

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI KULIT CABANG TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)**

(Skripsi)

Oleh

ARNI NADIYA ARDELITA



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2020**

ABSTRACT

SECONDARY METABOLITES COMPOUNDS ISOLATION AND IDENTIFICATION FROM BRANCH BARK PUDAU PLANT (*Artocarpus kemando* Miq.)

By

Arni Nadiya Ardelita

In this study, an isolation and identification has been done to the secondary metabolites compounds from branch bark pudau plant (*Artocarpus kemando* Miq.). The isolation process is carried out by maceration method using *n*-hexane and methanol, processed by fractionation and purification using Thin Layer Chromatography, Vacuum Liquid Chromatography, Column Chromatography, and Chromatotron. The resulting compound was tested for melting point and identified by UV-Vis and IR spectroscopy. The results showed that two compounds had been isolated, the first was D5 from the *n*-hexane (non-polar) fraction with a mass of 3.2 mg in the form of a white solid with a melting point of 85.6-90.5°C suspected to be a triterpenoid compound containing a hydroxy group; the second was artonin E from the methanol (polar) fraction was 31.5 mg in the form of a yellow solid with a melting point of 245-255°C.

Keyword : *Artocarpus kemando* Miq., artonin E, triterpenoid.

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT CABANG TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

Oleh

Arni Nadiya Ardelita

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit cabang tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.). Proses isolasi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan metanol, dilanjutkan dengan fraksinasi dan pemurnian menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Kolom (KK), dan Kromatotron. Senyawa hasil isolasi diuji titik leleh dan diidentifikasi dengan spektroskopi UV-Vis dan IR. Hasil penelitian menunjukkan telah berhasil diisolasi dua senyawa, pertama D5 dari fraksi *n*-heksana (non polar) dengan massa 3,2 mg berupa padatan putih dengan titik leleh 85,6-90,5°C diduga senyawa triterpenoid yang mengandung gugus hidroksi; kedua artonin E dari fraksi metanol (polar) sebanyak 31,5 mg berupa padatan kuning dengan titik leleh 245-255°C.

Kata kunci : *Artocarpus kemando* Miq., artonin E, triterpenoid.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI KULIT CABANG TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemandu* Miq.)**

Oleh

Arni Nadiya Ardelita

Skripsi

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

Pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2020**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT
CABANG TUMBUHAN PUDAU
(*Artocarpus kemando* Miq.)**

Nama Mahasiswa : **Arni Nadiya Ardefita**

No. Pokok Mahasiswa : 1317011006

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Rinawati, Ph.D.
NIP 197120414 200003 2 001

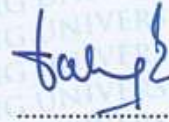
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

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

MENGESAHKAN

I. Tim Penguji

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



Sekretaris : Rinawati, Ph.D.



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



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Suratman, M.Sc.
NIP 19640604 199003 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 17 Januari 2020

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Kulit Cabang Tumbuhan Puda (*Artocarpus kemando* Miq.) adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiatisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, Januari 2020
Yang Menyatakan,



Arni Nadiya Ardelita
NPM. 1317011006

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Metro, pada tanggal 19 Januari 1995 sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Suhendri dan Ibu Suwantinah. Penulis mengawali pendidikan formal di TK Persatuan Guru Republik Indonesia (PGRI) Metro dan selesai pada tahun 2001. Kemudian penulis menyelesaikan pendidikan dari Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Banjarrejo pada tahun 2007, selanjutnya penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 4 Metro pada tahun 2010 dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 3 Metro pada tahun 2013. Tahun 2013 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar Fisika B dan asisten praktikum Kimia Organik Teknologi Hasil Pangan (THP) 2016/2017, serta asisten praktikum Kimia Organik I Kimia A 2017/2018. Dalam bidang organisasi, Penulis pernah terdaftar sebagai anggota Bidang Sains dan Penalaran Ilmu Kimia (SPIK) Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki), anggota Biro Akademik UKMF Rohani Islam (ROIS), anggota Departemen Kebijakan Publik (KP) periode 2014-2015, Sekretaris Umum Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) periode 2015-2016, dan Sekretaris Departemen Hubungan Luar dan Pengabdian Masyarakat (HLPM) periode 2016.

Tiada suatu bencanapun yang menimpa di bumi dan (tidak pula) pada dirimu sendiri melainkan telah tertulis dalam kitab (Lauhul Mahfudz) sebelum Kami menciptakannya. Sesungguhnya yang demikian itu adalah mudah bagi Allah. (Kami jelaskan yang demikian itu) supaya kamu tidak berduka cita terhadap apa yang luput dari kamu dan supaya kamu jangan terlalu gembira terhadap apa yang diberikan-Nya kepadamu.

Dan Allah tidak menyukai setiap orang yang sombong dan membanggakan diri.

(Al Hadid : 22-23)



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

PERSEMBAHAN

Dengan kerendahan hati, ketulusan jiwa, dan mengharapkan ridho Allah, kupersembahkan karya kecil ini teruntuk:

**Kedua orang tua ku,
Ayah dan ibu yang telah merawat, menyayangi, dan mendidik dengan sepenuh hati hingga penulis bisa sampai pada tahap ini. Kalianlah semangatku dalam menyelesaikan penelitian dan karya kecil ini, dan untuk semua pengorbanan yang telah kalian berikan untukku yang takkan pernah terbalas.**

Adik - adikku tersayang Faris Isham dan Alysia Hayu Syifa yang memberikan doa dan semangat.

Rasa hormat dan terimakasihku kepada pembimbing penelitianku

Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. yang telah sabar membimbingku dan memotivasiku hingga karya ini dapat kuselesaikan.

**Rasa hormat dan terimakasih kepada:
Pembimbing akademikku Ibu Rinawati, Ph.D dan Penguji penelitianku Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si serta guru-guru yang selalu membagi ilmunya untukku.**

Sahabat dan teman – temanku yang selalu berbagi kebahagiaan, dan Almamaterku tercinta.

SANWACANA

Alhamdulillahirrobbil'alamiin, segala puji hanya bagi Allah *Rabb* semesta alam yang telah memberikan nikmat-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI KULIT CABANG TUMBUHAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)”** sebagai salah satu syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains pada program studi kimia FMIPA Universitas Lampung.

Teriring doa yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, yang telah merawat, membesarkan, dan mendidik penulis dengan kasih sayang, kesabaran, dan penuh pengorbanan. Keduanya adalah alasan penulis hidup di dunia, karya kecil ini penulis persembahkan kepada Ayah dan Ibu sebagai bukti sepenggal cinta dari penulis.
2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku pembimbing I yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, keikhlasan, memberikan arahan, motivasi, dan membantu penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah membalas kebaikan beliau dengan kebaikan serta keberkahan yang tak terhingga.
3. Ibu Rinawati, Ph. D. selaku pembimbing akademik sekaligus pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan nasihat yang bermanfaat kepada

penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.

4. Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si. selaku pembahas dalam penelitian yang telah memberikan nasihat, bimbingan, dan arahan dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah membalasnya dengan kebaikan.
5. Bapak Drs. Suratman, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Ibu Noviany, Ph.D. selaku Kepala Laboratorium Kimia Organik atas izinnnya untuk menyelesaikan penelitian.
8. Bapak Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu dan bimbingan yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan. Semoga Allah SWT melimpahkan keberkahan yang tak terhingga.
9. Adik-adikku tersayang Faris Isham dan Alysia Hayu Syifa atas keceriaan, semangat, dan kasih sayang yang diberikan kepada penulis.
10. *Partner* terbaik dalam penelitianku, Badiatul Niqmah, Vicka Andini, Nurul Fatimah, dan Inggit Borisha yang senantiasa memberikan bantuan, motivasi, semangat, dukungan, dan keceriaan kepada penulis dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini, semoga Allah selalu melimpahkan keberkahan-Nya kepada kita semua dan semoga semua yang telah kita alami selama ini menjadikan diri kita menjadi insan yang lebih baik lagi.

11. Kepada rekan-rekan peneliti di Laboratorium Kimia Organik (Aulia, Shela, Siti, Imah, Dona, Nita, Erva, Wahyuni, Ines, Anggun, Yolanda), Kakak-Kakak (Kak Hernawan, Kak Rio, Mbak Dona, Mbak Endah, Mbak Ismi, Mbak Susy, Mbak Ajeng, Mbak Yepi, Mbak Tiara, Mbak Tazkiya, Mbak Ayu Setianingrum, Kak Arif, Kak Radius, Kak Ridho) dan Adik-adik (Laili, Herda, Sobet, Kartika, Astriva, Gabriel, Ufi, Risa, Rizki, Ella, Nella, Clodina, Diah, dkk) semoga Allah memudahkan segala urusan.
12. Saudara Perkayuan : Mbak Ismi, Mbak Susi, Mbak Ajeng, Mbak Dona, Kak Hernawan, Kak Rio, Kak Junaidi, Badi, Vicka, Nurul, Inggit, Imah, Laili, Kartika, Sobet, Astriva, Gabril, Herda, Rinda, Mentari, Valen, Zuwita, Rizky, Novita, Mae, Ilham, dan Irfan.
13. Keluarga “Su” Badiatul Niqmah (Subadi), Nurul Fatimah (Sutimah), Vicka Andini (Suandi), Inggit Borisha (Subori), Ismi Khomsiah (Sumiyah), Susy Isnaini Hasanah (Suis), dan Ajeng Wulandari (Sundari) yang senantiasa memberikan motivasi dan ilmu kepada penulis (Suarni) dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini.
14. *Ukhuwah Until Jannah* : Sri Utami (Kakak Pertama) dan Melita Sari (Kakak Ragil) *Jazakumullahu Khoiro* atas kebersamaannya, walaupun terpisahkan oleh jarak semoga hati kita selalu terpaut.
15. *Partner Wira-Wiri* (Khalimatus Sa’diah / Imah) termakasih sudah menemani diakhir perjuanganku dan selalu memberi semangat serta keceriaan yang luar biasa.
16. Teman-teman “*Chetir*” (Kimia 2013): Doddy, Anita, Arief, Aul, Badi, Della, Dewi, Dona, Eka S, Ezra, Nia, Febri, Fera, Fika, Inggit, Kartika,

Imah, Linda, Maya, Melia, Mia, Monic, Nessia, Nova, Dila, Nurul, Tyas, Renita, Rian F, Kiki, Shela, Sinta, Nabilla, Yuni, Verdi, Vicka, Vyna, Widya, Yudha, Yuvica, Esti, Nora, Mawar, Anggun, Anton, Awan, Paul, Citra, Dian, Eka M, Erva, Celli, Fatimah, Fentri, Dicky, Gesa, Ismi, Atun, Lulu, Bara, Mega, Melita, Mita, Murnita, Nita, Ana, Nurma, Oci, Radho, Eky, Riska, Riyan W, Shelta, Siti, Uut, Tika, Netty, Wahyuni, Yolanda, Yulia, Yunitri, Anggi, Herma, Indah, Gita, Kurnia, Ridho, Yunita, Nissa, Korina". Terima kasih untuk kebersamaan selama kuliah.

17. Mbak Wid, Mbak Liza, Mbak Ani, Pak Gani, Mas Nomo, Mbak Umi, Pak Jon, Pak Man, Uni Noor, Mbak Tri dan Pak Mulyadi atas bantuan yang diberikan.
18. Teman-teman KKN Desa Dharma Agung Kecamatan Seputih Mataram, Kabupaten Lampung Tengah (Dhimas, Fauzul, Rifqi, Riyan, Mbak Meli dan Sitro) semoga dimudahkan dalam segala urusan.
19. Teman-teman Pemimpin Himaki periode 2015-2016 : Arief (Ketum), Fentri (Bendum), Radho (Kabid KPO), Melita (Sekbid KPO), Febri (Kabid SPIK), Ismi (Sekbid SPIK), Yudha (Kabid SOSMAS), Dona (Sekbid SOSMAS), Eka (Kabir Kestari), Ana (Sekbir Kestari), Ezra (Kabir Penerbitan), Vicka (Sekbir Penerbitan), Yuni (Kabir UM), dan Anggi (Sekbir UM), semoga segala kesulitan yang telah dilalui dapat menjadi pengalaman yang luar biasa dalam segala urusan dimasa yang akan datang.
20. Keluarga HLPM periode 2016 : Ansori (Kadep), Deka (Bendep), Wulan, Ivan, Abror, Eva, Innas, Uhti, Titik, Anggun, dan Aatin, semoga *ukhuwah* kita selalu terjaga dan sukses untuk semua.

21. Almamater tercinta Universitas Lampung.

22. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

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

Bandar Lampung, Januari 2020
Penulis

Arni Nadiya Ardelita

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Moraceae	5
B. <i>Artocarpus</i>	6
C. Puda (<i>Artocarpus kemando</i> Miq.)	7
D. Metabolit Sekunder	9
E. Isolasi dan Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder	17
1. Maserasi	17
2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	18
3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	20
4. Kromatografi Kolom (KK)	21
5. Kromatotron	22
F. Analisis Kemurnian	23
G. Identifikasi Spektroskopi	23
1. Spektroskopi UV-Vis	24
2. Spektroskopi Inframerah (IR)	25

III. METODE PENELITIAN	27
A. Waktu dan Tempat Penelitian	27
B. Alat dan Bahan	27
1. Alat-alat yang digunakan	27
2. Bahan-bahan yang digunakan	28
C. Prosedur Penelitian	28
1. Persiapan Sampel	28
2. Ekstraksi dengan <i>n</i> -Heksana dan Metanol	29
3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	29
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	30
5. Kromatografi Kolom (KK)	31
6. Kromatotron	31
7. Analisis Kemurnian	32
8. Analisis Struktur	32
a. Spektroskopi UV-Vis	33
b. Spektroskopi Inframerah (IR)	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
A. Persiapan Sampel	34
B. Pemisahan dan Pemurnian	35
C. Analisis Kemurnian	57
D. Analisis Spektroskopi	58
1. Analisis Spektroskopi UV-Vis	58
2. Analisis Spektroskopi Inframerah	61
V. SIMPULAN DAN SARAN	69
A. Simpulan	69
B. Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	77
1. Diagram Alir Penelitian Kulit Cabang	
A. <i>Kemando</i> Miq	78
2. Diagram Alir Penelitian Kulit Cabang Ekstrak <i>n</i> -Heksana	
A. <i>Kemando</i> Miq	79
3. Diagram Alir Penelitian Kayu Cabang Ekstrak Metanol	
A. <i>Kemando</i> Miq	86
4. Hasil Identifikasi/ Determinasi Tumbuhan	90

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis-jenis hidrokarbon induk dari steroid	14
2. Golongan utama senyawa terpenoid	16
3. Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi	26
4. Perbandingan data spektrum UV-Vis senyawa Artonin E (Hasanah, 2016 ; Niqmah, 2017) dan senyawa hasil isolasi kulit cabang tumbuhan pudau <i>A. kemando</i> Miq	60
5. Perbandingan data IR senyawa hasil isolasi (A) dengan artonin E (Niqmah, 2017) (B)	64
6. Interpretasi spektrum IR	66
7. Perbandingan dari IR senyawa hasil isolasi D5 dengan 24-metilsikloartenil asetat (Teo <i>et al.</i> , 2011) dan -sitosterol (Ee <i>et al.</i> , 2011)	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan Puda (A. <i>kemando</i> Miq.)	7
2. Struktur kimia dari beberapa senyawa yang telah diisolasi dari kayu akar A. <i>kemando</i> Miq	8
3. Struktur kimia senyawa yang telah diisolasi dari kulit batang A. <i>kemando</i> Miq	9
4. Struktur umum flavonoid	11
5. Tingkat oksidasi senyawa flavonoid	12
6. Kerangka dasar steroid	13
7. Satuan isopren	15
8. Struktur jenis-jenis alkaloid	17
9. Kromatogram KLT ekstrak kasar <i>n</i> -heksana menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 1:9	36
10. Proses KCV (pengelusan sampel)	38
11. Kromatogram pola pemisahan fraksi A-H	38
12. Kromatogram KLT hasil KK fraksi B menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,5:9,5)	40
13. Kromatogram KLT hasil KK fraksi B gabungan menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,5:9,5)	40
14. Kromatogram KLT hasil KK fraksi B2 dan B4 menggunakan eluen air/metanol/ <i>n</i> -heksana (3:2,5:4,5)	41
15. Kromatogram KLT hasil KK fraksi B2K2(5) menggunakan eluen diklorometan/ <i>n</i> -heksana (2:8)	42

16. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi B2K2(5)(1)K menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,25:9,75)	43
17. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi B2K2(5)(1)K(1) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,25:9,75)	44
18. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi B2K2(5)(1)K(1)(4) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,25:9,75)	45
19. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi B2K2(5)(1)K(1)(4)(2) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,25:9,75)	46
20. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi gabungan B2K2(5)(1)K(1)(4)(2) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,25:9,75)	47
21. Kromatogram KLT hasil KK fraksi D menggunakan eluen aseton/ <i>n</i> -heksana (0,5:9,5)	48
22. Kromatogram KLT padatan putih hasil KK padatan fraksi D menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,5:9,5)	48
23. Kromatogram KLT hasil KK fraksi gabungan D2K2(1)K(3)*(3) dengan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (0,5:9,5)	49
24. Kromatogram KLT isolat D5 di bawah sinar UV 254 nm (A), di bawah sinar UV 366 nm (B), dan setelah divisualisasi oleh serium sulfat (C)	51
25. Kromatogram KLT hasil KCV fraksi C padatan 1A, 1B1 dan B2, 1C, dan 1D dengan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (6:4)	51
26. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi gabungan 1A,C,D menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (3:7)	52
27. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi ACD(1) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (3:7)	53

28. Kromatogram KLT hasil kromatotron fraksi ACD(1)(2-5) menggunakan eluen etil asetat / <i>n</i> -heksana (3:7)	54
29. Kromatogram KLT hasil KK fraksi ACD(1)(2-5)(1) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (3:7)	54
30. Kromatogram KLT hasil kromatotron hasil fraksi ACD(2) menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (3:7)	55
31. Kromatogram KLT hasil KK fraksi 1B1 dan B2 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana (3:7)	56
32. Kromatogram KLT padatan ACD(2) dan padatan B	56
33. Kromatogram KLT isolat (A) dengan artonin E standar (B)	57
34. Kromatogram KLT isolat D5 dengan sistem eluen diklometana/ <i>n</i> -heksana (40%), etil asetat/ <i>n</i> -heksana (5%), benzena/ <i>n</i> -heksana (10%)	58
35. Kromatogram KLT isolat artonin E dengan sistem eluen diklometana/ <i>n</i> -heksana (40%), etil asetat/ <i>n</i> -heksana (45%), aseton/ <i>n</i> -heksana (30%)	58
36. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH	59
37. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH+NaOH.....	60
38. Spektrum IR senyawa hasil isolasi	62
39. Perbandingan spektrum IR (A) senyawa hasil isolasi dan (B) senyawa artonin E standar Niqmah (2017)	63
40. Struktur senyawa artonin E	64
41. Spektrum IR senyawa D5	65

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia negara dengan iklim tropis memiliki sumber daya alam hayati yang sangat beranekaragam, sekitar 30.000 spesies tumbuhan dan 9.600 spesies diantaranya diketahui berkhasiat sebagai obat (Dalimarta,2005). Pengobatan dengan bahan alam dapat dipilih sebagai solusi untuk mengatasi penyakit yaitu dengan penggunaan ramuan obat herbal (Kardinan dan Kusuma, 2004).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat herbal secara konvensional telah banyak dilakukan oleh masyarakat, pada tahun 1985 *World Health Organization* (WHO) memprediksi lebih dari 80% populasi di dunia menggunakan tumbuhan sebagai bahan obat untuk memelihara kesehatan (Peters dan Whitehouse, 2000). Manfaat tumbuhan sebagai obat berkaitan erat dengan kandungan senyawa kimia yang disebut dengan senyawa metabolit sekunder, dan diketahui bahwa satu tumbuhan dapat mengandung beragam senyawa kimia (Dhianawaty, 2003). Salah satu tumbuhan yang sering dijadikan sumber tumbuhan obat adalah Moraceae.

Moraceae merupakan salah satu tumbuhan dengan famili besar yang terdiri dari 60 genus dan sekitar 1.400 spesies. Tiga genus utama dari famili ini yaitu *Artocarpus*, *Morus*, dan *Ficus* (Heyne, 1987). Moraceae dilaporkan mengandung beragam senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, tannin, sterol,

stilben dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas biologi seperti promotor antitumor, antibakteri, antifungal, dan antikanker (Ersam, 2004).

Salah satu genus penting dari famili Moraceae yang banyak tersebar luas di Indonesia adalah genus *Artocarpus*. Tumbuhan dengan genus ini dikenal sebagai nangka-nangkaan dan beberapa diantaranya merupakan tumbuhan penghasil buah yang dapat dimakan, seperti *Artocarpus heterophyllus* (nangka), *A. champeden* (cempedak), dan *A. altilis* (sukun). *Artocarpus* banyak menghasilkan senyawa kimia seperti terpenoid, steroid, flavonoid, santon, stilbenoid, dan 2-arilbenzofuran (Hakim, 2011). Senyawa utama yang terdapat pada genus ini sebagian besar adalah flavonoid, terutama flavon, isoflavon, kalkon, santon, dan stilbena, oleh karena itu *Artocarpus* dikenal sebagai sumber senyawa flavonoid terprenilasi (Nomura, 1998). Senyawa flavonoid sendiri memiliki banyak aktivitas biologi seperti antibakteri (Darmawati *et al.*, 2005), antiplasmodial (Boonlaksiri *et al.*, 2000), antiinflamasi (Wei *et al.*, 2005), antifungal (Jayasinghe *et al.*, 2004), antikanker (Rahmandhani, 2009), antimalaria (Widyawaruyanti *et al.*, 2007; Boonlaksiri *et al.*, 2000), dan antioksidatif (Toshio *et al.*, 2003).

Pada penelitian sebelumnya, telah diisolasi senyawa flavonoid teprenilasi seperti artonin E dan O, artobilosanton, dan sikloartobilosanton dari kulit batang *A. kemando* Miq. yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel KB (Karsinoma epidermoid pada manusia) (Seo *et al.*, 2003). Selain itu, Ee *et al.* (2011) juga telah melakukan isolasi kulit batang *A. kemando* Miq. diperoleh senyawa triterpen (-sitosterol) dan tiga turunan senyawa flavonoid yaitu artoindonesianin C, artonol B dan artosamin A, serta senyawa baru yaitu

furandihydrobenzoxanton (artomandin) yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia (HL-60) dan sel kanker payudara (MCF-7) serta antioksidan terhadap DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) sebagai upaya untuk menginventarisasi kandungan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan tersebut. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit cabang tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) yang berasal dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan, Provinsi Lampung.

Metode isolasi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan *n*-heksana dan metanol. Pemisahan dilakukan dengan cara kromatografi. Identifikasi kemurnian dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji titik leleh. Identifikasi struktur molekul dilakukan dengan menggunakan spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi inframerah (IR).

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit cabang tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.).

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa metabolit sekunder dari kulit cabang tumbuhan puda (A. *kemando* Miq.).

Informasi tersebut diharapkan dapat menambah pengetahuan tentang senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan *Artocarpus* khususnya tumbuhan puda (A. *kemando* Miq.).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Moraceae

Moraceae adalah famili tumbuhan yang terdiri dari sekitar 60 genus, dan hampir 1.400 spesies, termasuk tiga genus penting yaitu *Morus*, *Ficus*, dan *Artocarpus* tersebar luas di daerah tropis dan subtropis. Tumbuhan yang masuk dalam famili Moraceae merupakan tumbuhan berbatang, berkayu, berbunga, dan menghasilkan getah. Beberapa spesies dari famili ini menghasilkan buah yang dapat dikonsumsi, seperti nangka (*A. heterophyllus*), cempedak (*A. champeden*), dan sukun (*A. altilis*) (Venkataraman, 1972).

Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam famili Moraceae antara lain alkaloid, terpenoid, tanin, sterol, stilben, dan flavonoid. Terpenoid dan flavonoid ditemukan dalam tiga genus yaitu *Morus*, *Ficus*, dan *Artocarpus*, sedangkan alkaloid baru ditemukan pada genus *Ficus*. Terpenoid yang umum ditemukan adalah golongan triterpen, sementara flavonoid yang telah ditemukan adalah senyawa-senyawa dengan kerangka dasar calkon, flavan, flavon, dan flavanon (Venkataraman, 1972). Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas biologi sebagai promotor, antitumor, antibakteri, antifungal, antikanker, dan antiinflamatori (Ersam, 2004).

B. Artocarpus

Artocarpus merupakan tumbuhan yang tersebar mulai dari Asia Selatan dan Tenggara, Papua Nugini dan Pasifik Selatan. Terdapat 50 spesies *Artocarpus* dan keanekaragamannya tersebar di Indonesia. Di Indonesia, *Artocarpus* dikenal sebagai nangka yang dicirikan dengan pohon yang tinggi dengan getah putih di seluruh bagian tanaman, kayunya keras, buahnya berdaging dengan banyak biji. Tumbuhan ini menghasilkan kayu yang tergolong tahan terhadap rayap sehingga sesuai untuk berbagai keperluan perabot rumah tangga. Selain itu, *Artocarpus* juga dapat digunakan sebagai obat tradisional, seperti daun *A. communis* yang dibakar dan dicampur dengan minyak kelapa ditambah kunyit dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit kulit. Bunganya digunakan untuk menyembuhkan sakit gigi, sedangkan akarnya digunakan untuk menghentikan pendarahan (Saw *et al.*, 1991; Heyne, 1987). Kulit batangnya dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti obat demam, disentri, dan malaria (Nomura, 1998).

Berdasarkan studi literatur, diketahui sejumlah spesies *Artocarpus* banyak menghasilkan senyawa golongan terpenoid, flavonoid, dan stilbenoid (Hakim, 2011). Senyawa-senyawa terpenoid yang telah berhasil diisolasi yaitu sikloeukalenol, 2,4-metilensikloartenon, dan sikloartenon (Achmad *et al.*, 1996) yang berhasil diisolasi dari *A. heterophyllus* (Dayal dan Seshadri, 1976). Selain itu, sebuah flavon terpenilasi baru yaitu artoindonesianin L dan empat senyawa fenolik yaitu artonin M, artonin E, artonin O, dan sikloartobilosanton telah berhasil diisolasi dari *A. rotunda* (Suhartati *et al.*, 2001).

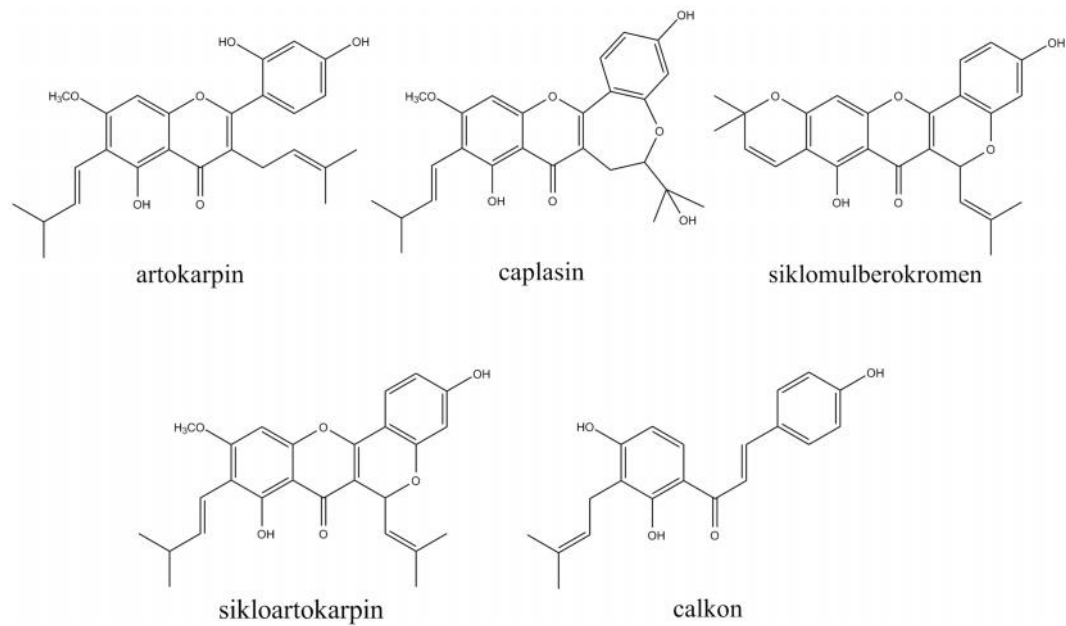
C. Puda (*Artocarpus kemando* Miq.)

Tumbuhan Puda (*A. kemando* Miq.) tersebar pada beberapa pulau di Indonesia, seperti Sumatera, Jawa dan Kalimantan. Tumbuhan ini dikenal di masyarakat dengan nama yang berbeda-beda yaitu antaroda, puda, chempedak ayer, kudu, puda, dan tempedak ayer (Janick dan Paull, 2008). Tumbuhan ini memiliki diameter batang yang cukup besar dan ditemukan memiliki ketinggian mencapai 40 m. Kayunya secara lokal ringan dan keras digunakan terutama dalam pembuatan peralatan rumah tangga dan buahnya dapat dikonsumsi, serta memiliki getah yang berlimpah (Kijjoa *et al.*, 1998). Tumbuhan *A.kemando* Miq. ditunjukkan pada Gambar 1.



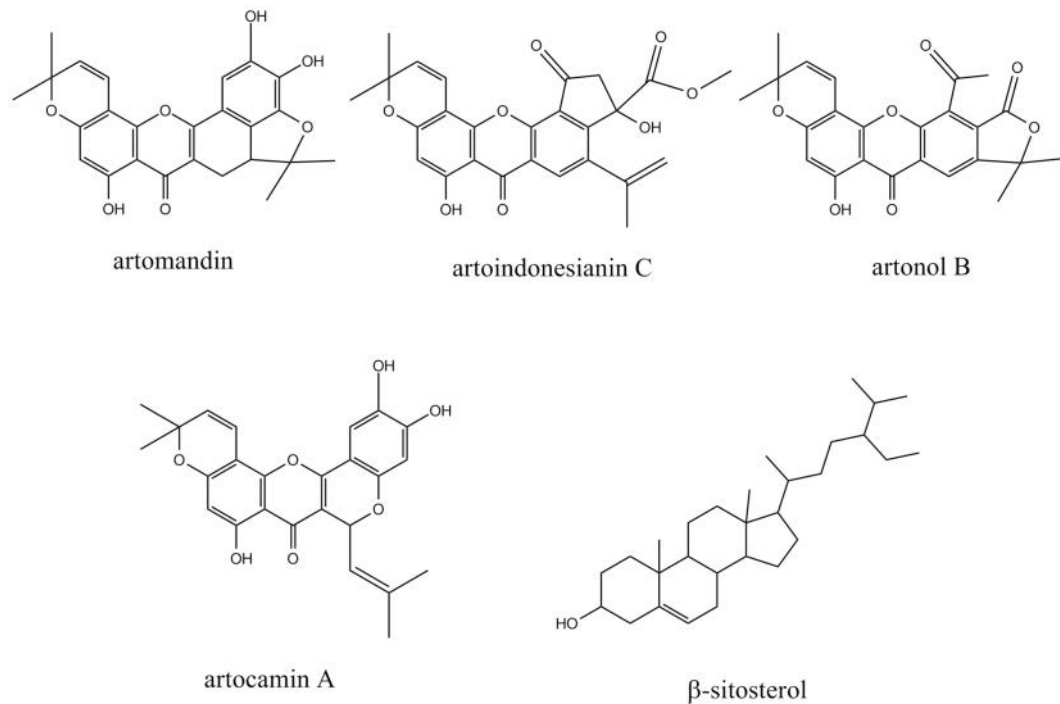
Gambar 1. Tumbuhan Puda (*A. kemando* Miq.)

Pada penelitian sebelumnya, telah berhasil diisolasi senyawa kimia dari kayu akar *A. kemando* Miq. yaitu senyawa artokarpin, caplasin, sikloartokarpin, siklomulberokromen dan calkon (Suhartati, 2001). Senyawa-senyawa kimia hasil isolasi tersebut disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia dari beberapa senyawa yang diisolasi dari kayu akar *A. kemando* Miq. (Suhartati, 2001).

Pada penelitian lain dilakukan isolasi dan identifikasi dari kulit cabang *A. kemando* Miq. yang menghasilkan senyawa baru yaitu furanodihydrobenzosanton (artomandin) yang memiliki aktivitas biologis sebagai sitotoksik dan antioksidan, serta tiga turunan flavonoid yaitu artoindonesianin C, artonol B, dan artosamin A, dan senyawa triterpen (-sitosterol) (Ee *et al.*, 2014). Berikut struktur senyawa-senyawa hasil isolasi tersebut disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia senyawa yang telah diisolasi dari kulit batang *A. kemando* Miq.(Ee *et al.*, 2014).

D. Metabolit Sekunder

Makhluk hidup dapat menghasilkan bahan organik sekunder (metabolit sekunder) atau bahan alami melalui reaksi sekunder dari bahan organik primer (karbohidrat, lemak, protein). Bahan organik sekunder (metabolit sekunder) ini umumnya merupakan hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Metabolit sekunder berupa molekul-molekul kecil, spesifik (tidak semua organisme mengandung senyawa sejenis), mempunyai struktur yang bervariasi, setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri atau untuk mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Senyawa metabolit sekunder yang umum

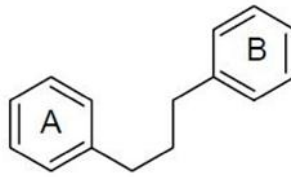
terdapat pada tumbuhan antara lain yaitu flavonoid, steroid, terpenoid, saponin dan alkaloid (Harborne, 1996).

Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi (Mustarichie *et al.*, 2011) diantaranya sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, antikogulan darah, antimikroba, menghambat efek karsinogenik, selain itu metabolit sekunder juga dapat dimanfaatkan sebagai antigen pengendali hama yang ramah lingkungan (Samsudin dan Khoiruddin, 2008). Senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari berbagai tumbuhan diketahui mempunyai aktivitas biologi yang menarik, seperti bersifat toksik terhadap sel kanker, menghambat pelepasan histamin, antijamur, dan antibakteri (Mulyani *et al.*, 2016). Sedangkan senyawa terpenoid dapat dijadikan sebagai antimikroba yang ramah lingkungan (Saxena dan Kalra, 2011).

Senyawa metabolit sekunder terdiri dari flavonoid, steroid, terpenoid, saponin dan alkaloid.

1. Flavonoid

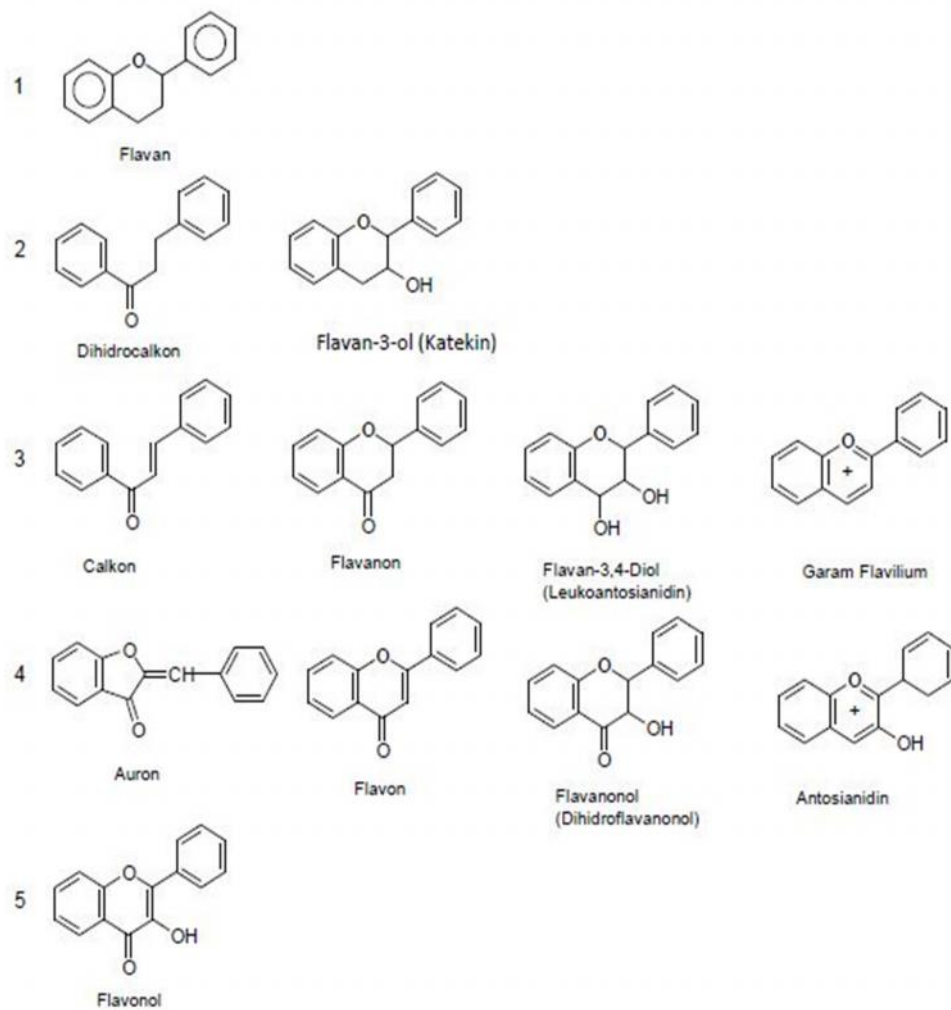
Senyawa kelompok flavonoid biasanya hanya terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi (Achmad, 1986). Biosintesis senyawa kelompok ini merupakan perpaduan antara jalur shikimat dan jalur asetat-malonat. Hal ini didasarkan pada kerangka dasar dari flavonoid, yaitu dua cincin benzena (C_6) yang terikat pada rantai propana (C_3) dengan susunan $C_6-C_3-C_6$, seperti ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Umum Flavonoid (Achmad, 1986).

Flavonoid memiliki aktivitas biologi seperti antibakteri, antikolesterol, anti hiperlipidemia, antivirus, antidiabetes, antiradang, antikanker (Neldawati *et al.*, 2013; Nakamura *et al.*, 2003). Flavonoid juga dapat berlaku sebagai antioksidan karena sifatnya sebagai akseptor yang baik terhadap radikal bebas, yaitu suatu spesies yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan dalam orbitalnya seperti hidroksi radikal (Sathiskumar *et al.*, 2008).

Istilah flavonoid yang diberikan untuk senyawa fenolik berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu jenis flavonoid yang terbesar jumlahnya dan yang paling umum ditemukan. Selain itu flavon mempunyai tingkat oksidasi yang paling rendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tatanama senyawa-senyawa turunan flavon (Achmad, 1986). Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis, tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana dari sistem 1,3-diaril propana. Beberapa jenis struktur flavonoid alami beserta tingkat oksidasinya ditunjukkan pada Gambar 5.



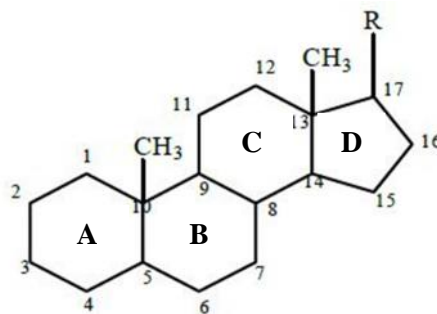
Gambar 5. Tingkat oksidasi senyawa flavonoid (Manitto, 1992).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh komponen aktif flavonoid tertentu digunakan untuk menghambat pendarahan dan *antiaskorbat*. Beberapa jenis flavon, flavanon, dan flavanol menyerap cahaya tampak, sehingga membuat bunga dan bagian tumbuhan yang

lainnya berwarna kuning atau krem terang, sedangkan jenis-jenis yang tidak berwarna merupakan zat penolak makan bagi serangga (contoh: katecin) ataupun merupakan racun (contoh: rotenon) (Kusuma, 2011).

2. Steroid

Steroid merupakan senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang merupakan hasil reaksi dari turunan terpen atau skualena (Hanani *et al.*, 2005). Steroid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari tiga lingkaran enam yang tersusun seperti fenantren yaitu siklik A, B, C serta satu lingkaran lima yaitu siklik D, dan terdiri dari 17 atom karbon, yang ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Kerangka dasar steroid (Achmad, 1986).

Senyawa steroid pada umumnya merupakan senyawa yang berhubungan dengan beberapa hormon dan keaktifan biologis tumbuhan. Senyawa ini merupakan gabungan dari dua farnesil pirofosfat yang kemudian mengalami dimetilasi beberapa karbon. Beberapa fungsi steroid adalah sebagai berikut :

- Meningkatkan laju perpanjangan sel tumbuhan
- Menghambat penuaan daun
- Mengakibatkan lengkuk pada daun rumput-rumputan
- Menghambat proses gugurnya daun
- Menghambat pertumbuhan akar tumbuhan
- Meningkatkan resistensi pucuk tumbuhan kepada stress lingkungan
- Menstimulasi perpanjangan sel di pucuk tumbuhan
- Merangsang diferensiasi xylem tumbuhan tersebut.

Jenis-jenis hidrokarbon induk dari steroid dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis-jenis hidrokarbon induk dari steroid

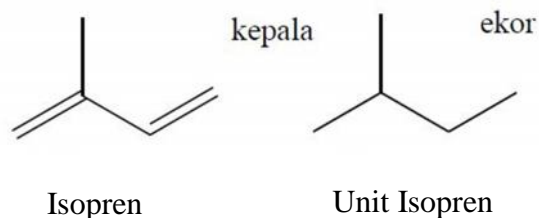
Nama	Jumlah Atom C	Jenis Rantai Samping (R)
Androstan	19	-H
Pregnan	21	-CH ₂ CH ₃
Kolan	24	-CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH ₃
Kolestan	27	-CH(CH ₃)(CH ₂) ₃ CH(CH ₃) ₂
Ergostan	28	-CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂
Stigmastan	29	-CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ CH(C ₂ H ₅)CH(CH ₃) ₂

Sumber : Achmad (1986).

3. Terpenoid

Terpenoid pada umumnya terdiri dari unit-unit isopren (unit C₅) yang bergabung dari kepala ke ekor, ditunjukkan pada Gambar 7. Senyawa

jenis ini merupakan senyawa-senyawa dengan jumlah atom karbon kelipatan lima.



Gambar 7. Satuan isopren (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Senyawa terpenoid dapat diperoleh dari minyak atsiri, karena minyak atsiri bukanlah senyawa murni, akan tetapi campuran senyawa organik yang terdiri lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan, penyelidikan kimia menunjukkan bahwa sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang hanya mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon hidrogen dan oksigen yang bersifat aromatik. Di samping itu minyak atsiri juga mengandung komponen lain misalnya senyawa aromatik, eugenol adalah komponen utama dari minyak cengkeh (Achmad, 1986).

Terpenoid mengandung komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit termasuk diabetes, gangguan menstruasi, gangguan kulit, dan malaria. Beberapa senyawa memiliki nilai ekologi bagi tumbuhan yang mengandungnya karena senyawa terpenoid bekerja sebagai antifungal, insektisida, antifeedant atau menstimulasi serangga untuk bertelur (Robinson, 1995). Adapun penggolongan dari senyawa terpenoid dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Golongan utama senyawa terpenoid

Golongan Terpenoid	Jumlah Karbon	Jumlah Isopren	Sumber
Monoterpen	10	2	Minyak atsiri
Seskuiterpen	15	3	Minyak atsiri
Diterpen	20	4	Resin pinus
Triterpen	30	6	Damar
Tetraterpen	40	8	Zat warna karoten
Politerpen	>40	>8	Karet alam

Sumber : Harborne (1996).

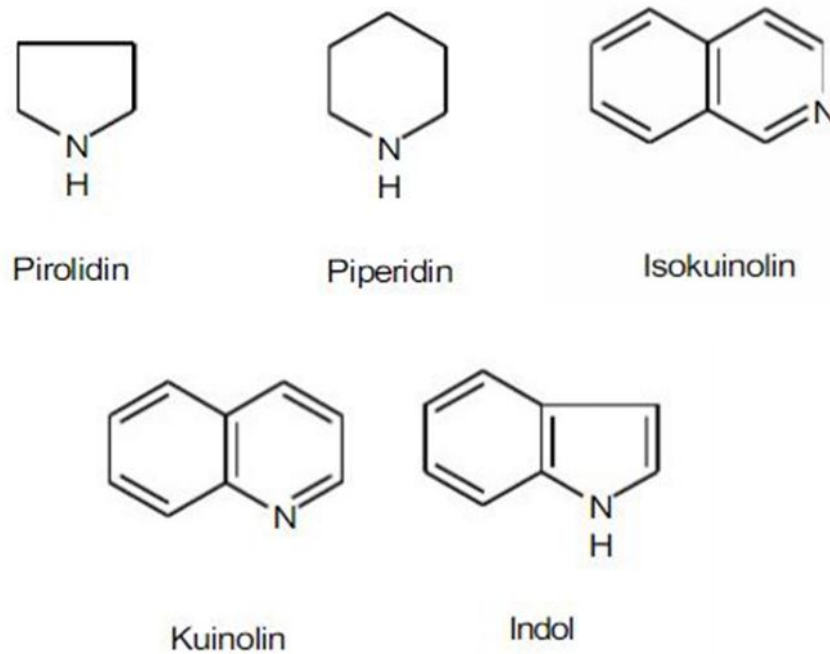
4. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tumbuhan, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar, dan kulit batang. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Wink, 2008).

Alkaloid pada umumnya bersifat basa. Sebagian besar alkaloid mempunyai aktivitas biologis tertentu. Beberapa alkaloid dilaporkan berfungsi sebagai racun yang dapat melindungi tumbuhan dari serangga dan herbivora, dan adapula yang berfungsi untuk pengobatan (Lenny, 2006).

Berdasarkan jenis cincin heterosiklik nitrogen, alkaloid dapat dibedakan atas beberapa jenis seperti alkaloid pirolidin, piperidin, isokuinolin,

kuinolin dan indol (Achmad, 1986). Struktur jenis-jenis alkaloid dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur jenis-jenis alkaloid (Achmad, 1986).

E. Isolasi dan Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder

1. Maserasi

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dilakukan untuk sampel yang tidak tahan panas dengan cara perendaman di dalam pelarut tertentu selama waktu tertentu. Proses ekstraksi suatu bahan alam, banyak faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi diantaranya yaitu jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi (Senja *et al.*, 2015).

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam, karena selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang diinginkan (Bonaerense, 2005).

2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi komponen campuran antara fase gerak dan fase diam. Fase diam dapat berupa pembentukan kolom, maka fase gerak dibiarkan untuk mengalir (kromatografi kolom) atau berupa pembentukan lapis tipis, maka fase gerak dibiarkan untuk naik berdasarkan kapilaritas (kromatografi lapis tipis). Perlu diperhatikan bahwa senyawa berbeda memiliki koefisien partisi yang berbeda antara fase gerak dan diam. Senyawa yang berinteraksi lemah dengan fase diam akan bergerak lebih cepat melalui sistem kromatografi (Christian, 1994; Skoog *et al.*, 1993).

Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi adsorpsi tergantung pada kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang teradsorpsi pada permukaan dari fase diam padatan dan pelarut dalam fase cair.

Tingkat adsorpsi komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak cair. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorpsi lebih kuat pada permukaan fase

diam. Aktivitas adsorben tergantung komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Noviyanti, 2010).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah jenis kromatografi padat-cair, dengan fasa diamnya berupa adsorben polar dan fase geraknya dapat berupa satu jenis pelarut atau berupa campuran. Prinsip KLT adalah adanya interaksi senyawa uji terhadap fase diam (adsorben) terhadap fase gerak (eluen) yang digunakan. Fase diamnya terikat pada suatu lempeng kaca, plastik atau alumunium. Bahannya berupa alumina, selulosa, diatome atau silika (SiO_2). Jenis yang paling banyak digunakan adalah silika gel. Senyawa uji akan naik mengikuti fase gerak sesuai kemampuan interaksinya terhadap adsorben. Makin kuat interaksinya, maka akan sedikit bergerak (berinteraksi kuat dengan adsorben) sehingga memiliki jarak rambat yang rendah. Sebaliknya, jika senyawa uji memiliki interaksi yang lebih besar dengan fase gerak maka akan mempunyai jarak rambat yang lebih jauh.

Pemilihan pelarut sebagai fase gerak merupakan faktor penentu berhasil tidaknya suatu matriks campuran dapat dipisahkan dari komponen penyusunnya dengan sempurna (Sastrohamidjojo, 1991). Data kualitatif yang diperoleh dari KLT adalah *Retardation factor* (Rf), yaitu :

$$R_f = \frac{\text{jarak rambat senyawa}}{\text{jarak perambatan}}$$

3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi Cair Vakum (KCV) merupakan salah satu metode fraksinasi yaitu dengan memisahkan ekstrak kasar menjadi fraksi-fraksinya yang lebih sederhana. Pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fasa diam dan aliran fase geraknya dibantu dengan pompa vakum. Fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel atau aluminium oksida (Hendayana, 2008).

Metode ini lebih banyak digunakan untuk fraksinasi sampel dalam jumlah besar (10-50 g). Kolom yang digunakan biasanya terbuat dari gelas dengan lapisan berpori pada bagian bawah. Kolom disambungkan dengan pompa vakum. Pompa vakum akan menghisap eluen dalam kolom, sehingga proses pemisahan berlangsung lebih cepat. Penggunaan tekanan dimaksudkan agar laju aliran eluen mengikat sehingga meminimalkan terjadinya proses difusi karena ukuran silika gel yang biasanya digunakan 200-400 Mesh (Hostettman *et al.*, 1986).

Kolom KCV dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Sampel yang akan dipisahkan biasanya sudah diadsorbsikan ke dalam silika kasar terlebih dahulu (ukuran silika kasar 35-70 Mesh) agar pemisahannya lebih teratur dan menghindari sampel langsung menerobos ke dinding kaca tanpa melewati adsorben terlebih dahulu, yang dapat berakibat gagalnya proses pemisahan. Pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penyerap yang sebelumnya sudah dimasukkan sampel. Kolom dihisap perlahan-lahan ke

dalam kemasan dengan menggunakan pompa vakum. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan. Kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Hostettman *et al.*, 1986).

Adapun urutan eluen pada kromatografi berdasarkan tingkat kepolaran dari rendah hingga ke tinggi :

n-heksana < Sikloheksana (C_6H_{12}) < Karbon tetraklorida (CCl_4) < Benzena (C_6H_6) < Toluena (C_7H_8) < Metilen klorida (CH_2Cl_2) < Kloroform ($CHCl_3$) < Etil asetat ($CH_3COOCH_2CH_3$) < Aseton (CH_3COCH_3) < *n*-propanol (C_3H_7OH) < Etanol (C_2H_5OH) < Asetonitril < Metanol (CH_3OH) < Air (H_2O) (Gritter *et al.*, 1991).

4. Kromatografi Kolom

Kromatografi Kolom (KK) dapat digunakan untuk pemisahan dan pemurnian senyawa yang telah difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum. Teknik ini dapat dilakukan dengan kolom diameter ukuran 1-3 cm dan panjang kolom sampai 50 cm. Sebagai adsorben digunakan silika gel (35-70 Mesh). Tinggi adsorben yang biasa digunakan berkisar 15-20 cm. Eluen yang digunakan menggunakan campuran pelarut polar dan non polar dengan perbandingan yang sesuai. Pemisahan dengan kromatografi kolom biasanya akan diperoleh hasil yang baik apabila digunakan campuran pelarut yang dapat memisahkan komponen pada R_f kurang dari 0,3 pada uji coba dengan KLT (Hostettman *et al.*, 1986).

5. Kromatotron

Kromatotron atau sentrifugal kromatografi merupakan kromatografi yang teknik pemisahannya menggunakan gaya sentrifugal dan gravitasi dalam teknik ini digunakan silika gel untuk KLT yang berflourecent. Prinsip pemisahan pada kromatotron sama dengan kromatografi yang lainnya, tetapi pemisahan akan berlangsung lebih cepat, karena adanya gaya sentrifugal yang akan mempercepat proses penyerap pelarut yang membawa komponen yang dipisahkan (Hostettman *et al.*, 1986).

Kromatotron menggunakan rotor yang dimiringkan dan berada dalam ruang tertutup oleh plat kaca kuarsa, sedangkan lapisan penyerapnya berupa plat kaca yang dilapisi oleh silika gel. Plat tersebut dipasang pada motor listrik dan diputar dengan kecepatan 800 rpm. Eluen dimasukkan kebagian tengah pelarut melalui pompa torak sehingga dapat mengalir dan merambat melalui lapis tipis karena gaya sentrifugal. Kemudian proses elusi tersebut dimonitori dengan lampu UV. Gas nitrogen dialirkan kedalam ruang plat untuk mencegah pengembunan eluen dan mencegah oksidasi sampel. Pemasukan sampel itu diikuti dengan pengelusian menghasilkan pita-pita komponen berupa lingkaran sepusat. Pada tepi plat, pita-pita akan terputar keluar dengan gaya sentrifugal dan ditampung dalam botol fraksi, diidentifikasi dengan KLT (Hostettman *et al.*, 1995).

F. Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan uji titik leleh. Senyawa hasil analisis dikatakan murni apabila memberikan noda tunggal pada KLT dengan variasi eluen (Setyowati *et al.*, 2007). Titik leleh sangat penting dalam identifikasi dan pengukuran kemurnian senyawa organik padat. Penggunaan titik leleh ini didasarkan pada fakta bahwa semua senyawa murni mempunyai titik leleh yang tajam ketika berubah sempurna dari padat ke cair pada tekanan udara 1 atm. Jika suhu dinaikkan, molekul senyawa akan menyerap energi. Semakin tinggi suhu maka akan semakin banyak energi yang diserap sehingga akan menaikkan gerakan vibrasi dan rotasi molekul (Hadiprabowo, 2009).

G. Identifikasi Spektroskopi

Suatu senyawa bahan alam hasil isolasi akan diidentifikasi berdasarkan sifat fisika maupun sifat kimia dengan spektroskopi (Achmad *et al.*, 2006). Spektroskopi merupakan ilmu yang mempelajari tentang interaksi antara energi cahaya dan materi. Teknik spektroskopi berdasarkan absorpsi dari suatu senyawa organik dapat digunakan untuk menentukan struktur dari senyawa organik tersebut (Fessenden dan Fessenden, 1986). Spektroskopi yang sering digunakan untuk analisis struktur senyawa bahan alam yaitu UV-*Vis* dan IR.

1. Spektroskopi Ultraungu-Tampak (UV-Vis)

Pada dasarnya senyawa yang dapat dianalisis dengan spektroskopi UV-Vis yaitu senyawa yang memiliki gugus kromofor antara lain adanya ikatan rangkap yang terkonjugasi dan gugus hidroksil (-OH) (Yim *et al.*, 2004). Spektroskopi UV-Vis penyerapan sinar tampak dan ultraviolet oleh suatu molekul akan menghasilkan transisi di antara tingkat energi elektronik molekul tersebut. Transisi tersebut pada umumnya antara orbital ikatan, orbital non-ikatan atau orbital anti-ikatan. Panjang gelombang serapan yang muncul merupakan ukuran perbedaan tingkat-tingkat energi dari orbital suatu molekul (Sudjadi, 1983). Agar elektron dalam ikatan sigma tereksitasi maka diperlukan energi paling tinggi dan akan memberikan serapan pada 120-200 nm. Daerah ini dikenal dengan daerah ultraviolet hampa, karena pada permukaan tidak boleh ada udara, sehingga sukar dilakukan dan relatif tidak banyak memberikan keterangan untuk penentuan struktur. Di atas 200 nm merupakan daerah eksitasi dari orbital p, orbital d, dan orbital terutama sistem terkonjugasi (Sudjadi, 1983).

Spektroskopi UV-Vis berguna untuk menganalisis struktur flavonoid, yang dapat membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Kedudukan gugus hidroksil fenol senyawa flavonoid dapat ditentukan dengan menambah pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran yang terjadi. Spektrum flavonoid ditentukan dengan melarutkan cuplikan dalam pelarut metanol dan mengamati dua puncak serapan pada rentan 240-285 nm (pita II) dan 300-550 (pita I). Pereaksi

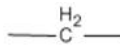

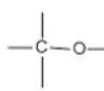

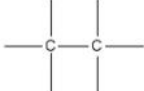


geser yang digunakan untuk menentukan pola oksigenasi pada flavonoid antara lain NaOMe, AlCl₃/HCl, NaOAc/H₃BO₃ (Markham, 1988).

2. Spektroskopi Inframerah (IR)

Spektroskopi inframerah (IR) adalah pengukuran absorpsi dari frekuensi radiasi elektromagnetik sinar inframerah yang berbeda-beda oleh suatu sampel yang diletakkan pada jalur radiasi inframerah. Tujuan utama dari spektroskopi ini adalah menentukan gugus fungsi dari suatu sampel. Gugus fungsi yang berbeda memberikan serapan radiasi inframerah pada frekuensi yang spesifik (Settle, 1997).

Prinsip dari spektrum ini didasarkan pada adanya vibrasi atom pada suatu molekul. Vibrasi terjadi pada ikatan antar atom berupa uluran, bengkakan, dan guntingan yang terjadi karena adanya interaksi dengan gelombang inframerah yang diberikan. Frekuensi vibrasi ini khas dan spesifik untuk setiap ikatan atom dan sesuai dengan panjang gelombang inframerah yang diserap. Panjang gelombang inframerah berada pada rentang 625 cm⁻¹-4000 cm⁻¹. Area pada 625 cm⁻¹-1400 cm⁻¹ merupakan sidik jari (*finger print*) dari setiap senyawa dan menunjukkan kekhasan yang tinggi (Sastrohamidjojo, 1991). Daerah antara 1400-4000 cm⁻¹ merupakan daerah khusus yang berguna untuk identifikasi gugus fungsional. Daerah ini menunjukkan absorpsi yang disebabkan oleh vibrasi uluran (Fessenden dan Fessenden, 1986). Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus molekul ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik frekuensi uluran beberapa gugus fungsi

Gugus	Frekuensi uluran (cm⁻¹)	Gugus	Frekuensi uluran (cm⁻¹)
—OH	3600		2930
—NH ₂	3400		2860
	3300		1470
Ar—H	3060		1200-1000
	3030	H ₂ C=CH ₂	1650
	2870	H ₂ C=NH ₂	1600
	1460		1200-1000
	1375		
	1200-1000		1750-1600

Sumber : Banwell dan Cash (1994).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni 2017 - Desember 2018, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Lampung. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah spektroskopi Ultraungu-Tampak (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung. Spektroskopi Inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBA) Institut Teknologi Bandung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum (*rotary evaporator*), satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vacum (KCV), Kromatografi Kolom (KK), lampu UV, pipet kapiler, pengukur titik leleh MP-10 Stuart, neraca analitik, spektrofotometer FT-IR *Prestige 21 Shimadzu*, dan spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis) *Cary-100 UV-Vis Agilent Technologies*.

2. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan adalah kulit cabang tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq) yang telah dikeringkan dan dihaluskan, diperoleh dari Desa Klaten Karang Anyar, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan, Lampung. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi berkualitas teknis yang telah didestilasi sedangkan untuk analisis spektroskopi berkualitas pro-analisis (p.a). Bahan kimia yang dipakai meliputi *n*-heksana ($n\text{-C}_6\text{H}_{14}$), etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), akuades (H_2O), serum sulfat 1,5% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 2N, diklorometana (CH_2Cl_2), dan natrium hidroksida (NaOH). Silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel Merck 60 (35-70 Mesh) untuk KCV dan KK, untuk KLT digunakan plat KLT silika gel Merck kiesegal 60 F₂₅₄ 0,25 mm.

C. Prosedur Penelitian

1. Persiapan sampel

Sampel berupa kulit cabang tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq) yang didapatkan dari Desa Klaten Karang Anyar, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan, Lampung. Sampel tersebut telah diketahui spesiesnya melalui determinasi herbarium Bogoriense yang dilakukan di Pusat Penelitian Biologi bidang Botani Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Sampel kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan sampai menghasilkan serbuk halus.

2. Ekstraksi dengan *n*-Heksana dan Metanol

Sebanyak 2,640 kg kulit cabang tumbuhan pudau yang telah dihaluskan, dimaserasi dengan *n*-heksana selama 1x24 jam sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya sampel dikeringkan dan dimaserasi kembali dengan perlakuan yang sama menggunakan metanol. Ekstrak yang diperoleh masing-masing disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 35-40°C dengan laju putaran 120-150 *rpm* hingga didapatkan ekstrak pekat. Kedua ekstrak pekat yang didapat lalu ditimbang.

3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak kering (kasar) hasil maserasi *n*-heksan dilarutkan dalam sistem pelarut etil asetat/*n*-heksan (1:9) kemudian difraksinasi dengan KCV. Terlebih dahulu fasa diam silika gel Merck G 60 (35-70 Mesh) sebanyak 10 kali berat sampel dimasukkan ke dalam kolom. Kemudian kolom dikemas kering dalam keadaan vakum menggunakan alat vakum. Eluen yang kepolarannya rendah, yaitu *n*-heksana dituangkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu kemudian divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum dan kolom siap digunakan. Ekstrak kering yang telah dilarutkan dalam sistem pelarut etil asetat/*n*-heksan (1:9) dan diimpregnasikan kepada silika gel kasar (± 2 kali berat sampel), kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fasa diam dan kemudian dihisap secara perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan cara memvakumkannya. Setelah itu kolom dielusi secara bertahap dengan etil asetat/*n*-heksan dalam perbandingan volume (0% : 100%), (1% : 99%), (2% : 98%), (3% : 97%), (4% : 96%), dan (5% : 95%). 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. Sedangkan pada ekstrak kering (kasar) hasil maserasi metanol di KCV dengan perlakuan yang sama, namun dielusi menggunakan etil asetat/ *n*-heksan dengan perbandingan volume (100% : 0%) hingga etil asetat/ *n*-heksan (100% : 0%).

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Setiap fraksi sebelum dan sesudah fraksinasi dilakukan uji KLT untuk mengetahui R_f nya yang kemudian fraksi yang memiliki *Retention factor* (R_f) atau pola fraksinasi yang sama digabungkan untuk perlakuan lebih lanjut. Uji KLT dilakukan dengan menggunakan sistem campuran eluen menggunakan pelarut yang sesuai yaitu dapat berupa kombinasi antara *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, dan metanol dengan persentase yang sesuai sebagai fase gerak dan silica gel Merck kiesegal 60 F₂₅₄ 0,25 mm sebagai fase diam.

Untuk melihat pola elusi dari sampel hasil kromatogram tersebut kemudian dilihat di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Setelah itu divisualisasi dengan cara disemprot menggunakan larutan serium sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan R_f yang sama pada kromatogram, lalu digabung dan dipekatkan kemudian difraksinasi lebih lanjut.

5. Kromatografi Kolom (KK)

Hasil dari fraksi-fraksi gabungan tersebut selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan teknik kromatografi kolom. Teknik ini menggunakan fase diam berupa adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Campuran tersebut diaduk hingga diperoleh suatu *slurry*. *Slurry* dari silika gel dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom, lalu diatur fasa diam hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Kemudian dimasukkan fraksi tersebut yang telah diimpregnasi pada silika gel ke dalam kolom yang berisi fasa diam. Pada saat sampel dimasukkan, usahakan agar kolom tidak kering/kehabisan pelarut karena akan mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Gritter *et al.*, 1991).

6. Kromatotron

Fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom dimurnikan kembali dengan menggunakan metode kromatotron. Plat silika pada kromatotron yang digunakan yaitu plat silika dengan ketebalan 1-2 mm dan menggunakan eluen yang sesuai. Pertama, plat silika diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan menggunakan lampu pijar selama 20 jam. Selanjutnya plat silika yang sudah aktif kemudian dipasang pada rotor dan diputar dengan kecepatan 800 rpm. Kemudian plat dibasahi dengan cara mengalirkan pelarut nonpolar, yaitu n-heksan melalui *inlet* yang digunakan untuk memasukkan sampel dan eluen hingga pelarut tersebut menetes keluar melalui *outlet*. Setelah itu sampel berupa larutan hasil kromatografi kolom yang telah dipekatkan dimasukkan melalui *inlet* dengan menggunakan pipet tetes. Plat dibiarkan tetap berputar hingga mengering selama

± 10 menit sebelum proses elusi dimulai. Eluen yang sesuai dimasukkan ke dalam alat infus dan laju alir eluen diatur. Eluen dialirkan menggunakan selang infus melalui *inlet* sehingga plat terbasahi. Proses elusi dilakukan hingga semua sampel yang ada pada plat telah terelusi keluar dari plat. Setelah selesai fraksinasi, plat silika kemudian dicuci dengan mengalirkan *n*-heksana, etil asetat, metanol secara bergantian masing-masing sebanyak 100 mL dilanjutkan dengan mengalirkan air-metanol 5% sebanyak 100 mL (Bruno, 2012).

7. Analisis Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan metode KLT dan uji titik leleh. Uji kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Sedangkan untuk uji titik leleh, kristal yang berukuran besar, kristal terlebih dahulu digerus hingga berbentuk serbuk kemudian diambil sedikit dan dimasukkan ke dalam pipet kapiler, alat dihidupkan dan titik leleh diamati dengan bantuan kaca pembesar. Suhu pada saat kristal pertama kali mulai meleleh sampai semua zat meleleh, itulah titik leleh dari senyawa tersebut.

8. Analisis Struktur

Struktur isolat murni yang diperoleh ditentukan dengan metode spektroskopi: (a) Analisis menggunakan Spektrofotometri UV-*Vis* untuk menentukan ada atau tidak adanya ikatan rangkap konjugasi dalam struktur senyawa ini, (b) Analisis menggunakan Spektrofotometri inframerah untuk mengetahui jenis gugus fungsi yang dimiliki oleh senyawa tersebut, seperti apakah atom O yang ada di molekul-molekul sebagai kelompok alkohol, keton eter, aldehid dan sebagainya. Kemudian

dibandingkan dengan literatur sehingga dapat diketahui nama dan struktur dari kristal murni tersebut.

a). Spektroskopi Ultraungu–tampak (UV-VIS)

Sampel berupa kristal murni sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran dengan pengenceran secara bertahap. Pertama, sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Selanjutnya sampel ditambahkan pereaksi geser berupa natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 g NaOH dalam 10 mL akuades). Masing-masing larutan diukur serapan maksimumnya kemudian dibandingkan spektrum yang dihasilkan dengan literatur.

b). Spektroskopi Inframerah (IR)

Sampel kristal yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah. Sebelumnya dilakukan preparasi dengan cara sampel terlebih dahulu dibebaskan dari air kemudian digerus bersama-sama dengan padatan halida anorganik berupa KBr. Gerusan campuran tersebut dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm^2 . Kemudian pelet tersebut siap diukur puncak serapannya (Pavia *et al.*, 2006).

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dua senyawa metabolit sekunder dari kulit cabang tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) yaitu senyawa D5 dari fraksi *n*-heksana (non polar) sebanyak 3,2 mg yang diduga senyawa triterpenoid dengan gugus hidroksi dan artonin E dari fraksi metanol (polar) sebanyak 31,5 mg.
2. Senyawa D5 memiliki sifat fisik berupa padatan putih dengan titik leleh 85,6-90,5°C dan senyawa artonin E berupa padatan kuning dengan titik leleh 245-255 °C.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan saran untuk penelitian selanjutnya yaitu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap sampel kulit cabang tumbuhan pudau (*A. kemando* Miq.) dengan menggunakan sistem eluen yang sesuai agar dapat memisahkan senyawa non polar dan menemukan sistem eluen yang tepat untuk rekristalisasi agar kristal dapat terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4 : Ilmu Kimia Flavonoid*. Penerbit Kurnia Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm 39.
- Achmad, S.A., E.H. Hakim, L.J. Dewi, L. Makmur., Y.A. Maolana dan Suyatno. 1996. A New Prenylated Flavone from *Artocarpus champeden*. *J. Nat. Prod.* **59**. Hlm 878-879.
- Achmad, S.A., E.H. Hakim, L.J. Dewi, L. Makmur, dan Y.A. Maolana. 2006. *Hakekat Perkembangan kimia Organik Bahan Alam Dari Tradisional ke Moderen dan Contoh terkait Dengan Tumbuhan Lauraceae, Moraceae, dan Dipterocarpaceae Indonesia*. Akta Kimindo, **1**(2). Hlm 55-66.
- Atkins, P.W. 1989. *Kimia Fisika Edisi Keempat*. Erlangga. Jakarta.
- Banwell, C.N. and E. M. Mc. Cash. 1994. *Fundamental of Molecular Spectroscopy*. Mc Graw-Hill Book Company. London. Hlm 1204-1206.
- Bonaerense, A.F. 2005. Standarization of extracts from *Momordica charantia L. (cucurbitaceae)* by total flavonoids content determination. *Acta farmaceutica bonaerense*. **24** (4). Hlm 562-566.
- Boonlaksiri, C., W. Oonanant, P. Kongsaree, P. Kittakooop, M. Tanticharoen, dan Y. Thebtaranonth. 2000. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. *Phytochemistry*. **54** (4): 415-417.
- Bruno, S. 2012. *Chromatotron*. T-Squared Technology, inc. USA. Hlm 1-48.

- Christian, G. D. 1994. *Analytical Chemistry Edisi Kelima*. John Wiley and Sons Inc. New York.
- Dalimarta, S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- Darmawati, A. A. S., I. G. A. G. Bawa, dan I. W. Suirta. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid Pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lmk) dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia*. **9**(2): 203-210.
- Dayal, R. and T.R. Seshadri. 1976. Colourless compounds of the roots of *Artocarpus heterophyllu*, Isolation of new compound artoflavone. *Indian Journal Chemistry*. **12**: 895-898.
- Dhianawaty, D. D., K. Padmawinata., I. Soediro., dan A. A. Soemardji. 2003. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antikalkuli Luteolin 7-O-glukosida dari daun *Sonchus arvensis* L. dada Tikus dengan Metode Matrix-asam Glikolat. *Bionatura*. **5** (3). Hlm. 196-202.
- Ee, G.C.L., S. H. Teo, M. Rahmani, C.K. Lim, Y. M. Lim, dan R. Go. 2011. Artomandin, a new xanthone from *Artocarpus kemandu* (Moraceae). *Natural Product Research*. **25** (10): 995-1003.
- Ersam, T. 2004. *Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami*. Prosiding Seminar Nasional Kimia VI. ITS. Surabaya. Hlm 4-12.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden.1986. *Kimia Organik Jilid I*. Alih Bahasa Hadyana Pujaatmaka. Erlangga. Jakarta. Hlm 525.
- Gritter, R.J., J.M. Bobbitt, dan A.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 266.
- 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.

- Hakim, A. 2011. Keanekaragaman Metabolit sekunder Genus *Artocarpus* (Moraceae). *Bioteknologi*. **8** (2): 86-98.
- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Kefarmasian*. **2**. Hlm 127-133.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hasanah, S.I. 2016. *Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi serta Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur Senyawa Artonin E dari Fraksi Polar Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*)*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hendayana, S. 2008. *Kimia Analitik Instrumentasi*. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Heyne, K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid II, Depatemen Kehutanan, Jakarta. Indonesia.
- Hostettman, K., M. Hostettman dan A. Maston. 1986. *Cara Kromatografi Preparatif*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.
- Hostettman, K., M. Hostettman dan A. Maston. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. Hlm 27-34.
- Janick, J., dan R. E. Paull. 2008. *The Encyclopedia of Fruits and Nuts*. CAB International. Oxfordshire. Hlm 490-491.
- Jayasinghe, L., B. A. I. S. Balasooriya, W. C. Padmini, N. Hara, dan Y. Fujimoto. 2004. Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of *Artocarpus nobilis*. *Phytochemistry*. **65** (9): 1287-1290.

- Kardinan, A dan F. R. Kusuma. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Khopkar. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Kijjoa, A., H. M. Cidade, M. J. T. G. Gonzalez, C. M. Afonso, A. M. S. Silva, dan W. Herz. 1998. Further prenylflavonoids from *Artocarpus elasticus*. *Phytochemistry*. **47** (5): 875-878.
- Kusuma, Y.K.G and Poppy. 2011. Uji Efektifitas Akar Kayu Kuning (*Coscinium fenestratum* Colebr) sebagai Antimalaria pada Mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. IPB. Bogor.
- Kvangarsnes, S.K. 2009. Phytochemical Observations on European Mistletoe (*Viscum album L.*). *Thesis for the Master Degree in Pharmacy*. University of Bergen. Norway.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloid*. Karya Ilmiah Departemen Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara. Medan. Hlm 7.
- Mannito, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Alih Bahasa Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang. Hlm 235.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung. Hlm 1-113.
- Mulyani, S., Ardiningsih, P., dan Jayuska, A. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*). *JKK*. **5** (1): 36-43.
- Mustarichie, R., Musfiroh, I., dan Levita, J. 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat, Teori dan Implementasi Penelitian Tanaman untuk Pengobatan*. Widya Padjajaran. Bandung.
- Nakamura, Y., Watanabe, S., Miyake, N., Kohno, N and Osawa, T. 2003. Dihydrochalcones: Evaluation as Novel Radical Scavenging Antioxidant. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **51**: 3309-3332.

- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi Dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics* **2**: 76-83.
- Niqmah, S.I. 2017. *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Bagian Cabang Tumbuhan Puda (Artocarpus kemando Miq.)*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Nomura, T., S. Hano, and M. Aida. 1998. Isoprenoid-Substitued Flavonoid from *Artocarpus* Plants (Moraceae). *Heterocycles*. **47** (2): 1179-1205.
- Noviyanti, L. 2010. *Modifikasi Teknik Kromatografi Kolom untuk Pemisahan Trigliserida dari Ekstrak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Pavia, D., L., G. M. Lampman., G.S. Kritz, and R.G. Engel. 2006. Introduction to Organic Laboratory Techniques (4th Ed). *Thomson Brooks/Cole*. Hlm. 797-817.
- Peters, D. dan J. Whitehouse. 2000. The Role of Herbs in Modern Medicine: Somecurrent and Future Issues. *Proceedings of the International Conference and Exhibition; Malaysia*. Malaysian Agricultural Research and Development Institute. Malaysia. Hlm. 9-11.
- Ramadhani, A.N. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Larva Artemiasalina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. FMIPA ITB. Bandung.
- Samsudin, M.A. dan Khoiruddin. 2008. Ekstraksi, Filtrasi dan Uji Stabilitas Zat Warna dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*). *Jurnal Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro*. **11** (2). Hlm 1-8.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta.

- Sathiskumar, T., Baskar, R., Shanmugam, S., Rajasekaran, P., Sadasivam, S and Manikandan, V. 2008. Optimization of Flavonoid Extraction from The leaves of *Tabernamontana heyneana*, Wall, using L₁₆ Orthogonal Design. *Journal of Natural and Science* **6** (3).
- Saw, L.G., J. V. LaFrankie, K. M. Kochummen, dan S. K. Yap. 1991. Fruit Trees in a Malaysian Rain Forest. *Economic Botany*. **45** (1): 120-136.
- Saxena G., S. S. Kalra. 2011. Antimicrobial Activity Pattern of Certain Terpenoids. *Int Journal of Pharm and Bio Sci*. **2** (1): 120-136.
- Senja, R. Y., Issusilaningtyas, E., Nugroho, A. K., dan Setyowati, E. P. 2015. The comparison of extraction method and solvent variation on yield and antioxidant activity of *Brassica oleracea L. Var. Capitata f. Rubra* extract. *Traditional Medicine Jurnal*. **19** (1): 43-48.
- Seo, E.K., D. Lee, Y.G.Shin, H.B. Chai, H.A. Navarro, L.B. Kardono, I. Rahman, G. A. Cordell, N. R. Farnsworth, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, M. C. Wani, dan M.E. Wall. 2003. Bioactive prenylated flavonoids from the stem bark of *Artocarpus kemando*. *Arc. Pharmaceutical Research*. **26** (2): 124–127.
- Settle, F.A. 1997. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. Hlm 25-30;247-252;309-311;481-485.
- Setyowati, E. P., U. A. Jenie, Sudarsono, B. Kardono, R. Rahmat, dan E.Meiyanto. 2007. Isolasi Senyawa Sitotoksik Spons Kaliasis. *M. Far. Indo*, **18**(4): 183-189.
- Skoog, D. A., F.J. Holler, and S. R. Crouch 1993. *Principle of Instrumental Analysis*. Saunders Collage Pub. Philadelphia.
- Sriwahyuni, I. 2010. *Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha Indica Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (Artemia salina Leach)*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hlm 283.

- Suhartati, T. 2001. *Senyawa Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia*. (Disertasi). Penerbit ITB. Bandung. Hlm 109-111.
- Suhartati, T., Achmad, S.A., Aimi, N., Hakim E.H. 2005. Artonin M Turunan Flavon Tergeranilasi dari *Artocarpus rotunda*. *Jurnal Sains Teknologi*. **11** (2): 62-63.
- Teo, S. H., G. C. L. Ee, C. K. Lim, M. Rahmani, dan C. F. J. Bong. 2011. Chemical Constituents of *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Asian Journal Chemistry*. **23** (1): 74-76.
- Toshio, F., Kazue, S., Taro, N., and Hiroshi, S. 2003. Antinephritis and Radical Scavenging Activity of Prenylflavonoids. *Fitoterapia*. **74**. Hlm 720-724.
- Venkataraman, K. 1972. Wood Phenolics in The Chemotaxonomy of Moraceae. *Phytochemistry*. **11**. Hlm 1571-1586.
- Wei, B.L., Weng, J.R., Chiu, P.H., Hung, C.F., Wang, J.P., and Lin, C.N. 2005. Anti-inflammatory Flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* and *Artocarpus communis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **53**. Hlm 3867-3871.
- Widyawaruyanti, A., Subehan, S.K. Kalauni, S. Awale, M. Nindatu, N.C. Zaini, D. Syafruddin, P.B.S. Asih, Y. Tezuka, dan S. Kadota. 2007. New prenylated flavones from *Artocarpus champeden*, and their antimalarial activity in vitro. *Journal of Natural Medicine*. **61** (4): 410-413.
- Wink, M. 2008. *Ecological Roles of Alkaloids, dalam Wink, M., Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*. Wiley. Jerman.
- Yim, S.K., Yun, S.J., and Yun, C.H. 2004. A Continuous Spectrophotometric Assay for NADPH-Cytochrome P450 Reductase Activity Using 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl. *J. Biochem. Mol. Biol*. **27**. Hlm 629-633.