

**PENELUSURAN SENYAWA KIMIA FRAKSI N-HEKSANA DARI
KULIT BATANG *Cryptocarya acuminata* DAN UJI BIOAKTIVITAS
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

NORAINI BT CABUSLAY

H311 04 035



24 - 2 - 09

MIPA

1 kelas

43

43

SKR - M.P.09

CAB

P

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

**PENELUSURAN SENYAWA KIMIA FRAKSI N-HEKSANA DARI
KULIT BATANG *Cryptocarya acuminata* DAN UJI BIOAKTIVITAS
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat

Untuk memperoleh gelar sarjana sains

Oleh

NORAINI BT CABUSLAY

H311 04 035



**MAKASSAR
2009**

SKIPSI

**PENELUSURAN SENYAWA KIMIA FRAKSI N-HEKSANA DARI
KULIT BATANG *Cryptocarya acuminata* DAN UJI BIOAKTIVITAS
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli***

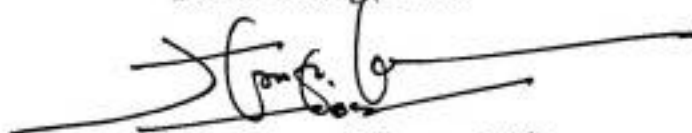
Disusun dan diajukan oleh

NORAINI BT CABUSLAY

H311 04 035

Skipsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing utama



Prof. Dr. Hanapi Usman, MS.

NIP : 131 690 166


Pembimbing Pertama



Dr. M. Natsir Djide, MS, Apt.

NIP : 130 785 083

Pembimbing Kedua



Drs. Fedryk W. Mandey, M.Sc.

NIP : 131 876 906

*Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau,
Janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu;
Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau;
Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa
kemenangan.*

(Yesaya 40 : 10)

*Kupersembahkan karya ini untuk orang-orang yang aku cintai: kedua orang tua,
kakak-kakak dan sahabat-sahabatku.*

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas kasih setia dan penyertaan-Nya yang begitu besar sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis persembahkan untuk kedua orang tua, Romeo Cabuslay dan Yulie Banne Bunga atas segala doa, bimbingan dan kasih sayang yang tiada henti untuk penulis, semoga damai Yesus Kristus tetap bersinar di dalam hatimu. Penulis juga berterima kasih untuk saudaraku yang tercinta, Rony, Jerry, Nobri, Lonasis, Harry, dan selvy dan atas segala doa dan dorongan semangat buat penulis, semoga Tuhan akan senantiasa memelihara hati dan pikiran kita.

Terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Hanapi Usman, MS., Bapak Dr. M. Natsir Djide, MS. Apt., dan Bapak Drs. Federyk W. Mandey, M.Sc., selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta tenaga untuk membimbing penulis mulai dari awal penelitian hingga penyelesaian skripsi ini. Penulis juga berterima kasih kepada Ibu Dr. Hj. Nursiah La Nafie, Ms. yang telah menjadi pembimbing akademik sejak semester pertama, terima kasih atas bimbingan dan perhatiannya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu selama proses penyusunan skripsi ini, yaitu:

1. Ibu Dr. Hj. Nursiah La Nafie, M.Sc. dan Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS. sebagai ketua dan sekretaris Jurusan Kimia serta Bapak/Ibu dosen dan pegawai Jurusan Kimia FMIPA UNHAS.

2. Teman-teman penelitian di Laboratorium Kimia Organik: Kak Iwan, Kak Esran, Kak Seri, Kak Rima, Kak Makmun, Kak Ifah, dan Kak Rahma (S₁); K' Ros, Ibu Eva, Ibu Suryani (S₂); Pak Lexi, Pak Imran, dan Pak Asri (S₃) serta Pak Iqbal selaku analis, terima kasih atas segala bantuannya selama dalam penelitian.
3. Teman-teman terbaik di kelompok PA "DORA" : K' Abo, Deasy, dan Hanna. Terima kasih atas setiap kebenaran Firman Tuhan, doa dan motivasi buat penulis. Kehadiran kalian menjadikan hidup ini lebih berarti.
4. Teman-teman sepelayanan di GMKI Komisariat FMIPA UNHAS dan PMKO Filadelfia FMIPA_FARMASI UNHAS, yang tetap setia dalam pelayanan dan setiap doa buat penulis, semoga pelayanan yang kita lakukan dapat berkenan dihadapan Tuhan.
5. Teman-teman Kimia '04: Sripin, Nonoq, Helma, Astin, Umbo, Nisha, deasy, Erna, Emma, Fathe, Nidar, Dian, Ira, Hanna, Jo, Tanzil, Wawa, Tiara, Kiki, nanang, akbar, mumu, yuan, Hendra, Abhy, Asbia, Ika, Ama, Cici, Nov, Ana, Asra, Ria, Ramlah, dst. Terima kasih untuk setiap kebersamaannya yang selalu membuatku sadar kalau begitu banyak semangat selalu menyapa.
6. Buat keluarga besarku yang selalu memberi bantuan dan mendukung dalam doa, semoga kebersamaan dan kekeluargaan tetap terasa di setiap hati kita.
7. Buat teman-temanku Jery, Theo, Deny, Eric, Samri, Devol, juga buat sahabat terkasih Roby, Gerson, Pokky dan Gusty, terima kasih untuk canda tawa semoga kehadiran kalian tetap membawa keceriaan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari Bapak/Ibu, saudara(i) yang meluangkan waktu untuk membaca karya ini. Akhir kata semoga apa yang telah penulis kerjakan dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan setiap orang yang membutuhkan karya ini.

Penulis

2009

ABSTRAK

Penelitian kandungan kimia dan bioaktivitas tanaman primitif *Cryptocarya acuminata* belum pernah dilakukan sebelumnya. Dari hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang *cryptocarya acuminata* fraksi n-heksana mengandung senyawa-senyawa golongan terpenoid, steroid, dan flavanoid melalui uji kualitatif terhadap beberapa pereaksi spesifik. Dari hasil uji bioaktivitas terhadap semua fraksi n-heksana hasil fraksinasi dengan teknik kromatografi menunjukkan aktivitas yang positif sebagai antibakteri dan bersifat bakterisidal terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : Antibakteri, *Cryptocarya acuminata*, *Escherichia coli*, metabolit sekunder.

ABSTRACT

The research about the chemistry compound and the bioactivities of *Cryptocarya acuminata* as a primitive plant have been not report berfore. The phytochemical survey showed that the n-hexane extracts contain of terpenoid, steroid, and flavanoid compounds by the kualitative test of some spesific reagents. By the bioaactrivity assays, all of the fractions fractioned by chromatography technique showed the positive activity as an antibacterial and bactericyed for *Escherichia coli*.

Key words: Antibacterial, *Cryptocarya acuminata*, *Escherichia coli*, secondary metabolite.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Umum Famili Lauraceae.....	6
2.2 Tinjauan Umum Genus <i>Cryptocarya</i>	7
2.3 Tinjauan Fitokimia.....	9
2.4 Metode Isolasi Bahan Alam.....	11
2.4.1 Metode Ekstraksi Bahan Alam.....	11

2.4.2 Metode Kromatografi.....	12
2.5 Uji Bioaktivitas.....	13
2.5.1 Tinjauan Umum Tentang Antimikroba.....	13
2.5.2 Tinjauan Umum Escherichia coli.....	14
2.6.3 Tinjauan Metode Difusi Agar.....	15
BAB III METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Bahan Penelitian.....	17
3.2 Alat Penelitian.....	17
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.4 Perlakuan dan Rancangan Penelitian.....	18
3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan.....	18
3.4.2 Ekstraksi.....	18
3.4.3 Isolasi.....	18
3.4.4 Uji Golongan Senyawa.....	18
3.5 Pengujian Aktivitas Mikroba.....	19
3.5.1 Pembuatan Medium.....	19
3.5.2 Pembuatan Larutan Kontrol.....	20
3.5.3 Penyiapan Bakteri Uji.....	20
3.5.4 Uji Antibakteri.....	21
3.6 Pengamatan.....	21
3.6.1 Fraksinasi.....	21
3.6.2 Analisis KLT.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1 Proses Maserasi.....	23

4.2 Proses Fraksinasi.....	23
4.3 Uji Golongan Senyawa.....	26
4.4 Uji Bioaktivitas.....	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	40



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Distribusi senyawa alkaloid pada genus <i>Laauraceae</i>	10
2. Fraksi utama n-heksana hasil fraksinasi dengan teknik kromatografi.....	24
3. Hasil uji golongan senyawa.....	26
4. Hasil pengukuran bioaktivitas fraksi A – F dan kristal F konsentrasi 5 % terhadap bakteri <i>E. coli</i>	28
5. Hasil pengukuran bioaktivitas fraksi G - K dan kristal G konsentrasi 5 % terhadap bakteri <i>E. Coli</i>	30
6. Hasil pengukuran bioaktivitas fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K konsentrasi 15 % terhadap bakteri <i>E. Coli</i>	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi tumbuhan <i>Cryptocarya acuminata</i>	8
2. Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	14
3. Kromatogram Kristal fraksi F.....	25
4. Kromatogram Kristal fraksi G.....	25
5. Pengamatan potensial antibakteri fraksi A – F dan kristal F sebagai bakteri <i>E.coli</i> dengan konsentrasi 5 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam dan 2×24 jam.....	29
6. Histogram bioaktivitas Antibakteri Fraksi A –F dan kristal F konsentrasi 5 % pada bakteri uji <i>E. coli</i> selama 1×24 jam dan 2×24 jam.....	30
7. Pengamatan potensial antibakteri fraksi G – K dan kristal G sebagai bakteri <i>E.coli</i> dengan konsentrasi 5 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam dan 2×24 jam.....	31
8. Histogram bioaktivitas Antibakteri Fraksi G - K dan kristal G konsentrasi 5 % pada bakteri uji <i>E. coli</i> selama 1×24 jam dan 2×24 jam.....	32
9. Pengamatan potensial antibakteri fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K sebagai bakteri <i>E.coli</i> dengan konsentrasi 15 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam dan 2×24 jam.....	33
10. Histogram bioaktivitas antibakteri Fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K konsentrasi 15 % pada bakteri uji <i>Eschericia coli</i> selama 1×24 jam dan 2×24 jam.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Bagan isolasi senyawa metabolit sekunder fraksi n-heksana.....	40
2. Bagan kerja fraksi G.....	41
3a. Kromatogram hasil maserasi metanol.....	42
3b. Kromatogram hasil partisi n-heksana.....	42
4a. Kromatogram eluen yang sesuai untuk ekstrak n-heksana.....	43
4b. Kromatogram hasil fraksinasi ekstrak n-heksana.....	43
5. Bagan kerja uji antibakteri.....	44
6. Bagan kerja uji senyawa alkaloid.....	45
7. Bagan kerja uji senyawa terpenoid, steroid, fenolik dan flavonoid...	46
8a. Foto hasil uji daya hambat fraksi A-F dan senyawa fraksi F dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 1×24 jam	47
8b. Foto hasil uji daya hambat fraksi A - F dan senyawa fraksi F dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 2×24 jam.....	48
9a. Foto hasil uji daya hambat fraksi G - K dan isolat G dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 1×24 jam.....	49
9b. Foto hasil uji daya hambat fraksi G - K dan isolat G dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 2×24 jam.....	50
10a. Foto hasil uji daya hambat fraksi A, F, D, G, H, I, J, K dengan konsentrasi 15 % pada masa inkubasi 1× 24 jam.....	51
10b. Foto hasil uji daya hambat fraksi A, F, D, G, H, I, J, K dengan konsentrasi 15 % pada masa inkubasi 2× 24 jam.....	51
11a. Hasil pengukuran diameter hambatan fraksi A – F dan senyawa faraksi F dengan konsentrasi 5% pada masa inkubasi 1×24 jam.....	52
11b. Hasil pengukuran diameter hambatan fraksi A – F dan kristal fraksi F dengan konsentrasi 5% pada masa inkubasi 2×24 jam.....	53

12a.	Hasil pengukuran diameter hambatan fraksi G - K dan kristal fraksi G dengan konsentrasi 5% pada masa inkubasi 1×24 jam.....	54
12b.	Hasil pengukuran diameter hambatan fraksi G - K dan kristal fraksi G dengan konsentrasi 5% pada masa inkubasi 2×24 jam.....	55
13a.	Hasil pengukuran diameter hambatan fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K dengan konsentrasi 15% pada masa inkubasi 1×24 jam.....	56
13b.	Hasil pengukuran diameter hambatan fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K dengan konsentrasi 15% pada masa inkubasi 2×24 jam.....	57

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

μm = Mikrometer

nm = Nanometer

mm = Milimeter

cm = Sentimeter

mg = Miligram

g = Gram

kg = Kilogram

ppm = Part Per Million

mL = Mililiter

atm = Atmosfer

Rf = Ratio Force

$^{\circ}\text{C}$ = Derajat Celcius

% = Persen

KKV = Kromatografi Kolom Vakum

KKT = Kromatografi Kolom Tekan

KKG = Kromatografi Kolom Gravitasi

KLT = Kromatografi Lapis Tipis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keragaman hayati secara biologis terdiri atas tiga tingkatan yaitu keragaman pada tingkat genetik yang digambarkan pada variabilitas di dalam jenis, keragaman jenis, dan keragaman ekosistem sebagai habitat jenis. Keragaman hayati Indonesia menduduki peringkat kedua setelah Brasil dan salah satu negara megadiversiti dunia. Sejauh ini, sekitar 1,75 juta jenis keragaman hayati yang telah diidentifikasi. Lebih dari 1000 spesies tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Tumbuhan tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang tersedia beraneka ragam, memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (Radji, 2005). Di daerah tropika sendiri diperkirakan terdapat sekitar 200 ribu jenis tumbuhan berbunga (Duivenvoorden, 2002) dan sekitar 11 % dari jumlah tersebut terdapat di kepulauan Indonesia (Kophalindo, 1990).

Menurut Achmad dkk (1994), hutan tropika merupakan lahan sumber daya organik, meskipun hanya 7 % dari luas muka bumi, namun lebih dari 50 % spesies organisme terdapat di hutan tropika. Indonesia memiliki hutan tropika yang cukup luas, yang memiliki sekitar 54 % spesies tumbuhan yang ada di muka bumi ini (Joffe dan Thomas, 1989) dan di dalamnya terkandung beranekaragam sumber daya genetik dan merupakan reservoir bahan-bahan kimia yang sangat prospektif untuk diteliti dan dikembangkan menjadi bahan yang berguna untuk berbagai

keperluan seperti bahan obat-obatan, agrokimia dan bahan baku industri. Banyak senyawa organik alam diketahui sangat potensial sebagai molekul rujukan untuk menemukan atau mensintesis senyawa-senyawa kimia yang lebih prospektif. Keanekaragaman sumber daya genetik dan sumber daya organik yang melimpah dalam hutan tropika Indonesia tersebut seharusnya dapat dikembangkan dan dikembangkan sebagai aset nasional yang sangat strategis untuk menopang pembangunan nasional. Hingga saat ini sebagian besar sumber daya alam yang dimaksudkan di atas belum diteliti secara kimiawi. Oleh karena itu, Indonesia adalah salah satu negara yang sangat prospektif untuk mengembangkan kimia organik bahan alam, hal ini merupakan peluang dan tantangan bagi ilmuwan kimia bahan alam Indonesia.

Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder atau metabolit sekunder telah banyak digunakan zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya serta sangat banyak jenis tumbuh-tumbuhan berkhasiat dan mengetahui senyawa kimia yang berfungsi sebagai obat (Lenny, 2006).

Dalam buku Manitto (1992), menyatakan bahwa kimia organik mengalami kemajuan yang sejajar dengan kemajuan cara pemisahan dan penelitian bahan alam. Pada pertengahan abad ke -18 telah dapat diidentifikasi beberapa senyawa organik dari makhluk hidup. Seorang ahli kimia Jerman, Karl Wilhelm Schele berhasil memisahkan beberapa senyawa sederhana termasuk gliserol, dan asam-asam oksalat, laktat, tartrat, dan sitrat dari berbagai sumber organik yang berasal dari tumbuhan dan binatang. Frederich W. Sertuiner (1783-1841) berhasil memisahkan morfina dari opium pada tahun 1806 dan Pelletier serta Caventou

berhasil memisahkan Strihnina, brusina, kinina, sinkonina, dan kafeina 15 tahun kemudian.

Menurut Bisset (1955), Indonesia memiliki sekitar 20.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi dan baru 1500 spesies yang telah diselidiki kandungan kimianya. Salah satu dari sekian banyak tumbuhan tingkat tinggi yang dimaksud adalah famili Lauraceae.

Lauraceae merupakan tumbuhan Angiospermae yang paling primitif, namun populasinya masih sangat tinggi, ini menunjukkan bahwa tumbuhan ini adalah tumbuhan unggul, mampu beradaptasi di muka bumi dengan baik. Sejak dahulu kelompok tumbuhan ini dikenal karena banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan antara lain sebagai bahan bangunan dan bahan obat tradisional. Telah dilaporkan berbagai senyawa kimia yang terdapat pada famili tumbuhan ini dan sebagian besar diantaranya diketahui mempunyai aktivitas fisiologis yang sangat bermanfaat bagi manusia (Achmad, 2004). Berbagai biomolekul yang telah ditemukan dalam tumbuhan famili *Lauraceae* antara lain alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, dan finilpropanoid (Gottlieb, 1972). Pengetahuan tentang molekul-molekul organik yang telah ditemukan pada famili tumbuhan ini sangat berguna dalam rangka penyusunan pola kimiawi dari kelompok molekul bahan alam tersebut, selanjutnya akan berguna dalam pengembangan bidang kemotaksonomi dan bidang-bidang yang lainnya.

Cryptocarya adalah salah satu genus utama dari famili *Lauraceae* yang mempunyai 478 spesies (Kostermans dalam Achmad, 2004). Sebagian besar spesies *Cryptocarya* dapat ditemukan di kawasan timur Indonesia dan di wilayah Wallaceae diduga banyak *Cryptocarya* yang hidup sebagai tanaman endemik dan

hanya terdapat di wilayah ini. *C. acuminata* adalah jenis *Cryptocarya* yang ditemukan di kawasan hutan Sulawesi, wilayah Wallace. Berdasarkan literatur, tumbuhan ini belum ditemukan di kawasan lain, kandungan kimianya pun belum pernah dilaporkan. Hal tersebut menjadi pertimbangan utama dilakukannya penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Cryptocarya acuminata merupakan tumbuhan primitif yang hanya tumbuh di kawasan Timur Indonesia, terutama di Sulawesi Selatan dan belum pernah diteliti kandungan kimianya, diduga tumbuhan ini mengandung molekul-molekul kimia yang berguna. Apa kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak kulit batang *C. acuminata* dan bagaimana potensialnya sebagai antibakteri terhadap bakteri *E.coli*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kulit batang tumbuhan *C. acuminata* yang berasal dari wilayah Sulawesi Selatan, serta mengetahui bioaktivitasnya.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengisolasi senyawa-senyawa metabolit sekunder dari kulit batang *C. acuminata* yang berasal dari wilayah Sulawesi Selatan dengan menggunakan pelarut n-heksana.

2. Melakukan uji bioaktivitas senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diperoleh terhadap bakteri *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa kimia dan potensi aktivitas antibakteri dari batang kulit tumbuhan *C. acuminata* dari Sulawesi Selatan dan memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu kimia khususnya kimia organik bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Puluhan ribu spesies tumbuhan tingkat tinggi yang terdapat di Indonesia dari berbagai jenis bahan kimia alami dan merupakan salah satu aset yang belum banyak dimanfaatkan (Ersam, 2001). Dimana, tanaman memiliki kemampuan yang hampir tidak terbatas untuk mensintesis substansi aromatik, yang kebanyakan dari substansi tersebut adalah fenol (Anonim, 2005). Dari ratusan ribu spesies tumbuhan yang ada di Indonesia, ada 99,6 % belum diselidiki kandungan senyawa-senyawa kimianya padahal dari 25 % resep obat yang digunakan saat ini mengandung bahan bioaktif yang berasal dari tumbuhan tingkat tinggi (Tukiran, dkk, 1999).

2.1 Tinjauan Umum Famili *Lauraceae*

Lauraceae adalah salah satu tumbuhan paling primitif dan merupakan tumbuhan berbunga Angiospermaeae (Kostemans, 1957 dalam Usman, 2006) yang terdiri dari 61 genus dan lebih dari 2.000 spesies yang tersebar di muka bumi, yang pada umumnya hidup di daerah tropik dan subtropik, terutama banyak ditemukan di kawasan Asia Tenggara dan negara Brasil (Anonim, tanpa tahun).

Tumbuhan famili *Lauraceae* pada umumnya memiliki akar, ranting, dan bunga yang berbau sedap. Kebanyakan dari spesiesnya memiliki bunga yang berukuran kecil, terdiri dari 6 lembar mahkota bunga yang tersusun dalam 2 buah lingkaran dan berwarna kuning. Buahnya tersusun atas lapisan terluar atau kulit yang keras dan bagian dalam atau daging buah yang lembut, dan hanya terdapat 1

buah biji dalam daging buah. Daun pada umumnya tersusun secara alternatif (Watson dan Dallwitz, 1992).

Heyne (1987), melaporkan beberapa kegunaan dari tumbuhan *Lauraceae* yang lain, seperti *Cinnamomum cullilawan*, kulitnya merupakan obat yang baik untuk penyakit dalam. *Cryptocarya camphora* menghasilkan kamfer sebagai bahan obat, *Cryptocarya zeylanicum* sebagai rempah-rempah, *Litsae cassiaefolia* daunnya digunakan sebagai obat kudis, *Cryptocarya crassinervia* mempunyai kayu yang keras, tidak mudah dimakan bubuk, tahan lama, sehingga baik untuk bahan bangunan terutama papan.

Tanaman famili *Lauraceae* banyak mengalami pengembangan pesat dewasa ini terutama dari sisi mediknya. Haryono (2007), dalam penelitiannya memperoleh adanya aktivitas anti HIV, anti kanker, dan anti bakteri dari kulit batang *Litsea javanica*. Muslikhati, dkk (1995), dalam penelitiannya memperoleh bahwa adanya aktivitas antibakteri dan antifungi dari ekstrak kulit kayu dan daun *cinnamomum burmani*, *Litsea Cubeba*, dan *Cinnamomum champhora* terhadap 14 spesies bakteri, dimana aktivitas paling kuat ditunjukkan minyak atsiri daun *Litsea cubeba*.

2.2 Tinjauan Umum Genus *Cryptocarya*

Tumbuhan genus *Cryptocarya* termasuk dalam famili *Lauraceae* yang terdiri dari 478 spesies. Tumbuhan ini tersebar luas di daerah tropika dan subtropika dengan topologi berupa pohon tinggi dan oleh karenanya, sejak dahulu kelompok tumbuhan ini banyak digunakan sebagai bahan bangunan dan bahan paku pulp (Kostermans dalam Achmad, 2004). Beberapa spesies diantaranya digunakan sebagai tanaman obat tradisional seperti *Cryptocarya massoia*

merupakan jenis tumbuhan yang selama ini sudah digunakan oleh masyarakat Papua sebagai obat tradisional dimana kulit yang diambil minyaknya digunakan sebagai bahan jamu, obat cacing dan kejang perut, bahkan akhi-akhir ini beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa *Cryptocarya* mengandung senyawa-senyawa kimia berguna terutama dari sisi mediknya. Collins (1990), melaporkan bahwa sebagian besar spesies dari *Cryptocarya* mengandung molekul kimia anti tumor. Pernyataan ini diperkuat oleh hasil penelitian dari kelompok peneliti kimia bahan alam ITB terhadap beberapa spesies dari *Cryptocarya* yang menunjukkan adanya aktivitas antitumor dan berbagai sifat bioaktifitas lainnya. Sebagai contoh pada *Cryptocarya Kamahar Teschn*, ditemukan senyawa kamahar lakton yang bersifat antitumor dan antimikroba, demikian pula pseudilinderadin dan lideradin dari *Cryptocarya densiphora* yang telah terbukti menunjukkan aktivitas antitumor (Achmad, 2004).

Beberapa spesies dari *cyptocarya* dapat ditemukan di kawasan hutan timur Indonesia timur, bahkan diantaranya diduga tumbuhan spesifik yang endemik dikawasan ini. *C. acuminata* adalah jenis *cryptocarya* yang dapat ditemukan di kawasan Sulawesi. Di Sulawesi, tumbuhan ini dikenal dengan nama Tarusu (Bugis), Garate Borong (Makassar), Baga Tomombu (Keli).



Gambar 1. Morfologi *C. acuminata*

Adapun kalsifikasi dari tumbuhan *C. acuminata* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledon
Ordo	: Rosales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Cryptocarya</i>
Spesies	: <i>Crptocarya acuminata</i> (Usman, 2006)

2.3 Tinjauan Fitokimia

Tumbuhan famili *Lauraceae* dikenal sebagai tumbuhan sumber utama alkaloid. Dari 31 genus yang telah diselidiki, 22 diantaranya mengandung alkaloid (Bick dan Sinchai, 1978). Distribusi jenis alkaloid pada genus famili *Lauraceae* dapat dilihat pada tabel 1:

Tabel 1. Distribusi jenis senyawa alkaloid pada genus famili *Lauraceae* (Guinaudeau dalam Usman, 2006).

Genus	Jenis Alkaloid																	
	Apofin	Benzilisokuinolin	Bisbenzilisokuinolin	Dibenzopiroklolin	Fenantren	Fenantrokuinolizidin	Fenetilamin	Indol	Isokuinolin	Kriptoleurospermin	Morfinan	Oksoaporfin	Pavin	Piridin	Proaporfin	Protoberberin	Sedamin	Sinomelin
Actinodaphne	✓																	
Alseodaphne		✓																
Aniba														✓				
Beilschmiedia	✓																	
Cassytha	✓	✓										✓						✓
Cinnamomum		✓																
Cryptocarya		✓		✓	✓	✓		✓	✓			✓				✓	✓	
Laurus	✓	✓	✓															
Licaria	✓	✓																
Lindera	✓	✓																
Litceae	✓	✓			✓						✓	✓	✓					
Machillus	✓	✓										✓	✓					
Nectandra	✓	✓	✓									✓	✓					
Neolitsea	✓	✓										✓			✓			
Notaphoebe	✓	✓										✓			✓			
Ocotea	✓	✓										✓			✓			
Parabenzoin	✓	✓																
Pehaasia	✓		✓															
Persea		✓				✓	✓	✓										
Phoebe	✓											✓						
Ravensara	✓																	
Umbellularia	✓																	

Tumbuhan *Cryptocarya* memiliki kandungan alkaloid yang paling bervariasi jika dibandingkan dengan tumbuhan famili *Lauraceae* lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa genus *Crptocarya* mempunyai tingkat evolusi yang tinggi. Hal ini dibenarkan oleh Hakim (2007) dalam penelitiannya terhadap beberapa spesies *Cryptocarya* Indonesia dan telah menemukan beberapa jenis alkaloid

mulai dari benzilisokuinolin dari *Cryptocarya densiflora*, aporfin yang diisolasi dari *Cryptocarya densiflora* dan *Cryptocarya crainervia*, dan oksoaporvin yang diperoleh dari *Cryptocarya strictifolia* dan *Cryptocarya velutinosa*.

2.4 Metode Isolasi Bahan Alam

Isolasi adalah proses pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu ekstrak. komponen-komponen hasil isolasi tersebut kemudian dimurnikan dengan cara kromatografi, rekristalisasi, atau penyaringan ulang. Pemisahan melalui ekstraksi dan kristalisasi tergantung pada sifat kelarutan masing-masing komponen yang ada dalam suatu campuran sedangkan perbedaan dalam kemampuan untuk terikat pada permukaan (adsorpsi) adalah dasar untuk pemisahan kromatografi (Harbone, 1973).

2.4.1 Metode Ekstraksi Bahan Alam

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan yang mendasarkan prinsip kerjanya pada perpindahan suatu zat dari suatu fasa ke fasa yang lain. Tujuannya adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Jika kedua fasa tersebut adalah cairan yang tidak saling campur, maka metode ini dikenal sebagai metode ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair, suatu senyawa terpartisi di antara dua pelarut yang keberhasilannya tergantung pada perbedaan kelarutan senyawa tersebut dalam kedua pelarut (Zenta dan Kumanireng, 2002).

Secara umum ekstraksi metabolit sekunder dari seluruh bagian tumbuhan seperti bunga, buah, kulit batang, dan akar menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi cair-padat yang digunakan pada suhu kamar dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik. Cairan akan menembus

dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, selanjutnya zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan aktif di dalam dan di luar sel sehingga larutan sudah dipekatkan tersedak keluar. Hal ini terjadi berulang-ulang hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel sampel. Selain dengan metode maserasi, ada juga metode ekstraksi lainnya yang dapat digunakan seperti destilasi, refluks, dan sokletasi (Harbone, 1973).

2.4.2 Metode Kromatografi

Kromatografi adalah proses pemisahan kimia yang terjadi karena komponen cuplikan bergerak dengan kecepatan berbeda yang disebabkan oleh sifat partisi, adsorpsi, dan distribusi dari komponen kimia yang dipisahkan di antara dua fase, yakni fase diam (stasionary) dan fase bergerak (mobile). Teknik kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi gas (Sastrohamidjojo, 1992).

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik pemisahan komponen-komponen campuran senyawa-senyawa yang melibatkan partisi suatu senyawa di antara padatan penjerap (adsorben/fasa diam) yang dilapisi pada plat kaca atau plastik kaku dengan suatu pelarut (fasa gerak) yang mengalir melewati adsorben. Pengaliran pelarut dikenal dengan pengaliran pelarut (elusi). Karena kesederhanaannya dan kecepatan analisisnya, KLT mempunyai peranan penting dalam pemisahan organik maupun anorganik (Zenta dan Kumanireng, 2002).

Perbandingan kecepatan bergerak pelarut pada permukaan penjerap merupakan dasar identifikasi komponen yang akan dipisahkan. Perbandingan kecepatan ini dinyatakan dengan faktor retensi, RF (rate of flow).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat yang terlarut}}{\text{jarak tempuh pelarut}}$$

Harga R_f dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni ukuran partikel, derajat keaktifan penjerap, kemurnian pelarut, dan kejenuhan ruang elusi (Stahl, 1969).

Terjadinya pemisahan komponen-komponen pada KLT dengan R_f tertentu dapat dijadikan sebagai panduan untuk memisahkan komponen-komponen kimia tersebut dengan menggunakan kolom kromatografi, sebagai fasa diam dapat digunakan silika gel dan eluen digunakan berdasarkan hasil yang diperoleh dari KLT (Markham, 1988). Proses fraksinasi ini dapat digunakan kromatografi kolom vakum (KKV), kromatografi kolom tekan (KKT), dan kromatografi kolom grafitasi (KKG).

2.5 Uji Bioaktivitas

2.5.1 Tinjauan Umum Tentang Anti Mikroba

Antimikroba adalah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia, ditentukan harus memiliki toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada mikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, yang dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Ganiswara, dkk, 1995).

Antimikroba dapat berupa senyawa kimia sintetis atau produk alami. Antimikroba sintetis dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya yang dibuat secara besar-besaran, sedangkan yang

alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses pengekstrakan (Setyaningsih, 2004).

2.5.2 Tinjauan Umum *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* berbentuk batang, Gram negatif, fakultatif aerob, tumbuh baik di media sederhana. Dapat melakukan fermentasi laktosa dan fermentasi glukosa, serta menghasilkan gas. *E. coli* merupakan flora normal dalam usus manusia dan akan menimbulkan penyakit bila masuk dalam organ atau jaringan lain. *E. coli* dapat menimbulkan pneumonia, endocarditis, infeksi pada luka-luka dan abses pada berbagai organ. *E. coli* merupakan penyebab infeksi traktus urinarius (pyelonephritis, cystitis) pada pasien yang dirawat di rumah sakit (nosocomial infections) (Endjang, 2003). Adapun klasifikasi bakteri *Escherichia coli* :

Kingdom	: Procaryotae
Filum	: Proteobacteria
Ordo	: Entrobactericeae
Famili	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Escherich,1985)



Gambar 2. Morfologi bakteri *Escherichia coli*.

Senyawa antibakteri sebagai salah satu bahan antimikroba memiliki 3 macam bentuk kerja, yaitu bakteriostatik, bakterisidal, dan bakterilitik. Mekanisme kerja bakteriostatik adalah menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom, sedangkan bakterisidal mencegah pertumbuhan dan menyebabkan kematian, namun tidak menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Berbeda dengan bakterisidal, bakterilitik bekerja dengan cara membuat lisis sel-sel bakteri. Proses lisisnya sel bakteri terlihat dari penurunan jumlah sel ataupun kekeruhan setelah bahan tersebut ditambah (Brock dan Madigan, 1994). Kerja senyawa antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi senyawa antibakteri yang digunakan, jumlah dan spesies bakteri, suhu, keberadaan bahan organik lain, dan pH (Setyaningsih, 2004).

2.5.3 Tinjauan Metode Difusi Agar

Pada metode ini, kemampuan antimikroba ditentukan berdasarkan hambatan yang terjadi. Beberapa modifikasi dari metode ini adalah :

1. Cara difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi pada larutan pembanding.

2. Cara difusi dengan mangkuk pipih

Cara ini sama dengan silinder pipih, namun perbedaannya adalah disini menggunakan alat berupa "*Cup Plate*" yaitu lubang atau semacam mangkuk yang langsung dibuat pada medium.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan garis tengah 0,1 – 0,7 cm, yang nantinya akan dicelupkan pada larutan contoh dan larutan pembanding, kemudian kertas saring tersebut dikeringkan dan diletakkan di atas medium agar yang telah ditanami mikroba uji. Pengamatan dilakukan setelah waktu inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

4. Cara difusi Kirby-Bauer

Cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm (diameter x tebal), sehingga langsung dapat langsung diuji dengan berbagai konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara Kirby_Bauer. Perbedaannya pada cara ini menggunakan dua lapis agar. Lapisan pertama *based layer* tidak mengandung mikroba sedangkan *seed layer* mengandung mikroba (Depkes RI, 1995).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain serbuk kulit batang *C. acuminata*, larutan metanol teknis, n-heksana teknis, etil asetat teknis, aseton teknis, n-heksana p.a., larutan NaCl, silika gel 60 (7733), silika gel 60 (7734), silika gel 60 (7731), plat KLT, dan $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 2 % dalam H_2SO_4 2 N, biakan murni bakteri *E. coli*, medium NA (Nutrient Agar), medium MHA (Muller Hinton Agar), DMSO (Dimetil Sulfoksida), kloramfenikol dan kapas.

3.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat gelas yang umum digunakan di dalam laboratorium, rotary evaporator, timbangan digital, perangkat destilasi Vigreux, kromatografi kolom vakum, kromatografi kolom tekan, kromatografi kolom gravitasi, alat KLT (camber, pipa kapiler, pensil, cutter, dan mistar), autoklaf, jangka sorong, ose, spoit, bunsen, paper disc, cawan petri, inkubator, lampu UV Varian Conc 100.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini mulai dilaksanakan pada bulan Juni – November 2008, di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin □

3.4 Perlakuan dan Rancangan Penelitian

3.4.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Kulit batang *C. acuminata* diperoleh dari Desa Puncak Indah, Kecamatan Malili, Kabupaten Luwu Utara. Spesimen tumbuhan diidentifikasi oleh Herbarium Bogoriensis, LIPI Bogor.

3.4.2 Ekstraksi

Pada penelitian ini kulit batang tumbuhan dalam bentuk serbuk diekstrak dengan menggunakan cara maserasi yaitu sampel direndam dalam pelarut metanol selama 3x24 jam kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksana. Ekstrak n-heksana lalu dikurangi pelarutnya menggunakan rotary evaporator kemudian dilihat komponennya dengan kromatografi lapis tipis.

3.4.3 Isolasi

Pada fraksi-fraksi hasil partisi akan dilakukan proses pemisahan dengan menggunakan alat kromatografi yaitu KKV dengan pelarut yang bervariasi. Setiap hasil dari pemisahan akan dimonitor dengan analisis KLT.

3.4.4 Uji Golongan Senyawa

Metode identifikasi senyawa metabolit sekunder sebagai berikut:

a. Senyawa Alkaloid

Uji senyawa alkaloid menggunakan pereaksi Mayer. Pereaksi Mayer dibuat dengan melarutkan 0,2 gram $HgCl_2$ dengan 6 mL aquades dan KI sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 1 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur. Cara kerja uji alkaloid, yaitu: sampel dilarutkan dengan asam klorida

0,1 N kemudian dimaserasi selama 2 jam. Hasil maserasi tersebut ditambahkan 2-3 tetes pereaksi meyer. Adanya warna kuning menandakan positif alkaloid.

b. Senyawa Terpenoid, steroid, fenolik dan flavonoid

Sampel dikocok kuat dengan kloroform lalu ditambahkan aquades, biarkan sampai terbentuk dua lapisan.

1. Lapisan kloroform

Diteteskan pada plat tetes dan biarkan kering, tambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann Burchard). Terbentuknya warna merah atau pink menandakan positif untuk senyawa terpenoid dan terbentuknya warna biru atau hijau positif untuk steroid.

2. Lapisan air

- a. Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi ditambahkan besi (III) klorida, jika timbul warna hijau sampai ungu menandakan positif fenolik.
- b. Beberapa tetes ditempatkan dalam tabung reaksi, ditambahkan asam klorida pekat dan serbuk magnesium, jika timbul warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

1.5 Pengujian Aktivitas Mikroba

1.5.1 Pembuatan Medium

A. Pembuatan Medium NA (Nutrien Agar)

Komposisi medium NA (nutrient agar) yaitu ekstrak daging 3 gram, pepton 5 gram, dan agar-agar 15 gram. Cara membuatnya yaitu bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades. Setelah larut, medium tersebut diatur pH-nya hingga

7,0 kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama ± 15 menit.

B. Pembuatan Medium MHA (Muller Hinton Agar)

Komposisi medium MHA (Muller Hinton Agar) yaitu meat infusion 300 gram, casein hidrolisat 17,5 gram, starch 1,5 gram dan agar-agar 17 gram. Cara membuatnya yaitu bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades. Setelah larut, medium diatur pH-nya hingga 7,0 kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama ± 15 menit.

1.5.2 Pembuatan Larutan Kontrol

A. Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif yang digunakan adalah larutan kloramfenikol dengan konsentrasi 30 ppm.

B. Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO (Dimetil Sulfoksida).

1.5.3 Penyiapan Bakteri Uji

A. Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri *E. coli* yang berasal dari biakan murni, diambil sebanyak 1 ose lalu digores pada medium NA (nutrien agar) miring kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam.

B. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri yang telah diremajakan, diambil 1 ose lalu disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9 % kemudian dihomogenkan dan diukur kekeruhannya.

1.5.4 Uji Antibakteri

Pengujian daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri (*E. coli*) dilakukan dengan metode difusi agar yang menggunakan paper disc. Medium MHA (Muller Hinton Agar) steril yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL suspensi bakteri uji, dikocok hingga homogen lalu dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga membeku. Sementara itu, sampel uji sebanyak 20 μ L dipipet diatas permukaan paper disc hingga semuanya meresap dan dibiarkan sampai kering. Setelah kering paper disc yang telah berisi sampel uji diletakkan di atas medium MHA yang telah ditanami bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan 48 jam. Daya hambat dari tiap fraksi terhadap bakteri uji diamati dan diukur diameter zona hambatannya dalam satuan millimeter.

3.6 Pengamatan

3.6.1 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan dua macam kromatografi kolom yaitu KKV, dengan menggunakan eluen yang bervariasi. Hasil fraksinasi dianalisis dengan KLT menggunakan eluen yang sesuai agar dapat menggabungkan fraksi-fraksi yang sama.

3.6.2 Analisis KLT

Analisis dengan KLT dilakukan menggunakan berbagai variasi pelarut. sampel ditotolkan pada plat KLT yang memiliki silika gel sebagai adsorben lalu dimasukkan ke dalam tabung yang berisi eluen. Noda dari hasil totolan pada *base line* bergerak berdasarkan perbedaan kepolaran dan dihasilkan noda-noda. Sistem ini dilakukan dengan prinsip *trial and error* guna mencari eluen yang sesuai untuk fraksinasi. Eluen yang digunakan dapat berupa campuran dua atau tiga pelarut. Kromatogram yang baik ditandai dengan terpisahnya masing-masing noda. Dari noda tersebut akan dihitung nilai Rf-nya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Proses Maserasi

Serbuk kulit batang *C. acuminata* sebanyak 2 Kg dimaserasi dengan pelarut metanol selama 24 jam pada suhu kamar sebanyak 3 kali. Hasil penyaringan dilakukan analisis KLT untuk mengetahui distribusi komponen-komponen kimia ke dalam pelarut methanol (lampiran 3a).

Ekstrak metanol kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksana sebanyak 3 kali yang dimonitoring dengan analisis KLT (lampiran 3b), kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga dihasilkan ekstrak n-heksana dengan berat kering 8,03 gram berwarna coklat kehitaman.

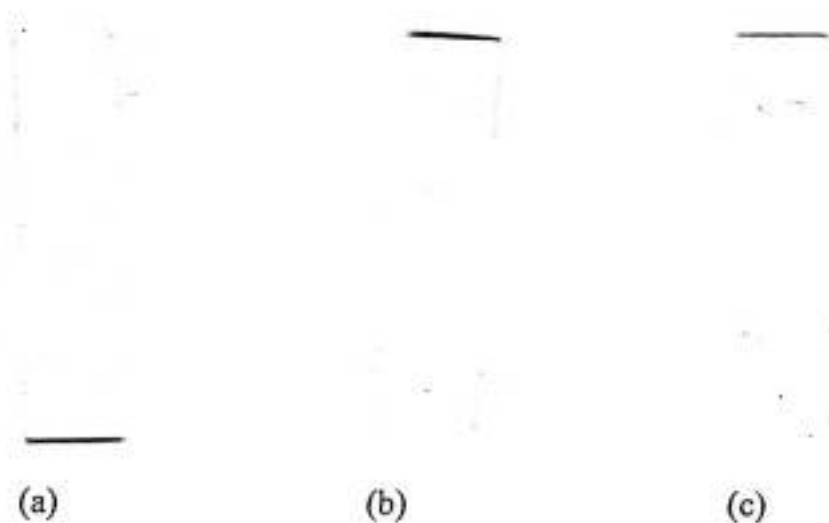
4.2 Proses Fraksinasi

Fraksi n-heksana dilakukan analisis KLT untuk menentukan eluen yang sesuai (lampiran 4a), dimana hasil analisis KLT menunjukkan pemisahan komponen baik pada perbandingan eluen CHCl_3 : n-heksana = 6 : 4 yang akan digunakan sebagai acuan pada proses fraksinasi menggunakan kromatografi kolom vakum. Pada proses fraksinasi fraksi n-heksana digunakan variasi perbandingan eluen yang berada di sekitar perbandingan eluen yang didapatkan dari eluen non polar hingga eluen polar dengan menambahkan CHCl_3 , EtOAc, dan MeOH. Pada fraksinasi ini dihasilkan fraksi-fraksi yang selanjutnya dianalisis KLT (lampiran 4b), dimana fraksi-fraksi dengan Rf yang sama digabungkan sehingga dihasilkan 11 fraksi utama yang kemudian dikeringkan dan didapatkan berat kering masing-masing fraksi seperti pada tabel 2:

Tabel 2. Fraksi utama n-heksana hasil fraksinasi dengan teknik kromatografi

Fraksi	Gabungan dari fraksi	Berat (mg)	Warna
A	H ₄ -H ₆	124,5	Kuning
B	H ₇	14,2	Kuning
C	H ₈ -H ₉	496,6	Kuning
D	H ₁₀	60,7	Kuning
E	H ₁₁ -H ₁₂	72,8	Kuning
F	H ₁₃ -H ₁₈	203,2	Kuning
G	H ₁₉ -H ₂₀	717,5	Kuning kecoklatan
H	H ₂₁ - H ₂₆	2741,2	Hijau pekat
I	H ₂₇ -H ₃₁	779,7	Hijau pekat
J	H ₃₂	181	Hijau pekat
K	H ₃₃ -H ₃₄	300,1	Hijau kekuningan

Fraksi utama F (203,2 mg) membentuk kristal jarum berwarna kuning yang kemudian dilakukan kristalisasi dan direkristalisasi dengan menggunakan pelarut n-heksana p.a. sebanyak 2 kali sehingga diperoleh kristal F dengan berat 1,6 mg berwarna kuning. Dari analisis KLT yang dilakukan terhadap kristal F menunjukkan noda tunggal pada 3 jenis sistem eluen yang mengindikasikan bahwa kristal yang diperoleh merupakan senyawa murni dengan titik leleh 245 °C – 246 °C.



Gambar 3. Kromatogram kristal fraksi F dengan perbandingan eluen:

- (a) CHCl_3 : n-heksana = 1 : 3 ($R_f = 0,9$ cm)
- (b) EtOAc : n-heksana = 3 : 17 ($R_f = 2,6$ cm)
- (c) EtOAc : CHCl_3 = 1 : 39 ($R_f = 3,6$ cm)

Fraksi G (717,5 mg) juga membentuk kristal berbentuk jarum dengan warna kecoklatan yang kemudian dikristalisasi dan direkristalisasi menggunakan pelarut n-heksana p.a. sebanyak 2 kali dan diperoleh kristal G berbentuk jarum dengan berat 2,1 mg berwarna putih. Fraksi tersebut dianalisis KLT dan memperlihatkan 2 noda yang mengindikasikan bahwa kristal yang terbentuk belum murni namun tidak dapat dilakukan fraksinasi selanjutnya karena berat kristal yang tidak mencukupi.



Gambar 4. Kromatogram Kristal fraksi G dengan perbandingan eluen EtOAc : n-heksana = 3 : 7

4.3 Uji Golongan

Uji golongan warna dilakukan terhadap ke semua fraksi utama untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat pada setiap fraksi yang meliputi uji golongan senyawa alkaloida, terpenoida, steroida, fenolik, dan flavanoida yang dilakukan secara kualitatif melalui pengamatan perubahan warna setelah direaksikan dengan pereaksi spesifik.

Tabel 3. Hasil uji golongan senyawa

Fraksi		Uji Golongan Senyawa				
		Alkaloida	Fenolik	Flavanoida	Steroida	Terpenoida
A		-	-	-	+	-
B		-	-	-	-	+
C		-	-	-	-	+
D		-	-	-	-	+
E		-	-	+	-	+
F	Filtrat	-	-	-	+	-
	Kristal	-	-	-	+	-
G	Filtrat	-	-	-	+	-
	Kristal	-	-	-	+	-
H		-	-	-	+	-
I		-	-	-	+	-
J		-	-	-	-	+
K		-	-	-	+	-

Dari hasil uji golongan terpenoida, fraksi B, C, D, E dan J memberikan warna merah setelah penambahan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 p.a yang menunjukkan hasil positif terhadap senyawa-senyawa golongan terpenoida. Fraksi A, F, G, H, I, K, serta kristal yang F yang telah diisolasi memberikan warna hijau muda setelah penambahan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 p.a yang menunjukkan hasil positif terhadap senyawa-senyawa golongan steroida. Sementara fraksi E, selain memberikan hasil positif mengandung senyawa golongan terpenoida, fraksi ini juga mengandung senyawa golongan flavanoida dengan memberikan warna merah setelah penambahan HCl p.a dan serbuk Mg yang menunjukkan hasil positif terhadap senyawa golongan flavanoida. Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa ekstrak kulit batang *C. acuminata* mengandung senyawa-senyawa kimia golongan steroida, terpenoida, dan flavanoida.

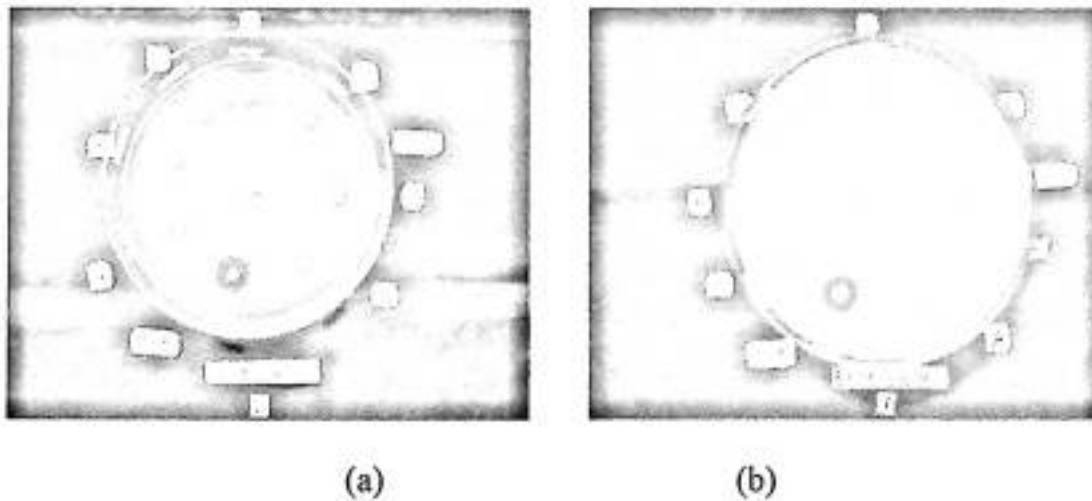
4.4 Uji Bioaktivitas

Penelusuran potensial bioaktivitas ekstrak kulit batang *C. acuminata* sebagai antibakteri dilakukan melalui pengujian daya hambat yang dilakukan pada ke semua fraksi maupun isolat F dan G terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan metode difusi agar dengan menggunakan paper disc berdiameter 5 mm. Pada media MHA (Muller Hilton Agar) sebelum dilakukan uji aktivitas terlebih dahulu bakteri diinokulasi dalam tabung agar pada medium NA (Nutrient Agar) sebagai media. Inokulasi dimaksudkan untuk meremajakan kultur bakteri murni supaya pertumbuhan dalam media uji dapat tumbuh dengan optimal. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat tiap-tiap fraksi yang dilakukan pada setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam dan setelah selang waktu inkubasi

2×24 jam, dimana besarnya diameter kedua selang waktu pengamatan tersebut digunakan sebagai acuan untuk menentukan bentuk kerjanya terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* baik berupa bakteriostatik yang hanya menghambat sintesis protein maupun berupa bakterisidal yang dapat mencegah pertumbuhan dan dapat menyebabkan kematian sel bakteri *E.coli*. Hasil data pengukuran zona hambat tiap-tiap fraksi dapat dilihat pada table 4:

Tabel 4. Hasil pengukuran bioaktivitas fraksi A – F dan kristal F konsentrasi 5 % terhadap bakteri *E. coli*

No.	Fraksi		Rata-rata Diameter Hambatan (mm)	
			1×24 jam	2×24 jam
1.	A		8,70	9,87
2.	B		6,81	7,49
3.	C		6,78	8,43
4.	D		7,9	9,16
5.	E		5,83	9,83
6.	F	Filtrat	6,05	7,23
7.		Kristal	8,64	9,05
8.	Kontrol +		16,74	16,96
9.	Kontrol -		-	-

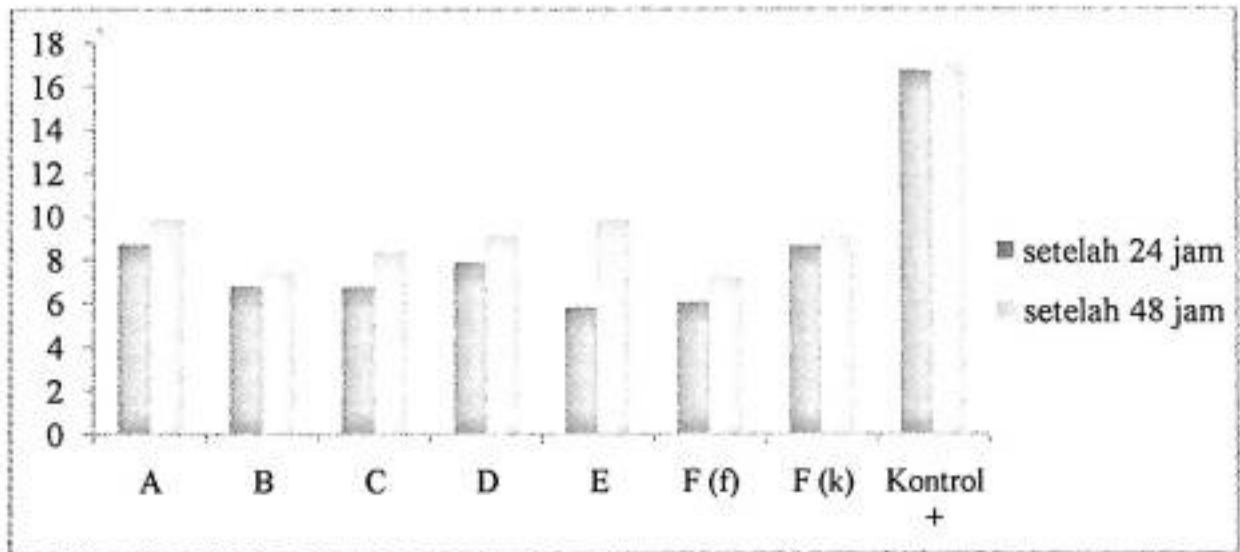


Gambar 5. Pengamatan potensial antibakteri fraksi A – F dan kristal F sebagai bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 5 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam (a) dan 2×24 jam.

Keterangan: A = Fraksi A F = Filtrat F
 B = Fraksi B G = Kristal F
 C = Fraksi C K (+) = Kontrol positif
 D = Fraksi D K (-) = Kontrol negatif
 E = Fraksi E

Dari tabel 4, pada konsentrasi sampel 5 % untuk setiap fraksi A – F dan kristal F diperoleh bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* paling besar ditunjukkan oleh fraksi A dengan diameter zona hambat 8,70 mm pada selang inkubasi setelah 1×24 jam maupun setelah 2×24 jam yaitu sebesar 9,87 mm. Jika dibandingkan aktivitas daya hambat antara fraksi A terhadap kontrol positif, maka diperoleh bahwa aktivitas daya hambat fraksi A sebesar 51,97 % pada selang waktu inkubasi setelah 1×24 jam dan sebesar 58,19 % setelah 2×24 jam dari aktivitas yang ditunjukkan oleh kontrol positif.

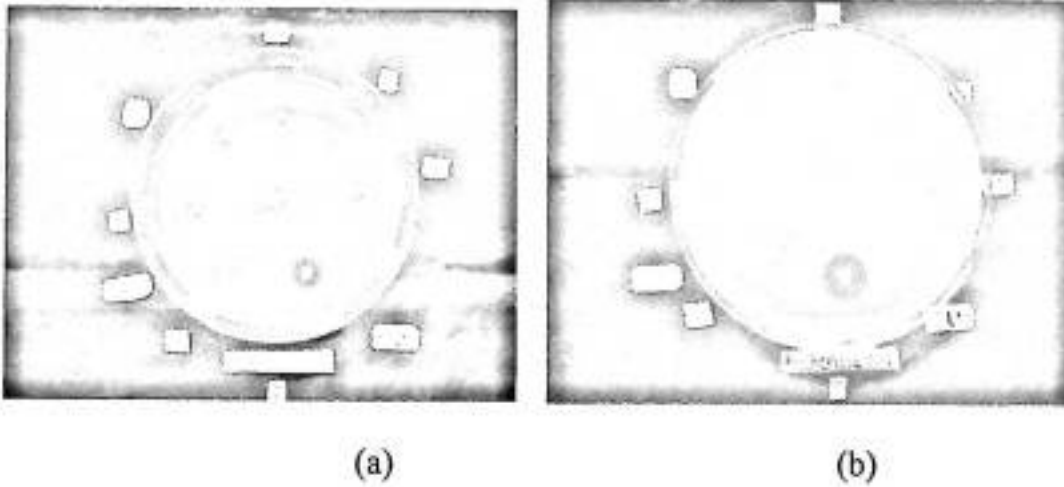
Jika data pengamatan pada tabel 4 diplotkan dalam bentuk histogram, hasilnya dapat dilihat seperti pada gambar 6:



Gambar 6. Histogram bioaktivitas Antibakteri Fraksi A –F dan kristal F konsentrasi 5 % pada bakteri uji *E. coli* selama 1×24 jam dan 2×24 jam.

Tabel 5. Hasil pengukuran bioaktivitas fraksi G - K dan kristal G konsentrasi 5 % terhadap bakteri *E. coli*

No.	Fraksi		Rata-rata Diameter Hambatan (mm)	
			1×24 jam	2×24jam
1.	G	Filtrat	7,56	8,20
2.		Kristal	8,21	8,59
3.	H		7,43	8,22
4.	I		6,85	7,64
5.	J		7,26	7,37
6.	K		7,07	7,27
7.	Kontrol +		16,61	16,91
8.	Kontrol -		-	-

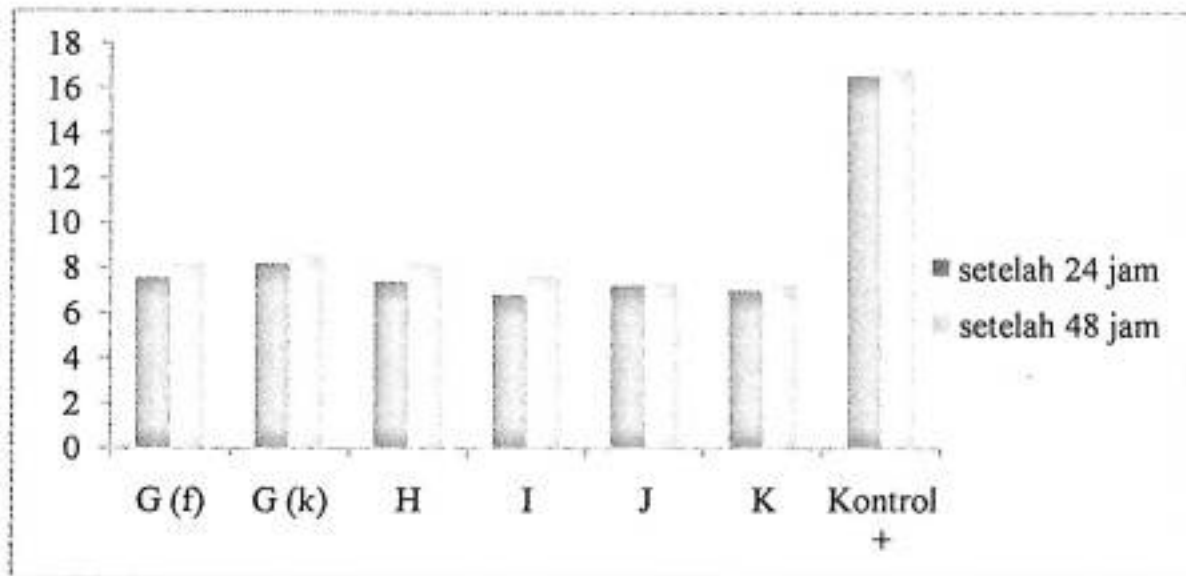


Gambar 7. Pengamatan potensial antibakteri fraksi G – K dan kristal G sebagai bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 5 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam (a) dan 2×24 jam.

Keterangan: H	= Filtrat G	L	= Fraksi J
I	= Kristal G	M	= Fraksi K
J	= Fraksi H	K (+)	= Kontrol positif
K	= Fraksi I	K (-)	= Kontrol negatif

Sementara itu, pada wadah inkubasi yang berbeda, diperoleh pula pada konsentrasi sampel 5 % untuk setiap fraksi G – K dan kristal G diperoleh bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* paling besar ditunjukkan oleh fraksi G dengan diameter zona hambat 7,56 mm pada selang inkubasi setelah 1×24 jam maupun setelah 2×24 jam yaitu sebesar 8,20 mm. Jika dibandingkan aktivitas daya hambat antara fraksi G dan kontrol positif, maka dapat diperoleh bahwa aktivitas daya hambat fraksi G sebesar 45,51 % setelah selang waktu inkubasi 24 jam dan sebesar 48,49 % setelah 2×24 jam dari aktivitas yang ditunjukkan oleh kontrol positif.

Jika data pada tabel 5 diplotkan dalam bentuk histogram, hasilnya dapat dilihat seperti pada gambar 8:

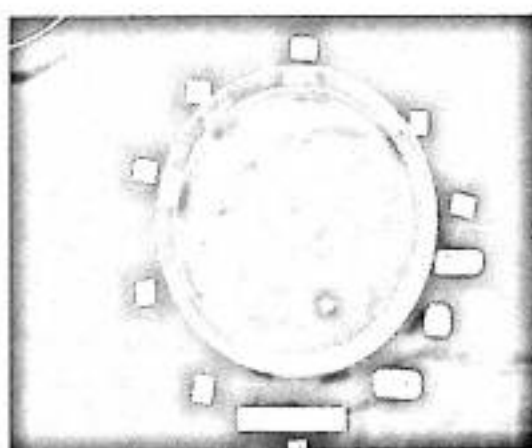


Gambar 8. Histogram bioaktivitas Antibakteri Fraksi G - K dan kristal G konsentrasi 5 % pada bakteri uji *E. coli* selama 1×24 jam dan 2×24 jam.

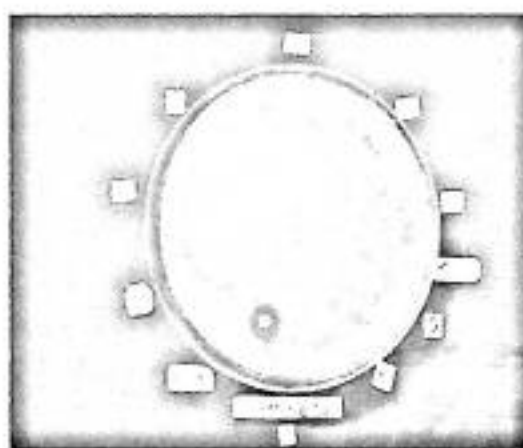
Pengujian daya hambat dilanjutkan dengan meningkatkan konsentrasi fraksi-fraksi yang masih memiliki berat yang memungkinkan untuk membandingkan potensial daya hambat fraksi-fraksi jika konsentrasi ditingkatkan menjadi 15 %. Data pengukuran zona hambat tiap-tiap fraksi dapat dilihat pada tabel 6:

Tabel 6. Hasil pengukuran bioaktivitas fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K konsentrasi 15 % terhadap bakteri *E. coli*

No.	Fraksi	Rata-rata Diameter Hambatan (mm)	
		1×24 jam	2×24 jam
1.	A	9,21	10,18
2.	D	8,71	9,17
3.	F (filtrat)	7,47	8,51
4.	G (Kristal)	8,35	8,42
5.	H	7,22	9,14
6.	I	7,70	9,20
7.	J	7,41	8,82
8.	K	8,02	8,81
9.	Kontrol +	12,63	13,30
10.	Kontrol -	-	-



(a)



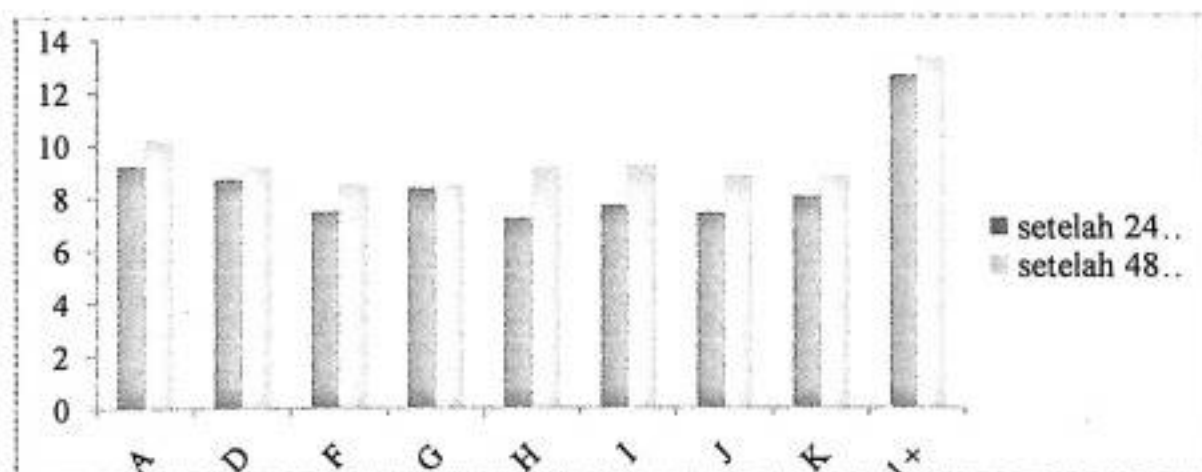
(b)

Gambar 9. Pengamatan potensial antibakteri fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K sebagai bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 15 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam (a) dan 2×24 jam.

Keterangan: J	= Fraksi A	P	= Fraksi I
K	= Fraksi D	Q	= Fraksi J
L	= Filtrat F	R	= Fraksi K
M	= Fraksi G	K (+)	= Kontrol positif
N	= Fraksi H	K (-)	= Kontrol negatif

Dari tabel 6, pada konsentrasi sampel 15 % diperoleh bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* paling besar ditunjukkan oleh fraksi A dengan diameter zona hambat pada selang inkubasi setelah 1×24 jam sebesar 9,21 mm maupun setelah 2×24 jam yaitu sebesar 10,18 mm. Jika dibandingkan aktivitas daya hambat antara fraksi A dan kontrol positif, maka dapat diperoleh bahwa aktivitas daya hambat fraksi A sebesar 72,92 % setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam dan sebesar 76,54 % setelah 2×24 jam dari aktivitas yang ditunjukkan oleh kontrol positif. Dari data perbandingan diameter zona hambat antara fraksi-fraksi dengan konsentrasi 5 % terhadap 15 % menunjukkan bahwa aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi sampel.

Jika data pada tabel 6 diplotkan dalam bentuk histogram, hasilnya dapat dilihat seperti pada gambar 10:



Gambar 10. Histogram bioaktivitas antibakteri Fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K konsentrasi 15 % pada bakteri uji *E. coli* selama 1×24 jam dan 2×24 jam.

Dari hasil semua pengukuran zona hambat setelah selang waktu inkubasi 1×24 jam dan 2×24 jam diperoleh bahwa semua fraksi menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang bersifat bakterisidal yang dibuktikan dengan adanya pertambahan diameter zona hambat pada pengamatan setelah waktu inkubasi 2×24 jam. Jadi ekstrak kulit batang fraksi n-heksana *C. acuminata* dapat mencegah pertumbuhan dan menyebabkan kematian sel bakteri, namun tidak menyebabkan sel bakteri menjadi lisis.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak kulit batang *C. acuminata* fraksi n-heksana mengandung senyawa-senyawa kimia yang merupakan turunan terpenoida, steroida, dan flavanoida, dimana semua fraksi n-heksana hasil fraksinasi dengan teknik kromatografi menunjukkan aktivitas yang positif sebagai antibakteri dan bersifat bakterisidal terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa-senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan *C. acuminata* secara tuntas tentang kandungan senyawa-senyawa kimia serta dikarakterisasi potensi bioaktivitasnya dalam bidang medik.

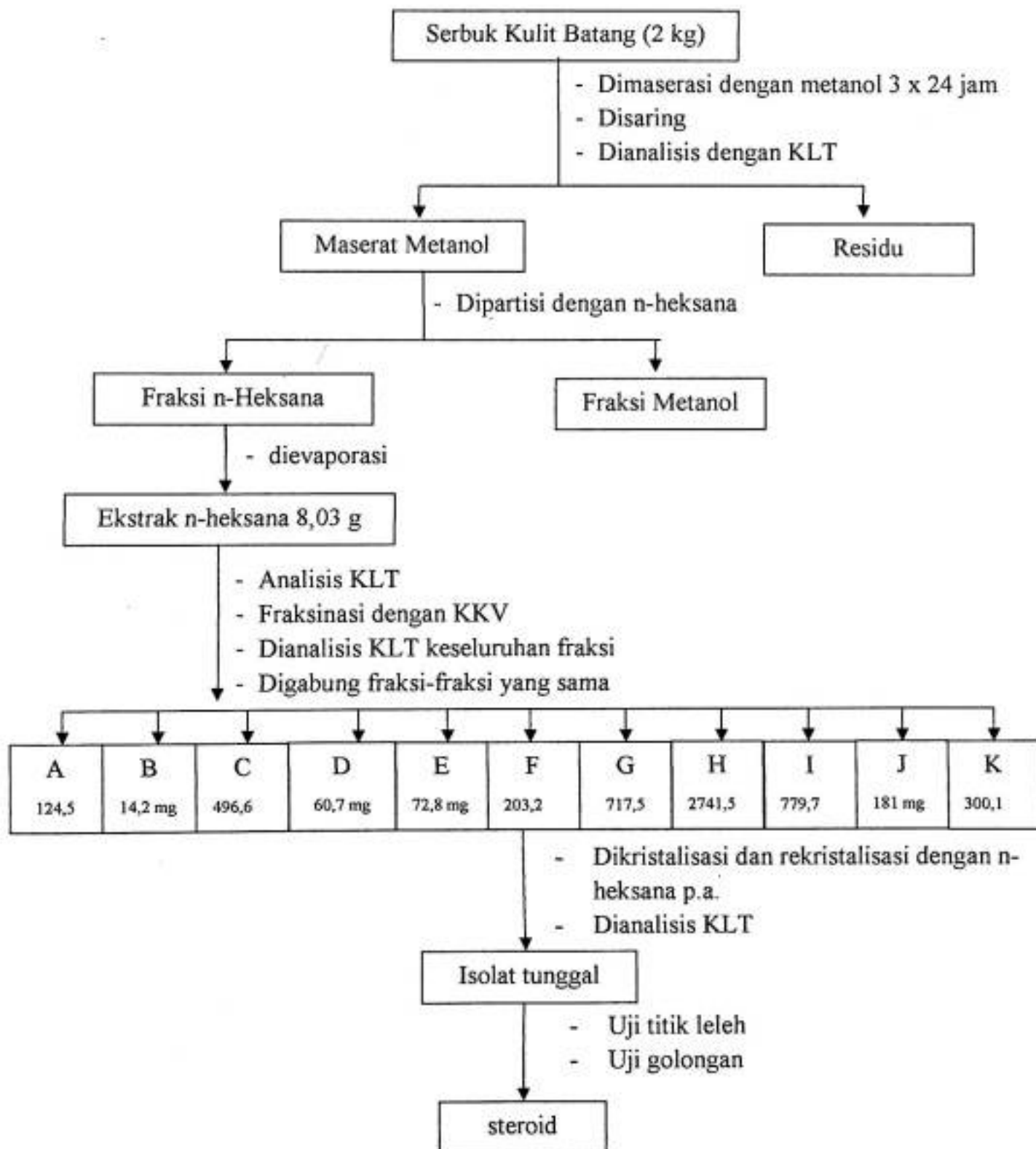
DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., 2004, Empat Puluh Tahun Dalam Kimia Organik Bahan Alam Tumbuh-Tumbuhan Tropika Indonesia: Rekoleksi Dan Prospek, *Bulletin Of The National Society Of Natural Products Chemistry*, 4 (2).
- Achmad, S.A., Hakim, E.H., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Syah, Y.M., 1994, Chemical Studies Of Indonesian Reinforest Plant: Triterpenoids From *Cryptocarya crassinervia* And *Litsea ellepatica*, *Rep. Asahi Glass Found.*
- Anonim, 2005, *Senyawa antimikroba dari Tanaman*, (online), www.kompas.com, diakses tanggal 07 Desember 2005.
- Anonim, Tanpa tahun, *Lauraceae From Wikipedia*, the free encyclopedia.
- Bick, I.R.C., Sinchai, W., 1978, *Alcalooids of the Lauraceae*, *Heterocyclic*, 9(7): 903-941.
- Bisset, N.G., 1995, *A phytochemical Survei of Some plants From the South Moluccas*, Treub Laboratory, Kebun Raya Bogor, 125.
- Brock, T.D., Madigan, M.T., 1994, *Biology of Microorganism, Fifth Edition*, Prentice Hall International, New Jersey.
- Collins, D.J., Culvenor, C.C.J., Lamberton, J.A., Loder, J.W., Price, J.R., 1990, *Plants For Medicine*, CSIRO, Melbourne.
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Departemen Kesehatan RI Dirjen POM, Jakarta.
- Duinvenvoorden, 2002, J.F., J.C., Svenning and wright, S.J., 2002, *Beta Diversity in Tropical Forest*, *Science Journal* 295: 636-637.
- Endjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi*, PT. Citra Aditya Bakti, Bandung, :100-101, 103-104, 118.
- Esccherich, T., 1985, *Escherichia coli*, (online), http://www.wikipiedia.com/escherichia_coli.htm, diakses tanggal 06 mei 2008.
- Ersam, T., 2001, *Senyawa Kimia Makromolekul Beberapa tumbuhan Artocarpus Hutan Tropika Sumatera Barat*, Disertasi tidak diterbitkan, Jurusan kimia ITB, Bandung.
- Ganiswara, S.G., Setiabudi, R., Suyatha, S.D., Purwatyastuti, Nafrialdi., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Fakultas kedokteran UI, Jakarta.

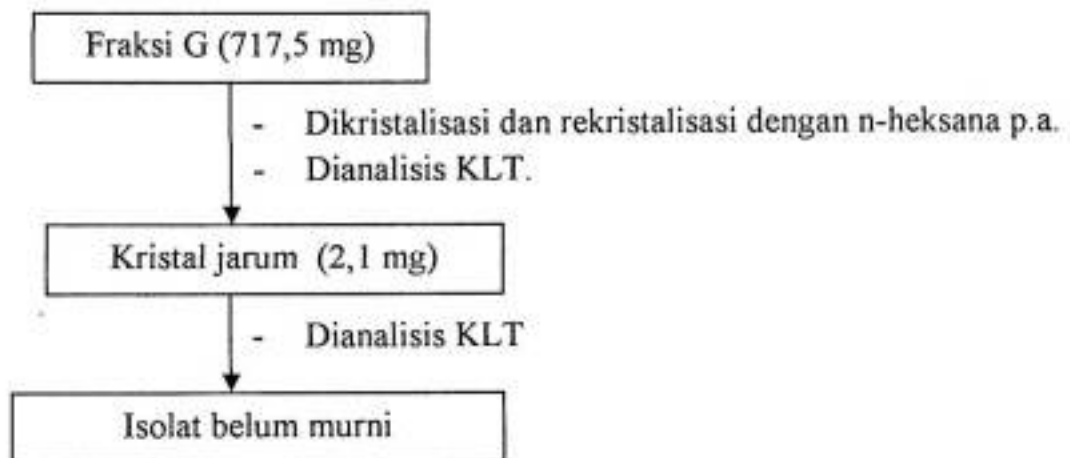
- Greenwood, D., Slack, R.C.B., Peutherer, J.F., 1992, *Medical Microbiology*, Low Priced Edition, British Government, London.
- Gottlieb, O.R., 1972, Chemosystematic of lauraceae, *Phytochemistry*, **11**: 1537-1570.
- Hakim, E.H., 2007, Keanekaragaman Hayati Sebagai Sumber Keanekaragaman molekul Yang unik dan potensial untuk Bioindustri, ITB, Bandung: 3-12.
- Harbone, J.B., 1973, *Metode fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan oleh Fatmawinata, k., Soediro, I., 1987, Chapman & Hall, London.
- Haryono, B., 2007, *Secondary Metabolite from the stem Bark of litsea Javanica (Lauraceae)*, *Natural Science and Mathematics*, ITB Central library, Bandung.
- Heyne, k., 1987, *Tumbuhan berguna Indonesia*, Yayasan sarjana Wanajaya, Jakarta.
- Joffe, S., Thomas, R., 1989, phytochemicals: A Renewable Global Resources, *Biotech News and information*, **1** (5):697.
- KOPHALINDO, 1995, *Atlas Keanekaragaman hayati Indonesia*, kantor menteri Negara lingkungan hidup RI dan KOPHALINDO.
- Lenny, S., 2006, *Senyawa terpenoida dan steroida*, Disertasi tidak diterbitkan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam, Medan.
- Manitto, P., 1992, *Biosintesis Produk Alami*, Ellis Horwood Publisher, England.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Terjemahan oleh Kokasih Padmawinata, 1988, ITB, Bandung.
- Muslikhati, Yulinah, S.E., Gana. S.A., 1995, *Penapisan Aktivitas Minyak Atsiri Tiga Jenis Tanaman Suku Lauraceae Terhadap Mikroba*, Jurusan Farmasi, ITB Bandung.
- Radji, M., 2005, Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal, **2**(3): 113-114.
- Sastrohamidjojo, H., 1992, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta.
- Setyaningsih, I., 2004, *Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut*, (online), http://tumoutou.net/pps702_9145/iriani_setyaningsih.pdf, diakses tanggal 10 Februari 2006.
- Stahl, E., 1969, *Thin Layer Chromatography, Edisi 2*, Springer Verlag, Berlin.

- Tukiran, Achmad, S.A., Makmur, L., 1999, *Artobilokromen: Suatu Senyawa Turunan Flavon Terisoprenilasi dari Kulit Batang Artocarpus Teysmanii MIQ(Moraceae)*, Makalah Disajikan Dalam Seminar nasional Kimia Bahan Alam Di Depok, Pusat Penelitian Saians Dan Teknologi Universitas Indonesia, Depok, 16-17 November.
- Usman, H., 2006, *Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Dari Tumbuhan Cryptocarya costata*, Disertasi Tidak Diterbitkan, Jurusan Kimia Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Usman, H., Jalaluddin, M.N., Harlim, T., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Syah, Y.M., Latip, J., Said, I.M., 2005, Senyawa Kalkon Baru Bersifat Anti-Bakteri Dari Tumbuhan *Cryptocarya costata* (Lauraceae), *Berkala Ilmiah MIPA* 16 (1).
- Usman, H., Hakim, E.H., Harlim, T., Jalaluddin, M.N., Syah, Y.M., Achmad, S.A., Takayama, H., 2005, Cytotoxic Chalcones and Flavanones From the Bark of *Cryptocarya costata*, *Z. Naturforsch*, 61, 184-188.
- Usman, H., Hakim, E.H., Achmad, S.A., Harlim, H., Jalaluddin, M.N., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Katajima, M., 2005, 2',4'-Dihidroksi-3',5',6'-Trimetoksi Calkon Suatu Senyawa Antitumor Dari Kulit Batang Tumbuhan *Cryptocarya costata* (Lauraceae), *Jurnal Matematika Dan Sains* 10 (3).
- Watson, L., Dallwitz, M.J, 1992, The Families Of Flowering Plants: Lauraceae Juss, (online): <http://delta-intkey.com/angio/www/lauraceae.htm>, diakses tanggal 6 Mei, 2008.
- Zenta, F., Kumanireng, H.A.S., 2003, *Teknik Laboratorium dan Pemuntun Praktikum Kimia Organik*, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.

Lampiran 1. Bagan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi n-Heksana



Lampiran 2. Bagan Kerja Fraksi G



Lampiran 3a. Kromatogram hasil maserasi metanol



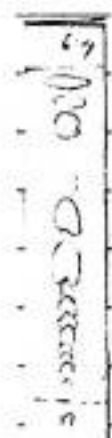
EtOAc : n-heksana = 3 : 7

Lampiran 3b. Kromatogram hasil ekstrak n-heksana



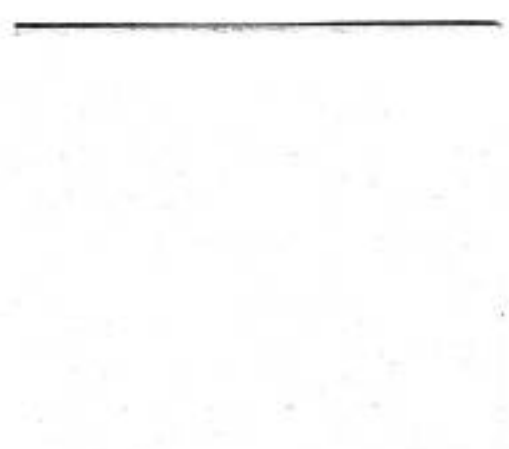
EtOAc : n-heksana = 3 : 7

Lampiran 4a. Kromatogram eluen yang sesuai untuk ekstrak kloroform



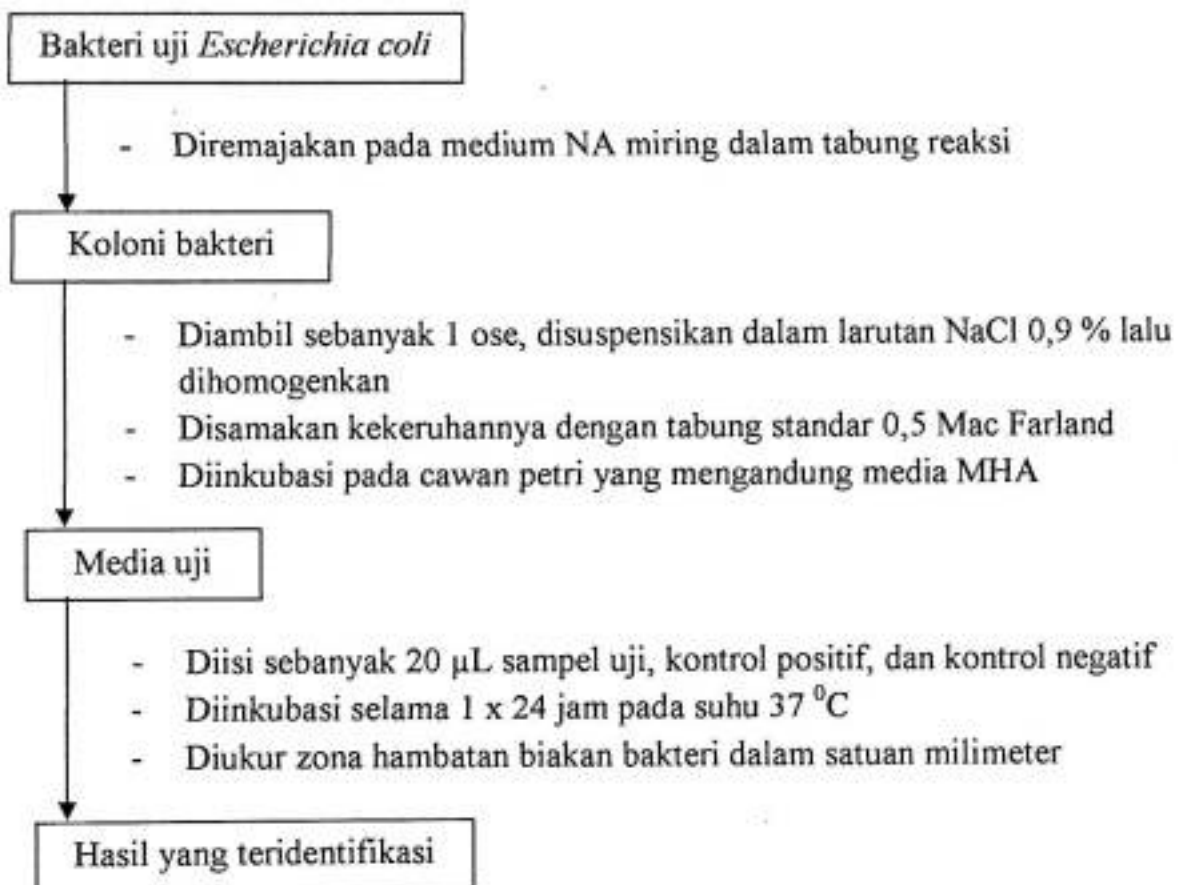
CHCl_3 : n-heksana = 3 : 2

Lampiran 4b. Kromatogram hasil fraksinasi ekstrak n-heksana



EtOAc : n-heksana = 4 : 8

Lampiran 5. Bagan Kerja Uji Antibakteri

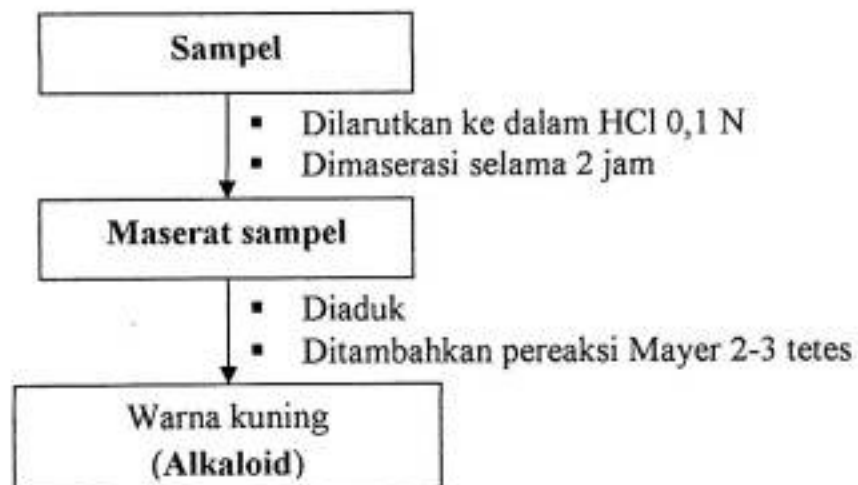


Lampiran 6. Bagan kerja uji senyawa alkaloid

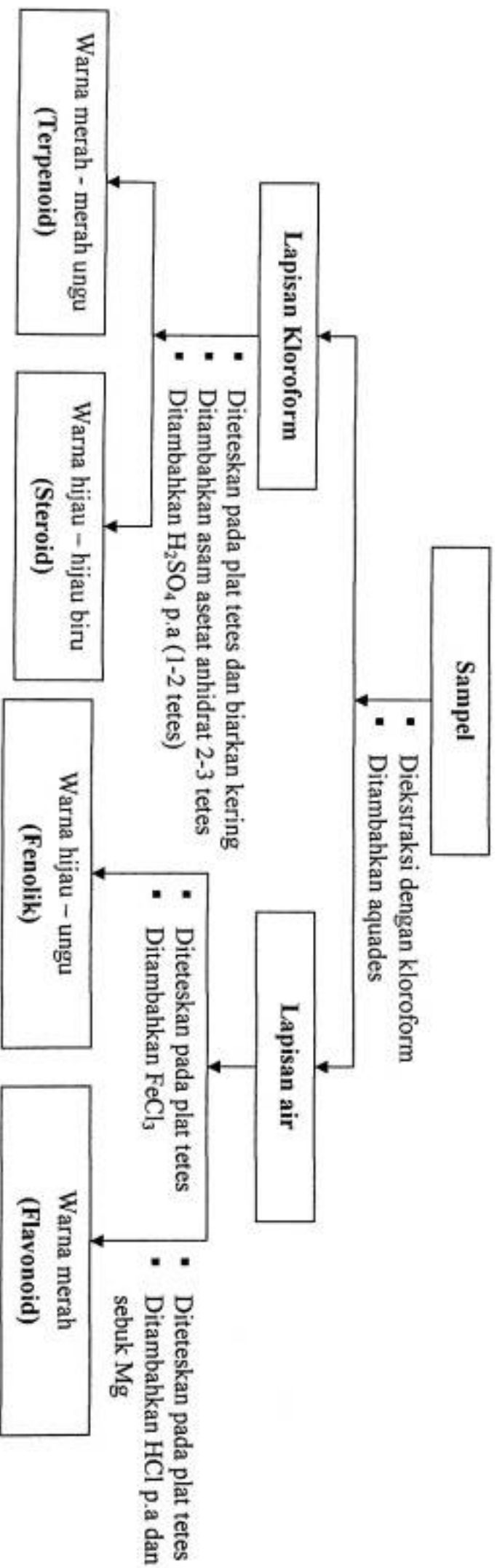
1. Pembuatan pereaksi Meyer.



2. Uji kualitatif terhadap alkaloid

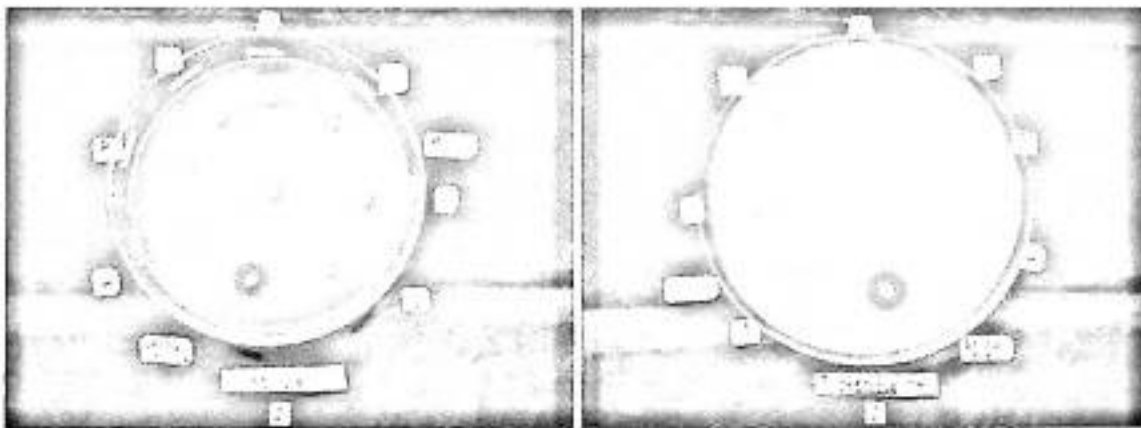


Lampiran 7. Bagan Kerja Uji Senyawa Terpenoida, Steroida, Fenolik, dan Flavonoida

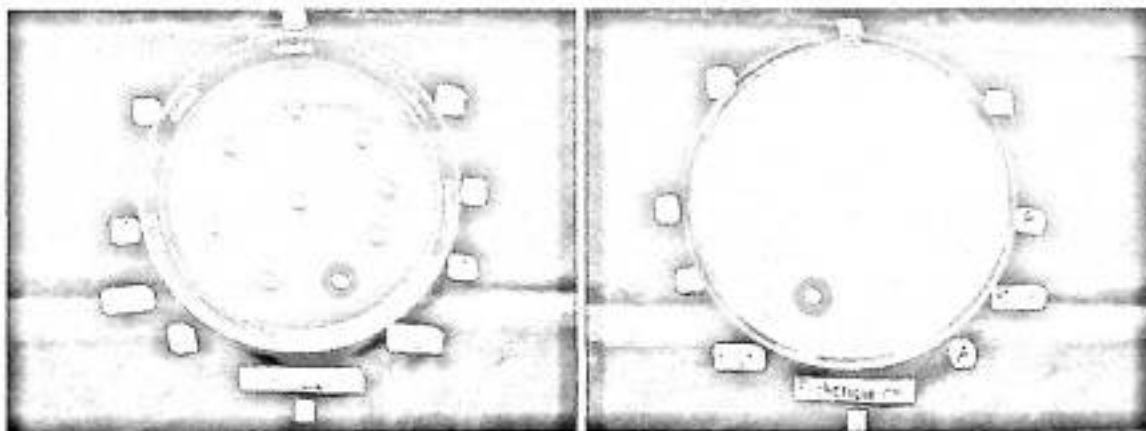


Lampiran 8a. Foto hasil uji daya hambat fraksi A-F dan senyawa fraksi F dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 1×24 jam.

Singplo:

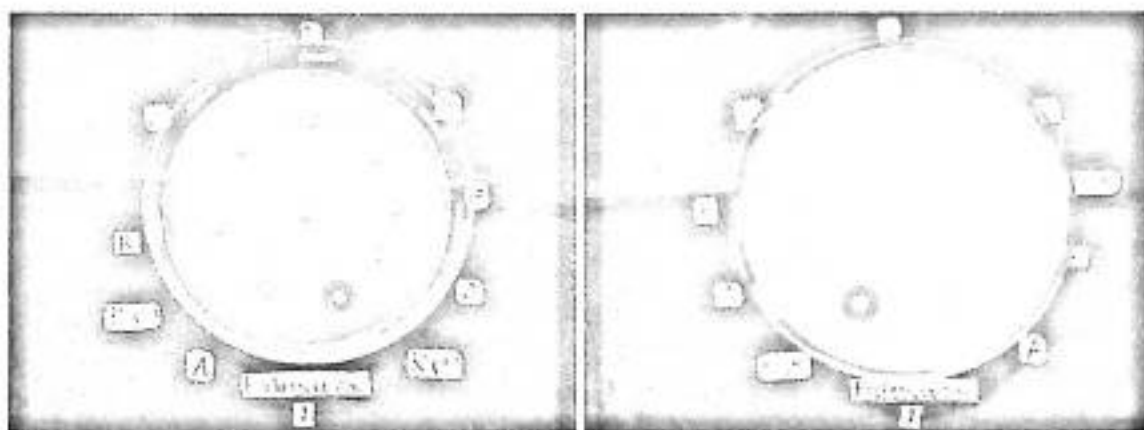


Duplo :

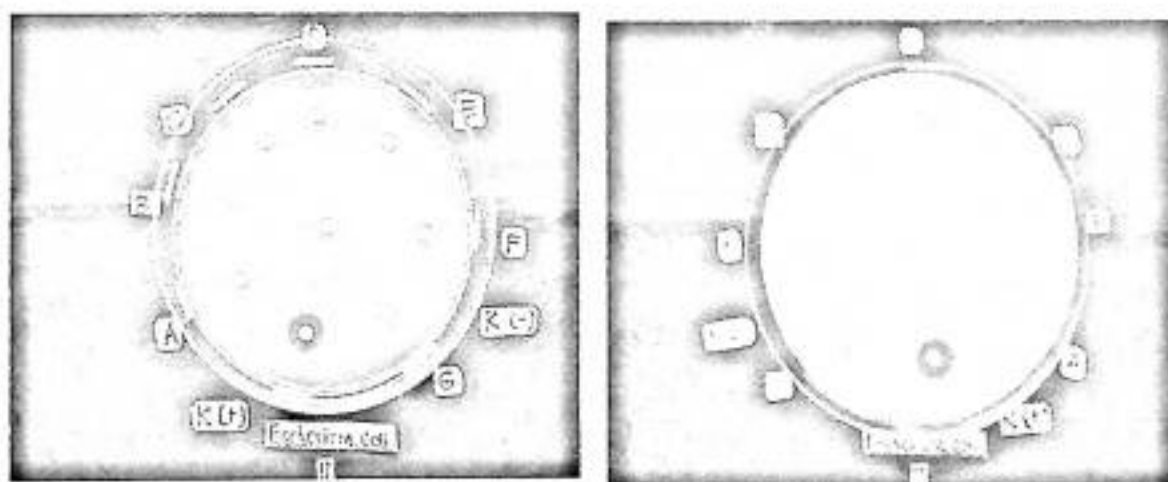


Lampiran 8b. Foto hasil uji daya hambat fraksi A - F dan senyawa fraksi F dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 2×24 jam.

Singplo :

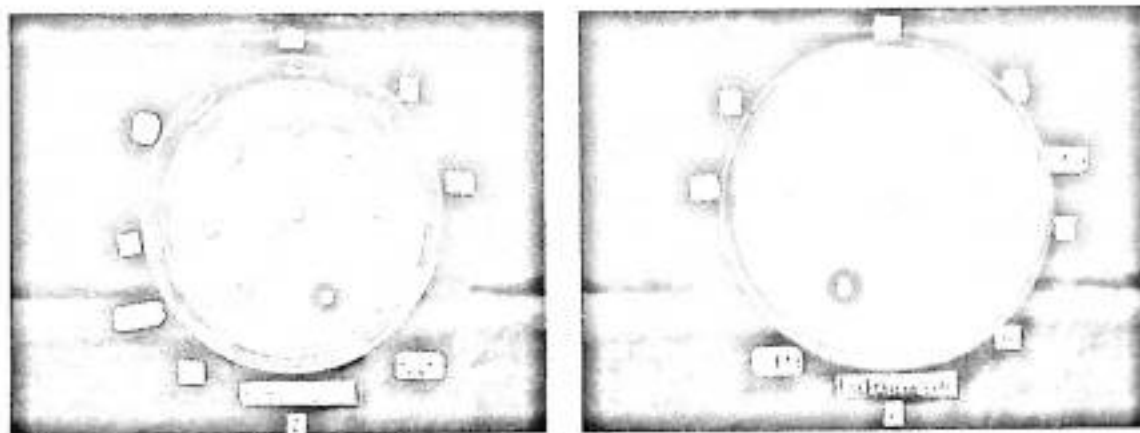


Duplo :

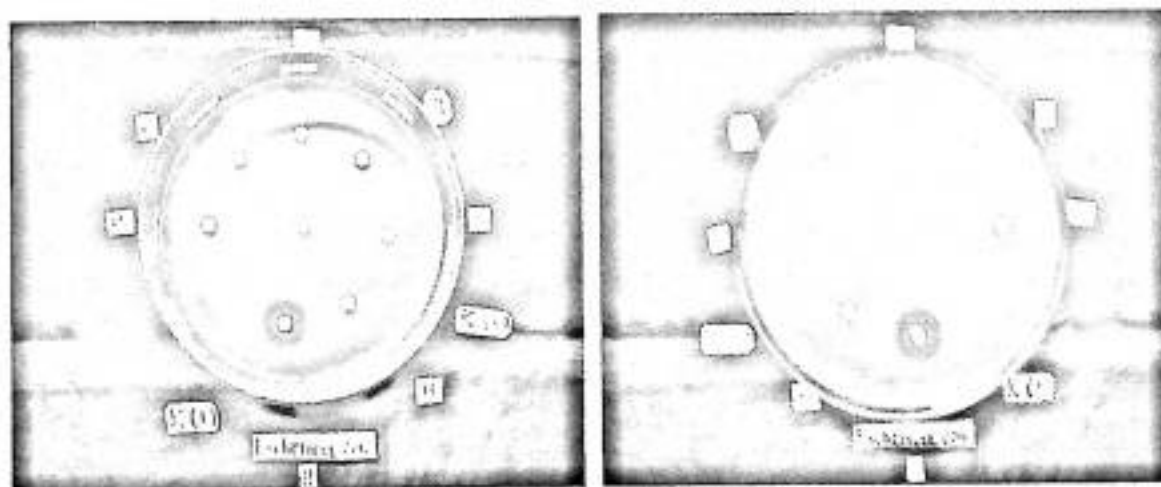


Lampiran 9a. Foto hasil uji daya hambat fraksi G - K dan isolat G dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 1×24 jam.

Singlo :

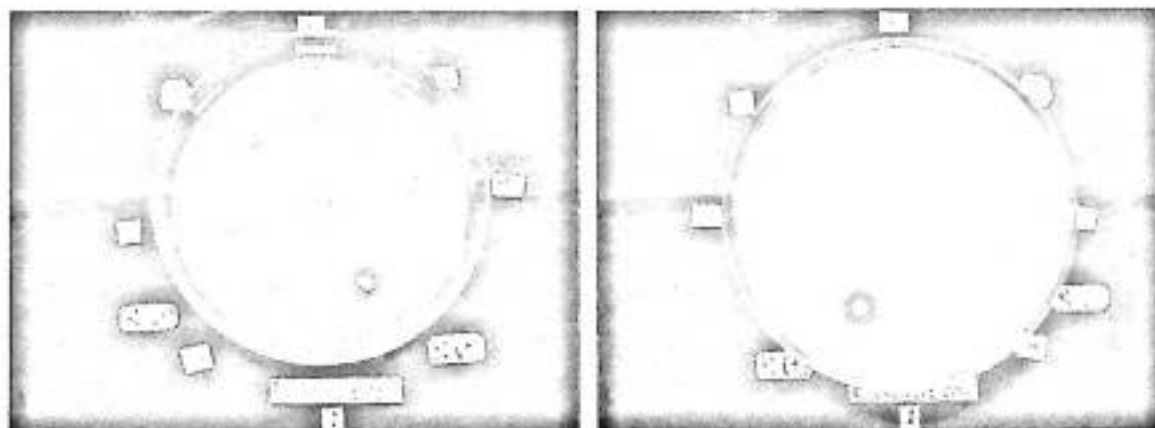


Duplo :

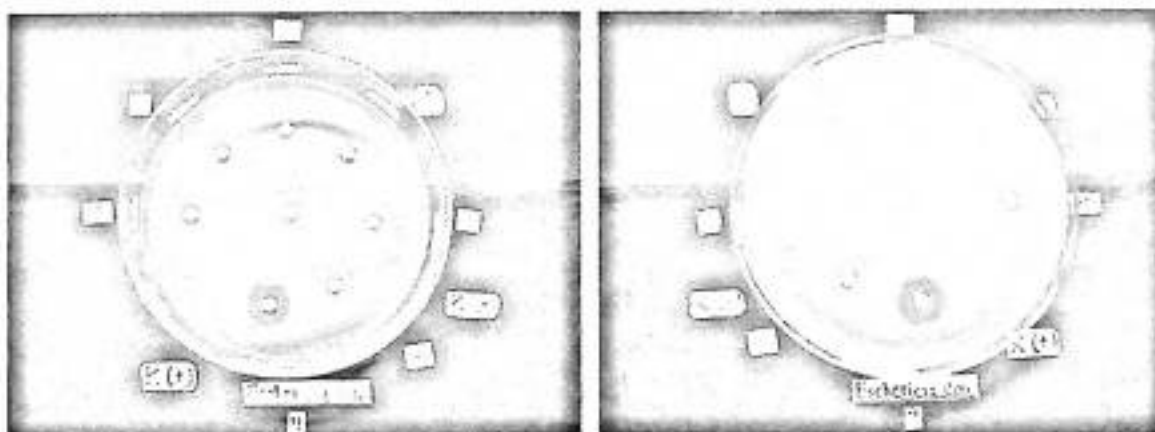


Lampiran 9b. Foto hasil uji daya hambat fraksi G - K dan isolat G dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 2×24 jam.

Singplo:

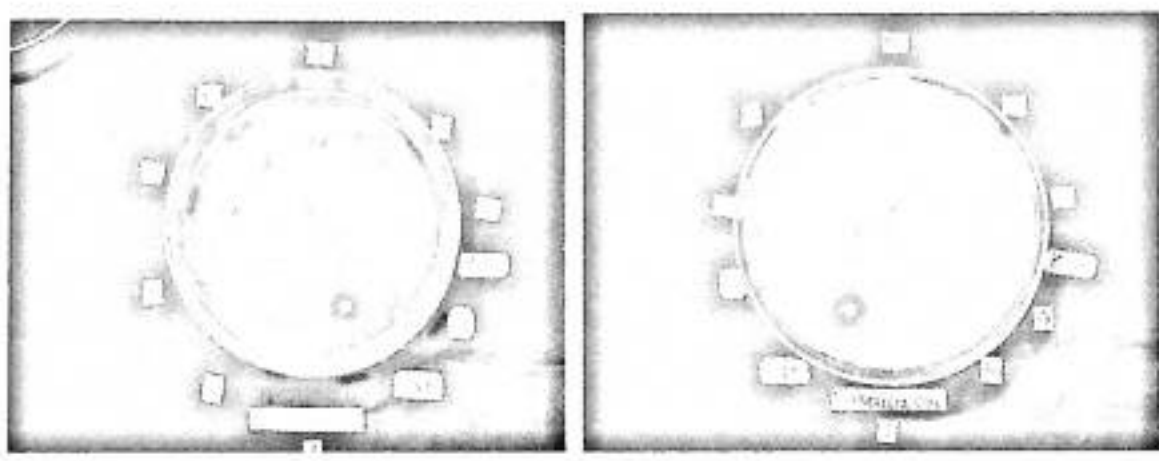


Duplo:

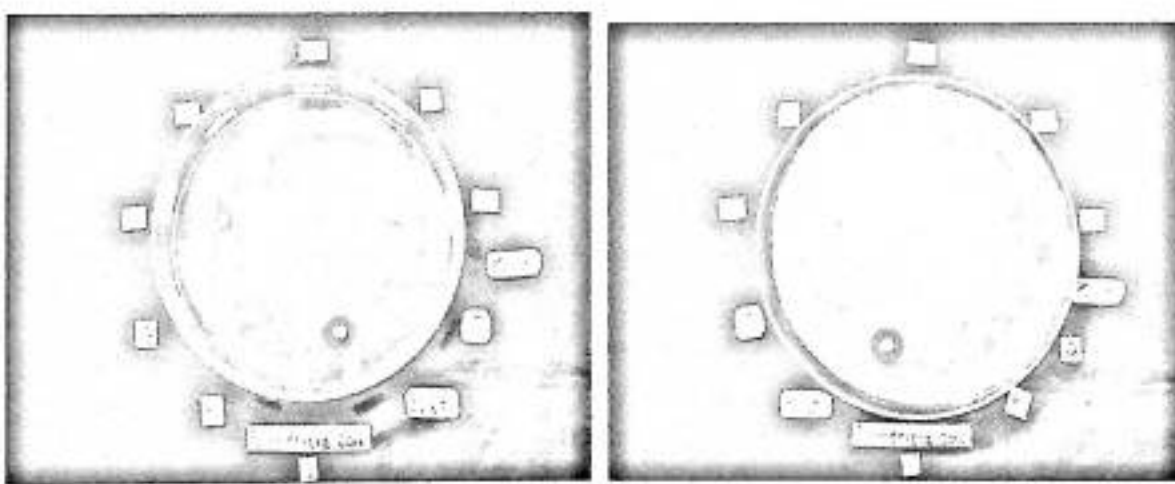


Lampiran 10a. Foto hasil uji daya hambat fraksi A, F, D, G, H, I, J, K dengan konsentrasi 15 % pada masa inkubasi 1×24 jam

Singplo :



Duplo :



Lampiran 11a. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan fraksi A – F dan Kristal fraksi F dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 1×24 jam.

No.	Fraksi	Ulangan ke	Diameter hambatan (mm)		
			Singplo	Duplo	Total rata-rata
1.	A	1	8,80	8,80	8,70
		2	8,65	8,50	
		3	8,65	8,80	
		Rata-rata	8,70	8,70	
2.	B	1	6,60	6,95	6,81
		2	6,65	7,00	
		3	6,70	7,00	
		Rata-rata	6,65	6,98	
3.	C	1	6,80	6,75	6,78
		2	6,90	7,00	
		3	7,00	7,00	
		Rata-rata	6,90	6,92	
4.	D	1	7,95	7,90	7,90
		2	7,60	8,00	
		3	8,10	7,90	
		Rata-rata	7,88	7,93	
5.	E	1	5,95	5,75	5,83
		2	6,05	6,00	
		3	6,10	6,00	
		Rata-rata	6,04	5,92	
6.	F (filtrat)	1	7,35	7,65	7,56
		2	7,60	7,55	
		3	7,35	7,90	
		Rata-rata	7,43	7,70	
7.	F (kristal)	1	8,55	8,85	8,64
		2	8,70	8,45	
		3	8,50	8,80	
		Rata-rata	8,58	8,70	
8.	Kontrol Positif	1	16,60	17,00	16,74
		2	16,50	16,85	
		3	16,50	17,00	
		Rata-rata	16,53	16,95	
7.	Kontrol Negatif	–	–	–	–

Lampiran 11b. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan fraksi D₄ – D₉ dan senyawa fraksi C dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 2× 24 jam.

No.	Fraksi	Ulangan ke	Diameter hambatan (mm)		
			Singplo	Duplo	Total rata-rata
1.	A	1	9,70	9,80	9,87
		2	9,80	9,95	
		3	9,95	10,00	
		Rata-rata	9,82	9,92	
2.	B	1	7,50	7,40	7,49
		2	7,60	7,25	
		3	7,80	7,40	
		Rata-rata	7,63	7,35	
3.	C	1	8,10	8,70	8,43
		2	8,45	8,55	
		3	8,10	8,70	
		Rata-rata	8,22	8,65	
4.	D	1	9,00	9,35	9,16
		2	9,25	9,10	
		3	9,10	9,10	
		Rata-rata	9,12	9,18	
5.	E	1	9,80	9,80	9,83
		2	9,65	9,85	
		3	9,90	10,00	
		Rata-rata	9,78	9,88	
6.	F (filtrat)	1	7,35	7,20	7,23
		2	7,30	7,30	
		3	7,15	7,10	
		Rata-rata	7,27	7,20	
7.	F (kristal)	1	9,00	9,00	9,05
		2	9,00	9,20	
		3	9,10	9,00	
		Rata-rata	9,03	9,07	
8.	Kontrol Positif	1	16,90	17,00	16,96
		2	17,00	17,05	
		3	16,90	17,95	
		Rata-rata	16,93	17,00	
9.	Kontrol Negatif	–	–	–	–

Lampiran 12a. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan fraksi G – K dan isolat fraksi G dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 1× 24 jam.

No.	Fraksi	Ulangan ke	Diameter hambatan (mm)		
			Singplo	Duplo	Total rata-rata
1.	G (filtrat)	1	7,35	7,65	7,56
		2	7,60	7,55	
		3	7,35	7,90	
		Rata-rata	7,43	7,70	
2.	G (kristal)	1	8,25	8,10	8,21
		2	8,10	8,25	
		3	8,10	8,45	
		Rata-rata	8,15	8,27	
3.	H	1	7,35	7,70	7,43
		2	7,42	7,50	
		3	7,20	7,40	
		Rata-rata	7,33	7,53	
4.	I	1	6,95	6,60	6,85
		2	7,00	6,75	
		3	7,00	6,80	
		Rata-rata	6,98	6,72	
5.	J	1	7,25	7,55	7,26
		2	7,10	7,30	
		3	7,00	7,35	
		Rata-rata	7,20	7,40	
6.	K	1	7,20	7,10	7,07
		2	7,00	7,05	
		3	7,00	7,10	
		Rata-rata	7,07	7,08	
8.	Kontrol Positif	1	16,80	16,70	16,61
		2	16,60	16,50	
		3	16,50	16,60	
		Rata-rata	16,63	16,60	
7.	Kontrol Negatif	–	–	–	–

Lampiran 12b. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan fraksi G – K dan isolat fraksi G dengan konsentrasi 5 % pada masa inkubasi 2× 24 jam.

No.	Fraksi	Ulangan ke	Diameter hambatan (mm)		
			Singplo	Duplo	Total rata-rata
1.	G (filtrat)	1	8,15	8,30	8,20
		2	8,20	8,40	
		3	8,00	8,15	
		Rata-rata	8,12	8,28	
2.	G (kristal)	1	8,30	8,80	8,59
		2	8,50	8,30	
		3	8,60	8,50	
		Rata-rata	8,47	8,71	
3.	H	1	8,10	8,30	8,22
		2	8,35	8,15	
		3	8,35	8,05	
		Rata-rata	8,27	8,17	
4.	I	1	7,80	7,60	7,64
		2	7,70	7,55	
		3	7,70	7,50	
		Rata-rata	7,73	7,55	
5.	J	1	7,15	7,60	7,37
		2	7,55	7,60	
		3	7,20	7,65	
		Rata-rata	7,30	7,62	
6.	K	1	7,10	7,50	7,27
		2	7,10	7,60	
		3	7,15	7,20	
		Rata-rata	7,12	7,43	
8.	Kontrol Positif	1	16,90	16,85	16,91
		2	16,95	16,90	
		3	16,90	16,95	
		Rata-rata	16,92	16,90	
7.	Kontrol Negatif	–	–	–	–

Lampiran 13a. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K dengan konsentrasi 15 % pada masa inkubasi 1× 24 jam.

No.	Fraksi	Ulangan ke	Diameter hambatan (mm)		
			Singplo	Duplo	Total rata-rata
1.	A	1	9,10	9,25	9,21
		2	9,10	9,30	
		3	9,20	9,10	
		Rata-rata	9,13	9,30	
2.	D	1	8,60	8,80	8,71
		2	8,80	8,70	
		3	8,75	8,60	
		Rata-rata	8,72	8,70	
3.	F	1	7,40	7,60	7,47
		2	7,30	7,60	
		3	7,40	7,50	
		Rata-rata	7,37	7,57	
4.	G	1	8,30	8,20	8,35
		2	8,40	8,40	
		3	8,60	8,25	
		Rata-rata	8,43	8,28	
5.	H	1	7,20	7,25	7,22
		2	7,30	7,30	
		3	7,15	7,10	
		Rata-rata	7,22	7,22	
6.	I	1	7,60	7,80	7,70
		2	7,80	7,70	
		3	7,70	7,60	
		Rata-rata	7,70	7,70	
7.	J	1	7,20	7,40	7,41
		2	7,30	7,70	
		3	7,40	7,45	
		Rata-rata	9,30	9,52	
8.	K	1	7,90	8,10	8,02
		2	8,00	8,15	
		3	8,00	8,00	
		Rata-rata	7,97	8,08	
9.	Kontrol Positif	1	12,50	12,50	12,63
		2	12,60	12,80	
		3	12,70	12,70	
		Rata-rata	12,60	12,67	
10.	Kontrol negatif	-	-	-	-

Lampiran 13a. Hasil pengukuran diameter daerah hambatan fraksi A, D, F, G, H, I, J, dan K dengan konsentrasi 15 % pada masa inkubasi 2× 24 jam

No.	Fraksi	Ulangan ke	Diameter hambatan (mm)		
			Singplo	Duplo	Total rata-rata
1.	A	1	10,15	10,30	10,18
		2	10,15	10,20	
		3	10,20	10,10	
		Rata-rata	10,17	10,20	
2.	D	1	9,10	9,30	9,17
		2	9,15	9,20	
		3	9,10	9,15	
		Rata-rata	9,12	9,22	
3.	F	1	8,40	8,60	8,51
		2	8,20	8,55	
		3	8,50	8,80	
		Rata-rata	8,37	8,65	
4.	G	1	8,20	8,50	8,42
		2	8,50	8,50	
		3	8,30	8,55	
		Rata-rata	8,33	8,52	
5.	H	1	9,10	9,10	9,14
		2	9,15	9,30	
		3	9,10	9,10	
		Rata-rata	9,12	9,27	
6.	I	1	9,10	9,30	9,20
		2	9,30	9,25	
		3	9,10	9,10	
		Rata-rata	9,18	9,22	
7.	J	1	8,90	8,95	8,82
		2	8,80	8,90	
		3	9,00	8,50	
		Rata-rata	8,80	8,85	
8.	K	1	8,90	8,80	8,81
		2	8,95	8,50	
		3	9,00	8,70	
		Rata-rata	8,95	8,67	
9.	Kontrol Positif	1	13,50	13,10	13,30
		2	13,35	13,05	
		3	13,60	13,25	
		Rata-rata	13,48	13,30	
10.	Kontrol negatif	-	-	-	-