sebesar 40 – 300 Å (Cannel, 1998). Struktur dasar silika dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur dasar silika gel

G. Identifikasi Spektroskopi

Spektrofotometri merupakan ilmu yang mempelajari tentang spektrofotometer dan penggunaannya. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang yang terdiri dari spektro dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer merupakan alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diasorpsi (Neldawati *et al.*, 2013). Pada penelitian in digunakan berbagai macam alat spektroskopi (spektrofotometer) seperti spektroskopi IR dan UV-Vis.

1. Spektroskopi Inframerah (FT-IR)

FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan salah satu instrumen spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi *fourier* untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya (Anam, 2007). FT-IR berfungsi untuk mengidentifikasi senyawa organik karena spektrumnya terdiri dari berbagai

puncak yang sangat kompleks. Selain itu jenis-jenis gugus fungsi dapat menyerap sinar inframerah pada frekuensi tertentu. Inti spektroskopi FT-IR adalah interferometer Michelson berupa alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah yang dihasilkan berasal dari penransmisian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel (blanko) sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang dihasilkan diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Marcott, 1986; Anam, 2007). Absorpsi (bilangan gelombang) dari beberapa gugus fungsi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Absorpsi (bilangan gelombang) dari beberapa gugus fungsi (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Gugus Fungsi	Absorpsi (bilangan gelombang dalam cm^{-1})	Panjang Gelombang (μm)
OH dan NH str.	3000-3700	2,7-3,3
CH str.	2800-3300	3,1-3,75
C = C	2100-2250	4,4-4,8
C=O str.	1640-1820	5,5-6,1
C=C	1600-1700	5,8-6,2
C-C	1450-1600	6,25-6,9
C-O str.	1050-1300	7,7-9,5
C-N str.	900-1300	8-11

2. Spektroskopi UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan spektrofotometer yang dapat mengukur interaksi antara radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Molekul mengadsorpsi cahaya elektromagnetik pada panjang gelombang khusus, jika frekuensinya sama antara cahaya dan getaran molekul tersebut, maka elektron baik yang terikat maupun yang tidak terikat akan mengalami eksitasi pada daerah UV-Vis (Roth *et al.*, 1994).

Spektrum absorpsi daerah UV-Vis sekitar 220 nm – 800 nm. Spektrum bagian daerah sinar ultraviolet sekitar 190-380 nm, sedangkan spektrum sinar tampak 380-780 nm (Sastrohamidjojo, 1985). Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan sinar ultra violet dan tampak merupakan salah satu cara yang paling penting dalam mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1998). Flavonoid mengandung sistem aromatis terkonjugasi yang dapat memiliki pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Harborne, 1987).

Selain identifikasi struktur, spektrofotometer UV-Vis juga dapat melakukan uji kuantitatif banyaknya kadar flavonoid yang terdapat pada suatu ekstrak tertentu berdasarkan pengukuran nilai absorbansinya (Carbonaro, 2005). Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut metanol atau etanol. Spektrum khas flavonoid terdiri atas dua maksimal, pada rentang 230-295 nm (pita II) dan 300-560 nm (pita I) (Neldawati *et al.*, 2013). Pita absorpsi UV-Vis dari flavonoid dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pita absorpsi UV-Vis dari 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 (5-deoksi-6,7-dioksigenasi)
275-295	300-390	Flavanon dan dihidroflavon
230-270	340-390	Calkon
230-270	380-430	Auron
270-280	465-560	Antosianidin dan antosianin

H. Bakteri

Bakteri merupakan salah satu golongan organisme prokariotik. Sebagai makhluk hidup, bakteri memiliki DNA yang hanya tersusun atas intron saja (Jawetz *et al.*, 2004). Pada umumnya bakteri memiliki ukuran sel 0,5 - 1,0 μm x 2,0 - 5,0 μm . Bentuk dasar bakteri terdiri dari tiga jenis, yaitu bentuk bulat (kokus), bentuk batang (Bacillus), dan bentuk spiral (Dwidjoseputro, 1985).

Escherichia coli merupakan bakteri yang bersifat gram negatif, berbentuk batang, anaerobik fakultatif, dan memiliki flagella terikat, baik motil dan non motil keduanya dapat melakukan fermentasi asam dan gas. Klasifikasi dari bakteri

Escherichia coli adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryotae
 Divisi : Protophyta
 Sub divisi : Schizomycetea
 Kelas : Schizomycetes

Orde : Eubacterials
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli* (Salle, 1991).

Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif yang dapat ditemukan di tanah, air, udara, dan materi tumbuhan yang terdekomposisi (debu), bersifat aerobik, dan mampu membentuk endospora. Spora ini dapat bertahan selama 60 tahun atau lebih pada kondisi lingkungan ekstrim. Klasifikasi bakteri *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus subtilis* (Kosim dan Putra, 2010).

Bakteri *E. coli* dan *B. Subtilis* menjadi patogen apabila terjadi peningkatan dalam jumlah besar melebihi normalnya pada saluran pencernaan atau berada diluar usus. *B. subtilis* merupakan kontaminan di udara yang tidak berbahaya, akan tetapi keberadaanya dapat menyebabkan kerusakan pada makanan khususnya makanan kaleng, sehingga muncul gejala gastroenteritis pada manusia (Talaro, 2002). Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan beberapa penyakit sebagai berikut:

a. Diare

E. coli penyebab diare diklasifikasikan berdasarkan ciri khas sifat-sifat virulensinya. Kelompok galur *E. coli* yang patogen yaitu :

- 1) *E. coli* Enteropatogenik (EPEC) menyerang *gastrointestinal tissues* yang dapat menyebabkan diare cair atau disertai perdarahan pada anak-anak khususnya bayi yang baru lahir.
- 2) *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC) yang menyebabkan diare cair, kram perut dan demam.
- 3) *E. coli* Enteroinvasif (EIEC) yang menyebabkan diare disertai perdarahan juga dapat menyerang jaringan epitel pada berbagai usia, menyebabkan mual, demam dan rasa kedinginan.
- 4) *E. coli* Enterohemoragik (EHEK) menyebabkan serangan diare berdarah *haemolytic uraemic syndrome* (HUS) yang ditandai dengan keadaan gagal ginjal akut, anemia, kekurangan trombosit, dan juga gangguan neurologis sampe stroke atau koma.
- 5) *E. coli* Enteroadherent (EAEC) menyebabkan diare pada anak-anak dan pada beberapa orang dewasa menyebabkan infeksi saluran kencing.
- 6) *E. coli* Enteroagregatif (EA_ggEC) menyebabkan diare cair berlendir dan berdarah pada kondisi tertentu, demam dengan suhu tidak terlalu tinggi tetapi hampir tidak menyebabkan mual. Diare ini biasanya terjadi pada anak-anak di negara berkembang paling sedikit selama 14 hari.

b. Infeksi Saluran Kemih

E. coli dapat menyebabkan infeksi saluran kemih pada 90% wanita muda yang ditandai dengan sering kencing, hematuria, piuria, dan disuria.

c. Meningitis

E. coli menyebabkan sekitar 40% kasus meningitis neonatal pada bayi (Jawetz, 1996).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 - Agustus 2017, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah spektroskopi UV-Vis dan inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBA) Institut Teknologi Bandung. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam 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, satu set alat kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom gravitasi (KKG), lampu UV, pipet kapiler, pengukur titik leleh MP-10 Stuart, neraca analitik, *autoclave*, *Laminar Air Flow*

(LAF), jarum ose, cawan petri, inkubator, bunsen, mikropipet, spektroskopi FT-IR *Prestige 21 Shimadzu* dan spektroskopi ultraungu-tampak merk *Agilent Technologies Cary Series UV-Vis Spechtrophotometer Cary 100 UV-Vis*.

2. Bahan-bahan yang digunakan

Kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) yang diperoleh dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan pada tanggal 28 Mei 2016. Proses Ekstraksi dan Fraksinasi senyawa aktif dari tumbuhan pudau ini dengan menggunakan metanol, *n*-heksana, etil asetat, aseton (C_2H_6O), serium sulfat ($Ce(SO_4)_2$) 15% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 15%, akuades, diklorometana (CH_2Cl_2), silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk KCV dan KK, untuk KLT digunakan plat KLT silika gel Merck kiesegal 60 F254 0,25 mm. Pereaksi geser untuk analisis spektrofotometer UV-Vis adalah $AlCl_3$, HCl pekat, NaOAc, NaOH, dan H_3BO_3 . Bahan-bahan uji bioaktivitas antibakteri meliputi kertas Whatman, akuades, media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *Bacillus subtilis*, bakteri *Escherichia coli*, *chloramphenicol*, dan *amoxycillin*.

C. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan dan persiapan sampel

Sampel berupa tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) yang diperoleh dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan. Untuk mengetahui spesies dari sampel tumbuhan yang akan digunakan dalam penelitian ini, terlebih dahulu dilakukan determinasi di Herbarium Bogoriense

Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Sampel kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) dipisahkan antara kulit akar dan kayunya. Kayu akar kemudian dibersihkan dari pengotor yang menempel, dipotong-potong berukuran kecil, kemudian sampel tersebut dikeringkan. Kayu akar yang telah kering digiling hingga menghasilkan serbuk halus.

2. Ekstraksi sampel dengan metode maserasi

Serbuk halus kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) sebanyak 3 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Pelarut metanol yang digunakan berkualitas teknis yang telah didestilasi. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan 120 rpm hingga diperoleh ekstrak pekat.

3. Kromatografi

a. Kromatografi cair vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) merupakan salah satu metode pemisahan dan pemurnian golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar dengan menggunakan silika gel sebagai adsorben pada berbagai perbandingan pelarut (elusi gradien) yang dilengkapi pompa vakum untuk memudahkan terjadinya elusidasi (turunnya eluen) (Hostettmann *et al.*, 1995). Pada penelitian ini metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄ sebagai fase diam dan pelarut *n*-heksana : etil asetat sebagai eluen. Corong

Bucheer kaca masir yang berada di atas kolom KCV diisi dengan fase diam silika gel 60 GF₂₅₄ sebanyak 10 kali berat sampel yang dikemas dalam keadaan kering lalu di bagian atas ditutup dengan kertas saring kemudian divakum dengan alat vakum. Eluen *n*-heksana yang memiliki kepolaran rendah dituangkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu lalu kolom dihisap dengan alat vakum hingga kering untuk memperoleh kerapatan yang maksimum dan kolom siap untuk digunakan.

Sebelum dilakukan proses KCV, sampel diimpregnasi terlebih dahulu menggunakan silika gel yang ukuran partikelnya lebih besar (silika kasar). Impregnasi bertujuan untuk memperluas permukaan silika gel sebagai fase diam sehingga sampel yang akan dielusi dapat tersebar secara homogen. Ukuran partikel silika impregnan harus lebih besar untuk mempermudah proses elusi (Tasmin *et al.*, 2014).

Ekstrak kasar pekat yang telah kering dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasikan pada silika gel kasar, digerus hingga homogen dan kering, kemudian sampel dimasukkan pada bagian atas fasa diam secara merata dan di atasnya diletakkan kertas saring serta divakum. Selanjutnya sampel dielusi dengan *n*-heksana : etil asetat secara perlahan-lahan mulai dari kepolaran rendah hingga lebih polar (100 : 0 - 0 : 100%), kolom dihisap sampai kering pada setiap penambahan eluen. Fraksi-fraksi yang diperoleh digabungkan berdasarkan pola fraksinasinya. Fraksi target yang akan dimurnikan dengan kromatografi cair vakum (KCV) dilakukan secara berulang seperti tahapan KCV awal.

b. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan terlebih dahulu untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar. Fraksi-fraksi hasil KCV juga dimonitoring dengan KLT untuk melihat hasil pemisahannya. Berdasarkan hasil monitoring, fraksi yang menghasilkan nilai R_f sama pada plat silika digabung menjadi satu fraksi. KLT dilakukan dengan menggunakan sistem campuran eluen berupa pelarut yang sesuai yaitu dapat berupa kombinasi antara *n*-heksana dan etil asetat dengan persentase yang sesuai. Sampel yang akan diKLT terlebih dahulu dilarutkan menggunakan aseton, kemudian sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler ke permukaan plat silika. Setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT, bercak/noda dilihat dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Hasil kromatogram tersebut kemudian disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda hasil KLT. R_f (*Retention factor*) dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang menghasilkan nilai R_f yang sama pada plat silika digabungkan lalu dipekatkan kemudian difraksinasi lebih lanjut hingga diperoleh isolat murni yang ditunjukkan dengan noda/spot tunggal pada plat silika.

c. Kromatografi kolom gravitasi (KKG)

Hasil fraksinasi dari KCV dengan analisis KLT selanjutnya difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG) karena jumlahnya menjadi lebih sedikit. Pada KKG digunakan silika gel Merck (35-70 Mesh) sebagai adsorben (fase diam). Silika gel dilarutkan dan diaduk dalam pelarut yang

akan digunakan dalam proses pengelusian hingga berbentuk bubur (*slurry*). Campuran atau *slurry* tersebut dimasukkan ke dalam kolom hingga kerapatannya maksimum (tidak terdapat rongga) dan rata. Kemudian sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi adsorben (fasa diam). Pada saat sampel dimasukkan, usahakan agar kolom tidak kering/kehabisan pelarut karena akan mempengaruhi kerapatan fasa diam yang telah dikemas rapat sehingga proses elusi tidak akan terganggu.

4. Analisis kemurnian

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode KLT dan uji titik leleh. Analisis kemurnian secara KLT menggunakan berbagai campuran fase gerak (eluen), seperti *n*-heksana, kloroform, etil asetat dan metanol. Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan, dengan pengamatan noda dilakukan di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 336 nm kemudian disemprot menggunakan larutan serium sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal, maka isolat tersebut relatif murni secara KLT, bahwa isolat tersebut mengandung satu jenis senyawa (Asih, 2009).

Pada uji titik leleh, sebelum dilakukan pengukuran, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor yang ada. Pengotor dapat berpengaruh terhadap temperatur titik leleh seharusnya dengan cara menaikkan atau menurunkan temperatur titik leleh kristal. Selanjutnya, untuk kristal yang

berukuran besar, kristal terlebih dahulu digerus hingga berbentuk serbuk. Kemudian kristal yang akan ditentukan titik lelehnya diambil sedikit dengan menggunakan pipet kapiler, alat dihidupkan dan titik leleh diamati dengan bantuan kaca pembesar. Suhu pada saat kristal pertama kali meleleh, itulah titik leleh dari senyawa tersebut. Pengukuran titik leleh dilakukan sebanyak tiga kali. Apabila menunjukkan titik leleh yang sama, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa yang diperoleh sudah murni.

5. Analisis struktur

Isolat murni yang telah diperoleh dalam bentuk kristal kemudian di analisis strukturnya dengan beberapa alat spektrofotometer dan dibandingkan dengan literatur sehingga dapat diketahui nama dan struktur dari kristal murni tersebut.

a. Spektrofotometer UV-Vis

Sampel berupa kristal murni hasil isolasi diambil sebanyak 0,001 g dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran. Pada pengukuran spektrofotometer UV-Vis digunakan beberapa pereaksi geser untuk menentukan kedudukan gugus hidroksi fenol pada senyawa flavonoid dengan cara mengamati pergeseran puncak yang terjadi. Larutan persediaan dibagi menjadi beberapa bagian. Bagian I diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Kemudian masing-masing larutan persediaan ditambah dengan pereaksi-pereaksi geser seperti natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 gr NaOH dilarutkan dalam 10 mL

akuades), aluminium klorida (AlCl_3) 5% (0,25 gram AlCl_3 dilarutkan dalam 5 mL MeOH), HCl 50% (5 mL HCl dalam 10 mL akuades) dan padatan natrium asetat (NaOAc). Lalu masing-masing larutan tersebut diukur serapan maksimumnya.

b. Spektrofotometer Inframerah

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni dibebaskan dari air lalu digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Gerasan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm^2 . Kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya.

6. 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. 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 dibuat variasi tiga konsentrasi: 0,5 mg/*disk*; 0,4 mg/*disk* dan 0,3 mg/*disk*. Kristal sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150 μL , kemudian diambil 50 μL ; 40 μL ; dan 30 μL untuk ditotolkan ke dalam *paper disk*.

Pada uji antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* digunakan kontrol positif berupa *amoxycillin*, sedangkan uji antibakteri terhadap *Escherichia coli* digunakan kontrol positif berupa *chloramphenicol*. *Chloramphenicol* dan *amoxycillin* dibuat tiga variasi konsentrasi: 0,15 mg/disk; 0,10 mg/disk; 0,05 mg/disk. Padatan untuk kontrol positif sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 500 μ L metanol pro analisis, kemudian diambil 50 μ L; 33,3 μ L; 16,7 μ L untuk ditotolkan ke dalam *paper disk*.

Alat dan bahan yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam *laminar air flow*. Media agar 15 mL/tabung reaksi dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah media keras, dimasukkan media agar 5 mL yang sudah ditambahkan dengan akuades berisi bakteri sebanyak 1 ose. Kemudian *paper disk* yang berisi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam media yang telah dibuat. Cawan petri ditutup dengan *plastic wrap* dan kertas kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 1x24 jam. Setelah 1x24 jam, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur diameternya.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

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

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa murni yang diperkirakan sebagai senyawa flavonoid jenis calkon dari kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) sebanyak 15 mg dan memiliki sifat fisik berupa padatan amorf berwarna kuning dengan titik leleh 122-125°C.
2. Senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan kategori kuat pada konsentrasi 0,3 mg/disk, 0,4 mg/disk, dan 0,5 mg/disk.
3. Senyawa hasil isolasi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan kategori kuat pada konsentrasi 0,3 mg/disk, 0,4 mg/disk, dan 0,5 mg/disk.

B. Saran

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

1. Penelitian lebih lanjut terhadap sampel kayu akar tumbuhan puda (*Artocarpus kemando* Miq.) perlu dilakukan sehingga memperoleh informasi lebih tentang jenis senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya.
2. Melakukan analisis spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) meliputi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR untuk membuktikan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa flavonoid jenis calkon .
3. Melakukan pengulangan pada uji bioaktivitas antibakteri senyawa flavonoid jenis calkon yang dihasilkan dari isolasi kayu akar tumbuhan puda (*Artocarpus kemando* Miq.).

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm. 2-17.
- Achmad, S.A., E.H. Hakim, L.D. Juliawati, L. Makmur, Suyatno, N. Aimi, dan E.L. Ghisalberti. 1996. New Prenylated Flavone from *Artocarpus champeden*. *J. Nat. Prod.* **59**: 878-879.
- Arifah, I.N. 2010. *Analisis Mikrobiologi pada Makanan*. Fakultas Pertanian Universitas Negeri Sebelas Maret. Surakarta.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press. Bandung.
- Almutairi, M.F. 2011. The Incidence of Enterobacteriaceae Causing Food Poisoning in Some Meat Products. *J. Food Science and Technology.* **3(2)**: 116-121.
- Anam, C., Sirojudin, dan Firdausi K.S. 2007. Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR. *J. Fisika FMIPA Undip.* **10(1)**: 79-85.
- Ashok, K., Gousia, Anupama M., dan Naveena L.L. 2001. A Review on Phytochemical Constituents and Biological Assays of *Averrhoa bilimbi*. *Urp. J.* **3(4)**: 136-139.
- Asih, A. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycin max*). *J. Kimia FMIPA Universitas Udayana*. Bukit Jimbaran, Bali.

- Azizah, D.N., K. Endang, dan F. Fahrauk. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *J. Ilmiah Farmasi*. **2**(2): 45-49.
- Baliga, M. S., A. R. Shivashankara, R. Haniadka, J. Dsouza, dan H.P. Bhat. 2011. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (Jackfruit): A review. *Food. Res. Int.* **44**(7): 1800-1811.
- Bettelheim, K.A. 2000. Role of Non O157 VTEC. *J. Appl. Symp. Microbial. Suppl.*
- Boonlaksiri, C., W.Oonant, P. Kongsaree, P. Kittakooop, M. Tanticharoen, dan Y. Thebtaranonth. 2000. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. *Phytochemistry*. **54**(4):415-417.
- Braithwaite, A. dan Smith, F.J. 1995. *Chromatographic Methods*. Kluwer Academic Publishers. London.
- Cannell, R.J.P. 1998. *Natural Product Isolation*. Humana Press. Totowa, New Jersey.
- Carbonaro, M. 2005. Absorption of Quercetin and Rutin in Rat Small Intestin. *Annals Nutrition and Metabolism*. **49**: 178-182.
- Chan, S.C., Ko H.H., dan Lin C.N. 2003. New Prenylflavonoids from *Artocarpus communis*. *J. Nat. Prod.* **66**: 427-430.
- Chen, C.Y., M. J. Cheng, S.H. Kuo, S. Y. Kuo, dan W. L. Lo. 2010. Secondary metabolites from stems of *Artocarpus heterophyllus*. *Chem. Nat. Compounds*. **46** (4): 638-640.
- Christian, Gary D. 1994. *Analytical Chemistry Fifth Edition*. University of Washington Jhon Wiley and Sons. USA.
- Chun-Nan, Lin dan Weng, Liang Shieh. 1990. Prenylflavonoids and Piranodihydrobenzoxantone from *Artocarpus communis*. *Phytochemistry*. **30**: 1669-1671.
- Chusnie, T.T.P. dan Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **26**: 343-356.

- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*. Salemba Medika. Jakarta.
- Darmawati, A.A.S.K, Bawa I.G.A.G., dan Suirta I.W. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lmk.) dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J. Kimia FMIPA Universitas Udayana*. **9**(2): 203-210.
- Day, R.A. dan Underwood, A.L. 1981. *Analisa Kimia Kuantitatif Edisi Keempat*. Erlangga. Jakarta.
- Deinstrop, dan Elke. 2007. *Applied Thin-Layer Chromatography, Best Practice and Avoidance of Mistakes*. Wiley-VCA. Jerman.
- Djamilah, A. 2010. Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Serta Uji Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis*). (Tesis). Universitas Indonesia. Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1985. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djembatan. Malang.
- Ee, G.C.L., Teo S.H., Rahmani M., Lim C.K., Lim Y.M., dan Go R. 2011. Artomandin, A New Xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae). *J. Nat. Prod.* **25**(10): 995-1003.
- Ersam, T. 2001. Senyawa Kimia Mikromolekul Beberapa Tumbuhan *Artocarpus* Hutan Tropika Sumatera Barat. (Disertasi). ITB. Bandung.
- Ersam, T. 2004. Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami. *Prosiding Seminar Nasional Kimia VI*. ITS. Surabaya. Hlm. 4.
- Fessenden, R.J. dan J. S., Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Alih Bahasa Hadyana Pujaatmaka. Erlangga. Jakarta.
- Gandjar, I.B. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Ghisalberti, E.L. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and structural Determination*. Taylor and Francis Group. Inc. USA.

- Gritter, R.J., J.M. Bobbit, dan A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa K. Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. Hlm. 266.
- Hafid, A.F., N.P. Ariantari, L. Tumewu, A.R. Hidayati, dan A. Widyawaruyanti. 2012. The Active Marker Compound Identification of *Artocarpus champeden* spreng Stembark Extract, Morachalcone A as Antimalarial. *J. Pharm Sci.* **5**: 246-249.
- Hakim, E.H., E.E. Marlina, D. Mujahidin, S.A. Achmad, E.L. Ghisalberty, dan L. Makmur. 1998. Artokarpin dan Heteroflavanon A, Dua Senyawa Flavanoid Bioaktif dari *Artocarpus champeden*. *L. P. ITB*. Bandung.
- Hakim, E.H., A. Aripin, A. Fahriyati, M.S. Kau, S.A. Achmad, L. Makmur, E.L. Ghisalberty, dan T. Nomura. 1999. Artoindonesianins A and B, two new prenylated flavones from the root of *Artocarpus champeden*. *J. Nat. Prod.* **62**: 613-615.
- Hakim, E.H., A. Valentina, L. Makmur, S.A. Achmad, N. Aimi, M. Kitajima, D. Mujahidin, Y.M. Syah, dan H. Takayama. 2001. Suatu Senyawa Stilben Terprenilasi dari Kayu Akar Tumbuhan *Artocarpus altilis*. *Proc. ITB.* **33**(3): 75-80.
- Hakim, A. 2010. Diversity of secondary metabolites from Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Bioteknologi.* **2**(3): 146-156.
- Hakim, A. 2011. Aktivitas Antimalaria dan Analisis Metabolit Sekunder Kayu dan Kulit Batang *Artocarpus odoratissimus* Blanco (Moraceae). *J. Bahan Alam Indonesia.* **7**(6): 302-305.
- Hannif, Mulyani, S., dan Kusचितawaty. 2011. Faktor Resiko Diare Akut pada Balita. *J. Berita Kedokteran Masyarakat.* **27**: 10-17.
- Hano, Y., R., Inami, dan T., Nomura. 1993. Constituents of the Moraceae Plants 18. Components of the Bark of *Artocarpus rigida* BI. 2. Structures of Four New Isoprenylated Flavone Derivatives Artonins M, N, O and P. *Heterocycles*, **35**: 1341-1350.
- Hano, Y., R. Inami, dan T. Nomura. 1994. A Novel Flavone, Artonin V from the Root Bark of *Artocarpus altilis*. *J. Chem Research.* Hlm. 348-349.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Edisi Ke dua*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung.
- Hernawan. 2008. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang *Artocarpus rigida*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Heyne, K.1987. *Useful Plants of Indonesia II*. Penerbit Badan Litbang Kehutanan. Jakarta.
- Hidayah, R.N. 2010. Standarisasi Ekstrak Metanol Kulit Kayu Nangka. (Skripsi). Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah Surakarta. Surakarta.
- Hostettman, K., M. Hostettman, dan A. Manson. 1995. *Cara kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih bahasa K. Padmawinata. ITB. Bandung. Hlm. 27-34.
- Jagtap, U.B. dan V. A. Bapat. 2010. *Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology*. *J. Ethnopharmacol.* **129**(2): 142-166.
- Jawetz, E., Melnick J.L, dan Adelberg E.A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Ed 23*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 233-235.
- Jawetz, E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. EGC. Jakarta.
- Jayasinghe, L. B., Balasooriya, W.C. Padmini, N. Hara, dan Y. Fujimoto. 2004. Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging. *Phytochemistry.* **65**(9): 1287-1290.
- Johnson, L.E. dan R., Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung. Hlm. 365.
- Judd, Walter, Campbell, Christopher, Kellog, Elizabeth, A. Steev, Peter F., dan Donoghue Michael J. 2008. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*. Sinauer Associated. Inc. Sunderland.
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Buku Pedoman Pengendalian Penyakit Diare*. Direktorat Jendral Pengendalian dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta.

- Khan, M.R., A.D.Omoloso, dan M. Kihara. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*. **74**(5): 501-505.
- Kosim, M. dan Putra, S.R. 2010. Pengaruh Suhu pada Protease dari *Bacillus subtilis*. (Skripsi). Fakultas MIPA ITS. Surabaya.
- Lestari, T. 2009. Dampak Konversi Lahan Pertanian Bagi Taraf Hidup Petani. (Skripsi). IPB. Bogor.
- Li, H., Wang Z., dan Liu Y. 2003. Review in the Studies on Tannins Activity of Cancer Prevention and Anticancer. *Zhong Yao Cai*. **26**(6): 444-448.
- Lin C. N., C. M. Lu, dan P.L Huang. 1995. Flavonoids from *Artocarpus heterophyllus*. *Phytochem*. **39**: 1447-1451.
- Mabry, T.J., K.R. Markham, dan M.B. Thomas. 1970. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer Verlag. Berlin.
- Makmur, L., Syamsurizal, Tukiran, Y. Syamsu, S.A. Ahmad, N. Aimi, E.H. Hakim, M. Kitajima, D. Mujahidin, dan H. Takayama. 1999. Artonol B dan Sikloartobilosanton dari Tumbuhan *Artocarpus teysmanii* Miq. *Proc. ITB*. **31**(2) : 63-68.
- Makmur, L., Syamsurizal, Tukiran, S.A. Ahmad, N. Aimi, E.H. Hakim, M. Kitajima, dan H. Takayama. 2000. Artoindonesianin C, A New Xanthone Derivative from *Artocarpus teysmanii*. *J. Nat. Prod*. **63**: 243-244.
- Mandia, S., M. Purnamasari, H. Kurniawan, E. Magdaulih, R. Helvetia, B. Suveltri, R. Anugrah, dan A.S. Dewi. 2010. *Studi Flora Jeni-jenis Tumbuhan di Jorong Lubuk Selasih, Kanagarian Batang Barus, Kecamatan Aro Suka, Kabupaten Solok, Sumatera Barat*. Universitas Andalas. Padang.
- Marcott, C. 1986. *Material Characterization Hand Book Infrared Spektroskopi*. ASM. International. Amerika. Hlm. **10**.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 117.

- Monem, M.A., E.A. Mohamed, E.T. Awad, A.H.M. Ramadan, dan H.A. Mahmud. 2014. Multiplex PCR as Emerging Technique for Diagnosis of Enterotoxigenic *E. coli* Isolate from Pediatric Watery Diarrhea. *J. American Science*. **10**(10).
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kesehatan*. **7**(2): 361-367.
- Mulyani, S., P. Ardiningsih, dan A. Jayuska. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*). *J. Kimia Khatulistiwa*. **5**(1): 36-43.
- Musthapa, I. 2009. Keanekaragaman Metabolit Sekunder Turunan Fenol dari Beberapa Spesies Tumbuhan *Artocarpus* Asal Indonesia Serta Aktivitas Biologinya. (Disertasi). ITB. Bandung.
- Nasution, R., T. Barus, P. Nasution, dan N. Saidi. 2014. Isolation and Structure Elucidation of Steroid from Leaves of *Artocarpus camansi* (Kulu) as Antidiabetic. *International Journal of Pharmtech Research*. **6**(4): 1279-1285.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*. **2**: 76-83.
- Nomura, T., Y. Hano, dan M. Aida. 1998. Isoprenoid-Substituted Flavonoids From *Artocarpus* Plants (Moraceae). *Heterocycles*. **47**(2): 1184-1199.
- Pangestu, A. dan Handayani, S.W. 2011. *Rotary Evaporator and Ultraviolet Lamp*. IPB. Bogor.
- Patil, A.D., Freyer A.J., Killmer L., Offen P., Taylor P.B., Votta B.J., dan Johnson R.K. 2002. A New Dimeric Dihydrocalcone and A New Prenylated Flavone from the Bud Covers of *Artocarpus altilis*, Potent inhibitors of Cathepsin K. *J.Nat.Prod*. **65**: 624-627.
- Rahmaningsih, S., Willis S., dan Mulyana A. 2012. Bakteri Patogen dari Perairan Pantai dan Kawasan Tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia*. **12**(1): 1-5.

- Rajalakshmi, D. dan Narasimhan, S. 1985. Food Antioxidants : Sources and Methods of Evaluation. *J. Technological Toxilogical and Health Perspectives*. Hlm. 76-77.
- Ramadhani, A.N. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Roth, H.J. 1994. *Analisis Farmasi, cetakan ke dua*. Diterjemahkan oleh Sardjono Kisman Dan Slamet Ibrahim. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Rowell, R. M., J. F. Philips, dan G. O. William. 1993. *Cellulosic : Pulp, Fiber and Environment Acept*. Kennedy. Ellis Horwood. London.
- Rustama, M.M. dan Lingga, M.A. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus sp.*), dan Udang Rebon (*Mysis acetes*). *J. Biotika*. 5(2): 35-40.
- Salle, A.J. 1991. *Fundamental Principles of Bacteriology Fifth Edition*. New York.
- Saputra. 2000. *Terapi Biologi untuk Kanker*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sarker, Satyajit D., Latif, Zahid, dan Gray Alezdaner I. 2006. *Method in Biotechnology: Natural Product Isolation Twenty Edition*. Humana Press. New Jersey.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 1985. *Kromatografi Edisi I Cetakan I*. Liberty. Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. Hlm. 35-36.

- Seo, E.K., D. Lee, Y.G.Shin, H.B. Chai, H.A. Navarro, L.B. Kardono, I. Rahman, G. A. Cordell, N. R. Farnsworth, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, M. C. Wani, dan M.E. Wall. 2003. Bioactive prenylated flavonoids from the stem bark of *Artocarpus kemando*. *Archives of Pharmacal Research*. **26**(2): 124–127.
- Sridhar, S., Dinda S.C., dan Prasad Y.R. 2011. Synthesis and Biological Evaluation of Some New Chalcones Containing 2,5-Dimethylfuran Moiety. *E-Journal of chemistry*. **8**(2): 541-546.
- Stahl, E.1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Makroskopi*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung.
- Suhartati, T. dan Yandri, A.S. 2007. Sikloartobilosanton dari Kulit Batang dan Flavonoid dalam Beberapa Bagian Tumbuhan *Artocarpus dadah* yang Tumbuh di Lampung. *J. Sains MIPA*. **13**(2): 82-86.
- Suhartati, T., Yandri A.S., J. F. Suwandi, dan S. Hadi. 2010. *In vitro* and *in vivo* antiplasmodial activity of oxyresveratrol and artonine isolated from two *Artocarpus* plants in Indonesia. *Orient. J. Che*. **26**(3): 825-830.
- Suhartati, T. 2001. Senyawa Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia. (Disertasi). Penerbit ITB. Bandung. Hlm 109-111.
- Talaro, K. P. 2002. *Foundations in Microbiology Fourth Edition*. Mc Graw Hill. New York. Hlm 804-805.
- Tasmin, N., Erwin, dan I.W. Kusuma. 2014. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*Artocarpus Odoratissimus* Blanco). *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Mulawarman*. **12**(1): 45-47.
- Teo, S. H., G. C. L. Ee, C. K. Lim, M. Rahmani, dan C. F. J. Bong. 2010. Chemical Constituents of *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Asian J. Chem*. **23**(1): 74-76.
- Tijtrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan Cetakan I*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

- Udjiana, S. Sigit, S.A. Achmad, Murniana, E.H. Hakim, dan L. Makmur. 1998. Tiga Senyawa Flavan-3-ol dari Tumbuhan *Artocarpus reticulatus*. *Proc. ITB*. **30**(2): 2-7.
- Wahyuni, T.S. dan Widyawaruyanti, A. 2009. Efek Isolat Aktif Antimalaria dari *Artocarpus champeden* Terhadap Eritrosit Terinfeksi *Plasmodium falciparum*. *J. Penelit. M. Eksakta*. **8**(2): 89-93.
- Wang, Y., Kedi X., Lin L., Yuanjiang P., dan X. Zheng. 2007. Geranyl Flavonoids From the Leaves of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry*. **68**:1300-1306.
- Widyawaruyanti, A., N.C. Zaini, dan Syafruddin. 2011. Antimalarial Activity and Mechanism of Action of Flavonoid Compounds Isolated from *Artocarpus champeden* Spreng Stembark. *J.Bina Praja*.**13**(2): 67-77.
- Wijesekera, R.O.B. 1991. *Plant-derived Medicines and Their Role in Global Health in the Medicine Plant Industry*. C.R.C. Press. Inc. Florida.