

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

(Skripsi)

Oleh

**RINDA HARIJULIATRI**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

## ABSTRACT

### ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND BIOACTIVITY TEST OF ANTIBACTERIAL FLAVONOID COMPOUND FROM ROOT BARK (*Artocarpus kemando* Miq.)

By

**Rinda Harijuliatri**

From the root bark of the pudau plant (*Artocarpus kemando* Miq.) taken from Klaten Village, Penengahan District, South Lampung Regency, Lampung, flavonoid compound were isolated. The purpose of this study was to obtain pure flavonoid compound that have bioactivity. Flavonoid isolation was carried out by maceration using methanol: ethyl acetate (1: 1), then the extract was partitioned using n-hexane, continued with Vacuum Liquid Chromatography, and purification of flavonoid compound was carried out by Column Chromatography. The characterization of flavonoids was carried out using spectroscopically (UV-Vis and infrared), and antibacterial bioactivity was tested against *B. subtilis* and *E. coli* bacteria. The compound of isolation result have yellow color in the form of needle crystals with a melting point of 261.2-262.5 °C, it has UV-Vis spectrum, infrared and Rf thin layer chromatogram which is the same as standard of artonin E. In the antibacterial bioactivity test, this compound produces a category of strong inhibitory zones to *B. subtilis* bacteria and medium category to *E. coli* bacteria with a concentration of 0.5 mg/disc.

Keywords: *Artocarpus kemando* Miq., Artonin E, antibacterial bioactivity, *B. subtilis*, *E. coli*

## **ABSTRAK**

### **ISOLASI, KARAKTERISASI, SERTA UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI KULIT AKAR TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemandu* Miq.)**

**Oleh**

**Rinda Harijuliatri**

Dari kulit akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemandu* Miq.) yang diambil dari Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Kabupaten Lampung selatan, Lampung, telah diisolasi senyawa flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan senyawa flavonoid murni yang memiliki bioaktivitas. Isolasi flavonoid dilakukan dengan maserasi menggunakan metanol:etil asetat (1:1), selanjutnya ekstrak dipartisi menggunakan *n*-heksana, dilanjutkan dengan Kromatografi Cair Vakum, dan pemurnian senyawa flavonoid dengan Kromatografi Kolom. Karakterisasi senyawa flavonoid dilakukan secara spektroskopi (UV-Vis dan inframerah), serta diuji bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*. Senyawa hasil isolasi berwarna kuning berbentuk kristal jarum dengan titik leleh 261,2-262,5°C, memiliki spektrum UV-Vis, inframerah dan Rf kromatogram lapis tipis yang sama dengan standar artonin E. Pada uji bioaktivitas antibakteri, senyawa ini menghasilkan zona hambat katagori kuat pada bakteri *B. subtilis* dan katagori sedang pada bakteri *E. coli* dengan konsentrasi 0,5 mg/cakram.

Kata kunci: *Artocarpus kemandu* Miq., artonin E, bioaktivitas antibakteri, *B. subtilis*, *E. coli*.

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

**Oleh**

**Rinda Harijuliatri**

**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  
2019**

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

Nama Mahasiswa : **Rinda Harijuliatri**

No. Pokok Mahasiswa : 1517011026

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

**Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.**  
NIP 19560905 199203 1 001

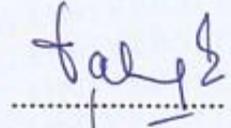
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

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

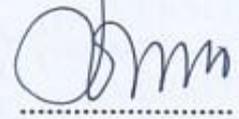
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

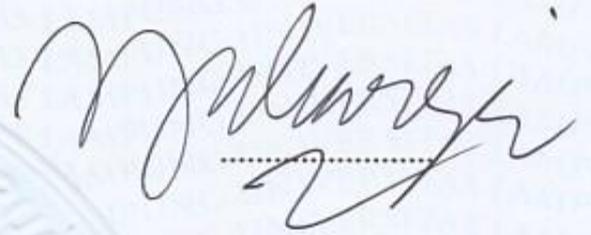
Ketua : **Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**



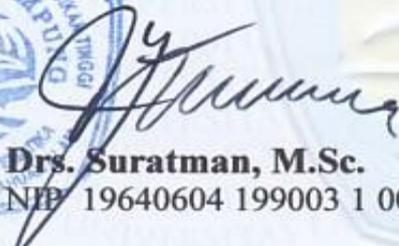
Sekretaris : **Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Prof. Suharso, Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

  
**Drs. Suratman, M.Sc.**  
NIP 19640604 199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **17 Juni 2019**

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kotabumi, Lampung Utara pada tanggal 25 Maret 1997, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara, dari pasangan Buya Haidar Sauri dan Ibu Rosmalayati.

Penulis mengawali pendidikan formal di TK Aisyiyah pada tahun 2009, kemudian melanjutkan SD Negeri 4 Tanjung Aman yang diselesaikan pada tahun 2010, melanjutkan di SMP Negeri 1 Kotabumi yang diselesaikan pada tahun 2013 dan masuk SMA Negeri 1 Kotabumi yang diselesaikan pada tahun 2015 melalui jalur undangan/prestasi . Pada tahun 2015 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, Anggota Muda PSM Unila, Kader Muda Himaki periode 2015-2016, Anggota Biro Kestari Himaki FMIPA Unila periode 2016-2018. Selama menjalani perkuliahan, penulis menjadi salah satu mahasiswa penerima beasiswa PPA periode 2017-2019. Penulis pernah mengadakan konser dua tahunan PSM pada tahun 2015. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum

Kimia Organik I pada tahun 2018 dan asisten Praktikum Kimia Organik II pada tahun 2016

---

---

## MOTTO

“Allah menghendaki kemudahan bagimu, dan tidak menghendaki kesukaran bagimu. Dan hendaklah kamu mencukupkan bilangannya dan hendaklah kamu mengagungkan Allah atas petunjuk-Nya yang diberikan kepadamu, supaya kamu bersyukur“  
(Al-Baqarah : 185)

“Man jadda wa jadda  
(siapa yang bersungguh-sungguh dia yang akan berhasil)“

“We keep moving forward, opening new doors, and doing new things, because we are curious and curiosity keeps leading us down new paths”  
(Walt Disney)

“Allah menciptakan manusia dengan akal agar dapat berfikir hal yang baik dan buruk. Maka lakukanlah hal yang terbaik meskipun kamu tidak menyukainya dan merasa sulit.  
Percayalah, semuanya akan baik-baik saja“  
(Rinda Harijuliatri)

---

---



*Puji dan Syukur Kepada Allah SWT Atas Rahmat dan Hidayah-Nya  
Penulis Mempersembahkan Karya Sederhana Ini Teruntuk:*

*Kedua Orang Tua*

*Yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan, dan memberikan kasih sayang kepada penulis. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang selalu diberikan kepada penulis.*

*Kakak-Kakak Penulis dan Keluarga Besar*

*Yang memberikan dukungan, saran, dan semangat.*

*Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. dan Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri  
A.S., M.S.*

*Yang telah sabar membimbing, memberikan ilmu, motivasi, serta saran selama di perkuliahan. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis.*

*Prof. Suharso, Ph.D., Seluruh Dosen, Guru, Staf Administrasi, dan  
Teman-Teman yang telah memberikan Ilmu, Motivasi, Saran yang positif kepada penulis*

*Almamater Tercinta  
Universitas Lampung*

## SANWACANA

Alhamdulillah segala puji hanya bagi Allah SWT, atas rahmat dan ridho-Nya Sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi, Karakterisasi, serta Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Tumbuhan Puda (Artocarpus kemando Miq.)”. 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. Penyemangat terbesar dalam hidup, Ibu Rosmalayati dan Buyah Haidar Sauri, yang selalu mendidik, memberikan kasih sayang, dukungan, doa, motivasi, dan semua yang terbaik kepada penulis hingga saat ini.
2. Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku Pembimbing I yang telah sabar membimbing, selalu memberikan motivasi, dukungan, mengarahkan penulis selama penelitian dan penulisan skripsi.
3. Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S., selaku pembimbing II dan pembimbing Akademik yang selalu memberikan bimbingan dan motivasi baik selama perkuliahan, penelitian, maupun saat penulisan skripsi.

4. Suharso, Ph.D., selaku Pembahas yang banyak memberikan masukan, dukungan, dan kritik yang bersifat positif dan membangun.
7. Dr. Suripto Dwi Yuwono, M.T., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu Dosen beserta staf jurusan, Kimia FMIPA Universitas Lampung, Pak Gani, Pak Jon. Mas Nomo, Mba wit yang telah membantu dan memberikan motivasi kepada penulis selama belajar di Universitas Lampung
10. Kakak tampan tersayang, Ajo Ridho dan Aying Reza yang selalu menjaga, memberikan dukungan, canda tawa, waktu, tenaga kepada penulis, semoga selalu diberikan berkah dan rahmat oleh Allah SWT.
11. Teman dari kecil Nabila Akbar dan Ayuk Tika yang selalu memberikan keceriaan, pengertian, waktu, dukungan, dan selalu menerima penulis apa adanya.
12. Strong women Agnes dan Ani yang selalu ada memberikan semangat, canda tawa, saran, dan motivasi kepada penulis, jazakillahu khairan, tabarakallah.
13. Manis manja Ayu Miranda, Desti, Osi, Gita, Zu yang selalu memberikan semangat, waktu, dan canda tawa kepada penulis, semoga kita menjadi manusia yang lebih baik lagi.
14. Tempo tiga serangkai Ayu (Ayu Miranda) dan Uhti Alaika yang memberikan keceriaan, waktu yang tak terlupakan kepada penulis, always stay with me.
15. Kipas (batu) smansa Ayu Wahyu, Nidung (Nida), Julia, Asept, Liza, Via, Yolanda, Anania, Eni, Fitri, Mba Siti, Ikaso, Maning, Ervina, Mutia, Winda,

Devi, Indah, Elis, Cici, Inges, Sri Ayuni, Venita, Clara, Yahdin, Rizki, Novian, Derry, Deny, Fiqi, Abdul, Ridho, Anjas, Irja, dan Kadek telah memberikan dukungan dan keceriaan kepada penulis.

16. Keluarga tersayang kimia 15 kelas A, Ayu (Ayum), Chichi, Desi D, Desti, Devi, Eka, Faul, Finu, Fitok, Fitriya Ayu, Gita, Ica, Marli, Miko, Nuy, Osi, Rafika, Asih, Dila, Widya, Zu, Agesti, Nico, Rifka, Reni, Risyda, Randi, Dias A, Ayudina, Dwi, Windi, Muryadi, Wiwin, Ijhad, Diska, Putri D, Rgg, Desi D, Yesi, Alfarizi, dan Icil telah memberikan kebersamaan, keceriaan, dan semangat kepada penulis.

17. Chemistry'15 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, atas kebersamaan dan motivasi kepada penulis selama perkuliahan dan penulis meminta maaf jika ada kesalahan yang sengaja maupun tidak disengaja. Kimia 15, solidaritas tanpa batas.

18. Partner yang luar biasa, Valentino, Rizqy, Zu, Mentari, Mba Laili, Mba Ima, Mba Herda, Mba Astriva, Mba Gabriel, Mba Sobet, Mba Kartika, Mba Arni, Mba Vicka, Mba Badi, Mba Inggit, Mba Nurul, Mae, Novita, Ilham, Tole. Penghuni Lab Organik: Mba Wit, Iis, Eva, Santi, Tosa, Hanif, Osi, Finu, Oklis, Miko, Jevi, Marli, Asih, Pipit, Siska Sari, Donny, Mba Ella, Mba Ulfi, Kak Dicky, Mba Rizky, Mba Dhia, Mba Clodina, dan Mba Yola atas bantuan, motivasi, kebersamaan, dan kerjasamanya.

19. InsyaAllah Makmur, Siska Rini, Anggun, Yuk Rizka, Renada, Destia, Mba Ella, Imas, Novi, dan Melly yang menjadi tempat bercerita, telah memberikan kebersamaan, dukungan, keceriaan, solusi kepada penulis.

20. Keluarga KKN Bumi Asri, Kak Umar, Mba Nur, Ibnu, Nanda, Desi, dan Avi  
atas kebersamaan dan berbagi pengalaman bersama penulis.

21. Semua guru dan dosen yang telah membawa penulis sampai saat ini.

Terimakasih untuk ilmu dan pembelajarannya.

22. Kakak tingkat angkatan 2011, 2012, 2013, 2014 atas bimbingannya dan Adik  
tingkat angkatan 2016, 2017, 2018 atas semangat yang diberikan kepada  
penulis.

23. Universitas Lampung yang telah memberikan kesempatan penulis untuk  
menuntut ilmu.

24. 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, Juni 2019

Penulis,

Rinda Harijuliatri

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian .....	4
C. Manfaat Penelitian .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
A. Moraceae.....	5
B. Artocarpus.....	6
C. Pudau ( <i>Artocarpus kemandu</i> Miq.).....	7
D. Senyawa Metabolit Sekunder .....	8
E. Flavonoid .....	9
F. Ekstraksi .....	12
G. Fraksinasi Ekstrak.....	13
H. Kromatografi.....	14
1. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	15
2. Kromatografi Kolom (KK) .....	16
3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	18
I. Spektrofotometri .....	18
1. Spektrofotometri UV-Vis .....	19
2. FT-IR.....	20
J. Bakteri.....	21
1. <i>Escherichia coli</i> .....	21
2. <i>Bacillus subtilis</i> .....	22
K. Antibakteri .....	23

<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>24</b>
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
B. Alat dan Bahan .....	24
C. Prosedur Penelitian .....	25
1. Pengumpulan dan Persiapan Sampel .....	25
2. Ekstraksi Sampel Secara Maserasi.....	26
3. Fraksinasi Ekstrak.....	26
4. Kromatografi.....	27
a. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	27
b. Kromatografi Kolom (KK) .....	29
c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	29
5. Analisis Kemurnian .....	30
6. Analisis Struktur .....	31
a. Spektrofotometri UV-Vis.....	31
b. Spektrofotometri Inframerah (IR).....	32
7. Pengujian Bioaktivitas Antibakteri.....	32
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
A. Isolasi Senyawa Flavonoid.....	35
1. Ekstraksi Sampel Secara Maserasi.....	35
2. Fraksinasi Ekstrak.....	38
3. Pemurnian Senyawa Flavonoid.....	41
B. Analisis Kemurnian.....	43
C. Karakterisasi Spektrofotometri .....	45
1. Spektrofotometri UV-Vis.....	45
2. Spektrofotometri IR .....	49
D. Uji Bioaktivitas Antibakteri .....	52
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
A. Simpulan .....	55
B. Saran.....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>57</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>61</b>
1. Diagram alir isolasi senyawa flavonoid dari kulit akar tumbuhan pudau ( <i>A. kemando</i> Miq.).....	62
2. Perhitungan absorpsivitas molar .....	63
3. Perhitungan uji bioaktivitas antibakteri.....	64

4. Pembuatan serum sulfat .....	66
5. Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan .....	67

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan kekuatan kepolaran eluen, elusi pada kromatografi (Christian, 1994) .....	17
2. Rentang serapan sinar UV-Vis pada flavonoid (Sastrohamidjojo, 2002) .....	19
3. Serapan sinar dan zat warna (Day dan Underwood, 2001) .....	20
4. Data panjang gelombang puncak serapan IR senyawa hasil isolasi dan artonin E standar .....	51
5. Hasil uji bioaktivitas antibakteri hasil isolasi menggunakan bakteri <i>B. subtilis</i> dan <i>E. coli</i> .....	54

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan pudau (Fatimah, 2017).....	8
2. Struktur dasar Flavonoid.....	10
3. Gambar penomoran Flavon.....	10
4. Penggolongan struktur flavonoid .....	11
5. Struktur kimia dari artonin E yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar <i>A. kemando</i> Miq .....	12
6. Diagram partisi cair-cair (Saifudin, 2014) .....	27
7. Kromatogram lapis tipis ekstrak kasar metanol:etil asetat (1:1) menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 40%.....	37
8. Kromatogram lapis tipis fraksi gabungan KCV 1 dari fraksi etil asetat dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 40%.....	39
9. Kromatogram lapis tipis hasil gabungan KCV 1(a) dan KCV 2 (b) fraksi metanol dengan etil asetat: <i>n</i> -heksana 40%.....	40
10. Kromatogram lapis tipis FMK dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 40% .....	41
11. Kromatogram lapis tipis hasil kromatografi kolom FMK dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 45% .....	41
12. Kromatogram lapis tipis gabungan hasil kromatografi kolom FMK2 dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 40 %.....	42
13. Kromatogram lapis tipis hasil kromatografi kolom FMK2b dengan eluen aseton: <i>n</i> -heksana 40%.....	42

14. Kromatogram lapis tipis kristal FMK2bk dengan eluen dengan eluen aseton: <i>n</i> -heksana 40% .....	43
15. Kromatogram lapis tipis hasil kromatografi kolom FMK2bk dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 40% .....	43
16. Kromatogram lapis tipis FMK2bk1 hasil isolasi dengna sistem 3 eluen (a) etil asetat: <i>n</i> -heksana 30% (b) DCM:etil asetat: <i>n</i> -heksana 25% (c) aseton: <i>n</i> -heksana 40% .....	44
17. Spektrum UV-Vis kristal hasil isolasi.....	45
18. Spektrum UV-Vis senyawa FMK2bk1 hasil isolasi: (a) dalam pelarut metanol dan (b) setelah penambahan pereaksi geser NaOH. ....	46
19. Perkiraan reaksi senyawa flavon dengan penambahan NaOH.....	46
20. Spektrum UV-Vis senyawa FMK2bk1 hasil isolasi: (a) dalam pelarut metanol, (b) setelah penambahan pereaksi geser AlCl <sub>3</sub> , dan (c) setelah penambahan pereaksi geser AlCl <sub>3</sub> /HCl.....	47
21. Perkiraan reaksi yang menjelaskan terjadinya pergeseran spektrum flavon penambahan AlCl <sub>3</sub> dan AlCl <sub>3</sub> /HCl (Markham, 1988) .....	48
22. Spektrum UV-Vis senyawa FMK2bk1 hasil isolasi: (a) dalam pelarut metanol, (b) setelah penambahan pereaksi geser NaOAc, dan (c) setelah penambahan pereaksi geser NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> . ....	48
23. Perkiraan reaksi senyawa flavon dengan penambahan NaOAc dan NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	49
24. Spektrum IR (A) artonin E standar (Suhartati <i>et al</i> , 2018) dan (B) senyawa FMK2bk1 hasil isolasi .....	50
25. Kromatogram lapis tipis kristal FMK2bk1 dengan standar artonin E menggunakan IPA: <i>n</i> -heksana 10% (kiri) dan IPA: <i>n</i> -heksana 30% (kanan). ....	51
26. Struktur artonin E hasil isolasi (Hernawan, 2008). ....	52
27. Hasil uji antibakteri senyawa artonin E terhadap <i>B. subtilis</i> dengan konsentrasi (a) 0,5 mg/cakram, (b) 0,4 mg/cakram, dan (c) 0,3 mg/cakram.....	53
28. Hasil uji antibakteri senyawa artonin E terhadap <i>E. coli</i> dengan konsentrasi (a) 0,5 mg/cakram, (b) 0,4 mg/cakram, dan (c) 0,3 mg/cakram.....	53

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Di negara tropis seperti Indonesia, penyakit akibat infeksi bakteri masih menjadi salah satu penyebab masalah kesehatan. Penyakit infeksi sebagai suatu penyakit yang disebabkan adanya mikroba bakteri yang bersifat patogen (Darmadi, 2008). Bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *E. coli* sebagai bakteri normal yang terdapat dalam usus dapat menyebabkan penyakit jika terdapat dalam jumlah berlebih serta bersifat patogen (Pratiwi, 2008). Penyakit infeksi yang disebabkan karena *E. coli* seperti infeksi sistem saluran urin dan diare. Tanda dan gejala infeksi saluran urin meliputi frekuensi urin, disuria, hematuria dan piuria (Jawetz, 2013). Bakteri lainnya yang menyebabkan penyakit infeksi adalah *B. subtilis*, jumlahnya yang banyak di dalam usus mampu menyebabkan diare yang ditularkan melalui kontaminasi makanan (Rahmaningsih *et al.*, 2012). Hal ini menyebabkan dilakukannya penelitian dalam pembuatan antibiotik untuk menghadapi infeksi bakteri atau resisten antibakteri.

Salah satu sumber alami antibiotik yang memiliki bioaktivitas antibakteri terdapat pada tanaman obat. Famili Moraceae dalam beberapa tahun terakhir menjadi salah satu pusat penelitian senyawa bahan alam yang mengandung banyak

senyawa flavonoid. Penelitian senyawa flavonoid yang memiliki bioaktivitas tinggi dilakukan dalam beberapa spesies *Artocarpus* seperti *A. communis*, *A. kemandu* dan *A. bracteata*. Senyawa flavonoid yang berasal dari kerangka dasar kalkon berhasil diisolasi oleh Ersam yaitu kanzonol C dan artoindonesianin J dari kulit batang *A. bracteata* (Ersam, 2001) dan pada tumbuhan pudau (*A. kemandu* Miq.) telah dilakukan isolasi senyawa senyawa flavonoid seperti artoindonesianin C, artomandin, artonol B, artosimin (Ee *et al.*, 2011). Senyawa ini memiliki aktivitas fisiologis, yaitu antiulserogenik, antitumor, antialergi, antibakteri, serta sitotoksik (Nomura, 1998).

Hasil penelitian Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia menunjukkan bahwa beberapa senyawa flavonoid yang terdapat dalam berbagai tanaman diketahui berkhasiat obat (Zuhra, 2008). Flavonoid sebagai senyawa golongan fenol pada umumnya memiliki potensial aktivitas antibakteri. Aktivitas senyawa flavonoid terhadap bakteri diantaranya menghambat sintesis asam nukleat (Chusnie dan Lamb, 2005), fungsi membran sel (Li *et al.*, 2003), dan merusak dinding sel bakteri (Rustama dan Lingga, 2005) dengan cara merusak dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino. Lipid dan asam amino pada dinding sel bakteri akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid, dinding sel akan rusak dan flavonoid masuk kedalam inti sel bakteri yang berkontak langsung dengan DNA dan menyebabkan rusaknya struktur lipid DNA sehingga bakteri akan rusak dan sel akan mati, sehingga senyawa flavonoid efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme.

Bermacam-macam senyawa flavonoid telah berhasil diisolasi dari bagian-bagian tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.). Bagian-bagian tumbuhan pudau yang telah diketahui berpotensi memiliki kandungan flavonoid adalah bagian cabang dan akar tumbuhan. Senyawa artonin E, artonin O, artobilosanton dan sikloartobilosanton berhasil diisolasi dari kulit batang *A. kemando* Miq. yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel KB (Seo, 2003). Isolasi senyawa flavonoid juga telah berhasil dilakukan dari kulit batang *A. kemando* Miq. (Teo *et al.*, 2010) yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HL-60 dan sel IMR-32. Selain itu, senyawa artonin E dari fraksi polar kulit cabang tumbuhan pudau berhasil diisolasi oleh Andini (2017) yang menunjukkan aktivitas antikanker yang sangat aktif terhadap sel leukemia P388 dengan nilai  $IC_{50}$  1,56  $\mu\text{g/mL}$  dan aktivitas antibakteri dengan kategori sedang terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*.

Pada kayu akar tumbuhan pudau juga telah berhasil diisolasi dan identifikasi senyawa murni flavonoid jenis kalkon yang memiliki daya tahan terhadap bakteri yang kuat (Fatimah, 2017). Pada fraksi semi polar kulit akar tumbuhan pudau telah berhasil diisolasi artonin M yang memiliki aktivitas antibakteri kuat terhadap bakteri *B. subtilis* dan sedang terhadap bakteri *E. coli* (Borisha, 2017).

Kemungkinan adanya senyawa flavonoid di berbagai bagian tumbuhan pudau dan memiliki bioaktivitas yang berbeda maka dilakukan isolasi, karakterisasi, dan uji bioaktivitas antibakteri senyawa flavonoid dari kulit akar tumbuhan pudau.

Senyawa flavonoid yang telah murni dilakukan identifikasi kemurnian KLT dan

uji titik leleh, dilakukan karakterisasi struktur secara spektroskopi, serta diuji bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan bakteri *B. subtilis*.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengisolasi senyawa flavonoid dari kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.).
2. Karakterisasi senyawa flavonoid dari kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) menggunakan spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi IR.
3. Uji bioaktivitas antibakteri senyawa flavonoid dari kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) terhadap bakteri *E. coli* dan bakteri *B. subtilis*.

## **C. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan memperluas pengetahuan mengenai senyawa flavonoid yang terkandung dalam kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) dan metode pengisolasiannya, serta uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Moraceae

Moraceae sering disebut sebagai keluarga ara atau murbei. Famili Moraceae merupakan tumbuhan berbatang, berkayu, menghasilkan getah, dan berbunga. Moraceae sebagai famili tumbuhan yang sebagian besar penyebarannya meliputi daerah tropis dan subtropis Asia, terdiri dari 60 genus dan 1400 spesies (Judd *et al.*, 2008).

Berbagai spesies dari famili ini telah dimanfaatkan sejak lama untuk memenuhi berbagai keperluan termasuk sandang, pangan maupun sebagai obat tradisional. Genus terpenting dalam famili Moraceae yang sering digunakan sebagai tumbuhan obat yaitu *Artocarpus*, *Ficus*, *Morus*, dan *Cudrania* (Heyne, 1987). Hal ini terbukti bahwa dalam tumbuhan Moraceae ditemukan banyak akan senyawa fenol terprenilasi, termasuk flavonoid, arilbenzofuran dan stilbenoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas-aktivitas farmakologis seperti antibakteri, antiinflamasi, antihipertensi, dan promotor antitumor (Nomura, 1988).

## B. *Artocarpus*

*Artocarpus* merupakan salah satu genus yang berasal dari famili Moraceae dan memiliki 1000 spesies. *Artocarpus* tersebar di daerah tropis maupun subtropis. *Artocarpus* mempunyai ciri yang berbeda dari tumbuhan lain yaitu terdapat getah di jaringan parenkim, mempunyai dua karpel, bunga mencolok dan buah majemuk. Jenis-jenis *Artocarpus* biasanya mempunyai habitus semak atau pohon, dan mempunyai karakteristik batang yang menghasilkan cairan khusus (Somashkhar *et al.*, 2013). Jenis *A. atilis* juga diketahui sebagai senyawa efektif bioinsektisida dalam upaya penanggulangan masalah hama kutu putih (*Planococcus* sp.), pada tanaman sancang (*Premna microphylla*) (Irawan 2012).

Tumbuhan *Artocarpus* mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, baik senyawa turunan fenol maupun non fenol. Senyawa non fenol yang telah ditemukan dalam tumbuhan *Artocarpus* berupa golongan steroid dan terpenoid. Hingga saat ini terdapat ratusan senyawa fenol golongan flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari berbagai spesies tumbuhan *Artocarpus*. Senyawa flavonoid yang mengandung gugus prenil pada C3 dan turunannya merupakan senyawa utama yang terdapat dalam semua spesies *Artocarpus* (Suhartati dan Yandri, 2007). Selama dekade terakhir, beberapa spesies dari genus *Artocarpus* telah diteliti di laboratorium dan ditemukan lebih dari 60 konstituen fenolik telah dan dicirikan, termasuk 27 senyawa baru dari 13 genus *Artocarpus* di Indonesia, yaitu *A. champeden*, *A. lanceifolius*, *A. teysmanii*, *A. scortechinii*, *A. rotunda*, *A. maingayi*, *A. kemando*, *A. bracteata*, *A. altilis*, *A. fretessi*, *A. gomezianus*, *A. reticulates*, dan *A. glaucus*. (Djamilah, 2010).

Fitur utama dan yang paling menonjol dari senyawa metabolit sekunder golongan fenolik adalah perakitan substituen isoprenil di C-3 dari kerangka flavon dengan penutupan jembatan eter atau hubungan karbon-karbon dengan cincin B dari kerangka, yang selanjutnya dapat mengatur ulang ke dalam *xanthone* untuk menghasilkan berbagai kelas produk alami. Struktur produk alami baru dan tidak biasa disajikan. Banyak metabolit juga menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel P388 murine leukemia. Dalam laporan terbaru kami tentang fitokimia dan konstituen bioaktif yang diisolasi dari *A. champeden*, ringkasan flavonoid terpenilasi disajikan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, banyak konstituen fenolik diisolasi dari spesies *Artocarpus* dan diselidiki bioaktif secara signifikan (Hakim, 2010).

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

*A. kemando* Miq. merupakan yang tersebar pada beberapa pulau di Indonesia, seperti Sumatera, Jawa dan Kalimantan, tumbuhan ini tumbuh liar di dekat sungai, sehingga terdapat beberapa daerah yang menyebut tumbuhan ini sebagai cempedak air (Jambi), nangka air ataupun temedak ayer (Bangka), sedangkan masyarakat di Borneo mengenal tumbuhan ini dengan sebutan pudu atau puda (Mandia *et al.*, 2010). *A. kemando* Miq. mempunyai batang yang berbulu dan berwarna coklat, getahnya berwarna putih, memiliki daun berukuran kecil sekitar 3-4 x 1,5-2 cm. Pertulangan daun menyirip dan buahnya berwarna kuning dengan bentuk lonjong. Habitat tumbuhan *A. kemando* Miq. yaitu hutan sekunder bersuhu dingin, tanah dengan ketinggian 50- 80 mdpl, kemiringan tanah 3-9°, pH

tanah 5,6-6,2 dan ordo tanah ultisol/inseptisol dengan kandungan liat relatif dominan (Lestari, 2009).

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



**Gambar 1.** Tumbuhan pudau (Fatimah, 2017).

#### **D. Senyawa Metabolit Sekunder**

Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa kimia tidak esensial yang terdapat hanya pada spesies dan filogenetik/famili tertentu. Dalam farmasi modern metabolit sekunder merupakan sumber molekul obat karena memiliki berbagai

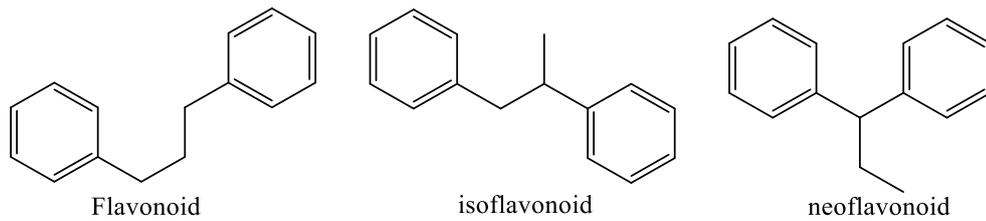
aktifitas biologis: antibakteri, antiinfeksi, antikolesterol, antikanker, antidiabetes dll. Seperti *xanthone* sebagai substansi kimia alami yang tergolong senyawa *polyphenolic*, yang dihasilkan dari metabolit sekunder telah diisolasi dari *A. kemando* Miq. (Hasyim *et al.*, 2011).

Sifat polaritas antar golongan metabolit sekunder kebanyakan tidaklah berbeda. Untuk mengisolasi dan memurnikan metabolit sekunder harus dipahami sifat dasar molekul metabolit sekunder. Mayoritas metabolit sekunder bersifat semi polar sehingga larut dalam pelarut organik. Senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, dan lainnya. Hanya sebagian saja dari metabolit sekunder bersifat polar dan larut dalam metanol atau air. Kebanyakan metabolit yang larut metanol adalah senyawa glikosida yang mengikat satu atau lebih molekul gula heksosa/pentosa (Saifudin, 2014).

### **E. Flavonoid**

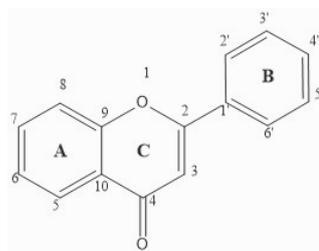
Flavonoid adalah senyawa polifenol yang banyak terdapat pada sayuran dan buah-buahan. Flavonoid telah menunjukkan perannya sebagai antioksidan, antimutagenik, antineoplastik dan aktifitas vasodilatator (Miller, 1996).

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

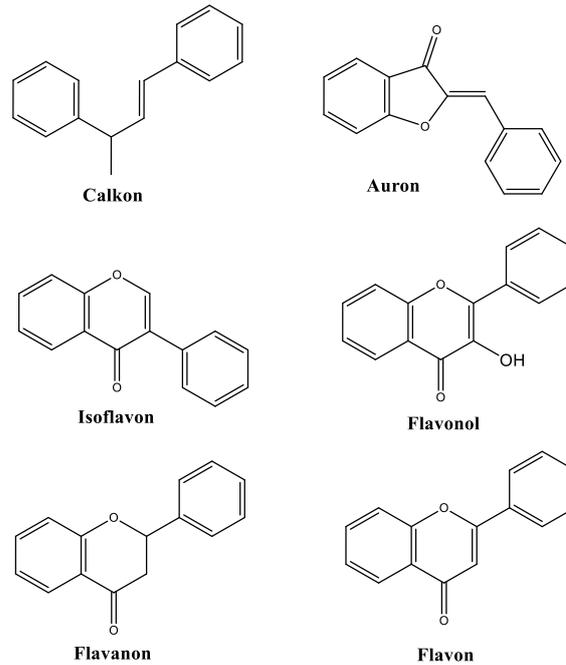


**Gambar 2.** Struktur dasar flavonoid.

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



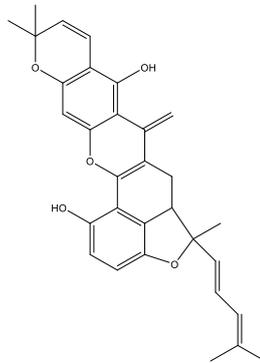
**Gambar 3.** Gambar penomoran flavon.



**Gambar 4.** Penggolongan struktur flavonoid.

Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar, 1988). Beberapa golongan flavonoid yang bersifat polar merupakan senyawa yang larut dalam air. Beberapa golongan flavonoid yang bersifat non polar merupakan senyawa yang larut dalam air. Golongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan yang didasarkan pada sifat kelarutan dan reaksi warna meliputi antosianin, proantosianin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonol, kalkon dan auron, flavanon, dan isoflavon (Markham, 1988). Pada tahun 2017, telah berhasil diisolasi artonin M pada kulit akar tumbuhan paku yang memiliki aktivitas antibakteri (Borrisha, 2017).

Berikut struktur kimia dari artonin M hasil isolasi bagian kulit akar *A. kemando* Miq. ditunjukkan pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Struktur kimia dari artonin M yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar *A. kemando* Miq.

## F. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan (sampel) menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi khususnya yang berasal dari bahan tumbuhan dilakukan dengan cara pengelompokan bagian tumbuhan, pengeringan, penggilingan dan pemilihan pelarut. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Ekstraksi dapat dilakukan dengan tidak bertingkat yaitu hanya digunakan satu pelarut untuk ekstraksi, sedangkan pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut. Ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan, sedangkan ekstraksi tidak bertingkat menghasilkan senyawa yang terekstrak merupakan ekstrak total yang mampu terekstraksi dengan pelarut tersebut (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Pelarut bersifat polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi yaitu air, metanol, etanol dan sebagainya, pelarut semi polar yaitu etil asetat, diklorometan dan sebagainya, sedangkan pelarut yang bersifat nonpolar yaitu *n*-heksana, petroleum eter, kloroform dan sebagainya. Ekstrak kasar ini sulit dipisahkan dengan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa murni, sehingga ekstrak kasar perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.

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

### **G. Fraksinasi Ekstrak**

Partisi Ekstrak adalah suatu usaha yang dilakukan untuk memisahkan komponen kimia dari ekstrak menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya (Tobo, 2001). Ekstrak (metanol, etanol 70%, atau etanol 96%) yang diperoleh masih kasar dan sangat kompleks isinya. Untuk itu perlu dilakukan fraksinasi cair-cair atau partisi. Lazimnya untuk ekstrak metanol atau etanol 70% dilarutkan ke dalam air hingga tepat larut. Kemudian dipartisi bertingkat mulai dari *n*-heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol (Saifudin, 2014).

Adapun macam-macam metode partisi diantaranya:

**a. Partisi cair-cair**

Partisi cair-cair biasa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran keduanya dalam corong pisah (Tobo, 2001).

**b. Partisi padat-cair**

Merupakan pemisahan satu komponen dari padatan dengan melarutkannya dalam pelarut, tetapi komponen lainnya tidak dapat dilarutkan dalam pelarut tersebut. Proses ini biasanya dilakukan dalam fase padatan, sehingga disebut juga ekstraksi padat-cair. Dalam ekstraksi padat-cair, larutan yang mengandung komponen yang diinginkan harus bersifat tak campur dengan cairan lainnya. Proses ini banyak digunakan dalam pemisahan minyak dari bahan yang mengandung minyak. (Ibrahim, 2009).

**H. Kromatografi**

Langkah berikutnya setelah diperoleh ekstrak dalam isolasi senyawa organik bahan alam adalah pemisahan komponen-komponen yang terdapat dalam ekstrak

tersebut. Teknik yang banyak digunakan dalam isolasi adalah kromatografi. Kromatografi digunakan pada beberapa teknik pemisahan berdasarkan pada “migration medium” yang berbeda, yaitu distribusinya terhadap fase diam dan fase gerak. Terdapat 3 hal yang wajib ada pada teknik ini, yang pertama yaitu harus terdapat medium perpindahan tempat, yaitu tempat terjadinya pemisahan. Kedua harus terdapat gaya dorong agar spesies dapat berpisah sepanjang “migration medium”. Ketiga harus terdapat gaya tolakan selektif. Gaya yang terakhir ini dapat menyebabkan pemisahan dari bahan kimia yang dipertimbangkan (Sienko *et al.*, 1984).

Pemasukan sampel diikuti dengan pengelusian menghasilkan pita-pita komponen berupa lingkaran sepusat. Pada tepi plat, pita-pita akan terputar keluar dengan gaya sentrifugal dan di tampung dalam botol fraksi, diidentifikasi dengan KLT (Hossettmann, 1995). Beberapa teknik kromatografi yang banyak digunakan antara lain kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom vakum (KCV), dan kromatografi kolom (KK) (Atun, 2014).

### **1. Kromatografi Cair Vakum**

Kromatografi cair vakum (KCV) merupakan salah satu metode pemisahan dan pemurnian golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar dengan menggunakan silika gel sebagai adsorben pada berbagai perbandingan pelarut (elusi gradien) yang dilengkapi pompa vakum untuk memudahkan terjadinya elusidasi. Teknik KCV dilakukan dengan suatu sistem yang bekerja pada suatu

kondisivakum 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 (Hostettman, 1995). Proses penyiapan fasa diam dalam kolom terbagi menjadi dua macam, yaitu :

**a. Cara Basah**

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

**b. Cara Kering**

Fasa diam atau adsorben yang akan digunakan pada KCV dimasukkan ke dalam kolom kromatografi, kemudian dibasahi dengan pelarut yang akan digunakan (Hostettman, 1995).

**2. Kromatografi Kolom (KK)**

Kromatografi Kolom (KK) merupakan proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fasa diam berupa kolom dan fasa gerak yang dibiarkan untuk mengalir. Pemisahan komponen campuran dengan

kromatografi adsorpsi berdasarkan kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang terserap pada fasa diam dan fasa gerak. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan elusi senyawa dapat dilihat pada Tabel 1 karena tingkat adsorpsi tergantung pada polaritas molekul dan fasa gerak, serta aktivitas adsorben (Christian, 1994).

**Tabel 1.** Urutan kekuatan, kepolaran eluen, elusi pada kromatografi (Christian, 1994)

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

Keterangan: Semakin ke bawah anak panah menunjukkan kekuatan, kepolaran eluen, dan elusi pada kromatografi semakin tinggi.

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

KLT adalah metode pemisahan fisikokimia. yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa plat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah plat atau lapisan diletakkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) senyawa akan bergerak jika memiliki sifat kepolaran yang sama dengan fase geraknya. Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

#### **I. Spektrofotometri**

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

## 1. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan spektrofotometer yang dapat mengukur interaksi antara radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Spektrum absorpsi daerah UV-Vis sekitar 220 nm – 800 nm. Spektrum bagian daerah sinar ultraviolet sekitar 190-380 nm, sedangkan spektrum sinar tampak 380-780 nm (Sastrohamidjojo, 2002).

**Tabel 2.** Rentang serapan sinar UV-Vis pada flavonoid (Sastrohamidjojo, 2002)

<b>Pita II</b>	<b>Pita I (nm)</b>	<b>Jenis Flavonoid</b>
250-	310-350	Flavon
250-	330-360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250-	350-385	Flavonol (3- OH bebas)
245-	310-330	Isoflavon
275-	300-390	Flavanon dan dihidroflavon
230-	340-390	Chalkon
270-	465-560	Antosianidin dan antosianin

Spektrofotometri UV-Vis sebagai gabungan antara spektrofotometri visual dan UV , menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda. Sehingga spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan baik untuk sampel berwarna maupun sampel tidak berwarna yang berbeda serapan setiap zat warnanya (Day dan Underwood, 2001).

**Tabel 3.** Serapan sinar dan zat warna (Day dan Underwood, 2001)

Serapan Sinar dan Zat Warna $\lambda$ (nm)	Warna yang Diteruskan	Warna yang Diserap
400-435	Ungu	Hijau – Kekuningan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru-Kehijauan	Jingga
490-500	Hijau-Kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu Kemerahan
560-580	Hijau-Kekuningan	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Biru Kehijauan
610-750	Merah	Hijau Kebiruan

## 2. Spektrofotometri IR

FT-IR (Fourier Transform Infra Red) atau spektrofotometri IR adalah instrumen spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi fourier untuk mendeteksi dan menganalisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FT-IR merupakan interferometer Michelson berupa alat yang digunakan untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah yang dihasilkan berasal dari pentransmisian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel (blanko) sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang dihasilkan diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Anam, 2007).

## **J. Bakteri**

Bakteri merupakan salah satu golongan organisme prokariotik. Sebagai makhluk hidup, bakteri memiliki DNA yang hanya tersusun atas intron saja (Jawetz, 2013).

Bakteri patogen adalah bakteri yang mampu menyebabkan penyakit. Bakteri patogen dapat menyebar melalui populasi manusia dalam berbagai cara.

Pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri patogen melibatkan penggunaan antibiotik, obat yang telah diformulasikan khusus untuk membunuh bakteri (Hanafiah, 2005). Contoh bakteri adalah *E. coli* dan *B. subtilis*.

### **1. *Escherichia coli***

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

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

Bakteri *E. coli* sebenarnya 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). Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan beberapa penyakit, salah satu diantaranya penyakit diare. Bakteri *E. coli* penyebab diare diklasifikasikan berdasarkan ciri khas sifat-sifat virulensinya.

Kelompok *E. coli* yang patogen yaitu :

- 1) *E. coli* Enteropatogenik (EPEC) menyerang *gastrointestinal tissues* yang dapat menyebabkan diare cair atau disertai perdarahan pada anak-anak khususnya bayi yang baru lahir.
- 2) *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC) yang menyebabkan diare cair, kram perut, dan demam.
- 3) *E. coli* Enteroinvasif (EIEC) yang menyebabkan diare disertai perdarahan juga dapat menyerang jaringan epitel pada berbagai usia, menyebabkan mual, demam, dan rasa kedinginan (Talaro, 2002).

## 2. *Bacillus subtilis*

Bakteri *B. subtilis* merupakan bakteri gram positif yang dapat ditemukan di tanah, air, udara, dan materi tumbuhan yang terdekomposisi (debu). *B. subtilis* bersifat aerobik dan mampu membentuk endospora. Klasifikasi bakteri *B. subtilis* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i> (Kosim, 2010).

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

### **K. Antibakteri**

Antibakteri merupakan senyawa khas yang dihasilkan atau diturunkan oleh organisme hidup, termasuk struktur analognya dibuat sintetik dan dengan kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu atau lebih mikroorganisme (Myllyniemi, 2004). Mekanisme kerja obat antibiotik atau antibakteri terhadap mikroorganisme dapat berupa menghambat sintesa metabolit-metabolit yang esensial seperti protein, dan asam nukleat (Chusnie dan Lamb, 2005), dapat menghambat sintesa dinding sel atau membran plasma (Rustama dan Lingga, 2005). Berdasarkan dari mekanisme kerjanya maka antibiotika ini dapat mempunyai efek :

- A. Bactericidal, bila menyebabkan sel mikroorganisme tersebut mati oleh karena efek obat yang merubah, menghambat atau merusak sel mikroorganisme.
- B. Bacteriostatic, bila menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme terhenti karena ada hambatan terhadap metabolisme mikroorganisme (Gondo, 2007).

### **III. METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2018 – April 2019 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi- LIPI Bogor. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah spektroskopi UV-Vis dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, dan spektroskopi inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBAB) Institut Teknologi Bandung. Uji bioaktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

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

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Kolom (KK), lampu UV, pipet kapiler, pengukur titik leleh *MP-10 Stuart* United Kingdom, neraca analitik, *autoclave*, *Laminar Air*

*Flow* (LAF) 9005-FL Crumair Spain, jarum ose, cawan petri, inkubator, Bunsen, mikropipet, spektroskopi FT-IR Prestige 21 Shimadzu Japan, dan spektroskopi UV-Vis Cary 100 UV-Vis Agilent Australia.

Adapun bahan yang digunakan kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) yang diperoleh dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan. Proses ekstraksi tumbuhan pudau ini dengan menggunakan metanol dan Fraksinasi senyawa aktif dari metanol, *n*-heksana, etil asetat, aseton (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) teknis yang telah didestilasi, serum sulfat (Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) 15% dalam asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 15%, akuades, diklorometana (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), silika gel G 60 untuk impregnasi, silika gel G 60 untuk KCV dan KK, untuk KLT digunakan plat KLT silika gel *kiesegal 60 F*. Pereaksi geser untuk analisis spektrum UV-Vis adalah AlCl<sub>3</sub>, HCl pekat, NaOAc, NaOH, dan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

Bahan-bahan uji bioaktivitas antibakteri meliputi kertas Whatman no. 42, akuades, media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *B. subtilis*, bakteri *E. coli*, kloramfenikol, dan amoksisilin

## **C. Prosedur Penelitian**

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

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

Bogoriense 32 Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Sampel kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) dipisahkan antara kulit akar dan kayunya. Kulit akar kemudian dibersihkan dari pengotor yang menempel, dipotong-potong sampai berukuran kecil, kemudian sampel tersebut dikeringkan. Kulit akar yang telah kering dihaluskan menjadi serbuk halus.

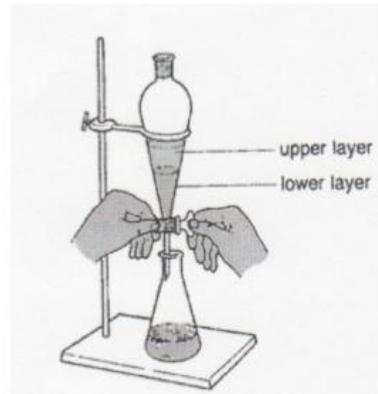
## **2. Ekstraksi Sampel Secara Maserasi**

Serbuk halus kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol:etil asetat (1:1). Pelarut metanol yang digunakan berkualitas teknis yang telah didestilasi dan maserasi dilakukan selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan 110 rpm hingga diperoleh ekstrak pekat.

## **3. Fraksinasi Ekstrak**

Setelah mendapatkan ekstrak kental atau ekstrak kering maka dilakukan pemisahan kasar dari ekstrak berdasarkan tingkat polaritasnya yakni mulai dari non polar, semi polar dan polar. Fraksinasi penelitian ini dilakukan untuk ekstrak metanol:etil asetat (1:1). Fraksinasi ekstrak metanol:etil asetat (1:1) dilakukan dengan cara partisi atau pelarutan pada solven organik. Ekstrak metanol:etil asetat (1:1) dilarutkan kembali dengan metanol atau air pada volume tepat larut

kemudian dilakukan partisi secara berturut-turut dengan *n*-heksana dan etil asetat. Partisi menggunakan alat corong pisah (*separatory funnel*).



**Gambar 6.** Diagram partisi cair-cair (Saifudin, 2014).

Jika fraksinasi dilakukan dengan cara pelarutan maka ekstrak metanol:etil asetat (1:1) dipartisi secara berturut-turut dengan *n*-heksana, etil asetat. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah ditambahkan pelarut yang dipisahkan, dikocok, sesekali katup udara corong dibuka, ditutup kembali, dan prosedur diulangi 3 kali. Pada penelitian ini karena senyawa target adalah flavonoid yang bersifat semi polar ke polar maka akan dilanjutkan pada fraksi etil asetat atau metanol.

#### **4. Kromatografi**

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

KCV dalam penelitian ini menjadi metode fraksinasi senyawa flavonoid secara kasar. Pada penelitian ini metode KCV menggunakan silika gel G 60 sebagai fase diam dan pelarut etil asetat:*n*-heksana sebagai eluen. Corong Buchner kaca masir yang berada di atas kolom KCV diisi dengan fase diam silika gel G 60 sebanyak

10 kali berat sampel yang dikemas dalam keadaan kering lalu di bagian atas ditutup dengan kertas saring kemudian divakum dengan alat vakum. Elusi KCV dilakukan dengan berbagai perbandingan pelarut saat elusi gradien yang dilengkapi pompa vakum untuk memudahkan terjadinya elusidasi atau turunnya eluen (Hostettman, 1995). Karena memiliki kepolaran rendah, eluen *n*-heksana dituangkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu lalu kolom dihisap dengan alat vakum hingga kering agar memperoleh kerapatan maksimum dan kolom siap untuk digunakan.

Sebelum dilakukan proses KCV, sampel diimpregnasi terlebih dahulu menggunakan silika gel yang ukuran partikelnya lebih besar (silika kasar). Ukuran partikel silika impreg harus lebih besar untuk mempermudah proses. Ekstrak kasar pekat yang telah kering dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasikan pada silika gel kasar, digerus hingga homogen dan kering, kemudian sampel dimasukkan pada bagian atas fasa diam secara merata dan di atasnya diletakkan kertas saring serta divakum. Impregnasi dilakukan untuk memperluas permukaan silika gel sebagai fase diam sehingga sampel yang akan dielusi dapat tersebar secara merata.

Selanjutnya sampel dielusi dengan etil asetat:*n*-heksana secara perlahan-lahan mulai dari kepolaran rendah hingga lebih polar (0:100 - 100:0%), kolom dihisap sampai kering pada setiap penambahan eluen. Fraksi-fraksi yang diperoleh digabungkan berdasarkan pola fraksinasinya. Fraksi target yang akan dimurnikan dengan KCV dilakukan secara berulang seperti tahapan KCV awal.

**b. Kromatografi Kolom (KK)**

Hasil fraksinasi dari KCV dengan analisis KLT selanjutnya dimurnikan lebih lanjut dengan KK karena jumlahnya yang lebih sedikit. Pada KK digunakan silika gel sebagai adsorben (fase diam). Silika gel dilarutkan dan diaduk dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian hingga berbentuk bubur (*slurry*). Bubur tersebut dimasukkan ke dalam kolom hingga kerapatannya maksimum (tidak terdapat rongga) dan rata. Kemudian sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi adsorben (fase diam). Pada saat sampel dimasukkan, usahakan agar kolom tidak kering/kehabisan pelarut karena dapat mempengaruhi kerapatan fase diam yang telah dikemas rapat sehingga proses elusi dapat terganggu.

**c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

KLT dilakukan terlebih dahulu untuk melihat pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak kasar. KLT juga digunakan untuk memonitoring hasil fraksi-fraksi hasil KCV dan pemisahannya. Berdasarkan hasil monitoring, fraksi yang menghasilkan nilai  $R_f$  sama pada plat silika digabung menjadi satu fraksi. KLT dilakukan dengan menggunakan sistem campuran eluen berupa pelarut yang sesuai seperti kombinasi antara *n*-heksana dan etil asetat atau aseton dengan persentase yang sesuai. Sampel yang akan dilakukan KLT dilarutkan menggunakan aseton atau pelarutnya, kemudian sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler ke permukaan plat silika. Setelah dilakukan

elusi terhadap plat KLT, bercak/noda dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm.

Hasil kromatogram tersebut kemudian disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda hasil KLT. Rf (*Retention factor*) dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang menghasilkan nilai Rf yang sama pada plat silika digabungkan lalu dipekatkan kemudian dilakukan pemurnian lebih lanjut hingga diperoleh isolat murni yang ditunjukkan dengan noda/spot tunggal pada plat silika.

## **5. Analisis Kemurnian**

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode KLT dan uji titik leleh. Analisis kemurnian secara KLT menggunakan berbagai campuran fase gerak (eluen) pada *n*-heksana, diklorometana, dan etil asetat. Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan, dengan pengamatan noda dilakukan di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 336 nm. Kemudian plat KLT disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Isolat dapat disebut relatif murni secara KLT jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal, hal ini karena isolat tersebut mengandung satu jenis senyawa.

Pada uji titik leleh, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor sebelum dilakukan pengukuran karena pengotor dapat berpengaruh

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

## **6. Analisis Struktur**

Isolat murni yang telah diperoleh dalam bentuk kristal kemudian di analisis strukturnya dengan beberapa alat spektrofotometer UV-Vis dan spektroskopi inframerah (IR), sehingga dapat diketahui nama dan struktur dari kristal murni tersebut.

### **a. Spektrofotometer UV-Vis**

Sampel berupa kristal murni hasil isolasi diambil sebanyak 0,0001 dilarutkan dalam 10 mL metanol sebagai larutan persediaan untuk beberapa kali pengukuran. Larutan persediaan dibagi menjadi beberapa bagian. Bagian I diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Kemudian masing-masing larutan persediaan ditambah dengan pereaksi-pereaksi geser seperti natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 gr NaOH dilarutkan dalam 10 mL akuades),

aluminium klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) 5% (0,25 gram  $\text{AlCl}_3$  dilarutkan dalam 5 mL MeOH), HCl 50% (5 mL HCl dalam 10 mL akuades), dan padatan natrium asetat (NaOAc). Pada pengukuran spektrofotometer UV-Vis digunakan beberapa pereaksi geser NaOH,  $\text{AlCl}_3$ , dan NaOAc untuk menentukan kedudukan gugus hidroksi fenol pada senyawa flavonoid dengan cara mengamati pergeseran puncak yang terjadi, lalu masing-masing larutan tersebut diukur serapan maksimumnya.

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

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni dihilangkan dari air lalu digerus bersama-sama dengan halida anorganik (KBr). Gerusan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton  $\text{cm}^2$ . Setelah itu, pelet tersebut diukur puncak serapannya.

### **7. Pengujian Bioaktivitas Antibakteri**

Pada uji bioaktivitas ini, yang pertama dilakukan adalah sterilisasi alat dan media dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit. Sebelumnya, telah disiapkan bahan yang akan digunakan sebagai media. Uji antibakteri menggunakan media *Nutrient Agar* (NA). Sebanyak 4,2 gram NA dilarutkan ke dalam 150 mL akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit sampai homogen. Setelah itu, media agar dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/tabung reaksi untuk media agar dasar. Media sebanyak 5 mL/tabung reaksi dan 1 mL

akuades/ tabung reaksi juga disiapkan untuk agar berisi bakteri. Selanjutnya, semua alat dan bahan disterilisasi selama 15 menit.

Sampel kristal senyawa hasil isolasi sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150  $\mu\text{L}$ , dibuat variasi tiga konsentrasi: 0,5 mg/cakram; 0,4 mg/cakram; dan 0,3 mg/cakram, kemudian berdasarkan perhitungan sesuai konsentrasi maka diambil 50  $\mu\text{L}$ ; 40  $\mu\text{L}$ ; dan 30  $\mu\text{L}$  untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram.

Pada uji antibakteri terhadap *B. subtilis* digunakan kontrol positif berupa amoksisilin, sedangkan uji antibakteri terhadap *E. coli* digunakan kontrol positif berupa kloramfenikol. kloramfenikol dan amoksisilin dibuat tiga variasi konsentrasi: 0,5 mg/cakram; 0,4 mg/cakram; 0,3 mg/cakram. Padatan untuk kontrol positif sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150  $\mu\text{L}$  metanol teknis yang didestilasi, kemudian diambil larutan sesuai setiap konsentrasi untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram.

Alat dan bahan yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam LAF. 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 1 ose. Kemudian kertas cakram yang berisi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam media berisi bakteri yang telah dibuat.

Saat memasukkan kontrol negatif ke dalam cakram dipisahkan dari kontrol positif maupun sampel agar tidak terjadi kontaminasi. Lalu, Cawan petri ditutup dengan *plastic wrap* dan kertas kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 1x24 jam. Setelah 1x24 jam, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur diameternya.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

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

1. Senyawa artonin E berhasil diisolasi dari fraksi semi polar tumbuhan pudau sebanyak 17 mg berbentuk kristal kuning, uji titik leleh sebesar 261,2-262,5°C, hasil karakterisasi spektrofotometri UV-Vis, IR, serta uji KLT menunjukkan noda tunggal dan nilai Rf yang sama dengan senyawa standar, mendukung bahwa senyawa adalah artonin E.
2. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa senyawa artonin E 0,5 mg/cakram mempunyai aktivitas antibakteri dengan katagori kuat terhadap bakteri *B. subtilis* yaitu menghasilkan zona bening dengan diameter 18 mm dan katagori sedang terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat 9 mm.

## B. Saran

Saran yang berkaitan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan pemurnian dan karakterisasi artonin E lebih lanjut pada fraksi semi polar kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) dan metode uji bioaktivitas sebagai antibakteri.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut isolasi senyawa flavonoid lain dari bagian tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) lain untuk mendapatkan senyawa selain artonin E dengan metode pengisolasian yang berbeda.
3. Dilakukan pengulangan pada uji antibakteri untuk melihat zona hambat rata-rata dan dilakukan uji bioaktivitas selain antibakteri untuk mengetahui bioaktivitas lain dari senyawa flavonoid pada kulit akar tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.).

## DAFTAR PUSTAKA

- Anam, C. S. 2007. Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR. *Jurnal Berkala Fisika FMIPA Undip*. **10**(1): 79-85.
- Andini, V. 2017. Isolasi, Karakterisasi, Serta Uji Aktivitas Antikanker dan Antibakteri Senyawa Artonin E dari Fraksi Polar Kulit Cabang Tumbuhan Puda ( *Artocarpus kemando* Miq.). (Skripsi). FMIPA Unila. Lampung.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. **8**(2): 53-61.
- Borisha, I. 2017. Isolasi, Karakterisasi, serta Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Fraksi Semi Polar Kulit Akar Tumbuhan Puda ( *Artocarpus kemando* Miq.). (Skripsi). FMIPA Unila. Lampung.
- Christian, G. D. 1994. *Analytical Chemistry Fifth Edition*. University of Washington Jhon Wiley and Sons. USA.
- Chusnie, T. T. P. dan Lamb, A, J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoid. *Int. J. Antimicrob Agents*. **26**: 343-356.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*. Salemba Medika. Jakarta.
- Davis dan Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Assay. *Appl. Microbiol*. **22**(4): 659-665.
- Day, R. A. dan Underwood, A. L. 2001. *Analisa Kimia Kuantitatif Edisi Keempat*. Erlangga. Jakarta.
- Djamilah, A. 2010. Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Serta Uji Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun ( *Artocarpus altilis*). (Tesis). Universitas Indonesia. Jakarta.
- Ee, G.C.L., Teo, S.H., Rahmani, M., Lim, C.K., Lim, Y.M., dan Go, R. 2011. Artomandin, A new Xanthone From *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Natural Product Research*. **25**(10): 995-1003.
- Ersam, T. 2001. Senyawa Kimia Mikromolekul Beberapa Tumbuhan *Artocarpus* Hutan Tropika Sumatera Barat. (Disertasi). ITB. Bandung.

- Fatimah, N. 2017. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Puda ( *Artocarpus kemando* Miq.). (Skripsi). FMIPA Unila. Lampung.
- Ganiswarna, S. 1995. *Farmakologi dan Terapi. Edisi 4*. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
- Gondo, H. K. 2007. Penggunaan Antibiotika pada Kehamilan. *Wijaya Kusuma*. **1** (1): 57-62.
- Hakim, A. 2010. Diversity of secondary metabolites from Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Bioteknologi*. **2**(3): 146-156.
- Hasyim, N. M., Mawardi, R., Shireen, S., Gwendoline, C. L., Sukari, A. M., Ali, M., and Go, R. 2011. Dipeptide and xanthenes from *Artocarpus kemando* Miq. *J. Med. Plant. Res.* **5**(17): 4224-4230.
- Hanafiah, K. A. 2005. *Biologi Tanah, Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Hernawan. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida* Bl.). (Skripsi). FMIPA Unila. Lampung.
- Heyne, K. 1987. *Useful Plants of Indonesia II*. Penerbit Badan Litbang Kehutanan. Jakarta.
- Hostettman, K. M. 1995. *Cara kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. ITB. Bandung.
- Ibrahim. 2009. *Ekstraksi*. Sekolah Farmasi. ITB. Bandung.
- Irawan, G. 2012. Potensi Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai Bioinsektisida dalam Upaya Penanggulangan Masalah Hama Kutu Putih (*Planococcus* sp) pada Tanaman Sancang (*Premna microphylla*). *NOS*. **19**(2): 53-60.
- Jawetz, E. M. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran Ed 23*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Judd., Walter., Campbell., Christopher., Kellog., Elizabeth, A., Steev., Pete, F., dan Donoghue, M. J. 2008. *Plant Systematics: A Phylogenetic Approach*. Sinauer Associated. Inc. Sunderland.
- Kosim, M. D. 2010. Pengaruh Suhu pada *Protease* dari *Bacillus subtilis*. (Skripsi). FMIPA ITS. Surabaya.
- Lestari, T. 2009. *Dampak Konversi Lahan Pertanian Bagi Taraf Hidup Petani*. IPB. Bogor.
- Li, H., Wang Z., dan Liu Y. 2003. Review in the Studies on Tannins Activity of Cancer Prevention and Anticancer. *Zhong Yao Cai*. **26**(6): 444-448.

- Mandia, S. M., Purnamasari, H., Kurniawan, E, Magdaulih, R., Helvetia, B., Suveltri, R., Anugrah., dan Dewi, A. S. 2010. *Studi Flora Jenis-jenis Tumbuhan di Jorong Lubuk Selasih, Kanagarian Batang Baru, Kecamatan Aro Suka, Kabupaten Solok, Sumatera Barat*. Universitas Andalas. Padang.
- Markham, K. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid Alih Bahasa Kosasih Padmawinata*. ITB. Bandung.
- Miller, T.1996. *Living In Te Environment*.Mc Graw Hill.USA.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. **7**(2): 361-367.
- Myllyniemi, A. L. 2004. *Development of Microbiological Methods for The Detection and Identification of Antimicrobial Residues In Meat*. Helsinki. Departement of Food and Environmental Hygiene Faculty Of Veterinary Medicine University of Helsinki. Finlandia.
- Neldawati, R. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*.**2**: 76-83.
- Nomura, T., Hano, Y., dan Aida, M. 1998. Isoprenoid-Subtituted Flavonoids From *Artocarpus* Plants (*Moraceae*). *Heterocycles*. **47**(2): 1184-1199.
- Pelczar, C. E. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 1*. UI Press. Jakarta.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Rahmaningsih, S., Willis S., dan Mulyana A. 2012. Bakteri Patogen dari Perairan Pantai dan Kawasan Tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia*. **12**(1): 1-5.
- Rustama, M. M., dan Lingga, M.A. 2005. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum L.*) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus sp.*), dan Udang Rebon (*Mysis acetes*). *Biotika*. **5**(2): 35-40.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.
- Seo, E.K., Lee, D., Shin, Y. G., Chai, H. B., H.A., Navarro, L. B., Kardono, Rahman, I., Cordell, G. A., Farnsworth, N. R., Pezzuto, J. M., Kinghorn , A. D., Wani, M. C., dan Wall, M. E. 2003. Bioactive Prenylated Flavonoids from the Stem Bark of *Artocarpus komando* Miq. *Arch. Pharm. Res* . **26**(2): 124-127.

- Sienko., Plane., and Marcus. 1984. *Experimental Chemistry, 6th Edition*. Mc Graw Hill Book Co. Singapore.
- Somashekhar, M., Naira, N., dan Basavraj, S. 2013. A Review on Family Moraceae ( Mulberry) with a Focus on *Artocarpus* Species. *WJPPS*. **2**(5): 4034-4053.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. ITB. Bandung.
- Sudarmadji, S., Haryono., dan Suhardi, B. 1989. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian, edisi ketiga*. Badan Pengembangan dan Penelitian Industri Surabaya. Surabaya.
- Suhartati, T. dan Yandri, A, S. 2007. Sikloartobilosanton dari Kulit Batang dan Flavonoid dalam Beberapa Bagian Tumbuhan *Artocarpus dadah* yang Tumbuh di Lampung. *J. Sains MIPA*. **13**(2): 86.
- Suhartati, T., Hernawan., Suwandi, J. F., Yandri, A.S., dan Hadi, S. 2018. Isolation of Artonin E from The Root Bark of *Artocarpus rigida*, Synthesis of Artonin E Acetate and Evaluation of Anticancer Activity. *Maced. J. Chem. Chem. Eng.* **37**(1): 35–42.
- Talaro, K. P. 2002. *Foundations in Microbiology Fourth Edition*. Mc Graw Hill. New York.
- Teo, S. H., Ee, G. C. L., Lim, C. K., Rahmani, M., dan Bong, C. F. J. 2010. Chemical Constituents of *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Asian J. Chem.* **23**(1): 74-76.
- Tobo, F. 2001. *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia*. Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Unhas. Makassar.
- Zuhra, C. F. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatra*. **23**(2): 7 – 10.