

**Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa
Flavonoid Dari Fraksi Semi Polar Kulit Akar Tumbuhan Puda
(*Artocarpus kemandu* Miq.)**

(Skripsi)

Oleh

INGGIT BORISHA



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

2017

ABSTRACT

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

By

Inggit Borisha

Artocarpus kemando Miq. is one of genus *Artocarpus* from Moraceae family. This study has concerned about isolation and identification of flavonoid compound from semi polar fraction root bark of pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) which is obtained from Karang Anyar, Klaten, Penengahan, Lampung Selatan. Extraction method was using methanol. Compound isolation was using Chromatography method Liquid Vacuum Chromathography (VLC) and Column Chromatography, moreover characterization of molecular structure based on spectrum data of UV-Vis and Infrared. Isolated compound formed yellowish crystal with melting point 248-251°C. Based on spectroscopy data analysis (UV-Vis and IR) showed that the yield was artonin M compound (8.8 mg) from semi polar fraction root bark pudau (*Artocarpus kemando* Miq.). Bioactivity antibacterial assay with various concentration 0.3; 0.4; 0.5 mg/disk showed that there was bioactivity strong categorize antibacterial activity against *Bacillus subtilis* and mild antibacterial activity against *Escherichia coli*.

Keywords: *Artocarpus kemando* Miq., artonin M, *Bacillus subtilis*, flavonoid, *Escherichia coli*, Moraceae.

ABSTRAK

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI SEMI POLAR KULIT AKAR TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

Oleh

Inggit Borisha

Tumbuhan *Artocarpus kemando* Miq. termasuk dalam genus *Artocarpus* dari famili Moraceae. Pada penelitian ini berfokus pada tahapan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid yang terkandung dalam fraksi semi polar kulit akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) yang diperoleh dari Karang Anyar, Klaten, Penengahan, Lampung Selatan. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Isolasi senyawa dilakukan dengan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom, sedangkan struktur molekul senyawa tersebut diidentifikasi berdasarkan spektrum (UV-Vis dan IR). Senyawa hasil isolasi yang diperoleh berupa kristal berwarna kuning dengan titik leleh 248-251°C. Berdasarkan hasil analisis spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi IR menunjukkan bahwa telah berhasil diisolasi suatu senyawa artonin M 8,8 mg dari fraksi semi polar kulit akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.). Uji bioaktivitas dari senyawa hasil isolasi dengan variasi konsentrasi 0,3; 0,4; 0,5 mg/disk adanya aktivitas antibakteri kuat terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan sedang terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci: *Artocarpus kemando* Miq., artonin M, *Bacillus subtilis*, flavonoid, *Escherichia coli*, Moraceae.

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

Oleh

INGGIT BORISHA

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

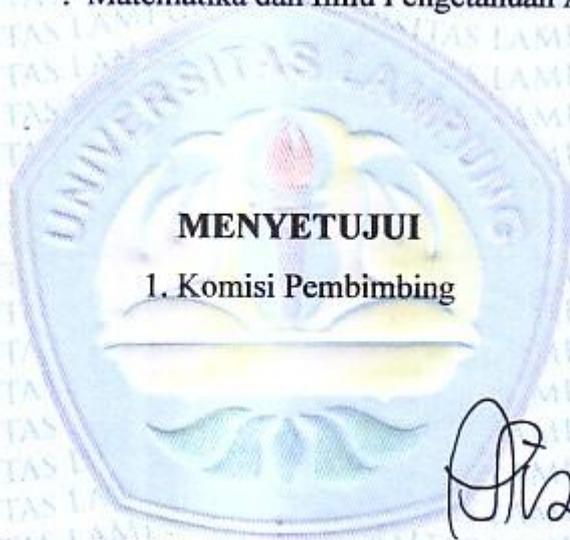
Judul Skripsi : **ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI
BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA
FLAVONOID DARI FRAKSI SEMI POLAR
KULIT AKAR TUMBUHAN PUDAU
(*Artocarpus kemando* Miq.)**

Nama Mahasiswa : **Inggit Borisha**

No. Pokok Mahasiswa : 1317011029

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP 19731119 199802 2 001

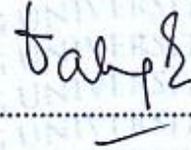
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

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

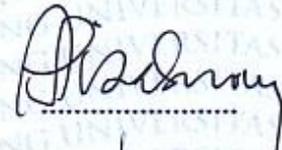
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

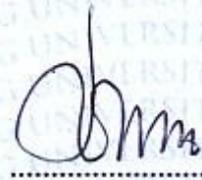
Ketua : Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.



Sekretaris : Dr. Noviany, S.Si., M.Si.

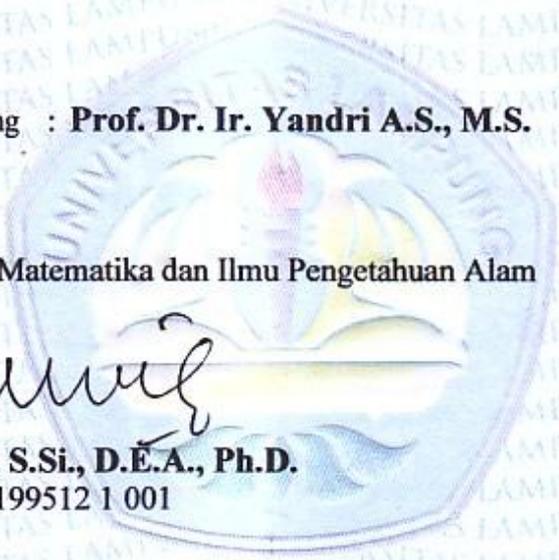
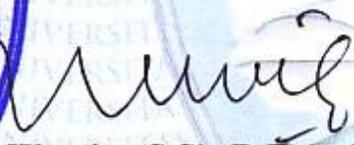


**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 November 2017

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 14 November 1995, anak dari Ibu Sari Perpindayani dan Bapak Basori Abas. Penulis mulai menempuh pendidikan dimulai pada tahun 2000 di TK Ismaria Al Qur'aniyah Rajabasa lalu melanjutkan di SD Negeri 2 Labuhan Ratu kecamatan Kedaton kota Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2007, Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 08 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2010. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 9 Bandar Lampung dan lulus tahun 2013. Penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Lampung Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam jurusan Kimia pada tahun 2013 melalui Jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan di kampus penulis pernah menjadi Asisten Praktikum pada praktikum Kimia Dasar pada tahun 2015/2016, Kimia Organik I pada tahun 2016/2017 Kimia Organik II pada tahun 2016/2017, dan Kimia Organik I pada tahun 2017/2018. Pengalaman organisasi penulis dimulai sejak menjadi Kader Muda Himaki tahun 2013/2014 dan *new member* UKM-U *English Society* Universitas Lampung (ESo

Unila). Penulis pernah menjadi Anggota Bidang Sains dan Penalaran Ilmu Kimia (SPIK) HIMAKI FMIPA Unila, *Head of Homebase and Administration Department* ESo Unila pada tahun 2015, *Deputy of Head Education Department* ESo Unila pada tahun 2016.

MOTTO HIDUP

"Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di jalan Allah "

(HR. Tarmidzi)

"Karena sebaik-baiknya barang dan manusia adalah yang banyak manfaatnya...."

(Pak Gundul - Ngopi Yuk!)

"Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar"

(Q.S. 2:153)

"Barang siapa menempuh suatu jalan untuk menuntut ilmu maka Allah akan memudahkan jalan menuju surga kepada-Nya"

(H.R. Bukhori)

"Whenever, whatever, wherever, just enjoy your life and being grateful for everything"

(Penulis)



بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

"Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang"

Atas Rahmat Allah SWT
Kupersembahkan Karya sederhanaku ini

Teruntuk

Kedua Orang Tuaku tercinta
yang senantiasa memberikan do'a, kasih sayang, dukungan, motivasi
dan semangat kepada adinda selama ini, semoga Allah SWT memberikan
kesehatan dan perlindungan kepada Ibu dan Bapak

Kakak-kakakku beserta keluarganya , semoga kita diberikan jalan menuju
kehidupan yang lebih baik

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. dan semua Dosen Jurusan Kimia yang telah
membimbing dan mendidik adinda selama menempuh pendidikan di kampus

Seluruh keluarga besarku, sahabatku dan
Partner yang telah mendampingi dan melengkapi hidupku dengan warna

Almamater tercinta
Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillah tsummal hamdulillah, segala puji hanya bagi Allah, *Rabb* semesta alam yang telah memberikan nikmat-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI SEMI POLAR KULIT AKAR TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)**. Bacaan *Allahumma sholli wasallim wabaarik 'alaihi* semoga tetap terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang memberikan syafa'atnya kepada seluruh umatnya di dunia dan di akhirat, Aamiin.

Teriring do'a yang tulus, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kedua orang tuaku tercinta, Basori Abas dan Sari Perpindayani yang telah merawat, membesarkan, dan mendidik penulis dengan kasih sayang kesabaran, dan penuh pengorbanan. Keduanya adalah alasan penulis hidup di dunia, karya kecil ini penulis persembahkan kepada bapak dan ibu sebagai bukti sepenggal cinta dari penulis.
2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati M.S. selaku pembimbing I penulis yang telah membimbing, mendidik, dan mengarahkan penulis dengan kesabaran dan

kasih sayang yang tulus sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga barokah Allah selalu menyertai beliau.

3. Ibu Noviany, Ph.D. selaku pembimbing II penulis yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri AS., M.S. selaku pembahas penulis yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan nasihat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah membalasnya dengan keberkahan.
5. Ibu Noviany, Ph.D. selaku pembimbing akademik penulis yang telah memberikan motivasi, arahan, dan nasihat sehingga penulis dapat menempuh pendidikan dengan baik di Jurusan Kimia FMIPA Unila. Semoga Allah selalu memberikan rahmat kepadanya.
6. Bapak Heri Satria, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik pertama penulis yang selalu memberikam semangat, motivasi, dan nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di Jurusan Kimia FMIPA Unila. Semoga Allah selalu memberikan rahmat, keberkahan, dan kebaikan kepada beliau.
7. Bapak Prof. Warsito, Ph.D. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila dan seluruh Bapak/Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah mendidik dan memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis.

9. Mbak Wiwit, Pak Gani, Mbak Ani, Mbak Liza, Uni Kidas, Mas Nomo, Pak Man, Pak John, Uni Gus, Mbak Umi terimakasih atas bantuan, canda dan tawa kepada penulis selama mengerjakan tugas akhir ini.
10. Kepada kakak-kakakku tercinta yang telah memberikan semangat, dukungan, terkadang hadiah dan keceriaan kepada penulis, semoga barokah Allah selalu menyertai mereka.
11. Teruntuk semua keluarga besarku serta sepupu-sepupuku terimakasih atas support dan motivasi yang telah diberikan, semoga Allah selalu melindungi.
12. Partner penelitianku lima pandawa Nurul Fatimah, S.Si. (Bigboss/Nakula), Badiatul Niqmah, S.Si. (Queen/Arjuna), Vicka Andini, S.Si. (Mbloo/Bima), dan Arni Nadiya Ardelita (S.Si. soon mbak Arni/ Yudhistira). yang telah memberikan semangat, canda, tawa, dan dukungan kepada penulis, semoga Allah selalu memberikan kelancaran dan barokah kepada mereka, abis ini kita gak boleh ilang kontak ya musti tetep kontak-kontakan dan tetep jalin tali persaudaraan.
13. Sahabat – sahabat seperjuangan ku di Laboratorium Kimia Organik Wahyuni Dewi Lestari, Vicka Andini, Nurul Fatimah, Anggun Ferlia Sari, Nita Yuliyani, Arni Nadya Ardelita, Badiatul Niqmah, Aulia Pertiwi Tri Yuda, Erva Alhusna, Nessia Kurnia. Terimakasih atas canda dan tawa serta motivasi untuk lulus bersama. Maafkan aku yang telah mendahului kalian, maaf aku bukan penghianat. Semoga kalian semua segera menyusul.
14. Spesial teruntuk sahabat dan teman terbaik dalam segala perkara Dewi Rumondang C.P.S., S.Si., Ulina Mazaya Ghaisani, S.Ked., Puteri Meita M., S.E., Arienda Mustikawati, Dina Else Fernandu, S.Pd., dan teman-teman

lainnya yang penulis tidak dapat sebutkan satu per satu, yang selalu memberikan nasihat, keceriaan serta mengingatkan penulis dengan ketulusan hati dan kesabaran apabila penulis melakukan kesalahan selama ini. Semoga Allah membalasnya dengan keberkahan.

15. Spesial juga untuk keluargaku tercinta kimia 2013, (CHETIR), Atun, Lulu, Anggi, Dona, Diky, Paul, Siti, Celli, Citra, Dian, Erva, Fatimah, Fika, Khalimah, Febri, Indah, Maya, Megafhit, Mia, Nabilla, Nita, Riyan W, Shelta, Gita, Nisa, Vicka, Wahyuni, Yuvica, Eky, Ana, Aulia, Widya, Awan, Arief, Dewi, Korina, Esti, Nora, Fera, Vyna, Bara, Yunitri, Dilla, Badi, Nova, Linda, Shela, Renita, Ridho, Kurnia, Nurma, Ismi, Eka, Herma, Ines, Anita, Oci, Yulia, Murnita, Fentri, Riska, Rian, Verdi, Dodi, Yolanda, Eka M, Nia, Uut, Nurul, Kiki, Netty, Gesa, Yuni, Tyas, Anggun, Mawar, Della, Radho, Arni, Mita, Sinta, Anton, Melita, Melia, Monica, Kartika, Ezra, dan Tika, terimakasih telah menjadi keluarga yang selalu memberikan keceriaan dan kasih sayang kepada penulis. Semoga tali silaturahmi kita tetap terjaga, dan semoga kita semua sukses.
16. Kakak satu bimbingan Kak Ismi, Kak Ajeng, Kak Susi, Kak Dona, Kak Rio dan Kak Nawan. Terima kasih atas ilmu dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
17. Kakak selaboratorium Kimia Organik serta adik adik laboratorium Mba Ajeng, Mba Susy, Mba Dona, Mba Ningrum, Kak Arif, Kak Radius, Kak Tri, Laili, Herda, Kartika, Elisabeth, Gabriel, Astriva, Laili, Herda, Dicky, Risa, Wahyu, Ela dan Rizki fijar. Terimakasih atas kerjasama dalam lab nya. Semoga allah selalu melindungi kalian semua.

18. Spesial juga untuk teman-teman KKN Desa Kuripan Marcel, Betris, Tika, Suci, Wayan, Kak Anwar, dan Aziz yang pernah memberikan keceriaan, semangat, dan dukungan kepada penulis. Semoga Allah membalasnya dengan keberkahan.
19. Teruntuk alumni, senior, member, temen satu angkatan, sampe dedek-dedek gemesh di UKM-U English Society Universitas Lampung penulis sangat berterima kasih atas segala motivasi, atas segala semangat, atas segala canda tawa, atas segala kenangan indah, atas segala pelajaran yang penulis dapatkan dari orang-orang semengagumkan kalian, penulis dapat di titik seperti ini atas bantuan, motivasi, support, dan do'a kalian semua. Semoga Allah selalu memberikan kebaikan kepada kalian semoga yang belum disegerakan yang sudah makin sukses dan yang lagi meniti jalan-jalan semoga Allah senantiasa membantu kalian.
20. Adik adik seimbangku, Laili, Herda, Elisabeth, Gabriel, Astriva, dan Kartika. Semoga kalian selalu sabar untuk menunggu dan menunggu. Tetap semangat mengejar S.Si nya.
21. Seluruh mahasiswa kimia angkatan 2011, 2012, 2014, 2015 dan 2016. Yang telah memberikan dukungan, senyuman, tawa, dan juga candaan-candaan. Semoga kita semua diberkahi Allah SWT.
22. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini namun penulis tidak dapat menyebutkan satu per satu.

Akhir kata, penulis memohon maaf kepada semua pihak apabila skripsi ini masih terdapat kesalahan dan kekeliruan, semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat sebagaimana mestinya, Aamiin.

Bandar Lampung, November 2017
Penulis

Inggit Borisha

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	6
C. Manfaat	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Moraceae	7
B. <i>Artocarpus</i>	8
C. <i>Artocarpus kemandu</i>	10
D. Metabolit Sekunder	11
1. Ciri-ciri metabolit sekunder	12
2. Aspek metabolit sekunder	13
E. Flavonoid	14
F. Proses Ekstraksi	19
1. Maserasi	19
G. Pemisahan Secara Kromatografi	20
1. Kromatografi Cair Vakum	22
2. Kromatografi Lapis Tipis	22
3. Kromatografi Kolom Gravitasi	25

H. Identifikasi Senyawa Organik Secara Spektroskopi	26
1. Spektroskopi UV-Vis	26
2. <i>Fourier Transform Infrared Spektroskopi</i>	29

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	32
B. Alat dan Bahan	33
1. Alat-alat yang digunakan	33
2. Bahan-bahan yang digunakan	33
C. Prosedur Penelitian	34
1. Persiapan dan pengumpulan sampel	34
2. Ekstraksi sampel dengan metode maserasi	35
3. Kromatografi	35
a. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	35
b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	36
c. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)	37
4. Analisis Kemurnian	38
5. Identifikasi Senyawa	38
a. <i>Fourier Transform Infrared (FT IR)</i>	38
b. Spektroskopi Ultraviolet – Tampak (UV Vis)	39
6. Uji Bioaktivitas	39
a. Antibakteri	39

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Senyawa Flavonoid	42
B. Penentuan Titik Leleh	57
C. Karakterisasi Penentuan Struktur Senyawa Organik	58
1. Spektroskopi Ultraviolet - Tampak (UV-Vis)	58
2. Spektrofotometri <i>Fourier-transform Infrared (FT-IR)</i>	63
D. Uji Bioaktivitas	67

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	70
B. Saran	71

DAFTAR PUSTAKA	72
-----------------------------	----

LAMPIRAN	78
1. Diagram Alir Metode Isolasi Senyawa	79
2. Diagram Alir Analisis Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi dan Uji Bioaktivitas Antibakteri	81
3. Kromatogram Lapis Tipis Fraksi KCV tahapan awal 1-8	82
4. Perhitungan Koefisien Absorbktivitas Molar	84
5. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Bioaktivitas Antibakteri	86
6. Hasil Determinasi Tumbuhan	87

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pelarut yang lazim dan penggunaannya	21
2. Korelasi Inframerah	30
3. Korelasi Inframerah berdasarkan ikatan	31
4. Pembagian fraksi dari masing-masing tahap KCV	45
5. Perbandingan Spektra UV-Vis senyawa standar artonin M dengan senyawa hasil isolasi	59
6. Perbandingan panjang gelombang (λ_{maks}) (nm) sampel dalam MeOH, MeOH + AlCl ₃ , dan MeOH + AlCl ₃ /HCl	60
7. Perbandingan panjang gelombang (λ_{maks}) (nm) sampel dalam MeOH, MeOH + NaOAc, dan MeOH + NaOAc/H ₃ BO ₃	61
8. Perbandingan panjang gelombang (λ_{maks}) (nm) sampel dalam MeOH, MeOH + NaOH	62
9. Perbandingan nilai serapan senyawa artonin M standar dengan Kristal C233KB	65
10. Hasil uji antibakteri <i>Bacillus subtilis</i> senyawa hasil isolasi	67
11. Hasil uji antibakteri <i>Escherichia coli</i> senyawa hasil isolasi	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Golongan Flavonoid yang berhasil diisolasi dari genus <i>Artocarpus</i>	10
2. Tumbuhan <i>Artocarpus kemando</i>	11
3. Kerangka Flavonoid secara umum	15
4. Pokok Biosintesis Flavonoid	16
5. Kromatogram lapis tipis (a) UV 254 nm (b) 365 nm ekstrak kasar dengan eluen <i>n</i> -heksana : EtOAc (6 : 4)	43
6. Proses elusi KCV (a) pengelusian sampel (b) fraksi hasil KCV	45
7. Kromatogram KLT pada fraksi penggabungan KCV	46
8. Kromatogram KLT Fraksi C yang telah di KCV.....	47
9. Kromatogram KLT (a) hasil KCV fraksi C2 (b) fraksi C22.....	48
10. Proses elusi KKG fraksi C22	49
11. Kromatogram KLT hasil KKG fraksi C22.....	49
12. Kromatogram KLT hasil KKG fraksi C22K1C	50
13. Kromatogram Kromatogram KLT kristal hasil isolasi dengan sistem 3 eluen (a) <i>n</i> -heksana : EtOAc 85% (b) <i>n</i> -heksana : Aseton 75% (c) <i>n</i> -heksana : Aseton : DCM 50%	51
14. Kromatogram KLT fraksi C23.....	52
15. Kromatogram KLT hasil KCV fraksi C23.....	53
16. Kromatogram KLT hasil KKG fraksi C233.....	53

17. Kromatogram KLT hasil KKG fraksi C233K1C	54
18. Kromatogram KLT hasil KKG fraksi C233K1D.....	55
19. Proses Elusi KKG fraksi C233K1B	55
20. Kromatogram KLT hasil KKG fraksi C233K1B	56
21. Kromatogram KLT kristal hasil isolasi dengan sistem 3 eluen (a) <i>n</i> -heksana : EtOAc 85% (b) <i>n</i> -heksana : Aseton 75% (c) <i>n</i> -heksana : Aseton : DCM 50%	56
22. Kromatogram KLT Kristal C233KB (a) <i>R_f</i> 0,23 (b) <i>R_f</i> 0,51 (c) <i>R_f</i> 0,89 ...	57
23. Spektrum UV- <i>Vis</i> Kristal C233KB dalam MeOH	58
24. Perbandingan Spektrum UV- <i>Vis</i> hasil isolasi dalam MeOH dan MeOH + AlCl ₃	60
25. Perbandingan spektrum UV- <i>Vis</i> hasil isolasi dalam MeOH MeOH + AlCl ₃ , dan MeOH + AlCl ₃ /HCl	60
26. Spektrum UV- <i>Vis</i> hasil isolasi dalam MeOH+ NaOAc	61
27. Perbandingan Spektrum UV- <i>Vis</i> hasil isolasi dalam MeOH + NaOAc dan MeOH + NaOAc/ H ₃ BO ₃	62
28. Spektrum UV- <i>Vis</i> hasil isolasi dalam MeOH + NaOH.....	63
29. Spektrum IR dari Kristal C233KB	64
30. Spektrum IR senyawa Artonin M standar	64
31. Perkiraan struktur senyawa Artonin M hasil isolasi	65
32. Hasil uji antibakteri <i>B. subtilis</i> Artonin M hasil isolasi dengan konsentrasi (a) 0,3 mg/disk, (b) 0,4 mg/disk, dan (c) 0,5 mg/disk	68
33. Hasil uji antibakteri <i>E. coli</i> Artonin M hasil isolasi dengan konsentrasi (a) 0,3 mg/disk, (b) 0,4 mg/disk, dan (c) 0,5 mg/disk	68

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan obat yang berasal dari tumbuhan (obat tradisional) telah digunakan sebagai penyembuhan berbagai penyakit sejak 4000 – 5000 Sebelum Masehi.

Menurut WHO sekitar 80% dari populasi dunia bergantung pada obat yang berasal dari tumbuhan sebagai kebutuhan kesehatan, dan lebih dari 30% dari persediaan kebutuhan farmasi berasal dari tumbuhan (Shinwari *and* Khan, 1998; Gulfraz *et al.*, 2006).

Studi mengenai sifat medis yang berasal dari komponen senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan di alam menjadi objek studi oleh para peneliti. Hal ini dapat diketahui dari pencapaian lebih dari 5600 tinjauan dan hasil studi biomedis yang terpublikasi. Seiring bertumbuhnya angka studi oleh para peneliti, dapat disimpulkan bahwa adanya peningkatan aspek dari segi farmasi dalam rangka produksi obat yang mampu menyembuhkan berbagai macam kondisi permasalahan kesehatan seperti kolesterol, penyakit mata, depresi, pencegahan stroke dan serangan jantung, nyeri otot, dan berbagai macam permasalahan inflamasi (Shamaun *et al.*, 2010).

Studi mengenai isolasi senyawa fenolik dari tumbuhan *Crataeva nurvala* yang dipercaya sebagai suplemen terhadap penyakit yang disebabkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Bhattacharjee *et al.*, 2014); isolasi senyawa flavonoid *Citrus sinensis* yang dipercaya sebagai anti-diabetes (Intekhab *and* Aslam, 2009); isolasi senyawa flavonoid dari daun *Acacia nilotica* yang dipercaya mempunyai banyak pengobatan (Bashir *et al.*, 2014); isolasi senyawa santon sebagai antioksidan, anti mikroba dan inhibitor tirosinase dari tumbuhan *Artocarpus obtusus* F.M. Jarrett (Hashim *et al.*, 2012) dan masih banyak lagi.

Banyak peneliti tertarik untuk melakukan studi penggunaan produk bahan alam sebagai bahan awal dalam penemuan obat dianggap mampu memberikan keuntungan pada banyak pengobatan terutama pada penyakit infeksi dan *oncology*, yang dikenal sebagai cabang dari ilmu kesehatan yang berfokus pada pencegahan, diagnosa dan pengobatan kanker. Sebesar 75% obat-obatan untuk penyakit infeksi dan 60% senyawa anti kanker yang berasal dari produk bahan alam dan derivat-derivatnya (McChesney *et al.*, 2007).

Konstituen alami dari tanaman berasal dari berbagai bagian dari tumbuhan seperti kulit, daun, bunga, akar, buah, dan biji karena berbagai macam bagian dari tumbuhan mengandung komponen aktif (Gordon *and* David, 2001). Tumbuhan mengandung senyawa yang berbeda seperti resin, getah, lilin, zat pewarna, rasa, aroma protein, asam amino, senyawa bioaktif peptida, fitohormon, gula, flavonoid, dan metabolit sekunder (Gulfraz *et al.*, 2006; Dicarlo *et al.*, 1999).

Berbicara mengenai alam, Indonesia dikenal sebagai negara kepulauan yang dilalui oleh garis khatulistiwa bumi, sehingga membuat Indonesia beriklim tropis,

dan dikenal sebagai Negara dengan keanekaragaman hayati terbesar setelah Brazil, karena adanya hutan hujan tropis yang tersebar di Pulau Jawa, P. Sumatera, dan P. Kalimantan. Setiap spesies tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme mempunyai kandungan senyawa kimia yang banyak jumlahnya sehingga memiliki nilai farmakologis karena adanya keanekaragaman senyawa kimia (Achmad, 1999).

Salah satu famili dari taksonomi tumbuhan yang terdapat di hutan hujan tropis yang telah diketahui berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif dan keberadaannya diketahui cukup luas adalah famili Moraceae. Famili Moraceae terdiri dari 60 genus di dalam klasifikasinya dengan 1400 species. Genus yang utama dari famili ini adalah *Artocarpus* yang memiliki sekitar 50 ragam spesies dan tersebar dari dataran Asia Selatan, Asia Tenggara hingga kepulauan Solomon, kepulauan Pasifik, Utara Australia, dan Amerika Tengah (Kochummen, 1987; Verheij and Coronel, 1992). Di Pulau Kalimantan terdiri dari 25 spesies dimana 13 diantaranya merupakan tumbuhan endemik namun hanya terdapat 2 spesies yang berhasil dimanfaatkan dan dipelajari oleh para peneliti yaitu *Artocarpus heterophyllus* dan *A. integer* (Verheij and Coronel, 1992).

Di Indonesia sendiri, genus *Artocarpus* dikenal sebagai nangka yang mempunyai karakteristik dengan pohon yang tinggi dan getah yang berwarna putih pada seluruh bagian tumbuhannya. Kebanyakan studi mempelajari mengenai tumbuhan jenis *Artocarpus communis* yang dikenal sebagai obat tradisional seperti daunnya mampu mengobati luka bakar jika dicampur dengan minyak kelapa, bunganya dapat digunakan sebagai penyembuh sakit gigi, sedangkan akarnya mampu menghentikan pendarahan (Kochummen 1987; Heyne 1987).

Beberapa spesies dari genus *Artocarpus* (Moraceae) telah dipelajari mengenai metabolit sekundernya yang berhasil diisolasi dari genus *Artocarpus* seperti terpenoid, flavonoid, stilbenoid, arilbenzofuran, neolignan, dan adisi Dies-Alder. Kelompok flavonoid ditemukan pada hampir semua tumbuhan *Artocarpus*, yang berhasil diisolasi oleh para peneliti dari *Artocarpus* terdiri dari variasi kerangka seperti calkon, flavonon, flavan-3-ol, flavon sederhana, prenilflavon, oksepinoflavon, dihidrobenzosanton, pironodihidrobenzosanton, kuinonosanton, siklopentenosanton, santonolid, dan dihidrosanton (Hakim, 2010).

Berdasarkan studi literatur diketahui beberapa spesies dari *Artocarpus* mengandung metabolit sekunder yang mempunyai efek fisiologis terhadap bioaktivitas seperti anti-bakteri (Khan *et al*, 2003), anti-platelet (Weng *et al*, 2006), anti jamur (Jayasinghe *et al*, 2004), anti malaria (Widyawaruyanti *et al*, 2007; Boonlaksiri *et al*, 2000) dan sitotoksik (Ko *et al.*, 2005; Judge *et al.*, 2002; Shah *et al.*, 2006). Bioaktivitas metabolit sekunder dari *Artocarpus* sebagai anti-malaria dapat menyajikan keuntungan dalam penemuan obat terbaru dari senyawa bahan alam yang diikuti dengan penjelasan secara ilmiah mengapa tanaman ini dipercaya sebagai pengobatan tradisional.

Studi mengenai *Artocarpus kemando* telah dilakukan menggunakan bagian tumbuhan yaitu kulit batang dengan berbagai macam variasi larutan yang digunakan pada proses maserasi. Pada penelitian yang dilakukan di Malaysia kulit batang *Artocarpus* spesies yang terdiri dari *Artocarpus altilis*, *Artocarpus obtusus*, dan *A. kemando* isolasi dan identifikasi dari ketiga tumbuhan tersebut

menghasilkan beberapa flavonoid jenis flavon terprenilasi dan santhon (Shamaun *et al.*, 2010; Hashim *et al.*, 2010).

Pemilihan tumbuhan *Artocarpus kemando* sebagai objek penelitian kali ini dengan melihat potensi metabolit sekunder yang mempunyai efek fisiologis terhadap permasalahan salah satunya adalah anti bakteri. Pada bagian kulit akar tumbuhan *A. kemando* diharapkan adanya konstituen alami, dengan jenis flavonoid, senyawa ini dipercaya tersebar di bagian tumbuhan terutama kulit akar berdasarkan kondisi lingkungan, kondisi daya serap air, kondisi tanah, dan kondisi interal tumbuhan seperti resin, lilin, jaringan pengangkut dan lainnya. Serta menjadi studi penelitian terbaru terhadap tumbuhan Puda (*A. kemando*) yang diperoleh dari Dusun Karang Anyar Desa Klaten, Kecamatan Penengahan Kabupaten Lampung Selatan.

Tahapan isolasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Teknik pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dengan menggunakan pelarut berbagai organik seperti *n*-heksana, Etil Asetat (EtOAc), dan Aseton. Identifikasi kemurnian hasil isolasi teramati melalui Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji titik leleh.

Karakterisasi struktur molekul isolat penelitian ini dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan menggunakan pereaksi geser dan spektroskopi inframerah (IR). Setelah diperoleh senyawa murni dilanjutkan uji bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian kali ini adalah

1. Mengisolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari fraksi polar kulit akar tumbuhan Pudaу (*Artocarpus kemando*).
2. Mengetahui bioaktivitas terhadap antibakteri.
3. Mengetahui senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi

C. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terbaru mengenai studi senyawa flavonoid yang terdapat dalam fraksi polar dari kulit akar tumbuhan Pudaу (*A. kemando*) yang mempunyai efek fisiologis aktivitas anti kanker dan anti bakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Moraceae

Moraceae termasuk famili tumbuhan yang tersebar di daerah tropis hingga subtropis, terdiri dari 60 genus dan sekitar 1400 spesies. *Morus*, *Artocarpus*, dan *Ficus* merupakan tiga genus yang keberadaannya banyak ditemukan untuk Moraceae. Tumbuhan ini biasanya memiliki ciri-ciri seperti berbatang besar, berkayu kuat dan menghasilkan getah. Tinggi dari tumbuhan ini rata-rata mampu mencapai 20 meter. Daun tumbuhan ini memiliki daun yang lebat. Bunga dari tumbuhan Moraceae ada yang memiliki mahkota bunga maupun yang tidak memiliki mahkota bunga, dan bunga yang dimiliki biasanya berkelamin tunggal. Buahnya berupa buah yang keras, seringkali terkumpul sehingga disebut buah majemuk. Beberapa spesies dari famili ini menghasilkan buah yang dapat dikonsumsi seperti nangka (*A. heterophyllus*), cempedak (*A. champeden*), dan sukun (*A. communis*) (Tjitrosoepomo, 1994).

Kualitas kayu dari famili Moraceae cukup baik, hal ini dapat dilihat dari penggunaan kayu yang menjadi sumber kayu untuk konstruksi bangunan rumah, pembuatan perabotan rumah tangga, dan karena keberadaannya cukup dekat dengan masyarakat. Tumbuhan ini juga bisa digunakan sebagai obat tradisional. Pemanfaatan lain daun dari Moraceae yang paling terkenal adalah daun dari

pohon murbei (*Morus alba*) yang merupakan makanan bagi ulat sutera sebagai produsen benang sutera.

Moraceae dilaporkan mengandung beragam metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, tannin, sterol, stilben, dan flavonoid. Terpenoid dan flavonoid ditemukan pada genus *Morus*, *Artocarpus*, dan *Ficus*. Sementara alkaloid baru ditemukan pada genus *Ficus* (Venkataraman, 1972). Terdapat 40 genus dan sekitar 3000 spesies memiliki kandungan metabolit sekunder. Dari sejumlah senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antitumor, antibakteri, antifungal, antiinflamasi, antikanker, dan lainnya (Ersam, 2004).

B. *Artocarpus*

Genus ini merupakan genus utama dari famili Moraceae yang terdiri dari 50 spesies yang tersebar mulai dari Asia Selatan, Asia Tenggara, Kepulauan Pacific, Australia Utara, dan Amerika Tengah (Kochummen, 1987; Verheij and Coronel, 1992).

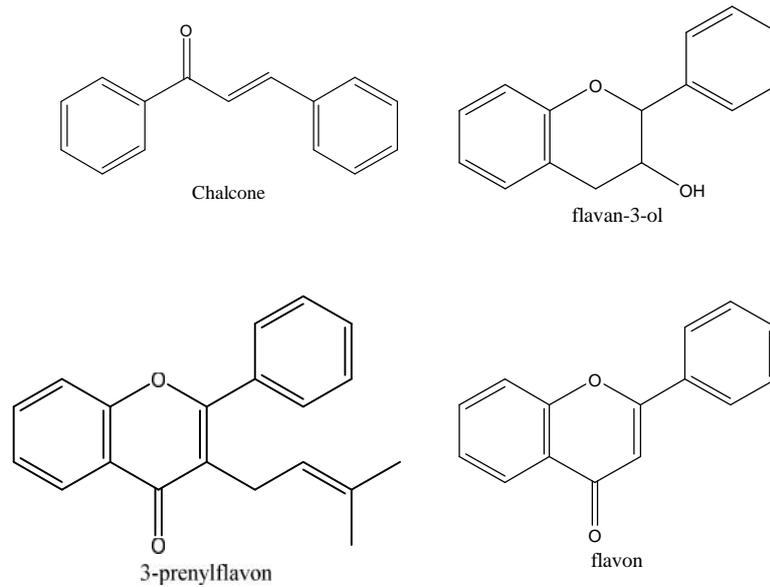
Di Indonesia *Artocarpus* dikenal sebagai nangka-nangkaan yang mempunyai ciri khas yaitu pohon tinggi dengan getah putih di seluruh bagian tumbuhan, kayunya keras, buah berdaging dan berbiji banyak. Semua bagian dari *Artocarpus* telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan misalnya kayu batang digunakan untuk bahan bangunan dan buahnya sebagai bahan makanan.

Dari 50 spesies genus *Artocarpus*, beberapa diantaranya ditemukan tersebar di seluruh daerah nusantara, yaitu *Artocarpus chempeden*, *A. lanceifolius*, *A. teysmanii*, *A. scortechinii*, *A. rotunda*, *A. maingayi*, *A. kemandu*, *A. bracteata*, *A. altilis*, *A. fretessi*, *A. gomezianus*, *A. reticulates*, dan *A. nitida* (Heyne, 1987)

Selain itu, *Artocarpus* juga memiliki nilai medis bagi masyarakat hal ini dilihat dari pengobatan masyarakat menggunakan daun dari *A. communis* Frost yang dibakar dan dicampur dengan minyak kelapa ditambah kunyit, ramuan ini dipercaya mampu menyembuhkan penyakit kulit. Bunganya untuk menyembuhkan sakit gigi sedangkan akarnya digunakan untuk menghentikan pendarahan (Kochummen, 1987; Heyne, 1987).

Banyak penelitian mengungkapkan sejumlah spesies dari genus ini menunjukkan hasil adanya metabolit sekunder seperti terpenoid, flavonoid, dan stilbenoid yang terkandung dalam tumbuhan. Keunikan struktur metabolit sekunder pada *Artocarpus* menghasilkan efek fisiologis yang luas seperti antibakteri (Khan *et al.*, 2003), antiplatelet (Wang *et al.*, 2006), antifungal (Jayasinghe *et al.*, 2004), dan masih banyak lagi.

Metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari genus *Artocarpus* ini sebagian besar merupakan senyawa dari golongan flavonoid dengan kerangka dasar calkon, flavan-3-ol, flavon, dan 3-prenilflavon. Dengan struktur dari senyawa tersebut ditampilkan sebagai berikut.



Gambar 1. Golongan flavonoid yang berhasil diisolasi dari genus *Artocarpus*

C. *Artocarpus kemando*

Tumbuhan ini dikenal sebagai tumbuhan Puda. Tumbuhan ini tersebar di sebagian besar hutan hujan tropis di Pulau Kalimantan dan Sumatera (Hakim, 2010).

Tumbuhan ini hidup di daerah yang lembab, memiliki diameter batang yang besar, tingginya mencapai 20 meter, memiliki banyak cabang, kayu percabangan pohon ini memiliki struktur yang kuat dan keras, berdaun lebat, bentuk daun dari tumbuhan ini hijau dan mengkilap memiliki helai daun yang tebal dan struktur tulang daun yang berbentuk tulang ikan. Kulit akar dan batang pada tumbuhan ini memiliki struktur yang berserabut dengan wangi yang khas, khusus untuk kulit dari akar tumbuhan ini memiliki bulatan kecil warna *orange*-merah yang menyebar. Kayu dari tumbuhan ini bewarna kuning pucat dan bertekstur cukup keras.



Gambar 2. Tumbuhan *Artocarpus kemando*

D. Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya (Setiana *et al.*, 2011).

Senyawa metabolit sekunder disintesis oleh tumbuhan, mikroba atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan. Metabolit sekunder memiliki aktifitas farmakologis dan biologis. Senyawa ini digunakan dan dipelajari sebagai kandidat obat atau senyawa penuntun untuk melakukan optimasi agar diperoleh senyawa lebih poten dengan toksisitas minimal.

Mayoritas metabolit sekunder bersifat semipolar sehingga larut dalam pelarut organik. Metanol dan asetonitril adalah pelarut organik paling polar. Heksana, benzena, dan petroleum eter bersifat non polar. Hanya sebagian saja dari metabolit sekunder bersifat polar dan larut dalam metanol atau air. Kebanyakan metabolit yang larut dalam metanol adalah senyawa glikosida yang mengikat satu atau lebih molekul gula heksosa/pentosa. Adapun kebanyakan golongan terpenoid bersifat non polar sehingga larut ke dalam pelarut non polar dan semi polar. Senyawa monoterpen dan seskuiterpen masih mampu larut dalam metanol (Saifudin, 2014).

1. Ciri-ciri Metabolit Sekunder

Biasanya senyawa metabolit sekunder memiliki ciri khas seperti tidak terlibat langsung dalam kehidupan dasar yang meliputi pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi. Senyawa ini memiliki peran penting sebagai agen pertahanan diri oleh tumbuhan dalam melawan serangga maupun hewan pengganggu lainnya.

Keberadaan dari senyawa metabolit sekunder terdistribusi hanya pada spesies pada famili dari taksonomi tumbuhan tertentu. Senyawa ini tergolong mikromolekul karena memiliki berat molekul rata-rata 50 – 1500 dalton.

Penggolongan utama dari metabolit sekunder ini adalah terpenoid, fenil propanoid, poliketida, alkaloid dan flavonoid.

Dari segi kesehatan hanya berlaku untuk beberapa senyawa yang telah diketahui aktivitas biologisnya seperti katekin, genistein, flavonoif, stilbenoid yang berhasil dipelajari oleh peneliti yang didapatkan dari hasil isolasi bahan alam baik pada mikroba, jamur tumbuhan, maupun serangga (Saifudin, 2014).

2. Aspek Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan sumber molekul obat. Pada rentang tahun 1981-2010, 4,4% dari 1355 obat-obatan yang beredar berasal dari pemurnian bahan alam dan 0,4% ekstrak dan 43% merupakan senyawa alami yang dimodifikasi. Sebanyak 74% dari obat kanker berasal dari ekstrak senyawa alami atau modifikasi senyawa alami. Metabolit sekunder dipelajari dan diteliti sebagai kandidat obat modern. Beberapa aspek mengenai metabolit sekunder karena ada beberapa pertimbangan seperti aspek farmakologi yang mempertimbangkan mengenai keanekaragaman struktur kimia metabolit sekunder yang tinggi. Hal ini mengindikasikan potensi keragaman efek farmakologisnya dan merupakan sumber kandidat senyawa obat yang tidak terbatas (Saifudin, 2014).

Segi aspek farmakologis suatu metabolit sekunder harus melihat segi stabilitas. Stabilitas membahas mengenai molekul kecil memiliki stabilitas lebih tinggi dibandingkan makromolekul. Makromolekul seperti polisakarida maupun protein rawan terhadap berbagai reaksi perusak. Pembahasan selanjutnya adalah aspek kimia medis dan teknologi pemisahan. Pada aspek ini dibahas mengenai senyawa metabolit sekunder cenderung bersifat semipolar, sehingga lebih mudah berinteraksi atau melewati jaringan biologis. Kimia medisinal membangun paradigma berfikir kompromis antara struktur senyawa obat dan aktifitas farmakologis, pertimbangan polaritas obat terhadap kemampuan menembus pembatas jaringan dan sel. Senyawa yang bersifat semi polar lebih mudah dipisahkan dan dimurnikan dengan teknologi kromatografi yang dikembangkan saat ini (silika, ODS, sephadex) (Saifudin, 2014).

Aspek farmasetik dan teknologi farmasi juga dipertimbangkan dan memiliki kaitan dengan aspek stabilitas. Aspek ini bertitik berat molekul yang kecil memungkinkan takaran dosis yang kecil dan bisa diteruma bagi manusia maupun hewan. Berat molekul kecil lebih fleksibel terkait bentuk sediaan yang akan diformulasikan pada obat, lebih kompromis dan harmonis dengan pilihan bahan pendukung. Aspek struktur membahas mengenai struktur senyawa aktif farmakologis seringkali berstruktur kompleks dengan cukup banyak kiralitas (orientasi letak gugus dalam 3 dimensi). Metode sintesis seringkali menghasilkan campuran rasemis dan memiliki tahapan panjang dilakukan untuk menghasilkan senyawa berstruktur kompleks. Pemilihan ekstraksi dan pemurnian masih merupakan jalan paling ekonomis dan efisien khusus untuk senyawa berstruktur rumit tersebut (Saifudin, 2014).

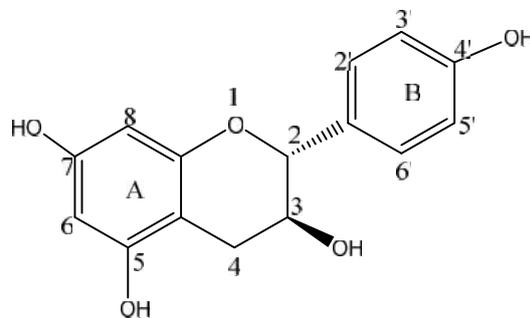
E. Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terdapat sebanyak 4000 dalam bentuk senyawa polifenol yang dapat ditemukan di alam. Senyawa ini dikenal sebagai zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Nama flavonoid secara bahasa Latin "*flavus*" yang berarti bewarna kuning, yang merupakan jenis dari metabolit sekunder. Menurut penamaan IUPAC flavonoid dapat diklasifikasikan menjadi flavonoid, isoflavonoid, neoflavonoid yang diketahui ketiganya memiliki gugus keton pada strukturnya (William, 2004; Saxena, 2005).

Flavonoid juga dipercaya berasal dari kata flavon yang merupakan salah satu jenis flavonoid yang jumlahnya terbesar dan lazim ditemukan. Senyawa-senyawa

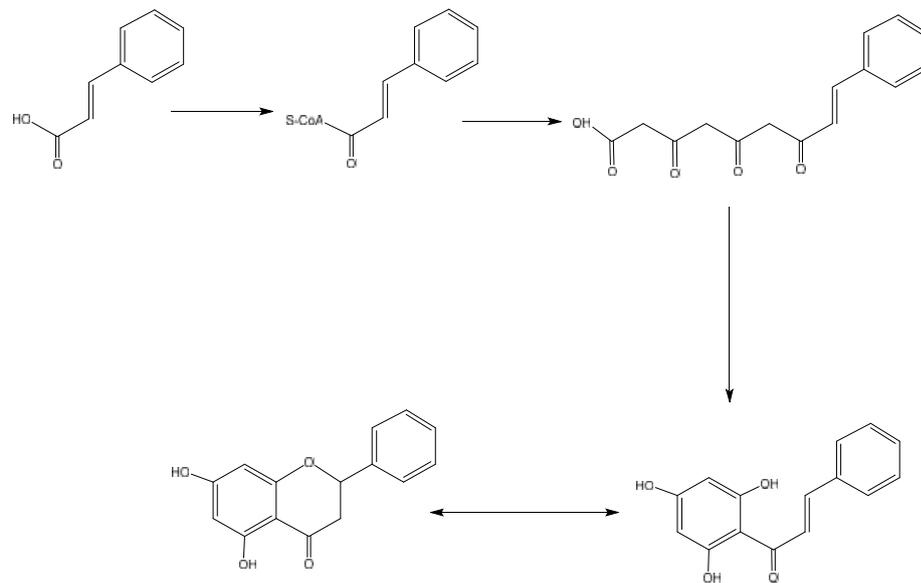
flavonoid terbentuk tergantung dari tingkat oksidasi dari rantai propan dari sistem 1,3-diarilpropan. Dalam hal ini, flavan mempunyai tingkat oksidasi yang terendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tata nama senyawa turunan flavon (Achmad, 1986).

Biosintesis senyawa-senyawa dari golongan flavonoid ini merupakan penggabungan 2 jalur biosintesis yang umum terjadi pada pembentukan metabolit sekunder yang ditemui pada tumbuhan, yaitu jalur asetat-malonat dan jalur sikimat. Jalur asetat-malonat membentuk cincin A dari kerangka flavonoid dengan posisi hidroksi di C5 dan C7. Sementara jalur membentuk cincin B dengan posisi substituen hidroksi yang beragam seperti di C4', C2' dan C4', C3' dan C4', ataupun C2', C4' dan C5' (Achmad, 1986).



Gambar 3. Kerangka Flavonoid secara umum (Markham, 1988)

Kerangka dasar dari flavonoid yang paling sederhana adalah calkon. Reaksi enzimatik dari 3 atom pada rantai propan akan menghasilkan berbagai gugus fungsi, seperti ikatan rangkap, gugus hidroksil dan gugus karbonil. Hubungan biogenesis dari senyawa-senyawa flavonoid secara umum dapat diurutkan sebagai berikut



Gambar 4. Pokok Biosintesis Flavonoid (Achmad, 1986).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang berbentuk melalui jalur sikimat. Senyawa ini diproduksi dari unit sinnamoil-CoA dengan perpanjangan rantai menggunakan malonil-CoA. Enzim calkon sintase menggabungkan senyawa ini menjadi calkon. Calkon adalah prekursor turunan flavonoid pada banyak tanaman (Dewick, 2002).

Senyawa flavonoid dianggap penting bagi kesehatan manusia, seperti halnya vitamin senyawa ini tidak diproduksi oleh tubuh dan harus disuplai melalui asupan makanan (Winkel, 2002). Terlebih lagi senyawa ini menunjukkan kemampuannya sebagai anti inflamasi, antioksidan, anti alergi, anti thrombotik, anti virus dan aktivitas anti karsinogenik (anti kanker) (Middelton, 1993; Chun, 2005; Shetty, 2004; Springbob, 2002).

Menurut perkiraan, kira-kira 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan (atau kira-kira 1×10^9 ton/tahun) disintesis menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan erat dengannya (Smith, 1972). Sebagian besar tannin pun berasal dari flavonoid. Jadi, flavonoid adalah salah satu golongan fenol yang terbesar. Sebenarnya, flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pastilah ditemukan pula pada setiap telaah ekstrak tumbuhan (Markham, 1988).

Flavonoid banyak tersebar di kulit, buah, sayur-sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian, herbal, ranting, bunga dan pada teh serta anggur merah (Khennouf, 2010). Lebih dari 2000 jenis flavonoid telah ditemukan pada tumbuhan memiliki kayu maupun tidak (Harnorne, 1980).

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan pengecualian alga dan *hornwort*. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah buni, dan biji. Hanya sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, jika hal tersebut ditemukan pada hewan maka dianggap bahwa flavonoid tersebut berasal dari tumbuhan yang kemudian dikonsumsi oleh hewan dan tidak tercerna di dalam tubuh hewan (Harbone, 1987).

Segi penting dari penyebaran flavonoid dalam tumbuhan adalah adanya kecenderungan kuat bahwa tumbuhan yang secara taksonomi berkaitan akan menghasilkan flavonoid yang jenisnya serupa. Jadi, informasi yang berguna mengenai jenis flavonoid yang mungkin ditemukan pada tumbuhan yang sedang

ditelaah flavonoid terdahulu dalam tumbuhan berkaitan, misalnya dari genus atau suku yang sama (Markham, 1988).

Aglikon flavonoid mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Kelarutan dalam larutan basa secara berkelanjutan dan di samping itu terdapat oksigen, banyak yang akan terurai. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak terhalangi, atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti Etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut diatas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Flavonoid berpotensi sebagai anti oksidan dan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, anti inflamasi, anti alergi dan anti thrombosis (Lapinski, 2011).

Flavonoid berupa senyawa yang larut dalam air yang dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam pelarut tersebut setelah difraksinasi dengan pelarut non polar. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berubah warna bila ditambah basa atau ammonia sehingga mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid mengandung gugus aromatis

terkonjugasi yang menunjukkan serapan yang kuat pada spektrofotometri (Harbone, 1987).

F. Proses Ekstraksi

1. Maserasi

Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode soxhlet karena dikhawatirkan ada golongan senyawa flavonoid yang tidak tahan panas, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Proses maserasi dianggap sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam selain mudah dan mudah untuk dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny, 2006).

Semakin lama waktu ekstraksi kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu dengan pengocokan agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna (Koirewoa, 2015).

G. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi

Kromatografi adalah istilah umum untuk berbagai cara pemisahan berdasarkan partisi cuplikan antara fasa yang bergerak, dapat berupa gas atau zat cair, dan fasa diam, dapat berupa zat cair atau zat padat (Johnson *and* Stevenson, 1991).

Fasa diam berupa zat padat maka cara tersebut dikenal sebagai adsorben kromatografi, jika zat cair dikenal sebagai kromatografi partisi. Karena fasa gerak dapat berupa zat cair dan gas maka ada empat macam sistem kromatografi (Sastriamidjojo, 1985), berdasarkan fasa gerak zat cair-dan fasa diam padat terdapat jenis kromatografi lapis tipis dan kromatografi penukar ion. Berdasarkan fasa gerak gas-fasa diam padat terdapat kromatografi gas padat. Berdasarkan fasa gerak zat cair-fasa diam zat cair terdapat jenis kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Fasa gerak gas-fasa diam zat cair terdapat kromatografi gas cair dan kromatografi kolom

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan dilakukan dengan menggunakan salah satu atau gabungan dari beberapa teknik tersebut dan dapat digunakan pada skala mikro maupun makro (Harbone, 1987).

Metode kromatografi baik fasa normal atau terbalik yang saat ini banyak digunakan dan berkembang kebanyakan cocok dengan senyawa semi polar. Sehingga senyawa yang sangat polar atau non-polar tidak cocok dengan metode pemisahan kromatografi.

Untuk melakukan pemisahan awal senyawa alami dari matriks nabati/hewani melibatkan pemisahan kasar dilanjutkan dengan pemisahan halus. Pemisahan

kasar melibatkan salah satu metode baik itu ekstraksi, fraksinasi partisi cair-cair, dan fraksinasi cair-padat. Proses pemisahan halus melibatkan salah satu kromatografi kolom fasa normal, kromatografi kolom fasa terbalik, dan kromatografi eksklusi/permeasi (Saifudin, 2014).

Pada Tabel 1 dijabarkan berbagai jenis pelarut yang sering digunakan pada berbagai pekerjaan ekstraksi, fraksinasi, fasa gerak kromatografi, berdasarkan sifat kepolaran yang ditunjukkan dengan konstanta dielektriknya.

Tabel 1. Pelarut yang lazim dan penggunaannya (Saifudin, 2014).

Solven	Konstanta dielektrik
Heksana	2.02
CCl ₄	2.24
Benzena	2.28
Toluen	2.38
Trietil Amina	2.43
Kloroform	4.81
Eter (dimetil eter)	5.0
Etil Asetat	6,02
Asam asetat	6,15
Diklorometana	8,93
n-butanol	17,8
n-propanol	20,1
Aseton	20,7
Etanol	25,3
Metanol	33
Asetonitril	36,6
DMSO	47,2
Air	80

1. Kromatografi Cair Vakum

Cara ini pertama kali dipublikasikan oleh Coll pada tahun 1977 dengan menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek untuk mengisolasi diterpen selenoida dari terumbu karang Australia. Kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan adsorben lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering sehingga siap dipakai.

Proses pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan menggunakan silika gel 60 GF254 sebagai fasa diam. Senyawa-senyawa yang ada dalam fraksi suatu pelarut tertentu dilakukan dengan menggunakan KCV yang bertujuan untuk memisahkan golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar dengan menggunakan silika gel sebagai adsorben dan berbagai perbandingan pelarut *n*-heksana dan etil asetat dan menggunakan pompa vakum untuk memudahkan penarikan eluen (Hostettmann, 1995).

2. Kromatografi Lapis Tipis

Salah satu metode pemisahan yang memerlukan pembiayaan paling murah dan memakai peralatan paling dasar adalah kromatografi lapis tipis (KLT). KLT dapat memisahkan bahan dalam jumlah gram, sebagian besar pemakaian hanya dalam jumlah milligram (mg).

KLT bersama-sama dengan kromatografi kolom terbuka, masih dijumpai dalam sebagian besar publikasi mengenai isolasi bahan alam (Hostettmann, 1995).

Penelitian oleh (Stahl, 1967) dalam rangka untuk mengetahui pengaruh ketebalan absorben terhadap kualitas pemisahan tetapi ketebalan yang paling sering dipakai adalah 0,5 - 2mm. Ukuran plat kromatografi jenis ini biasanya 20 x 20 cm atau 20 x 40 cm. pembatasan ketebalan lapisan dan ukuran plat mengurangi jumlah bahan yang dapat dipisahkan dengan KLT. Absorben yang paling umum ialah silika gel dan dipakai untuk pemisahan campuran senyawa lipofil maupun campuran hidrofili. Konsentrasi cuplikan harus sekitar 5-10%. Cuplikan ditotolkan berupa pita yang harus sesempit mungkin karena pemisahan bergantung pada lebar pita. Untuk pita yang terlalu lebar, dapat dilakukan pemekatan dengan cara pengembangan permukaan pelarut polar hingga 2 cm di atas spot penotolan. Kemudian plat dikeringkan dan dielusi dengan pelarut yang sesuai dengan sampel (Stahl, 1967).

Fasa gerak biner dalam berbagai perbandingan yang sangat sering dipakai pada pemisahan secara KLT adalah *n*-heksana-etil asetat, *n*-heksana-aseton, kloroform-metanol. Penambahan asam asetat atau dietilamina berguna untuk memisahkan, berturut-turut, senyawa asam dan senyawa basa (Hostettmann, 1995).

Jarak pemisahan senyawa pada plat silika gel tergantung pada polaritasnya. Senyawa yang tidak polar dan sedikit polar bergerak paling jauh dari titik awal penotolan, sedangkan senyawa yang paling polar bergerak naik dengan jarak paling dekat dari titik awal penotolan tersebut. Hal ini dikarenakan senyawa polar akan lebih teradsorpsi pada plat silika gel dibandingkan senyawa non polar. Kekuatan adsorpsi pada plat silika gel tergantung pada kuat lemahnya interaksi antara senyawa, pelarut, dan adsorben (Septianingsih, 2012).

Identifikasi menggunakan KLT dilakukan untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar hasil fraksinasi. Identifikasi KLT dilakukan terhadap hasil fraksinasi menggunakan sistem campuran eluen dengan menggunakan pelarut tertentu. Hasil kromatogram kemudian diidentifikasi menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan Rf (*Retention Factor*) yang sama pada kromatogram kemudian digabung menjadi beberapa fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut (Khopkar, 2002).

Distribusi suatu senyawa dalam proses elusi tertentu disebut bilangan Rf (*Retention factor*). Menurut teori bilangan Rf didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh suatu senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh garis depan elusi (diukur dari garis awal). Maka demikian, bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0. Faktor retensi adalah jarak yang ditempuh komponen dibagi dengan jarak yang ditempuh eluen. Berdasarkan hasil KLT dengan menggunakan eluen-eluen berbeda-beda dihasilkan Rf yang berbeda. Perbedaan itu didasarkan oleh perbedaan kepolaran eluen. Eluen yang mendekati polar akan memiliki nilai Rf yang lebih besar karena sifat dari plat KLT yang bersifat polar, sebaliknya eluen yang mendekati non polar maka Rf-nya kecil. Mengidentifikasi noda-noda dalam kromatografi lapis tipis sangat lazim menggunakan harga Rf (*Retordation Factor*) yang didefinisikan sebagai:

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan pelarut dari titik awal}}$$

Harga Rf beragam mulai dari 0 sampai 1. Faktor-faktor yang mempengaruhi harga Rf (Sastrohamidjojo, 1985) adalah Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat penjerap, tebal dan kerataan dari lapisan penjerap, pelarut dan derajat kemurniannya, derajat kejenuhan uap pengembang dalam bejana, teknik percobaan, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu, dan kesetimbangan.

Identifikasi kemurnian dilakukan dengan menggunakan metode KLT dan titik leleh. Identifikasi kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemudian suatu senyawa ditunjukkan dengan munculnya bercak tunggal pada kromatogram menggunakan serum sulfat (Khopkar, 2002).

3. Kromatografi Kolom Gravitasi

Peralatan utama dari kromatografi kolom yaitu kolom dan penampung eluen yang berupa gelas kimia /botol vial dengan panjang kolom dan diameter yang beragam. Kolom dilengkapi dengan kran untuk mengatur aliran pelarut. Di atas kran dipasang wol kaca (*glass wool*) bertujuan untuk menahan fasa diam. Fasa diam adalah fasa yang tetap pada tempatnya yang merupakan salah satu komponen yang penting dalam proses pemisahan dengan kromatografi karena dengan adanya interaksi dengan fasa diam terjadi perbedaan waktu retensi dan komponen senyawa analit. Fasa diam dapat berupa padatan berpori dalam bentuk molekul kecil atau cairan yang umumnya dilapiskan pada padatan. Pengisian fasa diam dilakukan dengan cara basah.

Pada umumnya cara basah lebih mudah dan sering digunakan pada silika gel. Silika gel sifatnya polar, pada saat campuran non polar dimasukkan maka senyawa-senyawa yang semakin polar akan semakin tertahan di fasa diam, dan

senyawa-senyawa yang kurang polar akan terbawa keluar kolom lebih cepat. Fasa diam berupa silika gel sebanyak 10x dari sampel yang telah dihilangkan pelarutnya yang nantinya diaktifkan terlebih dahulu agar pada proses elusi lempengan silika gel dapat menyerap dan berikatan dengan sampel. Pengaktifan silika gel dilakukan dalam oven pada suhu 110° C selama 30 menit kemudian dilarutkan dengan *n*-heksana hingga berbentuk seperti bubur (*slurry*). Pelarut *n*-heksana dimasukkan ke dalam kolom dan *slurry* mulai dialirkan secara terus menerus minimal selama 3 jam hingga silika gel menjadi padat dan diatur sedemikian rupa untuk menghindari terjadinya patahan atau rongga udara. Lalu dimasukkan sampel yang telah ditambahkan hingga rata ke dalam silika gel hingga berbentuk *slurry*, setelah itu dimasukkan ke dalam kolom tepat di atas fasa diam yang sudah tidak berongga lalu dielusi dengan pelarut biner yang memiliki tingkat kepolaran berbeda dan dengan perbandingan pelarut (Markham, 1988).

H. Identifikasi senyawa organik secara spektroskopi

1. Spektroskopi UV-Vis

Penyerapan sinar tampak dan ultraviolet oleh suatu molekul akan menghasilkan transisi di antara tingkat energi elektronik molekul tersebut, dan oleh karena itu, sering dinamakan spektrometri elektronik. Transisi tersebut pada umumnya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital bukan ikatan atau orbital anti ikatan.

Panjang gelombang serapan merupakan ukuran perbedaan tingkat-tingkat energi dari orbital yang bersangkutan. Supaya elektron dalam ikatan sigma tereksitasi maka diperlukan energi paling tinggi dan akan memberikan serapan pada 120 nm.

Daerah ini dikenal sebagai daerah ultraviolet hampa, karena pada waktu pengukuran harus tidak ada udara, sehingga sukar dilakukannya dan juga relatif tidak banyak memberikan keterangan untuk penentuan struktur. Diatas 200 nm merupakan eksitasi elektron dari orbital p, orbital d, dan orbital π , terutama system terkonjugasi mudah pengukurannya dan spektrumnya memberikan banyak keterangan. Karena alasan praktis maka spektrometri *ultraviolet* tampak biasa dilakukan di atas panjang gelombang 200 nm (Sudjadi, 1985).

Panjang gelombang cahaya UV dan tampak jauh lebih pendek daripada panjang gelombang radiasi inframerah. Satuan yang akan digunakan untuk menyatakan panjang gelombang ini adalah nanometer (nm). Spektrum tampak terendah dari sekitar 400 nm (ungu) sampai 750 nm (merah), sedangkan spektrum ultraviolet terentang 100 sampai 400 nm.

Panjang gelombang cahaya UV atau cahaya tampak bergantung pada mudahnya promosi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak (yakni senyawa bewarna) mempunyai elektron yang lebih dipromosikan daripada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang UV yang lebih pendek (Fessenden, 1988)

Spektroskopi serapan ultraviolet dan serapan tampak barangkali merupakan cara yang paling berguna untuk menganalisis struktur flavonoid. Cara ini digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola

oksigenasi. Selain itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Keuntungan utama cara ini adalah sangat sedikitnya jumlah flavonoid yang diperlukan untuk analisis lengkap (biasanya 0,1 mg).

Senyawa flavonoid golongan flavanon dan dihidroflavonol mempunyai serapan maksimum pita II pada panjang gelombang 275-295 nm dan serapan pita I pada panjang gelombang 300-330 nm (Markham, 1988; Geissman, 1962; Tempesta dan Michael, 2007).

Hasil pemeriksaan terdahulu pada senyawa mengarah pada flavonol dengan OH-3 tersubsitusi dan mempunyai OH-4', atau flavon dengan OH-5, atau flavanon dengan OH-5 atau calkon tanpa OH pada cincin B. Senyawa yang terlarut dalam pelarut metanol menunjukkan adanya dua serapan maksimum pada pita I 358,0 dan pada pita II 258,0 hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa flavon atau flavanon. Timbulnya puncak pada serapan maksimum pita II menunjukkan adanya 2 atau lebih atom O pada cincin B. terbentuknya pita baru dengan serapan maksimum 333 menunjukkan adanya OH-7 bebas. Jadi senyawa tersebut mengarah ke flavanol bukan calkon (Wijono, 2003).

Munculnya pita pada serapan 206, 230, 283, dan 393 nm pada spektrum ultraviolet menunjukkan adanya keberadaan struktur flavon (Ee *et al.*, 2011).

Flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut metanol atau etanol, meski spektrum yang dihasilkan oleh pelarut etanol dianggap kurang memuaskan (Markham, 1988).

2. *Fourier Transform Infrared Spektroskopi*

Spektrofotometri inframerah (IR) merupakan salah satu alat yang dapat digunakan untuk menganalisa senyawa kimia. Spektra inframerah suatu senyawa dapat memberikan gambaran dan struktur molekul senyawa tersebut. Spektra IR dapat dihasilkan dengan mengukur absorbs radiasi, refleksi atau emisi di daerah IR.

Daerah inframerah ada spektrum gelombang elektromagnetik mencakup bilangan gelombang 14.000 cm^{-1} . Daerah inframerah sedang ($4000\text{-}40\text{ cm}^{-1}$) berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul yang memberikan informasi mengenai gugus-gugus fungsi dalam molekul tersebut. Daerah inframerah jauh ($400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$) bermanfaat untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat seperti senyawa anorganik, namun membutuhkan teknik khusus yang lebih baik. Daerah inframerah dekat ($12.500\text{ - }4000\text{ cm}^{-1}$) yang peka terhadap vibrasi *overtone* (Schechter, 1997).

Berdasarkan data spektral yang diperoleh peneliti, mereka banyak membandingkan data yang telah diperoleh oleh peneliti sebelumnya dengan data spektral hal ini dapat dilihat dari perbandingan senyawa yang diperoleh (Hashim *et al.*, 2011)

Puncak-puncak Spektrum inframerah dari senyawa yang diprediksi mengandung flavonoid memberikan petunjuk adanya gugus OH di daerah serapan 3400 cm^{-1} ,

gugus ester C=O pada 1660 cm^{-1} dan C=O flavonoid pada 1600 cm^{-1} . Gugus tersebut merupakan gugus utama yang terdapat pada kerangka flavonoid (Wijono, 2003).

Spektrum inframerah (IR) menunjukkan absorpsi hidroksil pada serapan 3451 cm^{-1} , karbonil terkonjugasi pada 1646 cm^{-1} dan adanya serapan pada 1556 dan 1465 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin benzen terfungsionalitas. (Ee *et al.*, 2011).

Analisis spektrum inframerah (IR) pada penelitian yang dilakukan (Hashim *et al.*, 11) diperoleh hasil pada senyawa aurantiamid benzoat menyatakan adanya gugus amida sekunder dengan munculnya serapan di daerah 3302 cm^{-1} dan amida karbonil pada serapan 1638 cm^{-1} . Pada serapan 1746 dan 1454 ke 1532 cm^{-1} teramati bahwa adanya serapan untuk gugus karbonil dan gugus benzil (Hashim *et al.*, 2011).

Tabel 2. Korelasi Inframerah

Rentang (cm^{-1})	Jenis Ikatan
3700 – 2500	Ikatan tunggal ke hidrogen
2300 – 2000	Ikatan rangkap tiga
1900 – 1500	Ikatan rangkap dua
1400 – 650	Ikatan tunggal selain ke hidrogen

Berikut ini beberapa kelebihan menggunakan spektroskopi inframerah yaitu teknik yang cepat, dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi tertentu dari suatu molekul, spektrum inframerah yang diberikan untuk suatu senyawa bersifat unik sehingga dapat digunakan sebagai ciri dari senyawa tersebut.

Tabel 3. Korelasi Inframerah berdasarkan Ikatan

	Jenis Ikatan	Bilangan gelombang (cm-1)	Keterangan
Ikatan tunggal ke hidrogen	C-H	3000-2850	Alkana Jenuh
	=C-H	3100-3000	Alkana tak jenuh atau aromatic
	O=C-H	2800-2700	Aldehyd, dua puncak lemah
	O-H	3400-3000	Alkohol, air, fenol
	O-H bebas	3600	
	N-H	3450-3100	Amina
Rangkap Dua	C=O	1840-1800 dan 1780-1740	Anhidrida
	C=O	1750-1715	Ester
	C=O	1740-1680	Aldehyd
	C=O	1725-1665	Asam Karboksilat
	C=O	1690-1630	Amida
	C=C	1675-1600	
	C=N	1690-1630	
N=O	1650-1510 dan 1370-1330	Senyawa Nitro	
Ikatan tunggal (bukan hidrogen)	C-C	Tidak tetap	
	C-O, C-N	1400 – 1000	
Rangkap tiga	C rangkap tiga	2260-2120	
	C rangkap tiga N	2260 – 2220	

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Februari – Agustus 2017, penelitian ini dilakukan melalui tahapan ekstraksi, isolasi senyawa murni dan uji titik leleh yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Bandar Lampung. Analisis Spektroskopi Inframerah (FT-IR) dilakukan pada bulan Agustus 2017 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBA) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Bandung, Bandung. Spektroskopi Ultraungu-Tampak (UV-Vis) dilakukan pada bulan Agustus 2017 bertempat di Laboratorium Kimia Anorganik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, dan uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Kimia Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat – alat yang digunakan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi; untuk isolasi adalah gelas kimia dengan variasi ukuran, gelas ukur dengan variasi ukuran, peralatan destilasi, *Rotary evaporator*, Lampu UV, Pipet Kapiler, Oven, *chamber*, satu set alat Kromatografi Cair Vakum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG). Alat-alat untuk karakterisasi adalah pengukur titik leleh (*melting point apparatus*) MP-10 Stuart, spektrofotometer FT-IR *Prestige 21 Shimadzu*, spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis) *Agilent Technologies Cary Series UV-Vis Spectrophotometer Cary 100 UV-Vis*. Alat-alat untuk uji bioaktivitas antibakteri seperti *autoclave*, *Laminar Air Flow*, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, Bunsen, pipet mikro, dan gelas beker.

2. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit akar sebanyak 2 kg dari tumbuhan Puda (*Artocarpus kemando* Miq.) yang diperoleh di Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung Indonesia. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi berkualitas teknis yang sebelumnya telah didestilasi terlebih dahulu, sedangkan untuk karakterisasi menggunakan alat spektrofotometer menggunakan pelarut berkualitas pro-analisis (P.A). Bahan kimia yang dipakai meliputi etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), *n*-heksana ($n\text{-C}_6\text{H}_{14}$), aseton ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), akuades (H_2O), serium sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) 1,5% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 2N, silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk KCV dan

KKG, untuk KLT digunakan plat KLT silika gel Merck kiesegal 60 F254 0,25 mm.

C. Prosedur Penelitian

1. Persiapan dan Pengumpulan Sampel

Kulit akar dari tumbuhan Puda (*Artocarpus kemando* Miq.) yang didapat di Dusun Karang Anyar Desa Klaten, Kecamatan Penengahan Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung pada tanggal 28 Mei 2016. Setelah itu dilakukan determinasi untuk menentukan Spesies di Herbarium Bogoriensis bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat.

Akar tumbuhan pudauc dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan air dan diambil kulit akarnya, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah panas sinar matahari selama satu minggu untuk menghilangkan kadar air yang terkandung di dalam sampel untuk menghindari tumbuhnya jamur pada sampel, kemudian kayu akar dan kulit akar dipisahkan. Pengeringan kulit akar kembali dilakukan pemisahan antara kulit akar dan kayu akar. Setelah didapatkan kulit akar kering, setelah itu sampel dipotong kecil-kecil untuk mempermudah proses penggilingan untuk mendapatkan serbuk halus. Setelah diperoleh sampel dalam bentuk yang lebih kecil lalu dilakukan proses penggiling menjadi serbuk halus seberat 2 kg. Proses penggilingan menggunakan penggiling kayu hal ini dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel pada saat proses ekstraksi menggunakan pelarut.

2. Ekstraksi Sampel dengan Metode Maserasi

Metode ekstraksi pada penelitian kali ini yang dilakukan adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 kali pengulangan.

Tahapan selanjutnya, serbuk halus kulit akar kering tanaman ditimbang sebanyak 2 kg, kemudian direndam dengan metanol selama dua puluh empat jam. Ekstrak hasil perendaman lalu disaring menggunakan kertas saring, dimana filtrat yang diperoleh kemudian disimpan. Rendemen yang diperoleh dimaserasi kembali menggunakan pelarut metanol selama dua puluh empat jam, kemudian disaring kembali dimana filtrat yang diperoleh disimpan, sedangkan perolehan rendemen direndam kembali dengan pelarut metanol selama dua puluh empat jam. Setelah tiga kali pengulangan, filtrat hasil perendaman ketiga diperoleh dan rendemen merupakan produk sisa dari proses ini. Tahap selanjutnya adalah ketiga filtrat yang diperoleh dicampurkan lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* menggunakan suhu 49,9 °C dengan kecepatan putaran 120 *rpm* hingga pekat. Tahapan selanjutnya adalah penimbangan ekstrak pekat.

3. Kromatografi

a. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak metanol pekat dari hasil fraksinasi dilanjutkan dengan proses KCV.

Prinsip dari metode ini berupa distribusi partikel pada fasa diam, silika halus dengan ukuran mesh sebesar 230-440 mesh, akan dielusi dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat dengan variasi konsentrasi dengan bantuan vakum.

Terlebih dahulu fasa diam silika gel halus sebanyak 10 kali berat sampel dimasukkan ke dalam kolom. Kemudian kolom dikemas kering dalam keadaan vakum menggunakan alat vakum. Eluen yang kepolarannya rendah, dimasukkan ke permukaan silika gel halus terlebih dahulu kemudian divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum dan siap digunakan.

Ekstrak metanol pekat kemudian diimpregnasikan pada silika gel kasar dengan ukuran 35-70 mesh hingga ekstrak kasar tercampur seluruhnya ke dalam silika gel kasar, kemudian dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam dan kemudian divakum. Setelah itu kolom dielusi dengan eluen etil asetat (EtOAc) dan *n*-heksana dengan perbandingan 0 % EtOAc sampai 100% EtOAc. Setiap penambahan eluen (tiap kali elusi dilakukan) kolom dihisap dengan vakum sampai kering. Kemudian setiap fraksi diKLT, fraksi-fraksi yang memiliki R_f sama digabungkan. Kemudian difraksinasi kembali dengan teknik KCV dengan perlakuan yang sama seperti tahapan KCV awal di atas. (Khomsiah, 2016)

b. Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT terlebih dahulu dilakukan untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar. Uji KLT juga dilakukan terhadap fraksi-fraksi yang akan difraksinasi dan juga fraksi yang diperoleh setelah fraksinasi. Uji KLT dilakukan dengan menggunakan sistem campuran eluen menggunakan pelarut yang sesuai yaitu dapat berupa kombinasi antara pelarut *n*-heksana, etil asetat, diklorometan, dan aseton dengan persentase yang sesuai. Setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT, bercak/noda dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm (Wulandari, 2011).

Untuk menampakkan noda hasil KLT, hasil kromatogram tersebut kemudian disemprot dengan menggunakan larutan serium sulfat. R_f (*Retention factor*) dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan R_f yang sama pada kromatogram, disatukan dan dipisahkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut.

c. Kromatografi Kolom Gravitasi

Setelah dihasilkan fraksi-fraksi dengan jumlah yang lebih sedikit, tahapan fraksinasi selanjutnya menggunakan teknik kromatografi kolom. Prinsip dari metode ini akan dilakukan dengan cara pemisahan senyawa berdasarkan distribusi senyawa pada fasa diam berupa silika gel halus yang telah dikemas dengan cara basah di dalam kolom berukuran lebih kecil dengan dipengaruhi gaya gravitasi bumi. Tahapan kerja untuk mengemas Kromatografi Kolom Gravitasi adalah adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusan. *Slurry* dari silika gel dimasukkan ke dalam kolom terlebih dahulu, atur fasa diam hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya masukkan sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Pada saat sampel dimasukkan, dilakukan agar kolom tidak kering/kebiasaan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Khopkar, 2002).

4. Analisis Kemurnian

Identifikasi kemurnian dilakukan dengan menggunakan metode KLT dan titik leleh. Identifikasi kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemudian suatu senyawa ditunjukkan dengan munculnya bercak tunggal pada kromatogram menggunakan serium sulfat, cara pembuatannya adalah 1,5 gram serium sulfat (CeSO_4) dilarutkan dalam 10 mL akuades, lalu dimasukkan asam sulfat (H_2SO_4) dengan konsentrasi 1,8 M lalu dihomogenkan, untuk mengetahui adanya indikasi flavonoid pada hasil KLT (Khopkar, 2002).

Untuk identifikasi titik leleh, sebelum dilakukan pengukuran, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor, karena pengotor akan menaikkan atau menurunkan temperatur titik leleh dari kristal yang diperoleh dari perlakuan sebelumnya. Untuk kristal yang berukuran besar kristal sebaiknya digerus atau dihaluskan terlebih dahulu hingga berbentuk serbuk. Kemudian kristal yang akan ditentukan titik lelehnya diletakkan pada lempeng kaca, diambil sedikit dengan menggunakan pipet kapiler, alat dihidupkan dan titik leleh diamati dengan bantuan kaca pembesar. Suhu pada saat kristal pertama kali meleleh, itulah titik leleh dari senyawa tersebut.

5. Identifikasi Senyawa

a. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)*

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni dianalisis menggunakan alat spektrofotometer inframerah. Analisis secara spektrofotometri inframerah yaitu senyawa hasil isolasi ditimbang 1 mg, digerus dengan pellet KBr, dibuat pellet yang transparan dengan alat penekan hidrolis, zat yang telah terdispersi homogen

dalam pellet dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer inframerah. Analisis serapan inframerah yang dihasilkan yaitu pada daerah gugus fungsi pada senyawa.

b. Spektroskopi Ultraviolet-Tampak (UV-Vis)

Sampel berupa Kristal murni sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam 20 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran, dan dibuat larutan standar dengan konsentrasi tertentu sebagai pembanding untuk mengetahui kurva larutan standar dari spektroskopi. Pengukuran selanjutnya menggunakan pereaksi geser AlCl_3 , NaOAc , NaOH , H_3BO_3 , dan HCl (Markham, 1988)

6. Uji Bioaktivitas

a. Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri diawali dengan persiapan alat dan bahan berupa *Nutrient Agar* (NA) sebagai media pertumbuhan untuk bakteri. Bakteri yang akan diuji pada prosedur penelitian kali ini adalah *Bacillus subtilis* dan *Escehrichia.coli* .

Sebanyak 4,2 gram NA dilarutkan ke dalam 150 mL akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit sampai homogen dan bening. 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 menggunakan alat *autoclave* 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 μ L, kemudian diambil 50 μ L; 40 μ L + 10 μ L akuades; dan 30 μ L + 20 μ L akuades untuk ditotolkan ke dalam *paper disk* Whattman no.42.

Kontrol positif pada uji antibakteri kali ini berupa *amoxycillin* untuk *B. subtilis* dan Kloromfenikol untuk *E.coli* lalu 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; 16,7 μ L + 33,3 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 24 jam.

7. Analisis Data

Uji aktivitas antibakteri dapat dilihat berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan, selanjutnya ditentukan persentase konsentrasi ekstrak terkecil (Andrew, 2006). Parameter yang diamati adalah diameter zona bening yang terbentuk di sekitar keratas saring berukuran millimeter (mm).

Klasifikasi dari uji antibakteri dapat dilihat dari besarnya zona bening yang terbentuk disekitar kertas saring >20 mm dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan senyawa tersebut mempunyai aktivitas yang kuat terhadap bakteri tersebut, 5-10 mm dikategorikan sedang, dan <5 mm dikategorikan senyawa tersebut mempunyai aktivitas yang lemah terhadap bakteri uji (Davis *and* Stout, 1971).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan pembahasan dari data hasil penelitian, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa flavonoid pada fraksi semipolar dari kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemandu*).
2. Senyawa hasil isolasi berupa kristal kuning yang berdasarkan analisis spektroskopi UV-Vis, Spektroskopi IR dan studi literature diperkirakan adalah senyawa artonin M sebanyak 8,8 mg pada fraksi semipolar.
3. Senyawa yang diperkirakan artonin M memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan kategori kuat, dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan kategori sedang.

B. Saran

1. Penelitian lebih lanjut terhadap sampel kulit akar tumbuhan puda (A. *kemando*) pada fraksi yang berbeda sehingga diperoleh senyawa metabolit sekunder lain, seperti sikloartobilosanton, artoindonesianin D, dan lainnya.
2. Pada karakterisasi spektroskopi diperlukan karakterisasi menggunakan H-NMR dan C-NMR untuk memperkuat senyawa hasil isolasi yang diperoleh.
3. Melakukan uji bioaktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri pantogen lain seperti *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* dan lainnya, dengan adanya pengulanagn dan melakukan uji aktivitas biologis lainnya seperti antimalaria, antifungal serta uji bioaktivitas lainnya

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H. 1999. Strategi *Mengelola Sumberdaya Hayati Laut Indonesia*. Dalam Seminar Reformasi Format Pengelolaan Sumberdaya Hayati Laut yang berkelanjutan dan Berbasis Ekonomi Kerakyatan Hal. 8.
- Achmad, Sjamsul Arifin. 1986. *Buku Materi Pokok 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. PKIM4438/2SKS/04. Kimia Organik Bahan Alam. Karunia Jakarta Universitas Terbuka. Jakarta.
- Andrews J M. 2006. Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *J Antimicrob Chem.* **48**: 5-16.
- Bashir et al., 2013 *In Vitro Antibacterial Activities and Preliminary Phytochemical Screening of the Aqueous and Ethanolic Extracts of Zingiber Officinale Roscoe*.
- Bhattacharjee, Atanu., C.S. Shastry, and Santanu Saha. 2014. Isolation, Purification and Structural Elucidation of Bioactive Polyphenolic Compound (Catechin) From *Crataeva nurvala* Bucham Stem Bark Chloroform Fraction. *IJPRBS.* **3**(2) : 86-98.
- Boonlaksiri, C., W. Oonant, P. Kongsaree, P. Kittakoo, M. Tanticharoen, and Y. Thebtaranonth. 2000. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. *Phytochemistry.* **5**(4) : 415-417.
- Buckingham, John and V. Ranjit N. Munasinghe, 2015. *Dictionary of Flavonoids with CD-ROM*. CRC Press. New York. **A-167**.
- Chun, S.S., D.A. Vatter, Y.T. Lin, and K. Shetty. 2005. Phenolic antioxidant from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Proc. Biochem.* **39** : 809-816.
- Darusman, L.K., D. Iswantini, E. Djauhari dan R. Heryanto., 2005. *Ekstrak tabat barito berkhasiat anti tumor, Kegunaan sebagai jamu, ekstrak terstandar dan bahan fitofarmaka*. Laporan Kerja Sama, IPB.

- Das K, RKS Tiwari, and DK Shrivastava (2010). Techniques of evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Jof Medicin Plants Res.* **4**(2) :104-111.
- Davis *and* Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Essay. *Jour.Microbiol.***22**(4)
- Dewick, P.P. 2002. *Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach*. John Wiley and Sons, Ltd. School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham. UK. P.149.
- Dicarolo, G., N. Mascolo, A.A. Izzo, dan F. Capasso. 1999. Flavonoids, old and new aspects of a class natural therapeutic drugs. *Life Sci.* **65** : (337-353).
- Ersam, T. 2004. *Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami*. Prosiding Seminar Nasional Kimia VI. ITS. Surabaya.
- Ee, Gwendoline Cheng Lian, Siow Hwa Teo, Mawardi Rahmani, Chang Kiang Lim, Yang Mooi Lim, and Rusea Go. 2011. Artomandin, new xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Nat. Prod. Res.* **25** (10). 995-1003.
- Fessenden, R.J dan J.S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik*, Jilid 2, Edisi Ketiga. Erlangga. Jakarta.
- Geisman, T.A., dan J. B. Harbone. 1956. *Jour. Am. Chem. Soc.* **78**. 832
- Gordon, M.C. and J.N. David. 2001. Natural Product Drug Discovery in the next Millenium. *Pharm. Biol.* **39**. 8-17.
- Gulfraz, M., Abdul-Waheed, S. Mehmood, dan M. Ihtisham. 2006. Extraction and Purification of various organic compounds in selected medicinal plants of Kotli sattian, District Rawalndindi, Pakistan. *Ethnobotanical Leaflets.* **10**. 13-23.
- Hakim, Aliefman. 2010. Diversity of secondary metabolites from Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Nusantara Bioscience* **2**(3). 146-156.
- Hanafiah KA. 2000. *Rancangan percobaan: teori dan aplikasi*. 6th ed. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Jilid II*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Harjono.S., 1992. *Spektroskopi Inframerah Edisi Pertama*. Liberty. Yogyakarta.
- Harnorne, J.B. 1980. *Plant Phenolics, In : Secondary Products (Eds.) Bell. E.A. and Chalewood, B.V., Springer Verlag Berlin*. Pp 320

- Hashim, N.M, M. Rahmani, S.S. Shamaum, G.W.C.L. Ee, M.A. Sukari, A.M. Ali and R. Go. 2011. Dipeptide and Xanthenes from *Artocarpus kemando* Miq. *Jour. Med. Pla. Res.* **5**(1). 4224-4230.
- Hashim NM, M. Rahmani , G.C. Ee, M.A. Sukari, M. Yahayu, M.A. Amin, A.M. Ali, and R. Go. 2012. Antioxidant, antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of xanthenes isolated from *Artocarpus obtusus* F.M. Jarrett. *Jour. Pub. Med.* **17**(5). 6071-82.
- Hendayana, Sumar. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. Semarang Press. Semarang.
- Heyne, K. 1987. *Useful Plants of Indonesia II*. Penerbit Badan Litbang Kehutanan. Jakarta. Indonesia.
- Hostettmann, K., M. Hostetmann, dan A. Marston.1995. *Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan pada isolasi senyawa alam*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Intekhab, J. and M. Aslam. 2009. Isolation of A Flavonoid from The Roots of *Citrus sinensis*. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences.* **7**(1).1-8.
- Jayasinghe, L., B.A.I.S. Balasooriya, W.C. Hara N. Padmini, and Y. Fujimoto. 2004. Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging. *Phytochemistry.* **6**(5): 1287-1290.
- Johson, E. L. dan R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Penerbit ITB. Bandung.
- Khan, M.R., A.D. Omoloso, M. Kihara. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia.* **7**(4): 501-505.
- Khennouf, F., S. Amira, L. Arrar, and A. Baghiani. 2010. Effect of some phenolic Compounds and Quercus Tannins on lipid peroxidation. *World Appl. Sci. Jour.,* **8**(9) : 1144-1149.
- Khomsiah, Ismi. 2016. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji, Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Fraksi Non Polar Kulit Akar Tumbuhan Kenagkan (*Artocarpus rigida*). (*Skripsi*). Universitas Lampung. Lampung.
- Khopkar, S.M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Ko, H.H., Y.H. Lu, S.Z. Yang, S.J. Won, and C.N. Lin. 2005. Cytotoxic prenylflavonoids from *Artocarpus elasticus*. *J. Nat. Prod.* **6**(8): 1692-1695.

- Kochummen, K.M. 1987. *Moracea in tree flora of Malaya*. Vol. 2. Forest Research Institute. Kepong, Malaysia.
- Koirewoa, Yohanes Adithya, Fatimawali, dan Weny Indayany. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (Pluchea indica L.)*. Universitas Samratulangi. Manado.
- Krishna, G., and Makoto H. 2000. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Journal of Elsevier Science*. **455**: 155-166.
- Lapinski, B. 2011. Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease Review Article. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **11**:1-9.
- Lenny, S. 2006. *Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam – Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mabry, T.J., K.R. Markham, and M.B. Thomas. 1970. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer Verlag. Berlin
- Markham, R.K. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB. Bandung.
- McChesney, J.D., S.K. Venkataraman, J.T. Henri. 2007. Plant natural products : Back to the future or into extinction. *Photochemistry*. **68**:2015-2022.
- Middelton, E. and C. Kandaswarni. 1993. *The impact of plant flavonoids on mammalian biology : Implications for immunity inflammation and cancer, in the flavonoids, Advances in research science (Ed.)*, Harborne, J.B., Champman and Hall. London. Pp. 619-645.
- Miller, Alan N.D., 1996, *Antioxidant flavonoid structural usage alternative medical Review I (2)*. 103-111.
- Nafriadi dan S. Gan. 2007. *Anti Kanker*. Dalam: Farmakologi dan Terapi. FK UI. Jakarta. (732- 733).
- Ngama, M., D. Pandiangan, dan M. J. Rumondor. 2015. Uji Poensi Antikanker Leukemia Ekstrak Metanol Daun *Selaginella delicatula* dan *Pteris vittata*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **4**(4): 2302-2493.
- Rusli. 2007. *Penuntun Praktikum Kimia Organik Sintesis*. Universitas Muslim Indonesia. Makassar.
- Saifudin, Aziz. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian, Edisi I, Cetakan I*. Deepublish. Jakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.

- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Dasar-Dasar Spektroskopi , Edisi Kedua, Cetakan Kedua*. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Saxena, S., R. Sharma, S. Rajore, and A. Barta. 2005. Isolation and Identification of Flavonoid “Vitexin” from *Jatropha curus* L. *J. Pl. Sci. Res.* **21** : 116-117.
- Schechter, I. Barzilai, I.L. and V. Bulatov. 1997. Online Remote Prediction of Gasoline Properties by Combined Optical Method. *Ana.Chim.Acta.* **339** : 193-199.
- Septianingsih, U., H. Susanti, dan W. Widyaningsih. 2012. *Penghambatan Aktivitas Xanthine Oxidase oleh Ekstrak Metanol Akar Sambiloto (Andrographis paniculata, Ness) Secara in vitro*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Setiana, 2011. *Pengetahuan, Sikap, dan Praktik Mahasiswa Fakultas Kedokteran terhadap Pencegahan Infeksi* . Semarang : Universitas Diponegoro.
- Shah, Y.M., L.D. Juliawaty, S.A. Achmad, E.H. Hakim, E.L. Ghisalberti. 2006. Cytotoxic prenylated flavones from *Artocarpus champeden*. *Journal Natural Medicine.* **60**. 308-312.
- Shamaun SS, R. Mawardi, N.M. Hashim, H.B.M. Ismaili, M.A. Sukari, G.C.L. Ee, and R. Go. 2010. Prenylated flavones from *Artocarpus altilis*. *J. Nat. Med.* **64**. 478 – 481.
- Shetty, K. 2004. Role of poline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications : a review. *Proc. Biochem.* **39** .789-803.
- Shinwari, M.I. and M.A. Khan. 1998. Indigenous use of medical trees and shrubs of Margalla Hills National Park, Islamabad. *Pak., J.Forest.* **48**(1-4) 63-90.
- Silverstein Bassler dan Morrill. 1986. *Penyidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik Edisi ke-empat*. Erlangga. Jakarta.
- Silverstein, G.M. 2002. *Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik Edisi 4*. Erlangga. Jakarta.
- Sim, DJ, Jung HY, Choi M.S., Yoo M.S. ,Lee S.H., and Jung JK. 2007. Increase of collagen synthesis by obovatol through stimulation of the TGF-beta signaling and inhibition of matrix metalloproteinase in UVB irradiated human fibroblast. *Dermatol Sci.* **46**(2). 127-37.
- Smith, H. 1972. Dalam “*Phytochrome*” (K. Mitrakos dan W. Shropshire, pny.). Academic Press, New York and London. Pp **433**.

- Springbob, K. and K. Satio. 2002. Metabolic engineering of plant secondary metabolism: promising approach to production of pharmaceuticals. *Sci. Clu.* **68**: 76-85.
- Stahl, E. 1967. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Sudjadi, 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Fakultas Farmasi UGM. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Suhartati, T. 2001. Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia (*Disertasi*). ITB. Bandung.
- Tempesta and S. Michael. 2007. *Proanthocyanidin Polymers Having Antiviral and Methodes of Obtaining Same*. <http://www.freepatentsonline.com/5211944>. Published on April 23rd, 2007.
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Venkataraman, K. 1972. Review Articles Wood phenolic in the chemotaxonomy of Moraceae. *Phytochemistry*. **11**.1571.
- Verheij, E.W.M. and R.E. Coronel. 1992. *Plant Resources of South Asia No. 2 Edible Fruits and Nuts*. Prosea Foundation. Bogor.
- Wang, Y., K. Xu, L. Lin, Y. Pan, and X. Zheng. 2007. Geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry*. **68**.1300-1306.
- Wijono, Sri Harsodjo. 2003. Isolasi Identifikasi Flavonoid pada Daun Katu (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Makara Sains*. **7**(2). 51-64.
- Williams, Ch.A. and Grayer, R.J. 2004. Anthocyanis and other Flavonoids. *Nat. Prod. Res.* **21**. 539-573.
- Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of Flavonoids and effect of stress. *Curr. Opin. Biol.* **5** . 218-223.
- Wulandari, Lesty. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Presindo. Jember.