

**ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN
KENANGKAN (*Artocarpus rigida*) DAN UJI BIOAKTIVITAS**

(Skripsi)

Oleh

Rio Febriansyah



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*) DAN UJI BIOAKTIVITAS

Oleh

Rio Febriansyah

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi senyawa flavonoid serta uji bioaktivitas antibakteri dari kayu akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*). Senyawa flavonoid diisolasi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol:etil asetat (1:1), selanjutnya difraksinasi dan dimurnikan dengan metode kromatografi cair vakum, kromatografi kolom dan kromatotron. Analisis kemurnian dilakukan berdasarkan penentuan titik leleh dan kromatografi lapis tipis menggunakan 3 perbandingan konsentrasi eluen. Penentuan struktur senyawa ditentukan dengan spektroskopi UV-Vis dan IR. Uji bioaktivitas menggunakan bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*. Hasil isolasi diperoleh kristal berwarna kuning dengan titik leleh 258 °C-260 °C. Hasil penentuan struktur menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan suatu senyawa flavon terprenilasi yaitu senyawa Artonin E sebanyak 43,1 mg. Hasil uji bioaktivitas antibakteri menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ketiga variasi konsentrasi senyawa Artonin E. Pada konsentrasi 0,5; 0,4; dan 0,3 mg per *disk* berturut-turut menunjukkan adanya daya hambat sebesar 9, 9 dan 7 mm pada bakteri *E. coli* dan 8, 7, dan 9 mm pada bakteri *B. subtilis*. Daya hambat pada antibakteri menunjukkan bahwa bioaktivitas antibakteri senyawa hasil isolasi Artonin E terhadap bakteri *E. coli* dan *B. subtilis* tergolong sedang.

Kata Kunci : *artoinin E*, *Artocarpus rigida*, antibakteri, *E. coli*, *B. subtilis*, flavonoid

ABSTRACT

ISOLATION OF FLAVONOID COMPOUND FROM POLAR FRACTION ROOT WOOD KENANGKAN PLANT (*Artocarpus rigida*) AND BIOACTIVITY TEST

By

Rio Febriansyah

This research has been done isolation and antibacterial bioactivity test of flavonoid compound come from root wood kenangkan plant (*Artocarpus rigida*). Flavonoid compound was isolated using maceration method with methanol : etil acetat (1:1), after that was fractionated and purified with coloum chromatography and chromatotron method. Analysis of the purity of the compound is based by determination of melting point and thin layer chromatography using three different eluent concentrations. Structure determination used spectroscopy UV-Vis and IR. Bioactivity test used *E. coli* and *B. subtilis*. The color of isolated compound was yellow with melting point 258 °C-260 °C. Structure determined of the isolated compound showed a prenilated flavon, Artonin E. 43.1 mg. The antibacterial bioactivity test of Artonin E with three concentration variations 0.5; 0.4; and 0.3 mg per disk showed that inhibition zone 9, 9 and 7 mm on *E. coli* and 8, 7, dan 9 mm on *B. subtilis*. The zone of inhibition indicated that the antibacterial bioactivity of isolated compound against *E. coli* and *B. subtilis* was moderate category.

Key word : *artoinin E, Artocarpus rigida, antibacteria, E. coli, B. subtilis, flavonoid*

**ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN
KENANGKAN (*Artocarpus rigida*) DAN UJI BIOAKTIVITAS**

Oleh

Rio Febriansyah

Skripsi

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

pada

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



**JRUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **ISOLASI SENYAWA FLAVONOID DARI
FRAKSI POLAR KAYU AKAR TUMBUHAN
KENANGKAN (*Artocarpus rigida*) DAN UJI
BIOAKTIVITAS**

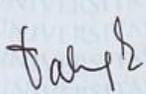
Nama Mahasiswa : **Rio Febriansyah**

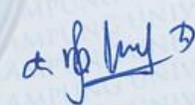
No. Pokok Mahasiswa : 1117011046

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




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


Dr. Mita Rilyanti, M.Si.
NIP 19720530 200003 2 001

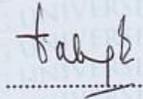
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


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

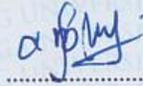
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

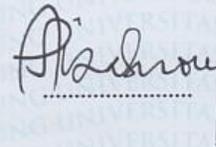
Ketua : **Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**



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



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



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 : **03 Januari 2018**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di desa Ketapang, Sungkai Selatan Lampung Utara pada tanggal 03 Februari 1993, anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Suhaili dan Ibu Sri Jumiati.

Penulis mengawali pendidikan formal di SD Negeri 1 Ketapang yang diselesaikan pada tahun 2005, melanjutkan di SMP Negeri 6 Kotabumi Lampung Utara yang diselesaikan pada tahun 2008 dan masuk SMA Negeri 2 Kotabumi Lampung Utara yang diselesaikan pada tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis diterima di jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur tertulis Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan di jurusan kimia, penulis memiliki pengalaman organisasi yaitu, Kader Muda Himaki periode 2011-2012, Anggota Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi Himaki FMIPA Unila periode 2012-2013, Ketua Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia Periode 2013-2014 dan Anggota Dewan Pembina Himaki periode 2014-2015. Sains Dasar pada tahun 2016.



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

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

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

**Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., Dr. Mita Rilyanti M.Si,
Dr. Noviany, M.S., Prof. Dr. Vandri AS., M.S., Dr.
Jhons F. Suwandi, M.Kes., dan Dr. Supriyanto M.Si
yang membimbing dan memotivasi selama di Perkuliahan.**

Seseorang yang kelak menjadi pendamping hidupku

**Almamater Tercinta
Universitas Lampung**

MOTTO

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

(Qs. An-Nahl: 1)

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

(Sir William Osler).

“Untuk mencapai apa yang kamu inginkan harus dilandaskan dengan sebuah prioritas dan niat yang ikhlas”

“kamu adalah cerminan dari pemikiranmu

(Rio Febriansyah)

SANWACANA

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

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

1. Orang yang paling luar biasa dalam hidup, Bapak Suhaili dan Ibu Sri Jumiati, yang telah mendidik, memberikan kasih sayang, dukungan, doa, dan motivasi kepada penulis hingga saat ini.
2. Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku Pembimbing I yang telah memotivasi, membimbing, dan mengarahkan penulis selama penelitian dan penulisan skripsi.
3. Dra.Mita Rilyanti M.Si, selaku Pembimbing II dan Pembimbing Akademik, atas kesabarannya dalam memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis selama menyelesaikan skripsi.

4. Noviany, Ph.D., selaku Pembahas yang banyak memberikan masukan dan kritik yang bersifat positif dan membangun.
5. Prof. Dr. Ir. Yandri AS,. M.S., yang selalu memberikan bimbingan dan motivasinya.
6. Dr. Supriyanto M.Si yang selalu membantu dan sebagai tempat berbagi.
7. Bapak Diki Hidayat M.Si yang selalu mengingatkan dan memotivasi.
8. Dr. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
9. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak dan Ibu Dosen beserta staf jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing penulis selama belajar di Universitas Lampung.
11. Kakak tercinta Reni Febrianti M.Pd, dan Adik tercinta Triyadi Wirya Dinata dan Alvin Novrizal, Daing Ramdhan, Keluarga Besar Tulus dan Keluarga Besar Mat Amin yang selalu memotivasi agar cepat menyelesaikan kuliah, semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian.
12. Pimpinan Himaki periode 2013-2014, serta pengurus Himaki periode 2013-2014 atas kebersamaan dan pembelajarannya selama ini.
13. Puari puari dari ketapang Alan J.P, Ardiansyah, Dian Afri Winanda, Faisol Santori, M. Randy P., Roby A.D., Wanda Ofyan, Adin Oby, Meji W.B., Fide lambang, Anggi septiawan, Ari Sidik, Annas wafiq. .
14. Keluargaku Kimia 2011 terutama untuk partner yang selalu bersama hingga ahir M. Yusry Ahmadhani, Arik Irawan, Azies N.D, Irkham B, Ari S.

Terimakasih atas kebersamaan yang pernah kita lalui semoga kita dapat dipertemukan kembali ketika kita sudah menjadi sukses kelak.

15. Kakak tercinta Kanda Yahya, Kak Dani, Kak Alan, Kak Awan, Kak Agung, Kak Soni, Kak Slamet, Kak Tomi, Kak Andi, Kak Imam dan Kak Taqim.
16. Keluarga Besar Meong gede Juned, Yuda, Nico, Arik, Bayu MJ, Zajuli, Sidik, Revy, Aldo, Pandu, Nelwan, adinda Dery V.
17. Partner yang luar biasa, Kak Hernawan, Ajeng, Susy, ismi dan dona serta adik-adik satu bimbingan Arni, Vicka, Badi, Inggit, dan Nurul, Herda, Laili, Elisabet, Astrifa, Gabriel dan Kartika atas bantuan, dukungan dan kerjasamanya.
18. Adik – adik tersayang, kimia 2012-2016, Tri Marital, Arif,, AIM, Dery, Yuda, Eki, Teguh, Dodoy, Mapeng, Riski, Jevi, Randy, Amar, econ, Doni, Bowo, Bangun, Tole dan lainnya yang tidak bisa disebut satu per satu namanya terimakasih banyak atas bantuan dan dukungannya kepada penulis, semoga silaturahmi kita tetap terjalin.
19. Rekan-rekan Penghuni Lab Organik, Mbak Wit, Kak Hernawan, Kak Fajri, Juned, Mirfat, Ridho, Andri, Lili, Ajeng, Susy, Dona, Ismi, Arif, Ningrum, Radius, Taskiya, Yepi, Tiara, Arni, Vicka, Badi, Inggit, Nurul, Siti, Shela, Imah, Aul, Dona, Ines, Anggun, Nita, Erva, Wahyuni Dewi atas bantuan dan kerjasamanya.
20. Kakak tingkat angkatan ,2007,2008, 2009, 2010, atas bimbingannya dan Adik tingkat 2013, 2014, dan 2015 atas semangat yang diberikan kepada penulis.
21. Almamaterku tercinta Universitas Lampung.
22. Kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini.

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

Bandar Lampung, 3 Januari 2018

Penulis,

Rio Febriansyah

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| DAFTAR TABEL | iv |
| DAFTAR GAMBAR | vi |
| | |
| 1. PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| C. Manfaat Penelitian..... | 3 |
| | |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Moraceae | 4 |
| B. Artocarpus | 5 |
| C. Kenangan (<i>Artocarpus rigida</i>) | 5 |
| D. Flavonoid..... | 7 |
| E. Ekstraksi | 9 |
| F. Fraksi Senyawa Flavonoid | 10 |
| 1. Kromatografi kolom | 11 |
| 2. Kromatografi Cair Vakum (KCV) | 12 |
| 3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) | 13 |
| G. Analisis Menggunakan Spektrofotometri | 14 |
| 1. Spektrofotometri Uv-Vis | 15 |
| 2. Spektroskopi IR | 17 |

| | |
|--|----|
| H. Bakteri | 19 |
| 1. Bakteri <i>E. coli</i> | 20 |
| 2. Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> | 22 |
| I. Metode Pengujian Aktivitas Anti Bakteri | 22 |

III. METODELOGI PENELITIAN

| | |
|--|----|
| A. Waktu dan Tempat Penelitian | 23 |
| B. Alat dan bahan | 23 |
| 1. Alat-alat yang digunakan | 23 |
| 2. Bahan-bahan yang digunakan | 24 |
| C. Prosedur Penelitian | 24 |
| 1. Pengumpulan dan perisapan sampel | 24 |
| 2. Ekstraksi | 24 |
| a. Ekstraksi dengan n-heksana | 24 |
| b. Ekstraksi dengan metanol : etilasetat (1:1) | 25 |
| 3. Kromatografi | 25 |
| a. Kromatografi Cair Vacum (KCV) | 25 |
| b. Kromatografi Lapis Tipis | 26 |
| c. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) | 26 |
| d. Uji Kemurnian | 27 |
| 4. Spektrofotometri | 27 |
| a. Spektrofotometri Ultra Violet-Visual (UV-Vis) | 27 |
| b. Spektrofotometri Infra Merah (IR) | 28 |
| 5. Pengujian Bioaktivitas | 28 |
| a. Preparasi Media Uji | 28 |
| b. Uji Bioaktivitas Dengan Metode Difusi Agar | 28 |

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

| | |
|---|----|
| A. Isolasi Senyawa Flavonoid | 30 |
| B. Analisis Menggunakan Metode KLT | 38 |
| C. Penentuan Titik Leleh | 39 |
| D. Penentuan Struktur Senyawa Organik | 40 |

| | |
|--|----|
| 1. <i>Spektroskopi Ultra Violet Tampak (UV-VIS)</i> | 40 |
| 2. <i>Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR)</i> | 45 |
| E. Uji Aktivitas Anti Bakteri | 47 |
| V. SIMPULAN DAN SARAN | |
| A. Simpulan | 50 |
| B. Saran | 51 |
| DAFTAR PUSTAKA | 52 |
| LAMPIRAN | |
| 1. Perhitungan koefisien absorptivitas molar | 56 |
| 2. Perhitungan 3 variasi konsentrasi artonin E untuk uji antibakteri | 58 |
| 3. Skema penelitian | 59 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Klasifikasi kromatografi dan tipe pemisahannya | 12 |
| 2. Urutan kenaikan tingkat kepolaran eluen pada kromatografi | 13 |
| 3. Sumber radiasi gelombang elektromagnetik untuk spektroskopi optik | 15 |
| 4. Rentang serapan spektrum ultra ungu tampak pada jenis flavonoid | 17 |
| 5. Karakteristik beberapa gugus fungsi beserta serapannya | 19 |
| 6. Pengelompokkan hasil KLT dengan eluen heksana 67,5% dan EtOAc 32,5% pada 24 fraksi dari kromatografi kolom | 33 |
| 7. Fraksi yang diperoleh dari hasil kromatotron | 36 |
| 8. Perbandingan dari spektrum UV-Vis senyawa artonin E dan senyawa dari kristal Kc kayu akar tumbuhan kenangan | 44 |
| 9. Perbandingan data IR senyawa hasil isolasi (A) dengan senyawa artonin E standar (B) | 46 |
| 10. Hasil pengukuran zona hambat dari senyawa artonin E hasil isolasi terhadap bakteri <i>Escherchia coli</i> | 48 |
| 11. Hasil pengukuran zona hambat dari senyawa artonin E dari hasil isolasi terhadap bakteri <i>Bacillus sp.</i> | 48 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Struktur umum | 7 |
| 2. Mekanisme sintesis Flavonoid dengan melibatkan calkon dan dehidrocalkon sebagai senyawa antara | 8 |
| 3. Jenis radiasi elektromagnetik dan panjang gelombangnya | 15 |
| 4. Kromatogram KLT dari E ₁ dengan eluen heksana EtOAc (6:4) | 31 |
| 5. KLT Fraksi E _{1,1} Setelah Kromatografi Kolom 1 disinari dengan Lampu UV..... | 32 |
| 6. Hasil KLT Penggabungan 24 Fraksi dari KKG yang disinari oleh Lampu UV..... | 33 |
| 7. 1. KLT Ea, Eb dan Ec dengan Eluen 67,5 % Heksana dan 32,5 % EtOAc | 34 |
| 2. KLT Ea, Eb dan Ec dengan Eluen Heksana dan EtOAc (7:3)..... | 34 |
| 8. Hasil KLT Ea ₂ dengan Eluen Heksana dan EtOAc (6:4) dan Nilai R _f 0,39 | 35 |
| 9. Perbandingan KLT Artonin E dan EA ₂ E dengan Eluen Heksana dan EtOAc (6 : 4) | 35 |
| 10. Proses Pemisahan dengan Menggunakan Metode Kromatotron | 37 |
| 11. Proses Pengelusian dengan Metode Kromatografi Kolom menggunakan Fase Diam Silika Kasar dan Silika Halus | 38 |
| 12. Hasil KLT dari Fraksi E _{2,1} Setelah Dipisahkan dengan Kromatografi Kolom ... | 38 |
| 13. Hasil Perbandingan KLT pada Fraksi Ec Artonin E dan Ed | 39 |
| 14. Spektrum UV Kristal Ec dalam MeOH..... | 40 |

| | |
|---|----|
| 15. Spektrum UV Senyawa dari Kristal E _c (Biru) dalam MeOH + NaOH (Merah) dalam MeOH | 41 |
| 16. Spektrum UV Senyawa dari Kristal Ec (Biru) dalam MeOH + AlCl ₃ (Merah) dalam MeOH | 42 |
| 17. Spektrum UV Senyawa dari Kristal Ec MeOH + NaOA _c dan MeOH + H ₃ BO ₃ | 43 |
| 18. Spektrum IR senyawa Ec hasil isolasi | 45 |
| 19. Gambar Struktur Senyawa Kristal Ec dari Isolasi (Artonin E) | 46 |
| 20. Hasil Uji Bioaktivitas dengan Menggunakan Bakteri <i>Escherchia Coli</i> ... | 47 |
| 21. Hasil Uji Bioaktivitas dengan Menggunakan Bakteri <i>Bacillus sp</i> | 48 |

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara beriklim tropis dan memiliki sumber daya alam hayati yang beranekaragam. Keanekaragaman hayati ini merupakan salah satu aset yang tak ternilai harganya. Hutan tropis Indonesia memiliki lebih dari 30.000 spesies tumbuhan. Sebagian besar belum pernah diteliti dan diambil manfaatnya. Senyawa bahan alam yang terdapat pada tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk obat-obatan (Tarigan, 1980), contohnya adalah tanaman kenangan atau dalam bahasa latinnya *Artocarpus rigida*, yang merupakan genus utama dari famili Moraceae yang terdiri kurang lebih dari 50 spesies. Selain digunakan untuk obat-obatan tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan pokok makanan (Heyne, 1987).

Famili Moraceae dalam beberapa tahun terakhir menjadi salah satu pusat penelitian senyawa bahan alam. Penelitian dilakukan dalam beberapa spesies seperti *Artocarpus nobulis*, *Artocarpus communis*, *Artocarpus reticulatus* dan *Artocarpus styracifolius*. Masing-masing tumbuhan *Artocarpus* mengandung senyawa flavonoid yang berbeda diantaranya stirasifolin A dan B, artoheterofilin A dan B, artonin A, B, dan F dan heterofilin dari *Artocarpus styracifolius* (Bourjot, 2010), artobilosanton dan sikloartobilosanton dari *Artocarpus nobilis*

(Sultanbawa dan Surendrakumar, 1989), artomunosanton dan artomunosantontrion dari *Artocarpus communis* (Shieh dan Lin, 1992). Senyawa ini memiliki aktivitas fisiologis, yaitu anti ulserogenik, anti tumor, anti alergi, anti bakteri, serta sitotoksik (Nomura, 1998).

Sejak dahulu *Artocarpus* banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Getah *Artocarpus anisophylla* dapat digunakan sebagai lem, kulit akar *Artocarpus communis* setelah dijemur dan diremas airnya dapat digunakan untuk menghentikan murus darah. Buah dari beberapa *Artocarpus* dapat dimakan dan dibuat sayuran. Serta hampir semua batang kayu dari *Artocarpus* dapat digunakan sebagai bahan bangunan atau pembuatan mebel (Heyne, 1987).

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen yang dapat menyebabkan kematian. Salah satu jenis mikroba patogen yang merugikan adalah bakteri *Escherichia coli* (Darmadi, 2008). *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri di dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan diare. Bakteri *E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz dan Stevenson., 2005). Sedangkan bakteri *Bacillus sp* merupakan bakteri dengan gram positif berbatang tebal maupun tipis yang berasal dari tanah, air, udara dan materi yang terdekomposisi (Graumann, 2007).

Isolasi metabolit sekunder pada akar tumbuhan kenangan atau *Artocarpus rigida* ini telah banyak dilakukan oleh peneliti-peneliti terdahulu (Dendiko, 2013).

Pada penelitian sebelumnya belum dilakukan uji aktivitas senyawa flavonoid dari akar kayu kenangan (*Artocarpus rigida*). Sehingga pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa flavonoid dari akar tanaman kenangan atau *Artocarpus rigida* dan dilakukan uji bioaktivitas dengan menggunakan bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis*.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengisolasi senyawa flavonoid dari fraksi polar akar tanaman kenangan (*Artocarpus rigida*).
2. Mengetahui aktivitas antibakteri dari senyawa flavonoid hasil isolasi fraksi polar akar tanaman kenangan (*Artocarpus rigida*) dengan menggunakan bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis*.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kandungan senyawa flavonoid yang terdapat dalam fraksi polar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Moraceae

Famili Moraceae merupakan ordo dari Urticales yang memiliki karakter pohon-pohon yang bergetah, dengan daun-daun tunggal yang kadang memeluk batang. Suku moraceae ini terdiri dari sekitar 70 marga dan kurang lebih 1000 jenis yang tumbuh di daerah tropis, yaitu di Asia, Amerika, Afrika dan Australia. Contoh dari spesies famili Moraceae ini adalah *Artocarpus* yang terdiri di antaranya *Artocarpus integra* (nangka), *Artocarpus elastic* (benda), *Artocarpus communis* (sukun), *Artocarpus champeden* (cempedak), dan *Artocarpus rigida* (kenangan) (Tjitrosoepomo, 1994).

Famili Moraceae dikenal sebagai sumber utama senyawa fenolat turunan flavonoid, aril-benzofuran, stilbenoid, dan santon turunan flavonoid. Moraceae terdiri dari 40 genus dan tidak kurang dari 3000 spesies. Selain bagian kayu yang dapat dimanfaatkan untuk bahan bangunan, beberapa jenis tumbuhan ini dikenal sebagai obat tradisional. Dari sejumlah senyawa yang dihasilkan memiliki aktivitas biologis yang dapat dimanfaatkan sebagai anti tumor, anti kanker, anti bakteri, anti fungal, dan lain-lain (Nomura, 1998).

B. *Artocarpus*

Tanaman *Artocarpus* merupakan salah satu genus dalam famili Moraceae. Dari seluruh spesies tumbuhan *Artocarpus*, 50 diantaranya merupakan tumbuhan asli dari Asia Selatan, Asia Tenggara, New guinea dan Pasific Selatan. Tumbuhan *Artocarpus* merupakan tumbuhan yang memiliki manfaat. Contohnya di Indonesia terdapat 24 spesies *Artocarpus* yang sebagian besar telah dimanfaatkan sebagai tanaman penghasil bahan pangan, papan dan bahan obat-obatan (Heyne, 1987). Tumbuhan *Artocarpus* memiliki kulit batang dan daun yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, misalnya obat demam, disentri, atau malaria. Selain itu buah dan batangnya dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan bahan bangunan (Herbert, 1996). Beberapa senyawa telah berhasil diisolasi dari beberapa jenis spesies *Artocarpus*. Berdasarkan beberapa laporan hasil penelitian diketahui, bahwa tumbuhan ini kaya akan senyawa fenolik terutama golongan flavonoid. Sementara itu tumbuhan ini mengaju pada aktivitas fisiologis, yaitu anti ulserogenik, anti alergi, anti tumor, anti bakteri, serta sitotoksik (Nomura, 1998).

C. Kenangkan (*Artocarpus rigida*)

Tanaman kenangkan merupakan tanaman yang tumbuh di hutan dengan ciri-ciri batang yang kokoh, tingginya dapat mencapai sekitar 20 meter, memiliki batang kayu yang keras, kulit kayunya berserat kasar dan menghasilkan getah yang banyak. Tanaman kenangkan juga memiliki daun yang tidak lebar, menjalar dan berbulu kasar. Tanaman ini memiliki buah berwarna kuning pucat, dan ketika masak berwarna lembayung. Buah dari tanaman ini dapat dimakan tetapi

memiliki rasa yang masam dan kurang enak. Tanaman ini diklasifikasikan dalam taksonomi sebagai berikut :

| | |
|-------------|---|
| Superregnum | : Eukaryota |
| Regnum | : Plantae |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliophyta |
| Ordo | : Urticales |
| Famili | : Moraceae |
| Sub famili | : Artocarpea |
| Genus | : Artocarpus |
| Spesies | : <i>Artocarpus rigidus</i> atau <i>Artocarpus rigida</i> |

(Tjitrosoepomo, 1994).

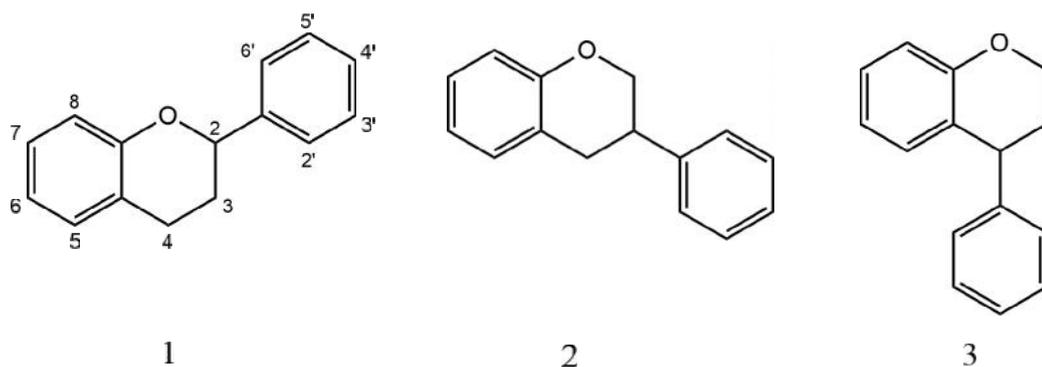
Artocarpus memiliki nama lain peusar atau tempunik (Rukmana, 1997).

Tumbuhan ini dapat dikatakan langka karena sulitnya ditemukan di berbagai daerah terutama di Indonesia. Namun di Kecamatan Sukoharjo, tepatnya di Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung tumbuhan ini ditemukan. Sebagian penduduk di sana menyebut tumbuhan ini dengan nama kenangkan yang dikarenakan menyerupai tanaman nangka (Dendiko, 2013).

D. Flavonoid

Flavonoid adalah suatu metabolit sekunder dari tanaman. Flavonoid terdapat dalam tanaman hijau, kecuali alga dan *hornwort*. Flavonoid terdapat pada semua bagian tanaman seperti daun, akar, kayu, kulit, benang sari, bunga, nektar, buah dan biji. Flavonoid juga terdapat pada hewan berang-berang pada kelenjar baunya

dan pada sayap kupu-kupu, namun sebagian besar merupakan anggapan bahwa flavonoid tersebut berasal dari tanaman yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis dalam tubuh mereka (Markham, 1988). Flavonoid dalam bahasa ilmiahnya merupakan senyawa bahan alam yang mengandung dua cincin aromatik benzena. Cincin aromatik benzena dihubungkan oleh 3 atom karbon, atau suatu fenilbenzopiran ($C_6-C_3-C_6$). Bergantung pada posisi ikatan dari cincin aromatik benzena pada rantai penghubung tersebut, kelompok flavonoid dapat dibagi menjadi 3 kelas utama yaitu flavonoid, isoflavonoid dan neoflavonoid.



Gambar 1. (Struktur umum 1. flavonoid, 2. isoflavonoid dan 3. Neoflavonoid)
(Grotewold, 2006).

Flavonoid memiliki peran penting dalam kesehatan manusia, dan disarankan agar manusia mengonsumsi beberapa gram dalam sehari. Dalam flavonoid terdapat senyawa antioksidan yang sangat penting dan dibagi menjadi 13 kelas. Flavonoid yang ditemukan lebih dari 4000 senyawa.

gula terikat dan memiliki kepolaran yang kurang polar sehingga lebih larut dalam pelarut kloroform dan eter. Contoh dari aglikon yang memiliki kepolaran kecil yaitu isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol (Markham, 1998).

E. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dan zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah berasal dari hewan ataupun tumbuh-tumbuhan yang tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan atau dikeringkan. Bahan mentah disebut ekstrak karena mengandung berbagai unsur senyawa bergantung pada kondisi ekstraksi (Ansel, 1989). Untuk mendapatkan senyawa yang khas dalam suatu tumbuhan, diperlukan metode ekstraksi yang cepat dan teliti. Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sumber atau senyawa yang akan diisolasi. Kandungan kimia tumbuhan digolongkan berdasarkan biosintesis, sifat kelarutan, dan adanya gugus fungsi tertentu (Harborne, 1987). Isolasi flavonoid umumnya dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi atau sokletasi menggunakan pelarut yang dapat melarutkan flavonoid. Pada umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar kecuali flavonoid bebas seperti isoflavon, flavon, flavanon dan flavonol termetoksilasi lebih mudah larut dalam pelarut semi polar. Oleh karena itu, proses ekstraksi untuk tujuan skrining maupun isolasi pada umumnya menggunakan pelarut metanol atau etanol. Hal ini disebabkan karena pelarut ini dapat melarutkan senyawa-senyawa mulai dari yang kurang polar sampai dengan polar. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipisahkan kandungan

senyawanya dengan teknik fraksinasi yang biasanya berdasarkan kenaikan polaritas pelarut (Monache, 1996).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi paling sederhana. Bahan yang digunakan sebagai sampel dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) dan disatukan dengan bahan pengestrak. Rendaman ekstrak disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali. Waktu maserasi pada umumnya 5 hari. Setelah waktu tersebut, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk dalam cairan telah tercapai (Voigt, 1984). Proses maserasi dilakukan beberapa kali dan hasil ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan penguap putar vakum (Markham, 1988). Setelah dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi tahapan selanjutnya yaitu fraksinasi dengan menggunakan beberapa jenis kromatografi.

F. Fraksinasi Senyawa Flavonoid

Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan senyawa yang didasarkan atas perbedaan laju perpindahan dari komponen dalam campuran. Pemisahan dengan metode kromatografi dilakukan dengan memanfaatkan sifat fisik dari komponen campuran tersebut, seperti kelarutan, sampel, adsorbs, dan kepolaran (Johnson dan Stevenson, 1991).

Adapun beberapa jenis kromatografi yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

1. Kromatografi kolom

Kromatografi kolom merupakan jenis kromatografi padat cair berdasarkan serapan yang dilakukan di dalam kolom (fasa diam), metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan dan terbaik dalam pemisahan campuran dalam jumlah besar. Campuran yang akan dipisahkan diletakan pada bagian atas penyerap (fasa diam) yang berada dalam tabung kaca (kolom). Fasa gerak yang merupakan campuran pelarut (eluen) dibiarkan mengalir melalui kolom yang disebabkan oleh gaya gravitasi bumi. Senyawa yang terlarut akan bergerak melalui kolom dengan laju berbeda, perbedaan laju dikarenakan adanya interaksi antara senyawa terlarut, penyerap (fasa diam), dan pelarut (fasa gerak). Hasil pemisahan kemudian dikumpulkan berupa fraksi-fraksi pada saat keluar dari bawah kolom (Gritter *et al.*, 1991). Klasifikasi kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa geraknya disajikan pada Tabel 1.

Adapun cara kerja dari kromatografi kolom yaitu langkah pertama mengemas kolom dilakukan dengan hati-hati agar dihasilkan kolom kemas yang serba sama. Kemasan kolom dijadikan bubuk dalam gelas piala memakai pelarut yang sama, lalu dituangkan ke dalam kolom. Kemasan dibiarkan turun dan pelarut yang berlebihan dikeluarkan melalui keran. Selanjutnya larutan cuplikan ditempatkan pada bagian atas kolom pelarut yang volumenya sedikit. Pelarut yang digunakan harus sama dengan pelarut pada pengelusion (Markham, 1998).

Tabel 1. Klasifikasi kromatografi dan tipe pemisahannya (Skoog *et al.*, 2014).

| Klasifikasi Umum | Metode spesifik | Fasa Gerak | Tipe Pemisahan |
|--|------------------------------|--|--|
| Kromatografi Gas | a. Gas-cair (GLC) | Adsorben cair atau terikat pada permukaan padat | Partisi antara gas dan cair |
| | b. Gas-padat | Padat | Adsorpsi |
| Kromatografi Cair | a. Cair-cair, atau partisi | Adsorben cair atau terikat pada permukaan padat | Partisi antara cairan yang tak bercampur adsorpsi |
| | b. Cair-padat, atau adsorpsi | Padat | |
| | c. Pertukaran ion | Resin pertukaran ion | Pertukaran ion |
| | d. Eksklusi ukuran | Cair dalam celah polimer padat | Partisi/penyaringan |
| | e. Afinitas | Kelompok cairan khusus yang terikat pada permukaan padat | Partisi antara cairan permukaan dan cairan bergerak |
| <i>Supercritical fluid chromatography</i> (SFC) (fasa diam: cairan super kritis) | | Spesi organik yang terikat pada permukaan padat | Partisi antara cairan superkritis dan permukaan yang terikat |

2. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Teknik KCV dilakukan dengan suatu sistem yang bekerja pada suatu kondisi vakum secara berlanjut dan akan menghasilkan kerapatan kemasan yang maksimum atau dengan menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju alir fase gerak. Urutan eluen yang digunakan dimulai dari eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang rendah dan ditingkatkan secara perlahan. Eluen yang memiliki kepolaran rendah dituangkan ke dalam permukaan penjerap lalu

divakum. Kolom dihisap sampai kering dan sekarang siap dipakai (Hostettmann *et al.*, 1995).

Tabel 2. Urutan kenaikan tingkat kepolaran eluen pada kromatografi.

| Nama pelarut | Kepolaran | |
|---------------------|--|-------|
| <i>n</i> -heksana |  | |
| Sikloheksana | | |
| Karbon tetraklorida | | |
| Benzena | | |
| Toluena | | |
| Metil klorida | | |
| Kloroform | | |
| Etil asetat | | |
| Aseton | | |
| <i>n</i> -propanol | | |
| Etanol | | |
| Asetonitril | | |
| Metanol | | |
| Air | | Polar |

Pada tabel ini semakin ke bawah menandakan pelarut tersebut semakin polar (Gritter *et al.*, 1991).

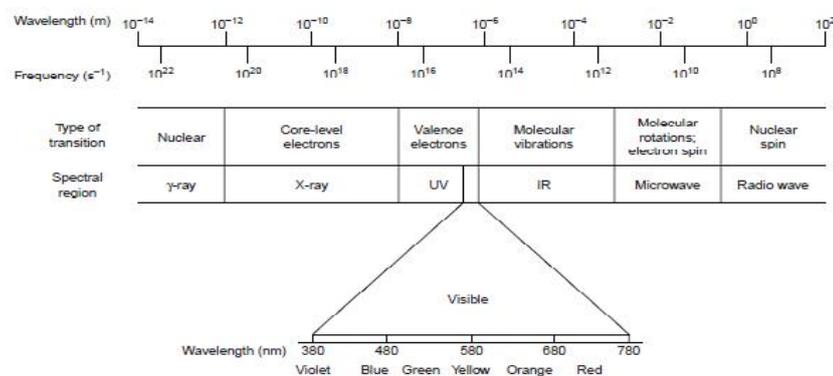
3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan jenis kromatografi padat cair yang menggunakan bahan padat sebagai fasa diam dan pelarut sebagai fasa geraknya. Fasa diam yang terdiri dari bahan berupa butiran-butiran yang ditempatkan dalam penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang sesuai. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, kemudian ditotolkan pada pelat KLT (fasa diam). Kemudian pelat diletakan dalam bejana tertutup yang telah terisi larutan eluen (fasa gerak). Pemisahan terjadi berdasarkan perbedaan laju alir dari senyawa terhadap fasa diamnya. Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna dapat terlihat dengan disinari UV atau disemprotkan larutan kromium sulfat (Stahl, 1985).

Kromatografi lapis tipis merupakan cara analisis cepat dengan penggunaan bahan yang relatif sedikit. Untuk meneliti kandungan flavonoid dan turunannya dari suatu ekstrak, sudah menjadi kebiasaan umum menggunakan eluen beralkohol pada eluen pertama kromatografi lapis tipis (Markham, 1988). Setelah diperoleh hasil fraksi murni akan dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan spektrofotometri untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat di dalam akar batang kenangan.

G. Analisis Menggunakan Spektrofotometri

Spektroskopi atau spektrofotometri merupakan suatu jenis analisis kualitatif dan kuantitatif yang digunakan berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik dan materi. Analisis ini bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai materi interaksi antara radiasi elektromagnetik (Skoog, 2014). Radiasi elektromagnetik tersebut dapat berupa radiasi sinar γ , sinar-X (X-ray), UV-Vis (ultra ungu-tampak), infra merah (IR), gelombang mikro, dan gelombang radio (Harvey, 2000). Pembagian jenis radiasi elektromagnetik berdasarkan panjang gelombangnya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Jenis radiasi elektromagnetik dan panjang gelombangnya (Harvey, 2000).

Gelombang elektromagnetik tersebut dapat digunakan untuk analisis kualitatif serta kuantitatif. Dalam aplikasinya gelombang elektromagnetik dapat dihasilkan dengan berbagai sumber radiasi, bergantung pada instrumentasi dan jenis gelombang elektromagnetik yang akan digunakan. Sumber-sumber radiasi gelombang elektromagnetik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sumber radiasi gelombang elektromagnetik untuk spektroskopi optik (Skoog, 2014).

| Sumber | Daerah Panjang Gelombang (nm) | Jenis Spektroskopi |
|---|-------------------------------|------------------------------------|
| Lampu arc Xenon | 250-600 | Molecular fluorescence |
| Lampu H ₂ dan D ₂ | 160-380 | Absorpsi molekuler UV/Vis |
| Lampu tungsten/halogen | 240-2500 | Absorpsi molekuler UV/Vis/IR dekat |
| Lampu tungsten | 350-2200 | Absorpsi molekuler Vis/IR dekat |
| Glower Nerst | 400-20.000 | Absorpsi molekuler IR |
| Kabel Nichrome | 750-20.000 | Absorpsi molekuler IR |
| Globalar | 1200-40.000 | Absorpsi molekuler IR |

1. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu analisis dari spektroskopi yang menggunakan gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 190-400 nm (UV) dan 400-780 nm (Visible/ tampak). Analisis dengan metode ini didasarkan pada absorpsi gelombang elektromagnetik. Hal ini menyebabkan terjadinya transisi elektronik dari keadaan dasar menjadi keadaan yang tereksitasi. Transisi terkuat adalah transisi dari $\pi \rightarrow \pi^*$ yang menyerap energi elektromagnetik dibawah panjang gelombang 200 nm. Contoh dari transisi ini adalah transisi pada ikatan C-C dan C-H, kedua ikatan ini memiliki elektron orbital σ . Senyawa yang tak

jenuh yang memiliki sepasang elektron bebas akan mengalami transisi elektron dari n * yang akan menyerap energi pada panjang gelombang 150-250 nm. Pada analisis spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada transisi elektron n * atau * yang merupakan orbital pada ikatan senyawa tak jenuh (Gauglitz dan Vo-Dinh, 2003).

Panjang gelombang maksimum setiap senyawa yang dianalisis akan berbeda dengan senyawa lainnya. Panjang gelombang maksimum bergantung pada jenis transisi yang terjadi pada senyawa tersebut. Semakin banyak ikatan rangkap yang terdapat pada zat tersebut, maka panjang gelombang maksimum zat tersebut akan semakin besar (bergeser ke kanan). Seperti benzena akan memiliki panjang gelombang maksimum yang lebih rendah daripada suatu naftalena (Gauglitz, dan Vo-Dinh, 2003).

Metode spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk mengetahui jenis flavonoid. Selain itu, kedudukan gugus fungsi hidroksil pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan cara menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan dapat diamati pergeseran puncak yang terjadi. Flavonoid memiliki spektrum khas yaitu terdiri dari dua pita pada rentang 240-285 nm pada pita II dan 300-550 nm pada pita I. Letak serapan pita tepat dan kekuatannya akan memberikan informasi mengenai sifat flavonoid (Markham, 1988). Jenis flavonoid dengan rentang utamanya dapat dilihat pada Tabel 4.

Analisis secara spektroskopi infra merah digunakan untuk menganalisis gugus fungsi yang terdapat pada zat yang akan diuji. Setiap gugus fungsi akan memberikan puncak-puncak yang tetap. Informasi yang diperoleh digunakan untuk analisis secara kualitatif pada zat tersebut. Misalnya gugus fungsi C=O akan memberikan puncak pada bilangan gelombang 1650 cm^{-1} sebagai asam karboksilat, 1700 cm^{-1} sebagai keton, dan 1800 cm^{-1} sebagai halida asam (klorida asam) (Harvey, 2000).

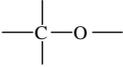
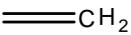
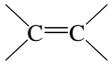
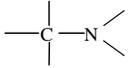
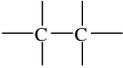
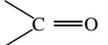
Spektroskopi inframerah merupakan teknik spektroskopi yang paling umum digunakan oleh kimiawan organik dan anorganik. Secara sederhana, spektroskopi inframerah adalah pengukuran absorpsi dari frekuensi Infra Red (IR) yang berbeda-beda oleh suatu sampel yang diletakkan pada suatu jalur radiasi IR. Tujuan utama dari spektroskopi IR adalah menentukan gugus fungsi dari suatu sampel. Gugus fungsi yang berbeda memberikan serapan radiasi IR pada frekuensi yang spesifik. Spektrometer IR dapat menentukan gugus fungsi pada jenis sampel yang beragam, berupa gas, cairan dan padatan. Selain itu spektroskopi IR merupakan alat yang digunakan untuk menentukan struktur suatu molekul dan identifikasi suatu senyawa (Settle, 1997).

Energi dari kebanyakan vibrasi molekul berhubungan dengan daerah inframerah.

Vibrasi molekul dapat dideteksi dan diukur pada spektrum inframerah.

Penggunaan spektrum inframerah untuk penentuan struktur senyawa organik biasanya antara $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ($15,4\text{-}2,5\text{ }\mu\text{m}$) (Sudjadi, 1983). Karakteristik frekuensi beberapa gugus fungsi dan serapannya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik beberapa gugus fungsi beserta serapannya (Banwell dan Mc Cash, 1994).

| Gugus | Serapan (cm ⁻¹) | Gugus | Serapan (cm ⁻¹) |
|---|-----------------------------|--|-----------------------------|
| —OH | 3600 | —CH ₂ — | 2930 |
| —NH ₂ | 3400 | - | - |
| ≡CH | 3300 | - | - |
| Ar—H | 3060 |  | 1200-1000 |
|  | 3030 |  | 1650 |
| | 2870 | | |
| | 1460 | | |
| | 1375 | | |
| | | | 1600 |
| | |  | |
|  | 1200-1000 |  | 1200-1000 |
|  | 1750-1600 | - | - |

H. Bakteri

Bakteri merupakan organisme tunggal, tidak memiliki klorofil, DNA dan RNA. Bakteri dapat melakukan metabolisme, tumbuh, dan berkembang biak. Lapisan terluar bakteri terdiri dari dua komponen yaitu dinding sel yang kaku dan membran sitoplasma. Sel bakteri dapat diliputi oleh lapisan berupa gel yang mudah lepas. Bakteri juga mempunyai struktur tumbuhan lain seperti filamen yang menonjol keluar dari permukaan sel yaitu flagella yang berfungsi sebagai alat penggerak dan alat untuk melekatkan diri yang disebut fimbria (Gupte, 1990).

Mekanisme resistensi antibiotik yaitu:

- a. Memblok antibiotik dengan cara mengubah dinding sel sehingga dapat ditembus.
- b. Merubah area target yang dapat menurunkan daya ikat antibiotik.
- c. Menghasilkan enzim pengurai antibiotik menjadi tidak aktif.
- d. Menurunkan akumulasi antibiotik intraseluler dengan cara menurunkan permeabilitas atau meningkatkan efluks aktif antibiotik (Blair *et al.*, 2015).

a. Bakteri *E. coli*

Bakteri *Escherichia coli* atau yang sering disebut *E. coli* adalah anggota flora normal usus yang berfungsi dalam sintesis vitamin K. Bakteri *E. coli* termasuk bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungan karena tidak dapat membuat makanannya sendiri. Bakteri ini berperan dalam penguraian zat organik menjadi zat anorganik dalam tubuh. Bakteri ini dapat menjadi patogen jika jumlahnya meningkat di luar usus (Ganiswarna, 1995).

Manifestasi klinik infeksi yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* bergantung pada tempat terjadinya infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* yaitu:

1. Infeksi saluran kemih

Bakteri ini merupakan penyebab infeksi saluran kemih pada kira-kira 90% wanita muda. Gejala yang ditimbulkan seperti sering buang air kecil, dan nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih.

2. Diare

Bakteri *E. coli* yang menyebabkan diare banyak ditemukan di seluruh dunia.

Contohnya diare yang terjadi pada anak-anak diakibatkan oleh *E. coli* enteropatogenik.

3. Sepsis

Bila pertahanan inang normal tidak mencukupi, *E. coli* akan masuk aliran darah dan menyebabkan sepsis.

4. Meningitis

Bakteri *E. coli* dan *streptokokus* adalah penyebab utama meningitis pada bayi (Jewetz *et al.*, 1996).

Antibiotik merupakan suatu zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme secara alami yang berfungsi untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain. Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibiotik memiliki 3 macam efek terhadap pertumbuhan bakteri yaitu bakteriostatik, bakteriosidal dan bakteriolitik (Madigan *et al.*, 2000).

b. Bakteri *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis adalah bakteri yang memiliki peran dalam proses pembusukan daging. Bakteri ini termasuk dalam klasifikasi *kingdom bacteria*, filum *firmicutes*, kelas bacilli, orde bacillales, family bacillaceae genus *Bacillus*, dan spesies *B. subtilis*. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan kerusakan pada makanan

kaleng dan peradangan yang terjadi pada lambung, usus besar, dan usus halus pada manusia yang mengkonsumsinya (Graumann, 2007).

I. Metode Pengujian Aktivitas Anti-Bakteri

Pengujian anti-bakteri merupakan suatu cara yang digunakan untuk mengukur besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa terhadap suatu mikroorganisme. Metode yang digunakan yaitu metode difusi agar Kirby –Bauer. Metode ini merupakan metode pengujian kerentanan bakteri terhadap anti-mikroba atau metode uji daya hambat. Cara pengujiannya yaitu bahan yang akan diuji dimasukkan ke dalam sumuran atau diteteskan pada *paper disk*. Lalu, ditanam dalam medium padat yang telah diisi mikroba uji. Kemudian diinkubasi dan diamati adanya zona bening disekitar sumuran atau *paper disk*. Kemampuan bahan uji menghambat bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram uji. Kemudian di ukur panjang zona bening dengan ketentuan sebagai berikut : sangat kuat bila > 20 mm, kuat 11-19 mm, sedang 5-10 mm, lemah jika < 5 mm (Rante *et al.*, 2013).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan September 2016 sampai dengan bulan September 2017, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi UV-Vis dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Analisis spektroskopi IR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Institut Teknologi Bandung. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin penggiling, beker gelas, pipet tetes, vakum *rotary evaporator*, inkubator, *autoclave*, *Laminar Air Flow*, pinset, mikro pipet, cawan petri, kertas saring, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vacum (KCV), satu set alat kromatotron, Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), lampu UV, pipet kapiler, spektrofotometer FT-IR dan spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis).

2. Bahan-bahan yang digunakan

Tanaman kenangan (*Artocarpus rigida*) yang diperoleh dari Desa Kaputren, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung. Proses Ekstraksi dan kromatografi senyawa aktif dari tanaman kenangan ini menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, metanol, aseton. Silika gel Merck 60, untuk kromatografi, bakteri *Basillus subtilis*, bakteri *E. coli*. *Nutrient Agar* (NA).

a. Prosedur Penelitian

a. Pengumpulan dan persiapan sampel

Sampel berupa kayu akar tanaman kenangan (*Artocarpus rigida*) sebanyak 5 Kg, yang diperoleh dari Kabupaten Pringsewu Kecamatan Sukoharjo pada bulan September 2015. Akar tanaman dikumpulkan lalu di cuci bersih dan di keringkan. Kemudian setelah kering di potong kecil-kecil dan dihaluskan dengan mesin penggiling, sehingga diperoleh sampel yang siap untuk diteliti.

b. Ekstraksi.

A. Ekstraksi dengan *n*-heksana

Sampel yang telah dihaluskan, ditimbang sebanyak 3 kg dan dimaserasi dengan *n*-heksana selama 3x24 jam. Hasil yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring dan dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak pekat.

B. Ekstraksi dengan metanol : etil asetat (1:1)

Residu kulit akar tanaman kenangan hasil maserasi *n*-heksana dimaserasi kembali dengan pelarut metanol : etil asetat (1:1) selama 3x24 jam. Ekstrak metanol : etil asetat (1:1) yang diperoleh disaring kembali dan ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*.

3. Kromatografi

A. Kromatografi Cair Vacum (KCV)

Ekstrak hasil maserasi metanol : etil asetat (1:1) dilarutkan ke dalam aseton lalu difraksinasi dengan KCV. Fasa diam yang digunakan yaitu silika gel Merck G 60. Sebanyak 10 kali sampel dimasukkan ke dalam kolom. Kemudian kolom dikemas kering dalam keadaan vakum menggunakan alat vakum. Eluen yang memiliki kepolaran rendah, yaitu *n*-heksana dituangkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu kemudian divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum sehingga kolom siap digunakan. Ekstrak kering yang telah dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasikan kepada silika gel, dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam, kemudian dihisap secara perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan cara memvakumnya. Setelah itu kolom dielusi secara bertahap dengan etil asetat/ *n*-heksana 10% yang ditingkatkan kepolarannya sampai dengan etil asetat 100%. Kolom dihisap sampai kering pada setiap penambahan eluen (tiap kali elusi dilakukan). Kemudian fraksi-fraksi yang terbentuk dikumpulkan berdasarkan pola fraksinasi. Proses pemurnian sampel dengan teknik KCV terhadap fraksi target dilakukan berulang kali dengan perlakuan yang sama seperti tahapan KCV awal.

B. Kromatografi Lapis Tipis

Selanjutnya dilakukan uji KLT untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar. Fraksi-fraksi yang akan difraksinasi dan fraksi hasil dari fraksinasi dilakukan uji KLT agar dapat terlihat juga pola pemisahan komponennya. Uji KLT yang dilakukan menggunakan sistem campuran eluen dengan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan yaitu berupa kombinasi antara *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dengan persentase yang sesuai. Setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT, noda dapat terlihat pada sinar lampu UV. Hasil kromatogram tersebut kemudian disemprot dengan larutan serium sulfat. *R_f* (*Retention factor*) dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat. Hasil dari fraksi yang membentuk pola pemisahan dengan *R_f* yang sama pada kromatogram, dikumpulkan menjadi satu kemudian dipekatkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut.

C. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Setelah dihasilkan fraksi-fraksi dalam jumlah yang lebih sedikit, tahapan selanjutnya dilakukan fraksinasi sampel dengan teknik kromatografi kolom. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dimasukkan ke dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. *Slurry* dari silika gel, diatur sebagai fasa diam di dalam kolom hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fasa diam. Pada saat sampel dimasukkan, usahakan agar kolom tidak kering atau kehabisan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu.

D. Uji Kemurnian

Selanjutnya dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT dan uji titik leleh. Uji kemurnian dengan metode KLT menggunakan beberapa campuran eluen.

Kemurnian suatu senyawa dapat ditunjukkan dengan timbulnya satu noda yang telah menggunakan berbagai campuran eluen. Agar senyawa dapat terlihat lebih jelas, noda dari komponen senyawa pada plat KLT disemprot menggunakan larutan serum sulfat dan disinari dengan lampu UV.

Sedangkan uji titik leleh, sebelum dilakukan pengukuran alat pengukur titik leleh dibersihkan terlebih dahulu. Cara pengukuran yaitu dengan menyiapkan serbuk kristal diletakkan pada lempeng kaca, diambil dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian alat dihidupkan dan titik leleh diamati dengan bantuan kaca pembesar. Titik leleh kristal dapat diketahui pada suhu saat pertama kali meleleh.

4. Spektrofotometri

A. Spektrofotometri Ultra Violet-Visual (UV-Vis)

Ekstrak hasil pemurnian diuji dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan jenis senyawa yang terdapat pada akar tanaman kenangan. Sampel yang telah diperoleh berupa kristal murni dilarutkan sebanyak 0,001 g dalam 10 mL metanol. Pertama, sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Nilai serapan maksimum untuk senyawa artonin E adalah sekitar 203 - 348 nm.

B. Spektrofotometri Infra Merah (IR)

Sampel yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah. Pertama, kristal yang telah murni dibebaskan dari air, kemudian digerus bersama dengan padatan halida anorganik berupa KBr. Gerusan campuran dengan KBr tersebut dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm². Puncak dari pelet tersebut dapat diukur serapannya (Sudjadi, 1983).

5. Pengujian Bioaktivitas

A. Preparasi Media Uji

Penyiapan media uji dilakukan dengan pembuatan NA sebanyak 2,8 gram dalam 100 mL aquades. Kemudian dipanaskan dan disterilkan dalam *autoclave* pada temperatur 90°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media NA steril kemudian dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan. Perlakuan tersebut dilakukan dalam *Laminar Air Flow*. Lalu media didinginkan agar memadat, jika tidak terlihat adanya kontaminan, maka media ini dapat digunakan untuk pengujian sampel.

B. Uji Bioaktivitas Antibakteri

Uji anti bakteri dilakukan dengan menggunakan bakteri *E. coli* dan *Bacillus sp* dengan menggunakan media pertumbuhan NA (*Nutrient Agar*). Sebanyak 1 mata ose masing-masing bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus sp* diencerkan dengan 1 mL aquades. Kemudian bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus sp* digunakan sebagai suspensi. Setelah diencerkan suspensi dari kedua bakteri tersebut

dioleskan masing-masing pada media uji yang sudah dibuat yaitu media NA menggunakan cotton. Siapkan masing-masing 3 kertas cakram dan diletakkan pada permukaan agar yang telah dicampurkan suspensi bakteri. Seluruh perlakuan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Uji bioaktivitas ini dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali dengan perbandingan konsentrasi 30:40:50.

Adapun 3 jenis cakram ini berupa:

1. Kontrol negatif berupa metanol yang merupakan pelarut sampel.
2. Kontrol positif berupa antibiotik untuk bakteri sehingga menggunakan amoksilin.
3. Sampel yang berupa kristal murni.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

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

1. Senyawa Artonin E hasil isolasi dari fraksi polar tumbuhan kenangan diperoleh sebanyak 14,3 mg berbentuk kristal berwarna kuning, uji titik leleh sebesar 259 °C-260 °C, uji KLT menunjukkan noda tunggal dan nilai Rf yang sama dengan senyawa standar dengan perbandingan 3 eluen yang berbeda konsentrasinya, yaitu : etil asetat dan heksana (4:6), etil asetat dan heksana (5:5) dan etil asetat dan heksana (3:7).
2. Hasil karakterisasi spektroskopi UV, IR, mendukung bahwa senyawa hasil isolasi adalah Artonin E.
3. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa senyawa Artonin E mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* yaitu menghasilkan zona bening dengan diameter sekitar 7-9 mm dan aktivitas senyawa Artonin E terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan zona bening dengan diameter sekitar 7-9 mm sehingga uji aktivitas dengan bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis* dapat disimpulkan tergolong dalam kategori sedang

B. Saran

Saran yang berkaitan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa flavonoid yang lebih murni dari kayu akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*) dengan menggunakan metode rekristalisasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bioaktivitas lain seperti anti kanker, anti tumor, anti malaria dari senyawa flavonoid pada kayu akar tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida*).
3. Pada uji bioaktivitas sebaiknya dilakukan pengulangan minimal sebanyak 3 kali agar mendapatkan hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm 39.
- Ambarwati, R. 2007. Ekstraksi Bionutrien dari tanaman MHR dan aplikasinya pada tanaman Caisin. Skripsi. Bandung. FMIPA UPI
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi 4*. UI Press. Jakarta. Hlm 96.
- Banwell, C.N. and E.M. McCash. 1994. *Fundamental of Molecular Spectroscopy*. Mc Graw-Hill Book Company. London. Hlm 1204-1206.
- Blair., M. Jessica., ,A. Mark., J. Laura. 2015. *Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Jour Microbiology*. 13(42-51).
- Bourjot, C. 2010. Antiplasmodial, Antitrypanosomal, And Cytotoxic Activities Of Prenylated Flavonoids Isolated From The Stem Bark Of *Artocarpus styracifolius*. *Original Papers*. 76. Hlm 1600-1604.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika Dan Pengendaliannya*. Salemba medika. Jakarta.
- Dendiko, M. 2013. Isolasi dan Modifikasi Senyawa Artonin-E dari *Artocarpus rigida* Menggunakan AlCl₃. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ganiswarna, S.G. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. UI Fakultas Kedokteran. Jakarta.
- Gauglitz, G., and T. Vo-Dinh. 2003. *Handbook of Spectroscopy*. Wiley-VCH. Weinheim, Jerman. Hlm. 89;125;129; dan 347.
- Graumann, P. 2007. *Bacillus : cellular and Molecular Biology*. Caister Academic Press. Norfolk. Hlm. 143
- Gritter, R.J., A.E. Schwarting, dan J.M. Bobbitt. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 266.

- Grotewold, E. 2006. *The Science of Flavonoids*. Springer. The Ohio State University: Colombus, Ohio, USA. Hlm 155.
- Gupte, S. 1990. Mikrobiologi Dasar. Diterjemahkan oleh Julius E. S. Binarupa Aksara. Jakarta. Hlm. 261-265.
- Hadiprabowo, T. 2009. *Optimasi Sintesis Analog Kurkumarin 1,3-Bis-(4-hidroksi-3-Metoksi Benzilidin) Urea pada Rentang pH 3-4*. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Hlm. 10-11.
- Harborne, J.B. 1993. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Harvey, David. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hil. USA. Hlm. 369; 372; dan 402.
- Herbert, R.B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang. Hlm 103-123.
- Heyne, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid II. Departemen Kehutanan. Jakarta. Indonesia.
- Hostettman, K., M. Hostettman dan A. Marston. 1995. *Cara kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 27-34.
- Jawetz, M. dan Adelbergs. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta. Hlm 196-198.
- Johnson, L.E. dan R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 365.
- Madigan, M.T., M. Martinko. dan J. Parker. 2000. *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall Inc. New Jarsey.
- Markham, K.R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung. Hlm 1-113.
- Monache, D.G. 1996. Antimikrobal Isoflavanones from *Desmodium canum*. *Phytochemistry*. 41 Hlm 537-544
- Nomura, T., Y. Hano. dan M. Aida. 1998. Isopreneoid-Subtituted Flavonoid From Artocarpus Plant (Moraceae), *Heterocycles*. 47. Hlm 1179-1205.

- Rante, H., B. Taebe, dan S. Intan. 2013. Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum Annuum* L Var. *Chinensis*) Dan Profil KLT Bioautografi. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 17(2). Makassar.
- Rukmana, R. 1997. *Budidaya Nangka*. Kanisius. Jakarta. Hlm 15-27.
- Settle, Frank A. 1997. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. Hlm. 25-30; 247-252; 309-311; 481-485.
- Shieh, W-L. dan Lin C-N. 1992. A Quinonoid Pyranobenzoxanthone and Pyranodihydrobenzoxanthone From *Artocarpus comminis*. *Phytochemistry*. 31(1). Hlm 364-367.
- Skoog, D. A., D. M. West., F. J. Holler. dan S.R. Crouch. 2014. *Fundamentals of Analytical Chemistry, Ninth Edition*. Brooks/Cole, Cengage Learning. Belmont, USA. Hlm 562;655;712; dan 920
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 3-17.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hlm 283.
- Suhartati, T. 2001. Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia (*Disertasi*). ITB. Bandung.
- Suhartati, T, S.A. Achmad, A. Norio, dan E.H. Hakim. 2005. Artonin M, Turunan Flavon Tergeranilasi dari *Artocarpus rotunda*. *J. Sains Tek*. 11 (2) : Hlm 61-65.
- Sultanbawa, M.U.S. dan Surendrakumar, S. 1989. Two Pyranodihydrobenzoxanthones From *Artocarpus nobilis*. *Phytochemistry*. 28(2). Hlm 599-605.
- Taringan. 1980. *Beberapa Aspek Kimia Sapogenin Steroid pada Tumbuhan di Indonesia*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 1.
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm 144-146.
- Voigt, R. 1984. *Buku Ajar Teknologi Farmasi*. Edisi 5. Diterjemahkan oleh Soendani, N. UGM Press. Yogyakarta. Hlm 143-154.