

**EKSTRAKSI DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai Gelar Sarjana Sains
(S.Si) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta**



Disusun oleh :

Febria Suryaningrum

No. Mahasiswa: 12612022

PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

2016

**EKSTRAKSI DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI
*Escherichia coli***

oleh :

FEBRIA SURYANINGRUM

No. Mhs: 12612022

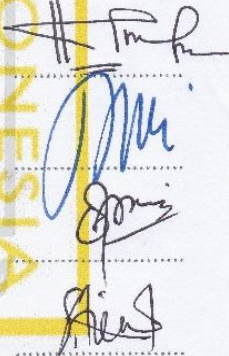
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Skripsi
Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 14 September 2016

Dewan Penguji

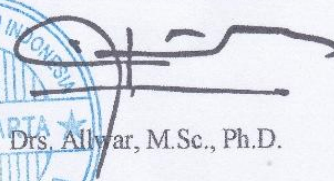
Tanda Tangan

1. Dr. Noor Fitri, M.Si.
2. Dr. Dwiarto Rubiyanto, M.Si.
3. Habibi Hidayat, M.Si.
4. Dhina Fitriastuti, M.Sc.



Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia




Drs. Allyar, M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

“Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam referensi. Apabila kemudian hari terbukti bahwa pernyataan ini tidak benar, maka saya sanggup menerima hukuman atau sanksi apapun sesuai peraturan yang berlaku.”



Yogyakarta, Oktober 2016

Penulis



Febria Suryaningrum

HALAMAN PERSEMBAHAN

“It’s dedicate to my beloved mom and dad, my young brother, big family, Bryan and all of my besties also my friends. Big thanks for support and loving me, i can’t explain it in a simple way.”



MOTTO

“Do what you like and love what you do.” (Anonymous)

“Dan sesungguhnya Kami akan memberikan balasan kepada orang-orang yang telah bersabar.” (QS. An Nahl: 96)

“Apapun yang Allah berikan adalah yang terbaik, selalu percaya akan rencana Allah. Lakukan saja yang terbaik.” (Febria S.)



KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang mana berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Ekstraksi Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia Coli*”**.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada:

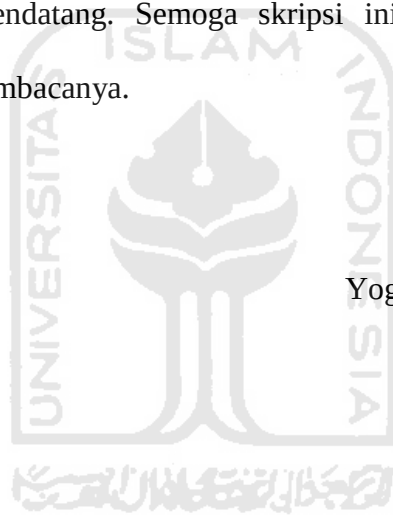
1. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
2. Ibu Dr. Is Fatimah, M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia
3. Ibu Dr. Noor Fitri, M.Si. selaku dosen pembimbing I, dan Bapak Dwiwarso Rubiyanto selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktunya dan selalu sabar memberikan arahan, bimbingan, saran dan motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Ayah dan ibu serta adik yang selalu memberikan do'a, semangat dan dukungan secara moril dan materiil yang tiada henti.
5. Diah Ariska yang telah memberikan waktu dan tenaga untuk membantu penulis.
6. Dian Riyanti, Dita Diaty, Sucia mutia dan Chayani Dwi Hastuti yang selalu membantu dan memberikan dukungan serta do'a.

7. Bryan Aditya Yudha yang telah memberikan waktu dan tenaga untuk membantu penulis.
8. Dwi Rahayuningtiyas selaku *partner* skripsi yang memberikan masukan dan dukungan.
9. Seluruh teman-teman Kimia 2012 atas bantuan, do'a serta dukungan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh sebab itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan dimasa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi yang membacanya.

Yogyakarta, September 2016

Febria Suryaningrum



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	ivv
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xivv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Pustaka	5
2.2 Hipotesis.....	10
BAB III	11
DASAR TEORI	11
3.1 Sukun (<i>Artocarpus altilis</i>).....	11

3.1.1 Taksonomi dan morfologi tumbuhan	12
3.1.2 Khasiat tumbuhan.....	15
1.5 Ekstraksi.....	15
3.2.1 Jenis Ekstraksi	17
3.3 Kromatografi	23
3.3.1 Teknik dan prinsip dasar kromatografi	23
3.3.2 Kromatografi lapis tipis (KLT)	24
3.3.3 Kromatografi cair vakum (KCV)	26
3.3.4 <i>High performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	29
3.4 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	32
3.5 Antibakteri.....	34
3.5.1 Jenis antibiotik.....	35
3.5.2 Metode Pengujian Antibakteri	37
BAB IV	40
METODE PENELITIAN.....	40
4.1 Alat dan Bahan.....	40
4.1.1 Alat	40
4.1.2 Bahan.....	40
4.2 Sampel yang Digunakan	40
4.3 Cara kerja	40
4.3.2 Ekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah	41
4.3.3 Fraksinasi KCV ekstrak B.....	41
4.3.4 Penentuan perbandingan pelarut dengan KLT	42
4.3.5 Fraksinasi KCV ekstrak pekat A dengan perbandingan pelarut	43
4.3.6 Pengujian antibakteri ekstrak terhadap bakteri <i>E.coli</i>	43
4.3.7 Pengujian fraksi dengan HPLC	47
BAB V.....	48
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	48

5.1 Proses maserasi daun sukun.....	48
5.2 Proses ekstraksi cair-cair menggunakan n-heksana.....	49
5.3 Analisis kromatografi.....	51
5.4 Uji aktivitas antibakteri.....	58
5.5 Uji komponen menggunakan HPLC	63
BAB VI	68
KESIMPULAN DAN SARAN.....	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	74



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun sukun (<i>Artocarpus altilis</i>)	12
Gambar 2. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	27
Gambar 3. Bagan HPLC	29
Gambar 4. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	32
Gambar 5. Struktur n-heksana	53
Gambar 6. Struktur kloroform	53
Gambar 7. Struktur etil asetat	53
Gambar 8. Struktur etanol	53
Gambar 9. Struktur metanol	53
Gambar 10. Hasil uji KLT ekstrak A (A). Hasil uji KLT standar kuersetin (B). ..	55
Gambar 11. (A) Hasil uji difusi sampel fraksi dari ekstrak pekat etanol. (B) Hasil uji difusi sampel fraksi n-heksana dari ekstrak n-heksana.	59
Gambar 12. Kontrol (+) amoksisilin dan kontrol (-) DMSO.	59
Gambar 13. Kromatogram sampel 1 (atas), 2 (tengah) dan 3 (bawah)	65
Gambar 14. Kromatogram standar kuersetin.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rata-rata zona hambat ekstrak daun sukun terhadap bakteri <i>E.coli</i>	7
Tabel 2. Hasil ekstraksi cair-cair ekstrak etanol dengan pelarut n-heksana.....	50
Tabel 3. Hasil fraksinasi ekstrak B daun sukun menggunakan kromatografi cair vakum.....	54
Tabel 4. Hasil fraksinasi ekstrak pekat A daun sukun dengan menggunakan kromatografi cair vakum.....	57
Tabel 5. Hasil pengukuran zona hambat antibakteri fraksi daun sukun terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	60
Tabel 6. Tabel puncak dari kromatogram sampel 1	66
Tabel 7. Tabel puncak dari kromatogram sampel 2	66
Tabel 8. Tabel puncak dari kromatogram sampel 3	66
Tabel 9. Tabel puncak dari kromatogram standar kuersetin	66

EKSTRAKSI DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*) DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

INTISARI

FEBRIA SURYANINGRUM

No. Mahasiswa : 12612022

Daun sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan salah satu tanaman yang sudah lama dijadikan sebagai obat, salah satunya memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penentuan senyawa aktif dalam daun sukun terhadap bakteri *Escherichia coli* telah dilakukan. Ekstrak pekat etanol dan ekstrak n-heksana daun sukun difraksinasi menggunakan metode kromatografi vakum cair (KCV) dengan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol. Masing-masing fraksi yang terbentuk diuji aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram dengan konsentrasi masing-masing fraksi 100%. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi 2 dari ekstrak pekat etanol yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat 3,2 mm. Analisis menggunakan HPLC telah dilakukan pada sampel fraksi 1 dan fraksi 2 dari ekstrak pekat etanol dan fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana. Hasil analisis HPLC dengan standar kuersetin menunjukkan bahwa fraksi etil asetat (waktu retensi 3,071) dari ekstrak n-heksana adalah yang paling mendekati dengan standar kuersetin (waktu retensi 3,195) sedangkan fraksi 2 dari ekstrak pekat etanol memiliki waktu retensi sebesar 2,706.

Kata kunci : Daun sukun (*Artocarpus altilis*), *Escherichia coli*, aktivitas antibakteri, fraksinasi, HPLC

**EXTRACTION OF BREADFRUIT LEAF (*Artocarpus altilis*)
AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST AGAINST
*Escherichia coli***

ABSTRACT

FEBRIA SURYANINGRUM

Student Number : 12612022

Breadfruit leaf (*Artocarpus altilis*) is one of the plant that has used as a herbal medicine, one of them has an antibacterial activity. Determination of the active compounds of breadfruit leaf against bacteria *Escherichia coli* has been done. Concentrated ethanol extract and n-hexane extract were fractionated using vacuum liquid chromatography (VLC) method with n-hexane, chloroform, ethyl acetate, ethanol and methanol solvent. Each fraction was tested for antibacterial activity of *Escherichia coli* using disc diffusion method with the concentration of each fraction of 100%. The result of antibacterial activity test showed that fraction 2 of concentrated ethanol extract was the most active in inhibiting the growth of bacteria *Escherichia coli* with inhibition zone of 3.2 mm. Analysis using HPLC was done on the sample of fraction 1 and fraction 2 from concentrated ethanol extract and ethyl acetate fraction from n-hexane extract. The result of HPLC analysis with standard quercetin showed that the ethyl acetate fraction(retention time 3.071) from the n-hexane extract is proximate to the standard quercetin (retention time 3.195) while the fraction 2 from concentrated ethanol extract had a retention time of 2.706.

Keywords : Breadfruit leaf (*Artocarpus altilis*), *Escherichia coli*, antibacterial activity, fractionation, HPLC

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obat tradisional telah lama dikenal dan digunakan oleh masyarakat Indonesia, karena selain telah akrab dengan masyarakat, obat ini lebih murah dan mudah didapat. Tanaman obat tradisional saat ini banyak dikembangkan sebagai alternatif antimikroba untuk mengurangi peningkatan penggunaan antibiotik. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat tradisional yang sering digunakan masyarakat Indonesia adalah daun sukun (*Artocarpus altilis*).

Sukun (*Artocarpus altilis*) adalah salah satu tumbuhan 'nangka-nangkaan' yang dikenal dengan baik di Indonesia dan mudah didapat, selain sebagai penghasil buah yang bernilai ekonomi, daun tumbuhan ini berkhasiat sebagai obat luar untuk mengobati pembengkakan limpa. Daun sukun termasuk dalam suku *Moraceae* yang sering dikenal sebagai *bread fruit*. Secara tradisional masyarakat menggunakan daun sukun untuk pengobatan penyakit hati, hipertensi, diabetes, jantung, ginjal, sakit gigi dan gatal-gatal (Depkes RI, 1997). Menurut Erwin (2001) ekstrak dari daun sukun ini juga telah dibuktikan mempunyai aktivitas terhadap sel tumor P388. Daun sukun juga efektif mengobati penyakit seperti liver, hepatitis, pembesaran limpa, jantung, ginjal tekanan darah tinggi dan kencing manis, karena mengandung fenol, kuersetin. Kamperol dan juga dapat digunakan sebagai bahan ramuan obat penyembuh kulit yang bengkak. Senyawa

kimia yang terkandung dalam ekstrak kasar daun sukun antara lain: alkaloid, steroid, terpenoid dan flavonoid (Abdassah, 2009).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa aktivitas ekstrak daun sukun mampu menghambat perkembangbiakan mikroba, seperti bakteri dan jamur. Ekstrak dari akar dan batang tanaman sukun menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram positif dan mengobati tumor (Pradhan dkk, 2013). Menurut penelitian yang telah dilakukan Murwani dkk (2012), ekstrak metanol dan etanol dari daun sukun mengindikasikan bahwa daun sukun dapat berpotensi sebagai antibakteri dan antijamur terhadap beberapa patogen.

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang tidak berkapsul. Bakteri ini umumnya terdapat dalam alat pencernaan manusia dan hewan. Sel *Escherichia coli* mempunyai ukuran panjang 2-6 μm dan lebar 1,1-1,5 μm , tersusun tunggal, berpasangan dan berflagel. *Escherichia coli* ini tumbuh pada suhu antara 10-45 °C, dengan suhu optimum 37 °C. *Escherichia coli* ini dapat menyebabkan diare pada manusia disebut Entero patogenik *Escherichia coli* (EEG). Masa inkubasinya 8-44 jam (Levinson, 2008).

Telah dilakukan pada penelitian sebelumnya uji terhadap ekstrak daun sukun, yang menunjukkan aktivitas terhadap beberapa bakteri dan jamur tertentu. Studi fitokimia lanjutan terhadap ekstrak daun sukun ini perlu dilakukan, untuk mendapatkan senyawa kimia yang bersifat aktif farmakologis terhadap bakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan dari fraksi-fraksi ekstrak daun sukun yang aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Pemisahan menggunakan metode kromatografi vakum cair perlu dilakukan karena untuk mengetahui senyawa yang lebih spesifik didalam ekstrak daun sukun.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang akan diteliti adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana cara mengidentifikasi kandungan atau komponen ekstrak daun sukun?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri dari senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun sukun?
3. Bagaimana cara menganalisis fraksi dari ekstrak daun sukun menggunakan HPLC?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rincian masalah diatas, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi kandungan atau komponen ekstrak daun sukun.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri dari senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun sukun.
3. Menganalisis fraksi dari ekstrak daun sukun menggunakan HPLC.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian sebagai berikut:

1. Memperoleh komponen dalam ekstrak daun sukun yang memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Dapat digunakan sebagai acuan untuk alternatif antibakteri.
3. Memberi informasi dan pengetahuan tentang manfaat daun sukun.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

Sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan suatu jenis tumbuhan yang dapat tumbuh di daerah beriklim basah tropis. Tumbuhan ini merupakan pohon yang dapat mencapai tinggi sekitar 30 meter, dimana tumbuhan ini biasanya menghasilkan buah dan bunga dua tahun sekali. Daun sukun merupakan sebuah tanaman yang berukuran sangat lebar berbulu kasar, daunnya tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh serta memiliki panjang 50-70 cm, lebar 25-30 cm. Daun sukun memiliki nama ilmiah lain seperti *Artocarpus communis* Forst, *Artocarpus communis* dan *Artocarpus incisa* L. f (Utami dkk, 2015).

Artocarpus altilis tumbuh di kawasan Asia Tenggara yang meliputi Indonesia, Malaysia, Singapura, Brunei, Filipina, dan Papua New Guinea (Zerega, 2003). Di masyarakat, tumbuhan *Artocarpus altilis* dimanfaatkan sebagai bahan pangan, bahan bangunan, dan obat tradisional, antara lain sebagai obat malaria, disentri, dan penyakit kulit. Hal ini dikarenakan sifat antibakteri dari bahan alami berupa senyawa metabolit sekunder pada golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Hermawan dkk, 2007). Ekstrak dari sukun ini juga telah dibuktikan mempunyai aktivitas terhadap sel tumor P388 (Erwin, 2001). Kegunaan tersebut berkaitan dengan bahan-bahan kimia yang dikandungnya

sehingga spesies *Artocarpus* termasuk tanaman *Moraceae* yang sangat menarik untuk diteliti kandungan kimianya.

Tanaman sukun banyak dibudidaya untuk diambil buahnya dan dijadikan sebagai bahan makanan (Ragone, 1997; Anonim, 2013). Daun sukun merupakan tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat, dibuktikan dengan riset yang dilakukan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Daun sukun sangat berguna bagi proses penyembuhan penyakit kardiovaskuler, antidiabetes, antimikroba, antikanker, antiinflamasi, dan memperlancar buang air kecil (Abdassah, 2009).

Ekstrak metanol daun sukun memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Selain itu daun sukun mempunyai kandungan kimia antara lain saponin, polifenol, tanin, asam hidrosianat, asetilkolin, riboflavin, flavonoid (Anonim, 2012).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa aktivitas ekstrak etanol daun sukun mampu menghambat perkembangbiakan bakteri dan jamur. Ekstrak etanol daun sukun dapat sebanding dengan antibiotik tetrasiklin dan antibiotik ketokonazol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan jamur *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*. Daya hambat daun sukun terhadap bakteri *Escherichia coli*, 791 lebih tinggi daripada antibiotik tetrasiklin. Selain itu, daya hambat ekstrak daun sukun terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, 889 lebih besar daripada tetrasiklin. Ekstrak daun sukun juga menghambat perkembangan *Candida albicans* (penyebab sariawan), 405 lebih tinggi daripada antibiotik ketokonazol (Sulistyaningsih, 2009).

Dalam penelitian yang telah dilakukan Sulistyaningsih dan kawan-kawan (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sukun efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* serta Jamur *Candida albicans* dan *Microsporum gypsiun*. Aktivitas ekstrak etanol daun sukun dapat sebanding dengan aktivitas antibiotik tetrasiklin dan antibiotik ketokonazol terhadap bakteri dan jamur tersebut.

Menurut Rani (2014) ekstrak etanol dan metanol daun sukun pada konsentrasi 2000 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka kandungan senyawa antibakteri juga akan semakin banyak sehingga semakin luas pula zona bening yang dihasilkan. Sedangkan menurut Suryani (2014) ekstrak daun sukun efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam pengujian antibakteri adalah metode *cup plate technique* dengan media BHI (*Brain Heart Infussion*) dan MH (*Mueller Hinton*). Hasil rata-rata zona hambat dari tiap konsentrasi disajikan pada tabel dibawah.

Tabel 1. Rata-rata zona hambat ekstrak daun sukun terhadap bakteri *E.coli*

Konsentrasi (%)	Rata-rata zona hambat (mm)
100	36,67
90	35,00
80	31,00
70	28,67
60	22,33

Penelusuran senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak sukun dilakukan secara fraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum dan KLT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi non polar memiliki aktivitas terhadap

C. albicans dan fraksi polar memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri MRSA (*Meticillin Resistant Staphylococcus aureus*) yang merupakan bakteri gram positif dan PaMR (*Pseudomonas aureginosa Staphylococcus Multi Resistant*) yang merupakan bakteri gram negatif (Rostinawati dkk, 2009).

Dalam penelitian yang telah dilakukan Asha dan Ben (2014) menyatakan bahwa tanaman jenis *Artocarpus* (*A. heterophyllus*, *A. hirsutus* dan *A. altilis*) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dimana ekstrak didapat dengan menggunakan pelarut aseton, air terdistilasi, etanol, kloroform, petroleum eter dan benzena. Ekstrak dari etanol menunjukkan aktivitas yang paling tinggi kepada bakteri *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhose* dan *Escherichia coli*.

Hasil skrinning fitokimia simplisia daun sukun menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, dan polifenol. Flavonoid, tanin saponin, steroid/triterpenoid, dan polifenol diketahui memiliki aktivitas antimikroba dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda (Murwani dkk, 2014).

Escherichia coli merupakan bakteri flora normal pada usus besar tetapi juga memiliki faktor virulensi ekstra yang membuatnya patogenik. *Escherichia coli* merupakan penyebab diare di Negara berkembang. Mikroorganisme ini menyebabkan sampai 25% kasus penyakit diare pada bayi dan anak-anak. Diare merupakan keadaan Buang Air Besar (BAB) lebih dari tiga kali dalam sehari dengan konsistensi encer (Puspitasari, 2006). Penularan penyakit diare ini terjadi karena makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh bakteri seperti *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* masuk kedalam tubuh melalui

pangan dan dapat berkembang biak di dalam saluran pencernaan dan menimbulkan gejala sakit perut, diare, muntah, mual, dan gejala lain (Kusuma, 2011). Pengobatan penyakit diare dapat diobati dengan antibiotik. Antibiotik yang sering digunakan adalah ampisillin atau kloramfenikol karena antibiotik ini termasuk dalam antibiotik yang spektrumnya luas. Namun, ada beberapa antibiotika merupakan senyawa sintetis (tidak dihasilkan oleh mikroorganisme) yang juga dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antibiotik sintetis memiliki banyak manfaat, tetapi penggunaannya telah berkontribusi terhadap terjadinya resistensi. Efek samping dari antibiotik sintetis terhadap tubuh diantaranya seperti reaksi alergi, mulai dari yang ringan seperti ruam, gatal sampai pembengkakan bibir dan kelopak mata (Haryanto dan Nugroho, 2006).

Dalam penelitian kali ini, daun sukun (*Artocarpus altilis*) diekstrak dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil maserat yang didapat kemudian dipisahkan antara senyawa polar dan non-polar dengan ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana. Setelah didapatkan dua ekstrak, masing-masing dari ekstrak tersebut difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) agar senyawa-senyawa di dalam daun sukun terpisah berdasarkan kepolarannya. Pelarut yang digunakan pada kromatografi cair vakum (KCV) adalah n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol. Fraksi-fraksi yang didapat kemudian diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi agar. Media yang digunakan adalah

Nutrien Agar dan *Nutrien Broth* dengan kontrol positif berupa amoksisilin dan kontrol negatif berupa DMSO.

2.2 Hipotesis

1. Hipotesis 1

Jika ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) dianalisis pemisahan senyawa dengan metode kromatografi vakum cair (KCV) maka akan diketahui kandungan atau komponen ekstrak dan sukun.

2. Hipotesis 2

Jika ekstrak dan fraksi daun sukun mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin, hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* akan lebih efektif dibandingkan dengan standar kuersetin yang merupakan jenis flavonoid.

3. Hipotesis 3

Jika fraksi yang aktif sebagai antibakteri dianalisis dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan standar kuersetin, maka kemungkinan fraksi akan mengandung senyawa flavonoid.

BAB III

DASAR TEORI

3.1 Sukun (*Artocarpus altilis*)

Sukun tergolong tanaman tropik sejati, tumbuh yang paling baik di daratan rendah yang panas. Tanaman sukun, *Artocarpus altilis* dapat digolongkan menjadi sukun yang berbiji disebut *breadnut* dan yang tanpa biji disebut *breadfruit*. Tanaman ini tumbuh baik juga di daerah basah, tetapi juga dapat tumbuh di daerah yang sangat kering asalkan ada air tanah dan aerasi tanah yang cukup. Sukun bahkan dapat tumbuh baik di pulau karang dan di pantai. Pada saat musim kering, di saat tanaman lain produksinya merosot, sukun justru dapat berbuah dengan lebat. Sukun di Indonesia tersebar di Sumatera, Pulau Jawa, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi, Maluku dan Papua (Adinugraha, 2011).

Melihat penyebaran tanaman sukun yang terdapat di sebagian besar kepulauan Indonesia, serta jarang terserang hamadan penyakit membahayakan, maka hal ini memungkinkan tanaman sukun untuk dikembangkan. Beberapa sinonim sukun adalah *Artocarpus communis*, *Artocarpus communis* Forst, *Artocarpus incisa* L. F: *A. Altilis* (Park.) Fosberg (Sikarwar, 2014).

3.1.1 Taksonomi dan morfologi tumbuhan

Pohon sukun (*Artocarpus altilis*) adalah tumbuhan jenis nangka, dengan pohon yang relatif besar, dengan tinggi mencapai kurang lebih 30 meter.

Klasifikasi pohon sukun sebagai berikut (Utami, 2015):

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)
Sub divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Bangsa	: <i>Urticales</i>
Suku	: <i>Moraceae</i>
Marga	: <i>Artocarpus</i>
Jenis	: <i>Artocarpus altilis</i>



Gambar 1. Daun sukun (*Artocarpus altilis*)

Sukun tergolong tumbuhan tropis, mampu beradaptasi dengan lingkungan dan dapat tumbuh subur di daerah yang memiliki ketinggian tempat antara 0 – 100 m dari permukaan laut (Triwiyatno, 2003).

a. Habitat

Pohon tinggi mencapai 30 meter, dengan stek umumnya pendek dan bercabang rendah. Buah yang tidak bermusim, namun mengalami puncak pengeluaran buah dan bunganya dua tahun sekali.

b. Batang

Batangnya besar, agak lunak dan bergetah banyak. Bercabang banyak, pertumbuhan cenderung ke atas. Permukaan kasar, coklat, tingginya mencapai 20 meter. Kayunya lunak dan kulit kayu sedikit kasar.

c. Daun

Daunnya lebar sekali, bercabang menjari dan berbulu kasar. Tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip tebal, permukaan kasar hijau.

d. Bunga

Bunga-bunga sukun berkelamin tunggal (bunga betina dan bunga jantan terpisah), tetapi berumah satu. Bunganya keluar dari ketiak daun pada ujung cabang dan ranting. Bunga jantan berbentuk tongkat panjang disebut ontel, panjang 10-20 cm berwarna kuning. Bunga betina berbentuk bulat bertangkai pendek (babal) seperti pada nangka. Kulit buah menonjol rata sehingga tampak tidak jelas yang merupakan bekas putik dari bunga sinkarpik.

e. Buah dan Biji

Buah sukun terbentuk dari keseluruhan jambak bunganya. Buahnya terbentuk bulat atau sedikit bujur. Ukuran garis pusatnya ialah diantara 10 hingga 30 cm. Berat normal buah sukun ialah 1 hingga 3 kg, mempunyai

kulit yang berwarna hijau kekuningan dan terdapat segmen-segmen petak berbentuk poligonal pada kulitnya. Segmen poligonal ini dapat menentukan tahap kematangan buah sukun. Poligonal yang lebih besar menandakan buahnya telah matang manakala buah yang belum matang mempunyai segmen-segmen poligonal yang lebih kecil dan lebih padat buah-buah sukun mirip dengan buah keluwih (timbul). Perbedaannya adalah duri buah sukun tumpul, bahkan tidak tampak pada permukaan buahnya. Biji berbentuk ginjal, panjang 3-5 cm, berwarna hitam.

f. Akar

Akar tanaman sukun mempunyai akar tunggang yang dalam dan akar samping yang dangkal. Akar samping dapat tumbuh tunas yang sering digunakan untuk bibit (Ramadhani, 2009).

Daun sukun memiliki senyawa aktif berupa saponin, asam hidrosianat, polifenol, asetilkolin, riboflavin, fenol dan senyawa tanin. Selain kandungan tersebut di atas, tanaman ini juga mengandung kuersetin, *champorol*, dan artoindonesianin yang merupakan kelompok flavonoid (Utami, 2015). Menurut Shabella (2012) senyawa kimia yang terkandung dalam daun sukun antara lain flavonoid, fenol, riboflavin, tanin, asetilkolin (Ach), kalium. Sedangkan menurut Murwani dkk (2014) kandungan aktif dalam daun sukun antara lain flavonoid, tanin, saponin dan kuinon. Aktivitas antimikroba senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri.

3.1.2 Khasiat tumbuhan

Bunga jantan tumbuhan sukun berkhasiat sebagai obat sakit gigi dan daunnya untuk mengobati penyakit seperti liver, jantung, ginjal, diabetes, hipertensi, pembengkakan limpa dan gatal-gatal (Anonim, 2010; Depkes RI, 1997). Sebelumnya, penggunaan daun sukun sebagai obat lebih banyak diterapkan secara tradisional untuk mengobati liver, jantung, ginjal, limfa, gatal-gatal, sakit gigi, dan radang atau inflamasi (Anonim, 2013). Ada juga yang memanfaatkan batangnya untuk obat mencairkan darah bagi wanita yang baru 8-10 hari melahirkan. Zat-zat yang terkandung di daunnya pun juga bisa mampu untuk mengatasi peradangan. Kandungan flavonoid juga terbukti sebagai antiinflamasi, antiaterosklerosis dan platelet. Daun sukun juga terbukti secara ilmiah melindungi jantung (Sikarwar dkk, 2014).

Tanaman sukun merupakan tanaman yang keberadaannya sangat banyak di Indonesia namun pemanfaatannya kurang optimal. Daun sukun banyak dimanfaatkan untuk mengobati penyakit liver, hepatitis, sakit gigi, pembesaran limpa, jantung, ginjal dan penyakit kulit seperti gatal dan infeksi kulit (Rani dkk, 2014).

3.2 Ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Ekstraksi adalah pemisahan beberapa bagian dari senyawa aktif yang berasal dari jaringan tumbuhan (dan hewan) dengan menggunakan pelarut selektif berdasarkan prosedur standar (Tiwari dkk, 2011). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum

memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Sarker dkk, 2006):

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Menurut Mukhriani (2014) proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut.
3. Pelarut polar : air, etanol, metanol, dan sebagainya.
4. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut nonpolar: n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya.

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan flavonoida, minyak atsiri, alkaloida dan lain-lain. Senyawa aktif yang diketahui terkandung dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Cara ekstraksi yang tepat tergantung pada tumbuhan yang diekstraksi dan jenis senyawa yang diisolasi (Dirjen POM, 2000).

Ekstrak adalah hasil dari proses ekstraksi yang mengandung zat aktif dari simplisia nabati ataupun hewani dengan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir pelarut diuapkan hingga titik didih pelarut tersebut.

3.2.1 Jenis Ekstraksi

Berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi, dapat dibedakan dua macam ekstraksi yaitu:

1. Ekstraksi padat-cair : jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat. Proses ini paling banyak ditemui di dalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam.

Prinsip ekstraksi padat-cair adalah adanya kemampuan senyawa dalam suatu matriks yang kompleks dari suatu padatan, yang dapat larut oleh suatu pelarut tertentu (Fajrianti dkk, 2011).

Faktor- faktor yang berpengaruh pada proses ini adalah: jumlah konstituen (*solute*) dan distribusinya dalam padatan, sifat padatan, dan ukuran partikel. Mekanisme proses ekstraksi padat-cair dimulai dari perpindahan solven dari larutan ke permukaan solid (adsorpsi), diikuti dengan difusi solven ke dalam solid dan pelarutan solut oleh solven, kemudian difusi ikatan solut-solven ke permukaan solid, dan desorpsi campuran solven-solven dari permukaan solid ke dalam badan pelarut pada umumnya perpindahan solven ke permukaan terjadi sangat cepat dimana berlangsung pada saat terjadi kontak antara solid dan solven, sehingga kecepatan difusi campuran solven-solven ke permukaan solid merupakan tahapan yang mengontrol keseluruhan proses

ekstraksi. Kecepatan difusi ini tergantung pada beberapa faktor yaitu: temperatur, luas permukaan partikel, pelarut, perbandingan solut dan solven, kecepatan dan lama pengadukan (Pramudono dkk, 2008).

Prinsip ekstraksi padat-cair adalah adanya kemampuan senyawa dalam suatu matriks yang kompleks dari suatu padatan, yang dapat larut oleh suatu pelarut tertentu (Fajrianti dkk, 2011)

2. Ekstraksi cair-cair : jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk cair.

Ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan senyawa atas dasar perbedaan kelarutan pada dua jenis pelarut yang berbeda yang tidak saling bercampur (Khamidinal, 2009). Dalam ekstraksi cair-cair, senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar, atau yang biasa disebut *like dissolves like*.

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

Berdasarkan proses pelaksanaannya ekstraksi dapat dibedakan :

1. **Ekstraksi yang berkesinambungan (*Continous Extraction*)** : dalam ekstraksi ini pelarut yang sama dipakai berulang-ulang sampai proses ekstraksi selesai.
2. **Ekstraksi bertahap (*Bath Extraction*)** : dalam ekstraksi ini pada tiap tahap selalu dipakai pelarut yang baru sampai proses ekstraksi selesai.

Sedangkan metode ekstraksi menurut Dirjen POM (2000) ada beberapa cara, yaitu:

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Dirjen POM, 2000).

Prinsip maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya. Pelarut akan masuk ke dalam sel dari tanaman melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel (Suryani, 2014).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut

yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus-menerus sampai ekstrak yang diinginkan habis tersari. Tahap pengembangan bahan dan maserasi antara dilakukan dengan maserasi serbuk menggunakan cairan penyari sekurang-kurangnya 3 jam, hal ini penting terutama untuk serbuk yang keras dan bahan yang mudah mengembang (Dirjen POM, 2000).

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel

dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

3. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dirjen POM, 2000).

Pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Mukhriani, 2014).

4. Sokhletasi

Sokhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode ekstraksi ini untuk bahan yang tahan pemanasan (Dirjen POM, 2000).

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu refluks. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat

terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

5. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu pada temperatur 40-50 °C (Dirjen POM, 2000). Dengan cara ini perolehan bahan aktif agak lebih banyak meskipun pada saat pendinginannya pada suhu kamar bahan ekstraktif dalam skala besar mengendap.

6. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur 96-98 °C) selama 15-20 menit. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman. Oleh sebab itu, sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Dirjen POM, 2000; Syamsuni, 2006).

7. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Dirjen POM, 2000). Menurut Voight (1995) dekok adalah perebusan simplisia halus dicampur dengan air bersuhu kamar atau dengan air bersuhu > 90 °C sambil diaduk berulang-ulang dalam pemanasan air selama 30 menit. Perbedaan dengan infus adalah pada dekok, rebusan disari panas-panas.

3.3 Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fasa, yaitu fasa diam dan fasa gerak (Carolina, 2011). Sedangkan menurut Rubiyanto (2013) kromatografi adalah suatu metode yang khususnya digunakan dalam pemisahan komponen-komponen dalam suatu sampel yang terdistribusi dalam dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dapat berupa padat, cairan yang diletakkan di atas padatan atau gel. Fasa diam dapat dibuat dalam bentuk kolom, disebarkan sebagai suatu lapisan tipis atau didistribusikan sebagai film sedangkan fasa gerak dapat berupa gas atau cairan.

Dua jenis interaksi dasar yang sering diaplikasikan secara umum dalam proses analisis dalam metode kromatografi adalah partisi dan adsorpsi. Partisi merupakan peristiwa yang melibatkan kesetimbangan distribusi senyawa dalam fasa-fasa yang berbeda sehingga akan diperoleh suatu koefisien spesifik berkaitan dengan proses distribusi tersebut. Sedangkan adsorpsi melibatkan kemampuan aktivitas suatu permukaan dalam mengikat suatu senyawa, dalam hal terdapat tolok ukur kekuatan adsorpsi permukaan terhadap komponen tersebut (Rubiyanto, 2013).

3.3.1 Teknik dan prinsip dasar kromatografi

Sesuai definisi kromatografi yaitu pemisahan campuran senyawa dalam suatu sampel berdasarkan perbedaan interaksi sampel dengan fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dapat berupa padatan atau cairan yang diletakkan pada permukaan fasa pendukung. Fasa gerak dapat berupa gas atau cairan. Jenis

interaksi yang ada dalam kromatografi sangatlah bermacam-macam tergantung pada kombinasi fasa diam dan fasa geraknya. Jenis interaksi yang ada dalam pemisahan dengan teknik ini sebagai berikut (Rubiyanto, 2013):

1. Interaksi adsorpsi

Senyawa diserap oleh permukaan padatan dan terjadi keseimbangan jumlah solut dalam fasa diam dan fasa gerak.

2. Interaksi partisi

Lapisan cairan sebagai fasa diam yang diimbangkan pada suatu padatan akan mendistribusikan senyawa yang akan dipisahkan dan membentuk keseimbangan dengan fasa gerak.

3. Interaksi penukaran ion

Senyawa ion dengan muatan berlawanan akan terikat oleh fasa diam melalui gaya elektrostatis.

4. Interaksi molekular eksklusi/ permeasi gel/ gel filtrasi

Teknik pemisahan berdasarkan ukuran molekul. Dalam keadaan ideal, tidak ada keterikatan senyawa pada fasa diam.

5. Interaksi afinitas

Merupakan kromatografi yang menggunakan interaksi spesifik antara molekul jenis tertentu dengan molekul lain yang terikat secara kovalen pada fasa diam.

3.3.2 Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan teknik kromatografi yang berdasar pada prinsip adsorpsi, bedanya dengan kromatografi kolom yaitu konfigurasi KLT yang berbentuk planar (*plate*). Fasa diam berupa padatan yang diaplikasikan

berbentuk datar pada permukaan kaca atau aluminium sebagai penyangganya sedangkan fasa gerak berupa zat cair seperti yang digunakan dalam kromatografi kolom dan kromatografi kertas (Rubiyanto, 2013).

Dalam menentukan harga R_f (*retardation factor*) pada kromatografi lapis tipis, harga R_f dinyatakan sebagai perbandingan jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik awal terhadap jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik awal aplikasi (Rubiyanto, 2013). Dengan suatu rumusan:

$$R_f : \frac{\text{jarak yang digerakkan senyawa}}{\text{jarak yang digerakkan pelarut}}$$

Untuk analisis kualitatif, harga R_f senyawa yang tidak diketahui dibandingkan dengan harga R_f senyawa standarnya digunakan untuk menentukan jenis senyawa yang sedang dianalisis. Beberapa faktor yang mempengaruhi harga R_f adalah (Rubiyanto, 2013):

1. Struktur kimia senyawa yang dipisahkan
2. Sifat dari adsorben dan derajat aktivitasnya
3. Tebal dan kerataan permukaan adsorben
4. Kemurnian pelarut
5. Derajat kejenuhan uap pelarut dalam bejana pengembang
6. Jumlah cuplikan
7. Temperatur

3.3.3 Kromatografi cair vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) merupakan salah satu metode fraksinasi yaitu dengan memisahkan *crude extract* menjadi fraksi-fraksinya yang lebih sederhana. Pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fasa diam dan aliran fasa geraknya dibantu dengan pompa vakum. Fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel atau aluminium oksida (Ghisalberti, 2008). Prinsip dari kromatografi cair vakum hampir sama dengan kromatografi kolom yakni, zat cair sebagai fasa gerak akan membawa cuplikan senyawa mengalir melalui fasa diam sehingga terjadi interaksi berupa adsorpsi senyawa-senyawa tersebut oleh padatan dalam kolom (Rubiyanto, 2013).

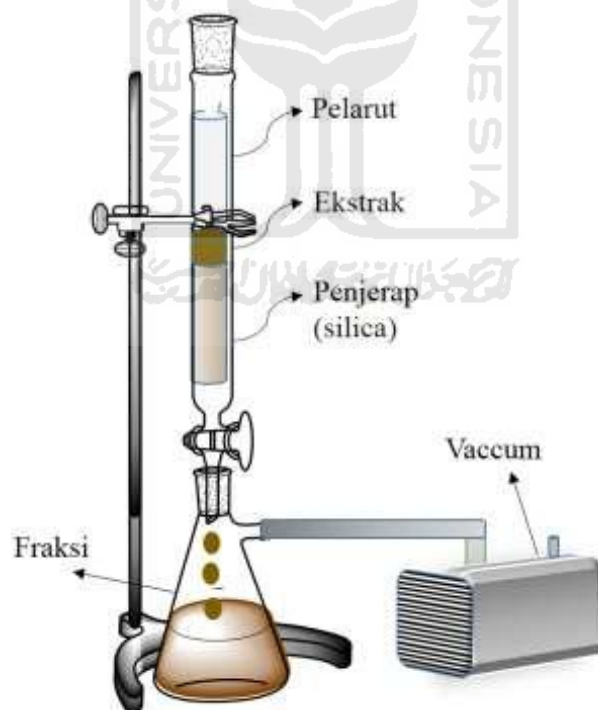
Kromatografi kolom cair dapat dilakukan pada tekanan atmosfer atau pada tekanan lebih besar dari atmosfer dengan menggunakan bantuan tekanan luar misalnya gas nitrogen. Untuk keberhasilan di dalam bekerja dengan menggunakan kromatografi kolom vakum cair, oleh karena itu syarat utama adalah mengetahui gambaran pemisahan cuplikan pada kromatografi lapis tipis.

Kromatografi vakum cair dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar dengan menggunakan silika gel sebagai adsorben dan berbagai perbandingan pelarut dan menggunakan pompa vakum (penarik udara) untuk memudahkan penarikan eluen. Metode ini dapat digunakan untuk memurnikan fraksi dan lebih efektif serta efisien dalam pemisahan dibandingkan dengan kromatografi kolom gravitasi (Pamudono dkk, 2008).

Kolom yang digunakan dalam kromatografi vakum cair disiapkan dalam keadaan kering. Sampel dituangkan ke dalam kolom setelah dituangkan adsorben

kemudian dihisap secara perlahan dengan vakum. Elusi dilakukan dengan penuangan pelarut dalam kolom diawali dari pelarut yang paling non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara perlahan. Setelah pelarut dituang, kolom dihisap dengan vakum hingga kering untuk setiap pengumpulan fraksi (Anggraeni, 2016).

Kelebihan dari kromatografi vakum cair dibandingkan dengan kromatografi kolom biasa yaitu jumlah fraksi yang didapatkan lebih besar. Pemisahan dengan metode ini biasanya merupakan langkah awal untuk memisahkan dari ekstrak kasar yang diperoleh dari proses ekstraksi (Septyaningsih, 2010).



Gambar 2. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Fasa diam yang digunakan dikemas dalam kolom yang digunakan dalam KCV. Proses penyiapan fasa diam dalam kolom terbagi menjadi dua macam, yaitu:

1. Cara basah

Preparasi fasa diam dengan cara basah dilakukan dengan melarutkan fasa diam dalam fasa gerak yang akan digunakan. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan dibuat merata. Fasa gerak dibiarkan mengalir hingga terbentuk lapisan fasa diam yang tetap dan rata, kemudian aliran dihentikan (Sarker dkk, 2006).

2. Cara kering

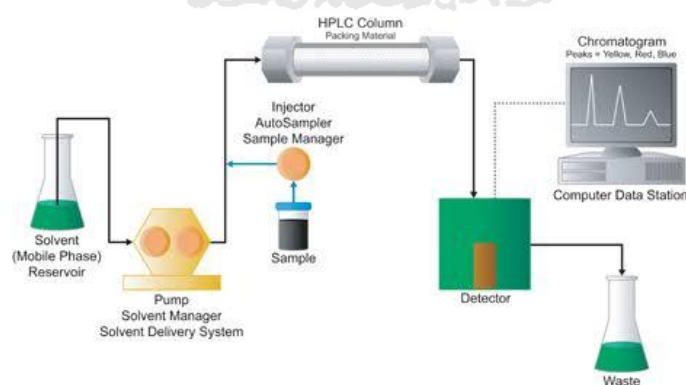
Preparasi fasa diam dengan cara kering dilakukan dengan cara memasukkan fasa diam yang digunakan ke dalam kolom kromatografi. Fasa diam tersebut selanjutnya dibasahi dengan pelarut yang akan digunakan (Sarker dkk, 2006).

Preparasi sampel saat akan dielusi dengan KCV juga memiliki berbagai metode seperti preparasi fasa diam. Metode tersebut yaitu cara basah dan cara kering. Preparasi sampel cara basah dilakukan dengan melarutkan sampel dalam pelarut yang akan digunakan sebagai fasa gerak dalam KCV. Larutan dimasukkan dalam kolom kromatografi yang telah terisi fasa diam. Bagian atas dari sampel ditutupi kembali dengan fasa diam yang sama. Sedangkan cara kering dilakukan dengan mencampurkan sampel dengan sebagian kecil fasa diam yang akan digunakan hingga terbentuk serbuk. Campuran tersebut diletakkan

dalam kolom yang telah terisi dengan fasa diam dan ditutup kembali dengan fasa diam yang sama (Sarker dkk, 2006).

3.3.4 *High performance Liquid Chromatography (HPLC)*

HPLC merupakan salah satu teknik kromatografi cair yang digunakan secara luas. Prinsipnya komponen-komponen yang berbeda di dalam campuran melewati kolom dengan laju yang berbeda tergantung pada kemampuan partisipasinya antara fasa diam dan gerakannya. Menurut Hendayana (2006) prinsip kerja HPLC adalah sebagai berikut: dengan bantuan pompa fasa gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran. Karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut dengan fasa diam. Solut-solut yang kurang kuat interaksinya dengan fasa diam akan keluar dari kolom terlebih dahulu. Sebaliknya, solut-solut yang kuat berinteraksi dengan fasa diam maka solut-solut tersebut akan keluar dari kolom lebih lama.



Gambar 3. Bagan HPLC

Fasa gerak yang digunakan adalah cairan, sehingga sampel yang akan dianalisis dengan HPLC harus cair atau bahan yang bisa dilarutkan. Terdapat dua

jenis elusi dalam HPLC yaitu: isokratik dan gradien. Isokratik berarti eluen/solven dengan komposisi konstan dipompakan ke dalam kolom selama analisis berlangsung. Jadi selama proses pemisahan, komposisi solven tidak berubah. Sedangkan gradien berarti komposisi dan kekuatan eluen berubah secara bertahap selama analisis berlangsung (Rubiyanto, 2013).

Bagian – bagian penting dalam peralatan HPLC antara lain (Rubiyanto, 2013):

1. Tempat solven

Solven yang digunakan dalam HPLC berfungsi sebagai pengelusi sekaligus *carrier* dari komponen yang akan dipisahkan.

2. Pompa

Pompa merupakan sistem pengaliran fasa gerak (solven) yang mendorong solven untuk melewati instrumen dengan kecepatan alir yang konstan (0,1-2 mL/menit).

3. Tempat memasukkan sampel (injektor manual maupun autosampler)

Fungsi sama dengan injektor pada GC namun tidak terjadi perubahan fasa karena semua sampel yang dianalisis dengan HPLC harus berwujud cair.

4. Kolom

Merupakan bagian dimana diletakkan fasa diam. Umumnya kolom HPLC berbentuk lurus, tidak bervariasi karena sistem penggerak solven akan menghasilkan tekanan yang konstan bila jalur yang dilewati solven lurus. Kolom pemisah yang digunakan pada HPLC umumnya memiliki panjang 10, 15 dan 25 cm serta diisi dengan partikel yang sangat kecil dengan diameter 3, 5 atau 10 μm . Diameter internal dari kolom biasanya 4 hingga 4,6

mm, ini didasarkan pada kondisi paling tepat untuk kapasitas sampel, penggunaan fase gerak, kecepatan dan resolusinya.

5. Detektor

Berfungsi mendeteksi, mengidentifikasi dan melaporkan ke bagian rekorder senyawa-senyawa yang terpisah dari kolom. Jenis detektor sangat beragam dan sebagian besar bergantung pada sifat-sifat dari sampel baik sifat individual maupun sifat kumpulan.

6. Penampung sisa solven

Merupakan tempat untuk menampung kembali solven yang telah digunakan.

7. Sistem pencatat

Sistem pencatat dilengkapi dengan sistem data untuk mengontrol, menyimpan, memproses, dan menampilkan data. Menampilkan hasil pemisahan dalam bentuk grafik atau diagram.

Jenis-jenis HPLC berdasarkan sifat-sifat fasa diam dan proses pemisahannya yaitu (Rubiyanto, 2013):

1. Kromatografi adsorpsi

Dalam jenis ini, adsorben adalah padatan silika gel dan pemisahan berlangsung melalui berulangnya langkah secara adsorpsi-desorpsi.

2. *Ion-exchange chromatography*

Merupakan jenis HPLC dimana fasa diam memiliki permukaan yang bersifat ionik yang berlawanan muatan dengan muatan ion sampel.

3. *Size exclusion chromatography*

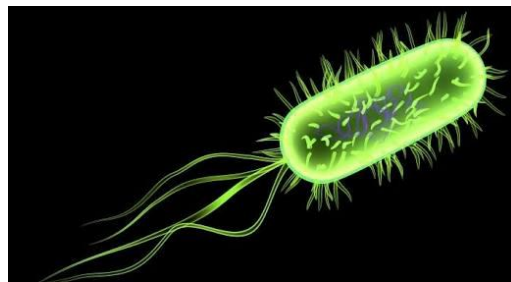
Merupakan jenis HPLC dimana kolom diisi dengan material yang mempunyai ukuran pori yang terkontrol secara cermat.

Sedangkan dari tinjauan kepolaran fasa diam dan fasa gerak, HPLC dapat digolongkan menjadi (Rubiyanto, 2013):

1. Fasa normal (*normal phase*) dimana fasa diam yang digunakan bersifat polar (seperti silika gel) dan fasa geraknya bersifat non polar/lipofil (seperti n-heksan).
2. Fasa terbalik (*reversed phase*) dimana fase diam non polar dan fasa gerak bersifat polar/hidrofil.

3.4 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli, yaitu bakteri anaerob fakultatif gram negatif berbentuk batang yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini merupakan penghuni normal usus, selain berkembang biak di lingkungan sekitar manusia, pertama dijumpai pada tahun 1885 (Arisman, 2009).



Gambar 4. Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli, atau biasa disingkat *E. coli*, adalah salah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif. Pada umumnya, bakteri yang ditemukan oleh Theodor Escherich ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia. Kebanyakan *E.*

Coli tidak berbahaya, tetapi beberapa, seperti *E. Coli* tipe O157:H7, dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang dihasilkan bernama verotoksin. Toksin ini bekerja dengan cara menghilangkan satu basa adenin dari unit 28S rRNA, sehingga menghentikan sintesis protein. Sumber bakteri ini contohnya adalah daging yang belum masak, seperti daging hamburger yang belum matang (Levinson, 2008).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek (kokobasil) yang memiliki ukuran sekitar $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$, dengan diameter $0,7 \mu\text{m}$ dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz dkk, 2001).

Kingdom : *bacteria*

Filum : *proteobacteria*

Kelas : *gammaproteobacteria*

Ordo : *eubacteriales*

Family : *enterobacteriaceae*

Genus : *eschericia*

Spesies : *E. coli* (Levinson, W. 2008)

Escherichia coli secara alami hidup dalam saluran pencernaan tetapi spesies tertentu dapat menyebabkan diare berdarah, diare seperti air atau diare peradangan (Tjay dan Raharja, 2007). Menurut Kusuma (2014) penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* yaitu :

1. Infeksi saluran kemih
2. Diare
3. Sepsis
4. Meningitis

3.5 Antibakteri

Antibakteri adalah agen kimia yang mampu menginaktivasi bakteri. Inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) bahkan bersifat membunuh bakteri (bakterisida) (Brock dkk, 1994). Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Mukti, 2012). Dalam penggolongannya antibakteri dikenal dengan antiseptik dan antibiotik. Berbeda dengan antibiotik yang tidak merugikan sel-sel jaringan manusia, daya kerja antiseptik tidak membedakan antara mikroorganisme dan jaringan tubuh. Namun pada dosis normal praktis tidak bersifat merangsang kulit.

Antibiotik adalah obat yang mengandung segolongan senyawa, baik alami maupun buatan, yang dimaksudkan untuk menekan atau menghentikan proses biokimia di dalam tubuh bakteri. Obat ini bisa digunakan untuk menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh kuman berupa bakteri (Utami, 2012).

3.5.1 Jenis antibiotik

Menurut Tjay dan Raharja (2007), secara umum antibiotik dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

1. Berdasarkan struktur kimia antibiotik

- a. Golongan Beta-Laktam, antara lain golongan sefalosporin, golongan monosiklik dan golongan penisilin. Penisilin adalah suatu agen antibakterial alami yang dihasilkan dari jamur jenis *Penicillium chrysognum*.
- b. Golongan aminoglikosida, spektrum kerjanya luas dan meliputi terutama banyak bacili gram negatif. Aktivitasnya adalah bakterisida, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom di dalam sel.
- c. Golongan tetrasiklin, aktivitasnya bakteriostatik dengan mekanisme kerja berdasarkan diganggunya sintesa protein kuman. Spektrum antibakterinya luas dan meliputi banyak gram positif dan gram negatif.
- d. Golongan makrolida, bekerja bakteriostatik terhadap terutama bakteri gram positif dan spektrum kerjanya mirip Penisilin-G. Mekanisme kerjanya melalui pengikatan reversibel pada ribosom kuman, sehingga sintesa proteinnya dirintangi.
- e. Golongan linkomisin, aktivitasnya bakteriostatik dengan spektrum kerja lebih sempit dari makrolida, terutama terhadap kuman gram positif dan anaerob. Golongan ini hanya digunakan apabila terdapat resistensi terhadap antibiotika lain.

- f. Golongan kuinon, aktivitasnya baktersida pada fase pertumbuhan kuman, berdasarkan inhibisi terhadap DNA kuman. Golongan ini hanya dapat digunakan pada infeksi saluran kemih tanpa komplikasi.
- g. Golongan kloramfenikol, aktivitasnya bakteriostatik terhadap hampir semua kuman gram positif dan gram negatif. Berspektrum luas dan mekanisme kerjanya berdasarkan perintang sintesa polipeptida kuman.

2. Berdasarkan mekanisme kerja.

- a. Inhibitor sintesis dinding sel bakteri memiliki efek bakterisida dengan cara memecah enzim dinding sel dan menghambat enzim dalam sintesis dinding sel.
- b. Inhibitor sintesis protein bakteri memiliki efek bakterisida atau bakteriostatik dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal dan menghambat tahap-tahap sintesis protein.
- c. Mengubah permeabilitas membran sel memiliki efek bakteriostatik dengan menghilangkan permeabilitas membran dan oleh karena hilangnya substansi seluler menyebabkan sel menjadi lisis.
- d. Menghambat sintesa folat mekanisme kerja ini terdapat pada obat-obat seperti sulfonamida dan trimetropin.
- e. Mengganggu sintesis DNA girase yang terdapat pada bakteri sehingga menghambat replikasi DNA.

3. Berdasarkan daya kerja.

- a. Bakteriostatik, yaitu menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri.
- b. Bakterisida, yaitu membunuh bakteri secara langsung.

4. Berdasarkan spektrum kerja.

- a. Spektrum sempit, bekerja terhadap beberapa jenis bakteri saja.
- b. Spektrum luas, bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur.

3.5.2 Metode Pengujian Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode delusi (Pratiwi, 2008), yaitu:

A. Metode Difusi

1. Metode *disc diffusion* (tes Kirby dan Bauer)

Metode *disc diffusion* menggunakan cakram yang berfungsi sebagai tempat menentukan agen antimikroba. Cakram yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar. Menurut Kirby dan Bauer terdapat dua macam zona hambat yang terbentuk.

a. Zona radikal

Zona radikal merupakan daerah yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri di sekeliling *disc*. Aktivitas antibakteri dapat diukur pada diameter zona radikal.

b. Zona irradikal

Zona irradikal merupakan daerah yang terdapat pertumbuhan bakteri di sekeliling *disc*, dan dapat dihambat oleh antibakteri tetapi tidak mematikan bakteri.

Uji *disc diffusion* dilakukan dengan mengukur diameter clear zone (zona bersih yang tidak memperlihatkan pertumbuhan bakteri di sekeliling senyawa antibakteri) pada permukaan media agar dengan menggunakan penggaris. Keadaan ini merupakan indikasi adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroorganisme.

2. *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengukur kadar hambat minimum, merupakan konsentrasi minimal agen antibakteri dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah hingga tertinggi yang diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Hasilnya dengan mengamati area jernih yang menunjukkan agen antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme di media agar.

3. *Ditch-plate technique*

Metode ini menggunakan agen antibakteri pada parit yang telah dipotong dalam media agar di cawan petri pada bagian tengahnya secara membujur. Bakteri yang diuji digoreskan ke dalam parit yang telah berisi antibakteri.

4. *Cup-plate technique*

Metode ini prinsipnya sama dengan metode *disc diffusion*, media agar yang telah ditanami bakteri akan dibuat sumur yang akan diisi oleh agen antibakteri.

5. *Gradient-plate technique*

Metode ini menggunakan beberapa konsentrasi antibakteri di media agar yang dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campurannya dituang ke dalam cawan petri dalam posisi miring. Bakteri uji digoreskan dari konsentrasi tinggi ke rendah, hasilnya dihitung dari panjang total pertumbuhan bakteri maksimum dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

B. Metode Delusi

1. Metode delusi cair

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) dari bahan antibakteri uji terhadap bakteri uji. Caranya dengan mengencerkan bahan bakteri uji pada medium cair sampai diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan bakteri uji.

2. Metode delusi padat

Metode ini sama dengan metode dilusi cair, tetapi menggunakan media padat. Kelebihannya pada metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat menguji beberapa bakteri lain.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Alat gelas, *rotary evaporator*, kromatografi cair vakum (KCV), plat KLT, autoklaf, LAF (*Laminar Air Flow*), mikropipet, pinset, *microwave*, ose bulat, *vacuum*, oven, statif dan klem, lampu UV_{254} , neraca analitik, jangka sorong, *blue tip*, *yellow tip*, *sprider*, korek api, gunting, lemari asam, *aluminium foil*, dan *plastic wrap*.

4.1.2 Bahan

Daun sukun segar 201 g, bakteri *E.coli*, *nutrien* agar, *nutrien broth*, amoksisilin, DMSO, NaCl, silika gel, etanol 96%, metanol, n-heksana, kloroform, etil asetat, akuades, larutan standar *Mc Farland*.

4.2 Sampel yang Digunakan

Sampel yang digunakan yaitu daun sukun (*Artocarpus altilis*) yang diperoleh dari daerah Condong Catur, Depok, Sleman.

4.3 Cara kerja

4.3.1 Maserasi daun sukun

Daun sukun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sukun segar yang masih berwarna hijau. Daun sukun lalu dipotong dan kemudian dihaluskan dengan blender hingga serbuk kasar. Sampel daun ditimbang dengan neraca

analitik sebanyak 201 gram dan kemudian dimaserasi dengan merendam sampel daun didalam gelas beker 1000 mL dan dituang etanol teknis 96% hingga semua sampel terendam (750 mL) dan ditutup dengan aluminium foil. Maserasi dilakukan selama 4 hari.

4.3.2 Ekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah

Maserat daun sukun disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diuapkan pelarutnya dengan evaporator pada suhu 85 °C dan kecepatan 90 rpm. Setelah maserat dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak berwarna hijau kecoklatan sebanyak 50 mL. Ekstrak kemudian diekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana sebanyak 100 mL (25 mL x 4). Ekstraksi pertama, ekstrak sebanyak 50 mL diekstraksi cair-cair dengan 25 mL n-heksana. Lapisan bawah yang merupakan pelarut n-heksana kemudian ditampung dan lapisan atas diekstraksi kembali dengan 25 mL n-heksana. Ekstraksi dilakukan sampai 4 kali sehingga didapatkan dua ekstrak. Kedua ekstrak disimpan dalam gelas beker yang telah ditutup dengan *plastic wrap*.

4.3.3 Fraksinasi KCV ekstrak B

Ekstrak B diuapkan karena masih mengandung pelarut n-heksana, sehingga didapat ekstrak kental berwarna hijau kehitaman. Ekstrak kental B kemudian difraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum dan menggunakan 5 pelarut yang berbeda kepolaran (n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol, metanol). Kolom kromatografi disiapkan dengan erlenmeyer hisap sebagai penampung yang terhubung dengan selang pompa vakum. Silika gel kemudian

dimasukkan pada kolom sebanyak 9 g, kemudian dituang pelarut n-heksana sampai semua silika tercampur dengan pelarut. Pada KCV ini, dituang n-heksana dahulu karena yang kepolarannya rendah, lalu setelah itu kloroform, etil asetat, etanol dan metanol. Setelah silika bercampur dengan pelarut kemudian dituang ekstrak kental B dan dituang kembali pelarut. Fraksi n-heksana yang terpisah lalu ditampung di dalam vial, fraksinasi dihentikan saat silika sudah tidak terdapat warna. Setelah fraksi n-heksana ditampung, dituang pelarut kloroform ke dalam kolom, fraksinasi dilakukan sampai silika tidak terdapat warna, begitu seterusnya sampai pada pelarut etil asetat, etanol dan metanol. Pada akhir kromatografi cair vakum, didapat 5 fraksi yakni, fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, fraksi etanol dan fraksi metanol.

4.3.4 Penentuan perbandingan pelarut dengan KLT

Ekstrak A dievaporasi dengan suhu 83 °C dan kecepatan 90 rpm sehingga didapat ekstrak pekat berwarna coklat tua sebanyak ± 15 mL. Pada penentuan perbandingan pelarut dengan kromatografi lapis tipis ini, plat KLT dipotong dengan ukuran 1x7 cm dan kemudian diberi tanda batas atas dan bawah masing-masing 1 cm. Ekstrak pekat A kemudian ditotolkan pada plat lalu plat diletakkan dalam gelas beker 250 mL yang berisi fase gerak dengan pelarut campuran (n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol), KLT berlangsung sampai sampel yang ditotolkan memisah dan tidak terbentuk *tailing*. Proses KLT dilakukan dengan mencoba perbandingan diantara 5 pelarut tersebut sampai sampel yang ditotolkan tidak *tailing*. Hasil perbandingan yang didapat digunakan untuk fraksinasi ekstrak pekat A dengan KCV.

4.3.5 Fraksinasi KCV ekstrak pekat A dengan perbandingan pelarut

Bubuk silika ditimbang sebanyak 18 g lalu dimasukkan ke dalam kolom dengan erlenmeyer hisap sebagai penampung yang terhubung dengan selang pompa vakum. Pelarut (n-heksana : kloroform : etil setat : etanol : metanol) dengan perbandingan 1:1:3:5:5 yang didapat dari penentuan perbandingan pelarut dengan KLT, dituangkan ke dalam kolom sehingga semua silika bercampur dengan pelarut. Ekstrak pekat A sebanyak ± 15 mL kemudian dituang ke dalam kolom sambil divakum, apabila silika mulai mengering, pelarut ditambahkan kembali. Fraksi yang terbentuk ditampung ke dalam vial berdasarkan warna yang terpisah di dalam kolom, pada akhir KCV didapat 4 fraksi. Hasil dari fraksi tersebut kemudian dievaporasi dengan suhu 83°C dan kecepatan 90 rpm.

4.3.6 Pengujian antibakteri ekstrak terhadap bakteri *E.coli*

4.3.6.1 Pembuatan media (*Nutrien Agar* dan *Nutrien Broth*)

A. *Nutrien agar* (NA) tabung/miring

Serbuk NA ditimbang sebanyak 2,1 g dan dilarutkan dalam 75 mL akuades di dalam gelas beker 250 mL kemudian diaduk. Setelah larut, larutan NA dipanaskan di dalam *microwave* sambil sesekali dikeluarkan (± 5 menit) dan diamati sampai benar-benar homogen. Setelah itu dituang larutan ke dalam 10 tabung reaksi (banyaknya yang harus dituang harus rata), kemudian tabung ditutup rapat dengan kapas dan *aluminium foil*. Tabung yang berisi larutan NA kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama kurang lebih 15 menit

(persiapan pemanasan alat $\pm$ 1 jam). Setelah disterilisasi, tabung dimiringkan dan ditunggu sampai dingin lalu disimpan di lemari es.

B. Nutrien broth (NB)

Serbuk NB ditimbang sebanyak 0,715 g dan dilarutkan dalam 55 mL akuades di dalam gelas beker 250 mL kemudian diaduk. Setelah larut, larutan NB dipanaskan di dalam *microwave* sambil sesekali dikeluarkan (5-7 menit) dan diamati hingga benar-benar homogen. Setelah itu dituang larutan kedalam 10 tabung reaksi (banyaknya yang dituang harus rata), kemudian tabung ditutup dengan kapas dan *aluminium foil*. Tabung yang berisi larutan NB kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama kurang lebih 15 menit (persiapan pemanasan alat $\pm$ 1 jam). Setelah disterilisasi, tabung disimpan didalam lemari es.

C. Nutrien agar (NA) petri

Serbuk NA ditimbang sebanyak 7,28 g dan dilarutkan dalam 260 mL akuades di dalam gelas beker 500 mL kemudian diaduk. Setelah larut, larutan NA dipanaskan di dalam *microwave* sambil sesekali dikeluarkan (5-7 menit) dan diamati hingga benar-benar homogen. Setelah itu dituang ke dalam erlenmeyer 250 mL dan ditutup rapat dengan kapas dan *aluminium foil*. Larutan NA petri ini kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama kurang lebih 15 menit (persiapan pemanasan alat $\pm$ 1 jam), setelah itu disimpan dalam lemari es.

4.3.6.2 Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan di dalam LAF. NA *slant* diambil dua tabung dan NB diambil satu tabung. Kawat ose dipanaskan diatas api bunsen hingga menyala, setelah itu ditunggu hingga dingin tanpa menyentuh ujung kawat. Bakteri *E.coli* yang ada di dalam tabung diambil 1 ose dengan kawat ose dengan cara digores di bagian paling ujung tanpa merusak tekstur media. Lalu digoreskan secara *zig-zag* tanpa menyentuh sisi tabung pada tabung NA *slant*. Kawat ose dipanaskan kembali lalu bakteri diambil 1 ose untuk kemudian dicelupkan pada tabung NB sambil diaduk-aduk. Tabung NA *slant* dan NB kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam, dan bakteri *E.coli* disimpan di lemari es.

4.3.6.3 Persiapan pengujian antibakteri

Bluetip, *yellowtip* dan cawan petri masing-masing dibungkus kertas payung. *Bluetip* dan *yellowtip* disterilisasi menggunakan autoklaf, sedangkan cawan petri disterilisasi didalam oven.

4.3.6.4 Pengujian antibakteri

Pengujian dilakukan didalam LAF, dan tabung NA *slant* dan NB dikeluarkan dari inkubator. Larutan NaCl diambil sebanyak 100 μ L dengan menggunakan *bluetip* dan mikropipet untuk dimasukkan ke dalam tabung NB yang sudah berisi bakteri. Tabung NB dikocok sambil diamati kesamaan kekeruhan dengan larutan standar *Mc Farland*, larutan NaCl ditambahkan kembali hingga tiga kali. NA petri di dalam erlenmeyer yang sudah suhu ruang dituang ke

dalam 4 cawan petri steril, 2 cawan petri untuk sampel, 1 cawan petri untuk kontrol positif dan kontrol negatif, dan 1 cawan petri untuk kontrol media. Setelah NA di dalam cawan petri mengeras, bakteri di dalam tabung NB diambil 100 μ L menggunakan *bluetip* dan mikropipet untuk ditetaskan diatas media NA dan dioles menggunakan *sprider* ke seluruh permukaan media NA. *Paperdisk* diambil dengan menggunakan pinset yang telah disterilisasi dengan cara dibakar di atas bunsen. *Paperdisk* diletakkan di atas permukaan media NA yang telah dioles bakteri. Dalam 1 cawan petri maksimal ada 5 *paperdisk*. Setelah itu sampel didalam vial diambil sebanyak 20 μ L menggunakan *yellowtip* dan mikropipet untuk ditetaskan di atas *paperdisk*. Untuk kontrol positif digunakan amoksisilin yang diletakkan di atas media NA yang telah dioles bakteri. Untuk kontrol negatif digunakan DMSO dengan cara diambil sebanyak 20 μ L menggunakan *yellowtip* dan mikropipet dan ditetaskan di atas *paperdisk*. Untuk kontrol media hanya berisi media NA yang dioles bakteri. Setelah semua selesai, cawan petri diinkubasi selama 1 x 24 jam didalam inkubator.

4.3.6.5 Pengukuran daya hambat

Cawan petri diambil dari dalam inkubator setelah 1 x 24 jam. Dilihat area bening disekitar *paperdisk* dan diukur menggunakan jangka sorong. Sampel fraksi yang paling besar daya hambatnya terhadap bakteri diuji dengan HPLC.

4.3.7 Pengujian fraksi dengan HPLC

Fraksi diuji dengan menggunakan instrumen HPLC merk Shimadzu di Laboratorium Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan atau komponen ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari senyawa aktif dalam ekstrak daun sukun. Ekstrak daun sukun diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Hasil maserasi kemudian diekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut n-heksana. Hasil selanjutnya dianalisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, kromatografi cair vakum dan HPLC. Selain itu diuji juga aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dengan control positif berupa amoksisilin dan kontrol negatif berupa DMSO.

5.1 Proses maserasi daun sukun

Proses maserasi dilakukan dengan cara mengumpulkan daun sukun yang masih segar untuk kemudian dihaluskan dengan cara diblender. Tujuan dihaluskan adalah untuk membuka pori-pori dari permukaan daun sukun agar lebih mudah mengambil senyawa yang ada di dalam daun. Menurut Qadri (2010) penyari/pelarut akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Proses maserasi dilakukan selama 4 hari dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil supaya senyawa dan pelarut tidak menguap selama proses perendaman. Hasil dari proses maserasi ini berupa larutan berwarna hijau tua sebanyak kurang lebih 550 mL. Tujuan dari maserasi adalah untuk mengambil zat aktif yang ada di dalam daun sukun. Pelarut

yang digunakan dalam proses maserasi akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Pengambilan zat aktif di dalam daun sukun menggunakan metode maserasi karena metode maserasi merupakan metode perendaman tanpa melibatkan panas sehingga tidak merusak senyawa yang tidak tahan panas (Djarwis, 2004). Namun kerugian dari metode ini adalah membutuhkan waktu lama dan penyariannya kurang sempurna (Mukhriani, 2014). Metode maserasi ini menggunakan pelarut etanol karena etanol mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert. Selain itu etanol merupakan pelarut yang dapat mengekstrak dengan baik senyawa metabolit sekunder yang terkandung, dan aman untuk tubuh merujuk kepada daftar GRAS (*Generally Recognized as Safe*) yang telah dipublikasikan oleh FDA (*Food and Drug Administration*) dan FEMA (*the Flavor and Extract Manufacturing Association*) (Rani, 2014).

5.2 Proses ekstraksi cair-cair menggunakan n-heksana

Hasil maserasi daun sukun kemudian dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak etanol berwarna hijau kecoklatan sebanyak 50 mL. Ekstrak etanol yang didapat kemudian diekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana. Pada ekstraksi cair-cair ini terbentuk dua lapisan, lapisan bawah berwarna hijau dan lapisan atas berwarna coklat kehijauan. Lapisan bawah

merupakan n-heksana karena n-heksana mempunyai berat jenis lebih tinggi dibandingkan etanol. Hasil dari ekstraksi ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ekstraksi cair-cair ekstrak etanol dengan pelarut n-heksana

Fase yang terbentuk	Warna
Fase n-heksana (bawah)	Hijau tua
Fase etanol (atas)	Coklat

Fase yang terdapat pada Tabel 2 terbentuk karena terdapat perbedaan kepolaran antara ekstrak etanol dan pelarut n-heksana. Ekstrak yang awalnya berwarna hijau kecoklatan menjadi terpisah menjadi hijau tua dan coklat berdasarkan pelarut yang mengikatnya. Lapisan bawah berwarna hijau dan merupakan fase n-heksana karena berat jenis n-heksana lebih tinggi dibanding etanol. Senyawa di dalam ekstrak yang bersifat non polar akan tertarik ke dalam pelarut n-heksana. Lapisan atas berwarna coklat yang merupakan fase etanol karena berat jenis etanol lebih ringan dibanding n-heksana.

Tujuan dari ekstraksi cair-cair ini adalah untuk memisahkan senyawa non polar dari maserat daun sukun yang mengandung senyawa polar, sehingga digunakan pelarut n-heksana untuk memisahkannya karena n-heksana bersifat non polar dan apabila menggunakan pelarut etanol maka tidak akan terpisah. Sedangkan prinsip dari ekstraksi cair-cair adalah pemisahan senyawa atas dasar perbedaan kelarutan pada dua jenis pelarut yang berbeda yang tidak saling bercampur (Khamidinal, 2009). Menurut Tobo (2001) jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak

dapat bercampur dengan yang pertama, maka akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi ke dalam dua lapisan, waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran kedua fase tersebut dalam corong pisah (Tobo, 2001).

5.3 Analisis kromatografi

Setelah ekstraksi cair-cair selesai dilakukan, didapatkan dua ekstrak yakni ekstrak pekat etanol (Ekstrak A) dan ekstrak n-heksana (Ekstrak B). Ekstrak n-heksana (Ekstrak B) yang masih terdapat pelarut kemudian diuapkan pelarutnya sehingga didapat ekstrak kental berwarna hijau tua. Ekstrak B tersebut kemudian difraksinasi untuk memisahkan senyawa yang ada didalamnya agar lebih spesifik.

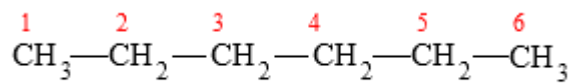
Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk kedalam pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke dalam pelarut non polar.

Metode fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan kromatografi kolom. Kolom diisi dengan penyerap padat (silika) sebagai fase tetap dan dialiri dengan pelarut sebagai fase gerak. Sampel B yang akan difraksinasi dimasukkan ke dalam kolom dan dialiri fase gerak yang akan membentuk jalur-jalur serapan dari senyawa. Bila pelarut dibiarkan mengalir melalui kolom, ia akan mengangkut senyawa-senyawa yang merupakan

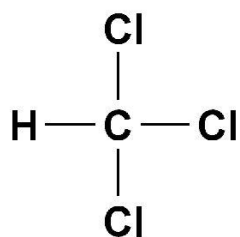
komponen-komponen dari campuran. Pemisahan komponen suatu campuran tergantung pada tingkat kepolaran dari fase gerak dan senyawa yang terkandung dalam campuran tersebut (Sastrohamidjojo, 2004).

Kromatografi kolom yang digunakan dalam fraksinasi ini adalah kromatografi cair vakum (KCV). Metode ini merupakan modifikasi dari kromatografi kolom gravitasi dengan menambahkan vakum (penarik udara) pada bawah kolom agar waktu yang diperlukan lebih singkat. Kromatografi cair vakum dapat digunakan untuk fraksinasi atau memurnikan fraksi (Qodri, 2010).

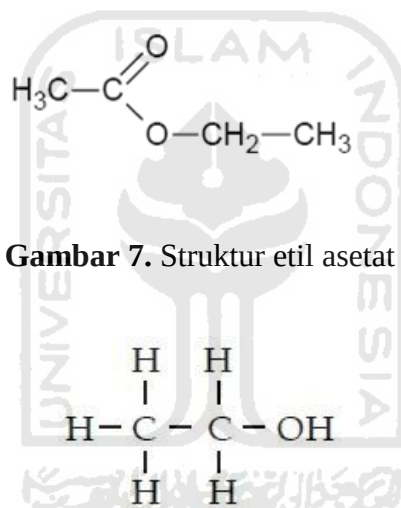
Fraksinasi ekstrak daun sukun ini dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum ini menggunakan 5 pelarut. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi yaitu n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat yakni dimulai dengan pelarut yang memiliki kepolaran paling rendah (non polar) ke pelarut yang memiliki kepolaran lebih tinggi (polar) agar dapat mengisolasi senyawa-senyawa yang spesifik berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda, karena jika dilakukan dari pelarut yang paling polar maka semua senyawa akan terbawa oleh pelarut tersebut. Kolom dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan maksimum dan kolom yang lebih panjang agar daya pisah meningkat. Pelarut n-heksan yang paling non polar akan menarik senyawa non polar dari ekstrak tersebut, lalu disusul dengan kloroform yang cenderung non polar, etil asetat yang semi polar, etanol akan menarik senyawa polar dari ekstrak dan metanol akan menarik senyawa yang paling polar di dalam ekstrak. Setiap pelarut ditampung dalam vial terpisah sehingga tidak bercampur.



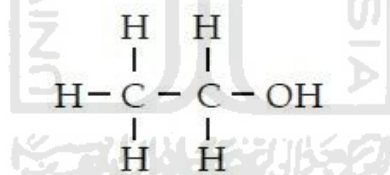
Gambar 5. Struktur n-heksana



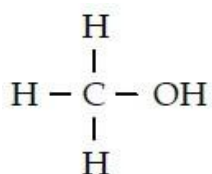
Gambar 6. Struktur kloroform



Gambar 7. Struktur etil asetat



Gambar 8. Struktur etanol



Gambar 9. Struktur metanol

Hasil dari fraksinasi kemudian diuapkan sehingga didapatkan cairan kental. Berat, volume, warna dan persen rendemen dari hasil fraksinasi disajikan pada Tabel 3.

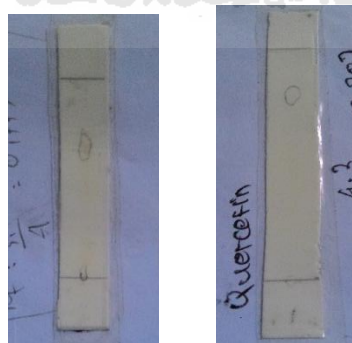
Tabel 3. Hasil fraksinasi ekstrak B daun sukun menggunakan kromatografi cair vakum

Fraksi	Warna	Berat (gram)	Volume (mL)	Rendemen (%)
n-Heksana	Kuning	0,546	< 1	0,0027
Kloroform	Hijau tua	0,897	< 1	0,0044
Etil asetat	Hijau kehitaman	5,366	4,2	0,0266
Etanol	Coklat tua	2,623	3,2	0,0130
Metanol	Coklat	1,685	1,685	0,0083

Berdasarkan pada Tabel 3 di atas, dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak B (ekstrak n-heksana) mempunyai rendemen paling tinggi, fraksi dari etil asetat ini menghasilkan warna hijau kehitaman sebanyak 4,2 mL. Sedangkan untuk rendemen terendah ada pada fraksi n-heksana sebanyak 0,0027% dan berwarna kuning. Dari proses fraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) ini didapatkan senyawa yang bersifat dari non polar hingga semi polar yang ada pada ekstrak n-heksana daun sukun.

Setelah ekstrak B (ekstrak n-heksana) difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum (KCV), ekstrak A (ekstrak etanol) kemudian dievaporator sehingga didapatkan ekstrak pekat berwarna coklat tua dengan volume 15 mL. Sebelum difraksinasi dengan menggunakan kromatografi cair vakum, ditentukan dahulu perbandingan pelarut yang cocok menggunakan kromatografi lapis tipis, karena sampel yang digunakan berupa cairan pekat. Pelarut yang digunakan yakni n-heksan, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol.

Prinsip dari kromatografi lapis tipis yaitu pemisahan suatu senyawa berdasarkan tingkat kepolaran dengan fasa gerak berupa cairan dan fasa diam berupa padatan yang diletakkan pada plat sebagai penyangga (Rubiyanto, 2013). Fasa diam yang digunakan berupa silika gel dan fasa gerak berupa campuran pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol dengan perbandingan yang cocok. Pada pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis ini sampel berupa ekstrak pekat ditotolkan pada plat silika dan kemudian diletakkan di dalam gelas beker 250 mL untuk dipisahkan senyawanya dengan perbandingan fase gerak. Pemisahan berhasil dilakukan apabila tidak terjadi *tailing*, dan hal ini disebabkan karena kecocokan perbandingan pelarut sebagai fase gerak. Hasil yang didapatkan dari pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis ini adalah perbandingan yang cocok untuk memisahkan senyawa dalam ekstrak pekat, yakni dengan perbandingan 1 : 1 : 3 : 5 : 5 (n-heksana : kloroform : etil asetat : etanol : metanol).



(A)

(B)

Gambar 10. Hasil uji KLT ekstrak A menggunakan perbandingan pelarut yang cocok (1 : 1 : 3 : 5 : 5) (A). Hasil uji KLT standar kuersetin menggunakan perbandingan pelarut 1 : 1 : 3 : 5 : 5 (B)

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa untuk mendapatkan pemisahan yang bagus terdapat pada perbandingan pelarut (fase gerak) antara n-heksana, kloroform, etil asetat, etanol dan metanol sebanyak 1 : 1 : 3 : 5 : 5. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak A (ekstrak pekat etanol) bersifat polar, karena pemisahan yang bagus terjadi apabila fase gerak yang digunakan lebih bersifat polar. Setelah kromatografi lapis tipis pada ekstrak A (ekstrak pekat etanol) selesai dilakukan, maka perbandingan fase gerak digunakan untuk sampel standar kuersetin untuk melihat nilai R_f antara standar kuersetin dan ekstrak A. Nilai R_f yang didapat pada pemisahan ekstrak A menggunakan metode kromatografi lapis tipis adalah sebanyak 0,775. Sedangkan nilai R_f untuk standar kuersetin menggunakan perbandingan pelarut yang sama adalah sebanyak 0,807. Hal ini menunjukkan bahwa nilai R_f ekstrak A hampir sama dengan nilai R_f standar kuersetin.

Setelah didapatkan perbandingan yang cocok, maka dilanjutkan pada proses fraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV). Pada kromatografi cair vakum digunakan perbandingan pelarut yang didapat pada proses kromatografi lapis tipis sebagai fase gerak dan fase diam berupa silika. Fraksi akan ditampung berdasarkan warna yang terpisah di dalam kolom pada proses kromatografi cair vakum. Pada kromatografi cair vakum ini fraksi yang pertama keluar bersifat polar karena pada perbandingan pelarut (fase gerak) yang digunakan, pelarut cenderung bersifat polar, dan fraksi yang terakhir keluar bersifat non-polar.

Hasil fraksinasi ekstrak pekat A kemudian diuapkan sehingga didapatkan cairan kental. Berat, volume, warna dan persen rendemen dari hasil fraksinasi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil fraksinasi ekstrak pekat A daun sukun dengan menggunakan kromatografi cair vakum

Fraksi	Warna	Berat (gram)	Volume (mL)	Rendemen (%)
1	Coklat kehitaman	8,087	7,2	0,0402
2	Coklat tua	3,562	1,9	0,0177
3	Coklat keruh	4,385	3,4	0,0218
4	Coklat	3,077	1,7	0,0153

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa fraksi yang mempunyai persen rendemen paling tinggi adalah fraksi 1 sebanyak 0,0402% dengan volume sebanyak 7,2 mL. Fraksi 1 merupakan fraksi yang pertama keluar dari proses kromatografi cair vakum dan bersifat polar karena fase gerak yang cenderung bersifat polar. Sedangkan untuk persen rendemen terendah ada pada fraksi 4 yakni sebanyak 0,0153% dengan volume sebanyak 3,077 mL. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang ada pada ekstrak A (ekstrak pekat etanol) daun sukun ini bersifat polar.

Fraksi dari ekstrak A (ekstrak pekat etanol) yang dihasilkan dari kromatografi cair vakum ini mengandung flavonoid bersifat polar dan cukup larut dalam pelarut etanol, metanol, butanol dan air. Menurut penelitian Syah (2006) ekstrak metanol daun sukun yang difraksinasi dengan metode kromatografi

vakum cair dengan menggunakan fase gerak n-heksana dan etil asetat menghasilkan 2 senyawa turunan flavonoid.

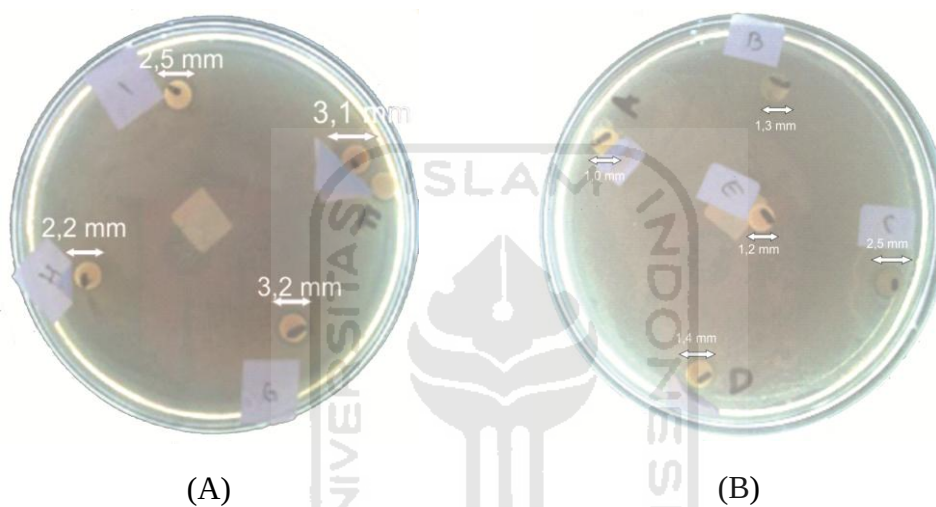
5.4 Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri yang digunakan yaitu dengan metode difusi menggunakan cakram (*disc*). Cakram yang digunakan berfungsi sebagai tempat menentukan agen antibakteri. Pengukuran aktivitas antibakteri dengan metode ini dilakukan dengan mengukur zona hambat disekitar cakram yang telah berisi sampel. Media yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri ini adalah media *Nutrien Agar* dan *Nutrien Broth*. Bakteri yang telah ditumbuhkan pada media *Nutrien Agar* dan *Nutrien Broth* kemudian diinkubasi dan digunakan pada uji aktivitas antibakteri. Pada uji aktivitas antibakteri ini digunakan amoksisilin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif karena berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa DMSO tidak memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri yang diuji (Apriyuslim, 2015). Kontrol positif yang digunakan yaitu amoksisilin karena amoksisilin merupakan antibiotik berspektrum luas yang aktif melawan bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif (Neal, 2007).

Konsentrasi fraksi-fraksi daun sukun yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yakni 100% untuk mengoptimalkan aktivitas senyawa aktif antibakteri. Menurut Suryani (2014) pada penelitiannya, menunjukkan bahwa konsentrasi daun sukun 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

yang sebelumnya telah ditanam pada media BHI (*Brain Heart Infusion*) dan MH (*Mueller Hinton*).

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi-fraksi daun sukun lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil uji difusi sampel dan kontrol disajikan pada gambar 11 dan 12.



Gambar 11. (A) Hasil uji difusi sampel fraksi 1 (3,1 mm), 2 (3,2 mm), 3 (2,2 mm) dan 4 (2,5 mm) dari ekstrak pekat etanol. (B) Hasil uji difusi sampel fraksi n-heksana (1,0 mm), kloroform (1,3 mm), etil asetat (2,5 mm), etanol (1,4 mm) dan metanol (1,2 mm) dari ekstrak n-heksana.



Gambar 12. Kontrol (+) amoksisilin (6,6 mm) dan kontrol (-) DMSO (0,4 mm).

Hasil dari gambar 11 menunjukkan bahwa fraksi-fraksi dari daun sukun memiliki aktivitas yang lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada fraksi-fraksi daun sukun. Kontrol positif amoksisilin memiliki zona hambat sebesar 6,6 mm. Hambatan dari kontrol positif lebih besar dari seluruh fraksi. Gambar 12 juga menunjukkan tidak adanya hambatan dari kontrol negatif yaitu DMSO dan adanya hambatan dari kontrol positif amoksisilin.

Tabel 5. Hasil pengukuran zona hambat antibakteri fraksi daun sukun terhadap bakteri *Escherichia coli*

Sampel	Diameter zona hambat (mm)
Fraksi 1	3,1
Fraksi 2	3,2
Fraksi 3	2,2
Fraksi 4	2,5
Fraksi n-heksan	1,0
Fraksi kloroform	1,3
Fraksi etil asetat	2,5
Fraksi etanol	1,4
Fraksi metanol	1,2
Kontrol (+) amoksisilin	6,6
Kontrol (-) DMSO	0,4

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan cara mengukur daerah bening disekitar cakram (*paperdisk*) menggunakan jangka sorong. Hasil pengukuran yang terlihat pada tabel 5 menunjukkan bahwa fraksi daun sukun memiliki aktivitas

yang lemah sebagai antibakteri. Hal ini ditunjukkan dengan adanya hambatan pada semua sampel meski dalam zona hambat yang kecil. Untuk dapat digunakan sebagai antibakteri, suatu senyawa harus mempunyai zona hambat diatas 15 mm untuk bisa dikatakan sebagai golongan kuat dan 10-15 mm untuk golongan menengah.

Sampel yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut yaitu fraksi 2 dari ekstrak pekat A yang merupakan ekstrak pekat etanol. Hal ini diketahui dengan ukuran zona hambat yang paling besar diantara semua fraksi yaitu 3,2 mm. Sedangkan fraksi yang mempunyai zona hambat paling kecil yaitu fraksi n-heksana dari ekstrak n-heksana sebanyak 1,0 mm.

Zona hambat yang terlihat pada uji aktivitas antibakteri dari fraksi-fraksi daun sukun terhadap bakteri *E.coli* ini dikarenakan terdapat senyawa aktif berupa flavonoid, saponin dan tanin di dalamnya. Senyawa aktif berupa flavonoid, saponin dan tanin yang terkandung di dalam daun sukun berperan sebagai antimikroba dengan cara merusak dinding sel bakteri (Suryani, 2014). Menurut penelitian Rani (2014) ekstrak etanol dan metanol daun sukun memiliki kandungan golongan senyawa metabolit sekunder, yakni flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Sedangkan menurut Sikarwar dkk (2014) jenis tumbuhan *Artocarpus* mengandung senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antijamur, anti tumor dan penghambatan sel leukimia.

Hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa sensitivitas bakteri terhadap senyawa aktif antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk

pada saat uji aktivitas antibakteri, sehingga semakin besar diameter dari suatu zona hambat maka semakin terhambat pertumbuhan bakterinya atau dengan kata lain efektif menghambat bakteri. Menurut penelitian Rostinawati dan kawan-kawan (2009) fraksi yang bersifat polar dari ekstrak daun sukun memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) dan PaMR (*Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus Multi Resistant*), sedangkan untuk fraksi non polarnya mempunyai aktivitas antijamur. Fraksi yang dihasilkan dari proses kromatografi cair vakum (KCV) ini telah terpisah berdasarkan kepolarannya, dan pada saat pengujian aktivitas antibakteri memberikan aktivitas yang berbeda-beda. Fraksi 2 dari ekstrak etanol menunjukkan zona hambat yang paling besar diantara semua fraksi, dan fraksi 2 tersebut bersifat polar. Fraksi yang bersifat non-polar menunjukkan aktivitas yang lemah terhadap bakteri *Escherichia coli* yang sebelumnya sudah ditumbuhkan pada media *Nutrien Agar* dan *Nutrien Broth*.

Aktivitas antibakteri dari senyawa fraksi ekstrak daun sukun lemah terhadap bakteri *Escherichia coli* dimungkinkan karena bakteri ditumbuhkan pada media yang tidak atau kurang cocok untuk *Escherichia coli*. Selain itu bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai dinding sel lebih tebal dibandingkan bakteri gram positif, sehingga senyawa aktif antibakteri dari fraksi daun sukun belum efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

5.5 Uji komponen menggunakan HPLC

Setelah dilakukan uji aktivitas antibakteri, dilakukan analisis menggunakan HPLC. Tujuannya adalah untuk mengetahui komponen di dalam fraksi-fraksi daun sukun dengan menggunakan standar kuersetin yang merupakan jenis dari flavonoid. Prinsip dari *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) ini adalah komponen-komponen yang berbeda didalam campuran (fraksi) akan melewati kolom dengan laju yang berbeda tergantung pada kemampuan partisipasinya antara fasa diam dan fasa gerak.

Sampel yang diuji menggunakan HPLC yakni fraksi 1 dan 2 dari ekstrak pekat A (ekstrak pekat etanol) dan fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana. Jenis elusi yang digunakan pada analisis menggunakan HPLC ini adalah dengan menggunakan sistem isokratik, karena volume solven yang dipompakan tidak berubah selama analisis. Berdasarkan sifat fasa diamnya jenis HPLC yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis kromatografi adsorpsi dengan sistem fasa normal (*normal phase*) karena fasa diam (kolom) yang digunakan adalah silika C-18. Sedangkan kondisi operasional HPLC pada saat pengujian sampel adalah sebagai berikut:

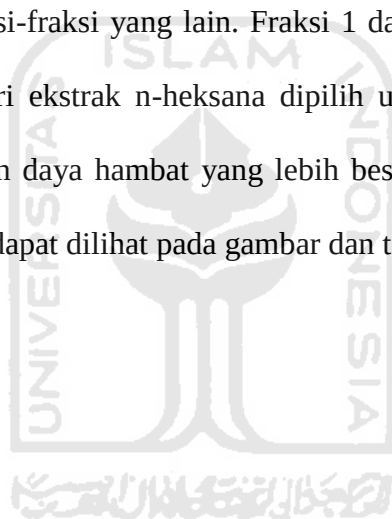
a. Volume injeksi : 10 μ L

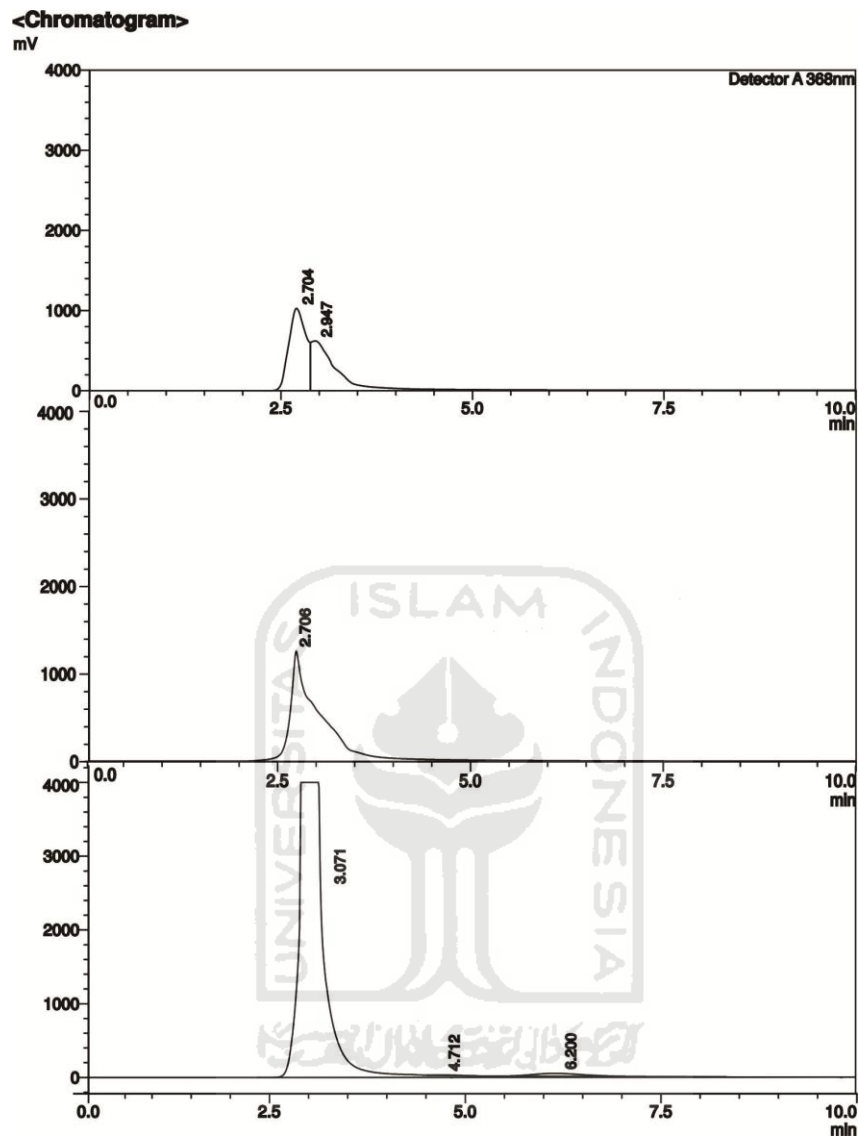
b. Fasa gerak :

- Fraksi 1 dan fraksi 2 dari ekstrak etanol : perbandingan pelarut n-heksana: kloroform: etil asetat: etanol: metanol (1:1:3:5:5)
- Fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana

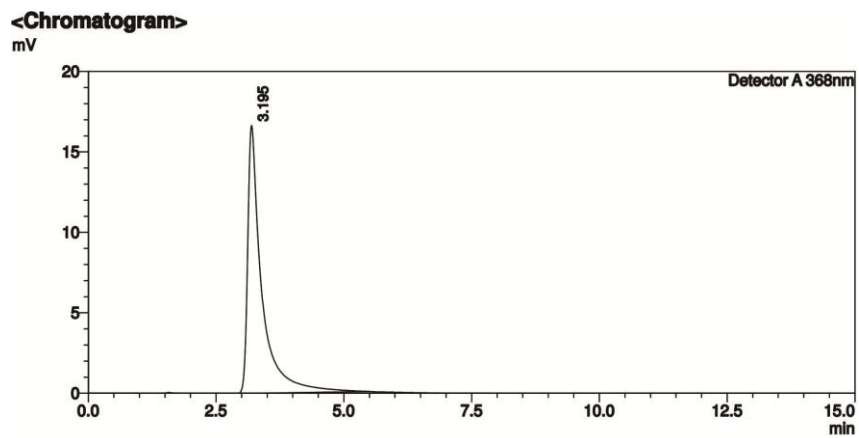
- c. Kolom : Silika C-18
- d. Tekanan : Fraksi 1 dan fraksi 2 adalah 9,3 atm, sedangkan fraksi etil asetat adalah 9,9 atm
- e. Panjang gelombang detektor : 368 nm
- f. Debit aliran : 1 mL/menit

Pada hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa fraksi 2 dari ekstrak pekat A memberikan daya hambat yang paling besar diantara fraksi-fraksi yang lain. Fraksi 1 dan 2 dari ekstrak pekat A serta fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana dipilih untuk diuji menggunakan HPLC karena memberikan daya hambat yang lebih besar dibanding fraksi yang lain. Hasil dari uji HPLC dapat dilihat pada gambar dan tabel dibawah.





Gambar 13. Kromatogram sampel 1 (atas), 2 (tengah) dan 3 (bawah)



Gambar 14. Kromatogram standar kuersetin

Tabel 6. Tabel puncak dari kromatogram sampel 1

Puncak	Waktu retensi	Area	Tinggi	Area %
1	2,704	16059321	1027087	50,230
2	2,947	15912323	621536	49,770
Total		31971644	1648623	100,000

Tabel 7. Tabel puncak dari kromatogram sampel 2

Puncak	Waktu retensi	Area	Tinggi	Area %
1	2,706	33914388	1263686	100,000
Total		33914388	1263686	100,000

Tabel 8. Tabel puncak dari kromatogram sampel 3

Puncak	Waktu retensi	Area	Tinggi	Area %
1	3,071	98639827	3999529	97,821
2	4,712	122994	5270	0,122
3	6,200	2074340	40824	2,057
Total		100837161	4045624	100,000

Tabel 9. Tabel puncak dari kromatogram standar kuersetin

Puncak	Waktu retensi	Area	Tinggi	Area %
1	3,195	321429	16659	100,000
Total		321429	16659	100,000

Sampel 1 merupakan fraksi 1 dari ekstrak pekat A, sampel 2 merupakan fraksi 2 dari ekstrak pekat A, dan sampel 3 merupakan fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana. Hasil kromatogram HPLC dari 3 fraksi yang diuji

menunjukkan bahwa fraksi 1 terdapat 2 *peak* dan mempunyai waktu retensi masing – masing sebesar 2,704 dan 2,947, untuk fraksi 2 hanya terdapat 1 *peak* dengan waktu retensi 2,706 dan fraksi etil asetat mempunyai 1 *peak* tertinggi dengan waktu retensi sebesar 3,071. Analisis menggunakan HPLC ini menggunakan kuersetin sebagai standar karena kuersetin merupakan jenis flavonoid yang paling banyak kandungannya di dalam flavonoid tersebut. Dari hasil kromatogram tersebut didapatkan bahwa waktu retensi dari sampel 3 yang merupakan fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana adalah yang paling mendekati dengan waktu retensi dari standar kuersetin. Sedangkan sampel 1 dan sampel 2 yang merupakan fraksi 1 dan 2 dari ekstrak pekat A tidak mendekati waktu retensi standar kuersetin. Menurut penelitian Syah dkk (2006) kandungan flavonoid dari fraksi etil asetat daun sukun memiliki potensi yang besar dalam pengobatan. Dari uji fraksi menggunakan HPLC ini dapat disimpulkan bahwa waktu retensi dari fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana adalah yang paling mendekati dengan waktu retensi standar kuersetin.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa aktif dalam daun sukun dapat diekstrak menggunakan pelarut etanol dan difraksinasi menggunakan metode kromatografi vakum cair (KCV).
2. Fraksi dari ekstrak pekat etanol dan ekstrak n-heksana mempunyai aktivitas antibakteri yang lemah terhadap bakteri *Escherichia coli*, dengan zona hambat terluas yakni dari fraksi 2 ekstrak pekat etanol sebesar 3,2 mm.
3. Fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana kemungkinan mengandung flavonoid berdasarkan hasil analisis menggunakan HPLC.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menyelidiki senyawa aktif dalam daun sukun menggunakan instrumen lain agar hasilnya lebih akurat. Selain maserasi dengan menggunakan pelarut polar, juga dilakukan maserasi dengan pelarut non-polar dan setiap langkah penelitian dilakukan pengujian aktifitas antibakteri. Selain itu perlu dilakukan analisis senyawa tunggal agar mengetahui senyawa yang paling aktif didalam fraksi dan penelitian aktivitas antibakteri terhadap bakteri lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, Marline. 2009. *Formulasi Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus altilis [Parkinson] Fosberg) dengan Basis Gel Sebagai Antiinflamasi*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Adinugraha, H. A. 2011. *Pengaruh Umur Induk, Umur Tunas dan Jenis Media Terhadap Pertumbuhan Stek Pucuk Sukun*. Jurnal Pemuliaan Tanaman. Vol. 5 no. 1, 31:40.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press. Bandung.
- Anggraeni, Dita. 2016. *Penentuan Senyawa Aktif Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Penghambat Petumbuhan Bakteri Salmonella typhi*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.
- Apriyuslim, R. P. 2015. *Uji Aktivitas Anibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata L.) terhadap Salmonella typhi Secara In Vitro*. Naskah Publikasi: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Arisman. 2009. *Buku Ajar Ilmu Gizi Keracunan Makanan*. RGC. Jakarta. Hal : 93.
- Asha, D.S and Ben, C. P. 2014. *Least Concerned Bark and Stipules of Artocarpus Species (Moraceae) – An Effective Antibacterial Agent*. International Research Journal of Biological Science. Vol. 3(2), 25-29.
- Carolina, Lianne Cynthia. 2011. *Optimasi Metode Analisis Asam Valproat Secara Kromatografi Gas*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok.
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan pertama*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Dirjen Dikti Depdiknas. Jakarta.
- Erwin. 2001. *Uji Senyawa Fenolik dari Kulit Batang Tanaman Sukun [Artocarpus altilis (Park.) Fosberg]*. Skripsi Sarjana Teknologi Farmasi. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hal: 55.

- Fajrianti, I., Rizkiyah, M., Muzakky. 2011. *Studi Ekstraksi Padat Cair Menggunakan Pelarut HF dan HNO₃ pada Penentuan Logam Cr dalam Sampel Sungai di Sekitar Calon PLTN Muria*. Jurnal ILMU DASAR. Vol. 12 No. 1, 15: 22.
- Ghisalberti, E. L. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, Structural Determination*. Taylor & Francis Group Inc. U.S.A.
- Haryanto, Sri dan Nugroho, B. A. 2006. *Sehat dan Bugar Secara Alami*. Penebar Swadaya. Depok.
- Hendayana, Sumar. 2006. *Kimia Pemisahan: Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Hermawan dkk. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Eschericia coli dengan Metode Difusi Disk*. FMIPA Unair. Surabaya.
- Jawetz dkk. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 1. Salemba Medika. Jakarta.
- Khamidinal. 2009. *Teknik Laboratorium Kimia*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Kusuma, S. A. F. 2011. *Eschericia coli*, Makalah. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Levinson W. 2008. *Review of Medical Microbiology and Immunology (10th ed.)*. the McGraw Hill Companies. United States of America.
- Mukhriani. 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*, Jurnal Kesehatan Vol VII No. 2. Fakultas Ilmu Kesehatan. UIN Alauddin Makassar. Makassar.
- Mukti, Damar. 2012. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica charantina L.) Terhadap Streptococcus mutans Penyebab Karies Gigi*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan. Bogor.
- Murwani, dkk. 2014. *Uji Efek Ekstrak Daun (Artocarpus altilis) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri Salmonella typhose Secara In Vitro*. Jurnal Penelitian. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
- Neal, M. J. 2007. *Farmakologi Medis*. Erlangga. Jakarta.

- Pradhan dkk. 2013. *ETHNO Medical and Therapeutic Potential of Sida Acuta Burm F.* International Research Journal of Pharmacy. India.
- Pramudono, B., Widioko, S. A., Rustyawan, W. 2008. *Ekstraksi Kontinyu dengan Simulasi Batch Tiga Tahap Aliran Lawan Arah : Pengambilan Minyak Biji Alpukat Menggunakan Pelarut n-Hexane dan Iso Propil Alkohol.* Jurnal Reaktor. Vol. 12 No. 1, 38: 41.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi.* Erlangga. Jakarta.
- Puspitasari, I. 2006. *Cerdas Mengenali Penyakit dan Obat.* Bentang Pustaka. Yogyakarta.
- Qadri, Abdul. 2010. *Isolasi Artonin E dari Ekstrak Etil Asetat Kulit Kayu Kluwih (Artocarpus communis J.R. & G.).* Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Ragone Diane. 1997. *Breadfruit : Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg.* International Plant Genetic Resources Institute, Citation. Rome, Italy.
- Ramadhani, A. N. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Larva Artemia Salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST).* Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rubiyanto, Dwiarso. 2013. *Teknik Dasar Kromatografi.* Deepublish. Yogyakarta.
- Rani K.P, F.M. Supriyanti Titin, Sholihin Hayat. 2014. *Studi Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus Altilis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas Aeruginosa.* Jurnal Sains dan Teknologi Kimia - Jilid 5 No. 2. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Rostinawati, Tina., Maharani, Rani dan Soraya, R. M. 2009. *Penelusuran Senyawa Aktif Ekstrak Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Staphylococcus aureus, Microsporum gypseum dan Candida albicans.* Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Sarker, S. D., Latif, Z., Gray, Al. 2006. *Natural Product Isolation.* Humana Press Inc. Totowa, New Jersey.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

- Septyaningsih, D. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. Skripsi. FMIPA Universitas Sebelas Maret. Solo.
- Shabella, Rifdah. 2012. *Sehat dan Cantik dengan Terapi Jus*. Cable Book. Klaten.
- Sikarwar dkk. 2014. *A Review on Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg (Breadfruit)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 4 (08), pp. 091-097.
- Sulistyaningsih., Rostinawati, T dan Permana, C. 2009. *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sukun (Artocarpus altilis) Terhadap Bakteri Eschericia coli, Bacillus subtilis dan Jamur Candida albicans, Microsporum gypsium*. Farmaka Vol 7 Nomor 1. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Suryani, Dewi. 2014. *Efektivitas Daun Sukun (Artocarpus altilis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Eschericia coli*. Fakultas Ilmu Kesehatan UM Palangkaraya. Palangkaraya.
- Syah, Y. M, dkk. 2006. *Dua Flavonoid Tergeneralisasi dari Daun Sukun (Artocarpus altilis)*. Jurnal Matematika dan Sains Vol. 11 No. 3. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Syamsuni. 2006. *Farmasetika Dasar dan Hitungan Farmasi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- T.D. brock dkk. 1994. *Biology of microorganism*, 7th ed. Pretince Hall, NJ. USA.
- Tjay, T. H dan Raharja, K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya, Edisi ke VI*. Elex Medika Komputindo. Jakarta.
- Tiwari dkk. 2011. *An Evaluation of Antimicrobial Activities of Root Extract of Calendula Officinalis (Linn)*. Pharmacologyonline 2: 886-892.
- Tobo, F. 2001. *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia I*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Triwiyatno, A.E. 2003. *Penangkaran Bibit Sukun Cilacap*. Kanisius. Cilacap.
- Utami, E. R. 2012. *Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi*. Saintis 2012: 1 (1): 124-38.
- Utami dkk. 2015. *Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Sukun (Artocarpus altilis [Parkinson] Fosberg)*. Prosiding

Penelitian. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Islam Bandung. Bandung.

Voigt, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan Oleh Soendani, N. S. UGM Press. Yogyakarta.

Zerega, N. J. C. 2003. *The Breadfruit Trail*. Natural History. 112(10): 46-51.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan

Perhitungan pembuatan media *Nutrien Agar* (NA) dan *Nutrien Broth* (NB):

1. Perhitungan media agar miring NA :

NA 10 tabung x 7 mL = 70 mL dilebihkan menjadi 75 mL

$$\frac{28 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 75 \text{ mL} = 2,1 \text{ g}$$

2. Perhitungan media cair NB:

NB 10 tabung x 5 mL = 50 mL dilebihkan menjadi 55 mL

$$\frac{13 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 55 \text{ mL} = 0,715 \text{ g}$$

3. Perhitungan media agar uji NA:

NA 10 petri x 25 mL = 250 mL dilebihkan menjadi 260 mL

$$\frac{28 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 260 \text{ mL} = 7,28 \text{ g}$$

4. Perhitungan diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri dari fraksi daun sukun menggunakan jangka sorong:

$$A : 0,74 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 1,0 \text{ mm}$$

$$B : 0,77 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 1,3 \text{ mm}$$

$$C : 0,89 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 2,5 \text{ mm}$$

$$D : 0,78 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 1,4 \text{ mm}$$

$$E : 0,76 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 1,2 \text{ mm}$$

$$F : 0,95 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 3,1 \text{ mm}$$

$$G : 0,96 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 3,2 \text{ mm}$$

$$H : 0,86 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 2,2 \text{ mm}$$

$$I : 0,89 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 2,5 \text{ mm}$$

$$J : 1,30 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 6,6 \text{ mm}$$

$$L : 0,68 \text{ cm} - 0,64 \text{ cm} = 0,4 \text{ mm}$$

Keterangan:

A : fraksi n-heksana dari ekstrak n-heksana

B : fraksi kloroform dari ekstrak n-heksana

C : fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana

D : fraksi etanol dari ekstrak n-heksana

E : fraksi metanol dari ekstrak n-heksana

F : fraksi 1 dari ekstrak pekat etanol

G : fraksi 2 dari ekstrak pekat etanol

H : fraksi 3 dari ekstrak pekat etanol

I : fraksi 4 dari ekstrak pekat etanol

J : kontrol (+) amoksisilin

L : kontrol (-) DMSO

Perhitungan rendemen tiap fraksi:

1. Ekstrak pekat etanol

- Fraksi 1 = $\frac{8,087 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0402 \%$

- Fraksi 2 = $\frac{3,562 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0177 \%$

- Fraksi 3 = $\frac{4,385 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0218 \%$

- Fraksi 4 = $\frac{3,077 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0153 \%$

2. Ekstrak n-heksana

- Fraksi n-heksana = $\frac{0,546 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0027 \%$

- Fraksi kloroform = $\frac{0,897 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0044 \%$

- Fraksi etil asetat = $\frac{5,366 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0266 \%$

- Fraksi etanol = $\frac{2,623 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0130 \%$
- Fraksi metanol = $\frac{1,685 \text{ g}}{201 \text{ g}} \times 100 \% = 0,0083 \%$

Lampiran 2. Gambar



Gambar 1. Inkubator



Gambar 2. Laminar Air Flow (LAF)



Gambar 3. Autoklaf



Gambar 4. Alat untuk melihat hasil uji daya hambat bakteri



Gambar 5. Daun sukun



Gambar 6. Daun sukun yang dihaluskan menggunakan blender



Gambar 7. Maserasi daun sukun menggunakan pelarut etanol 96 %



Gambar 8. Evaporasi maserat daun sukun



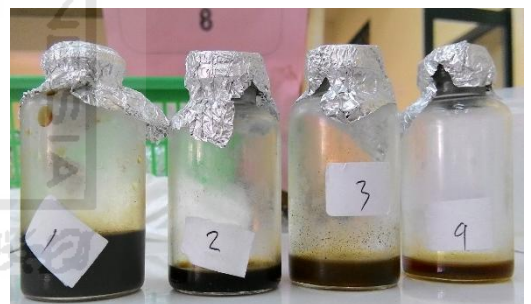
Gambar 9. Ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana



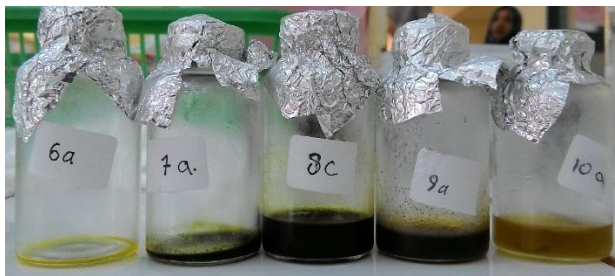
Gambar 10. Kromatografi vakum cair pada ekstrak n-heksana



Gambar 11. Kromatografi vakum cair pada ekstrak pekat etanol



Gambar 12. Fraksi dari ekstrak etanol



Gambar 13. Fraksi-fraksi dari ekstrak n-heksana : fraksi n-heksana (6), fraksi kloroform (7), fraksi etil asetat (8), fraksi etanol (9), dan fraksi metanol (10).



Gambar 14. Sampel uji HPLC, fraksi 1 dari ekstrak pekat etanol (A), fraksi 2 dari ekstrak pekat etanol (B), dan fraksi etil asetat dari ekstrak n-heksana (C).



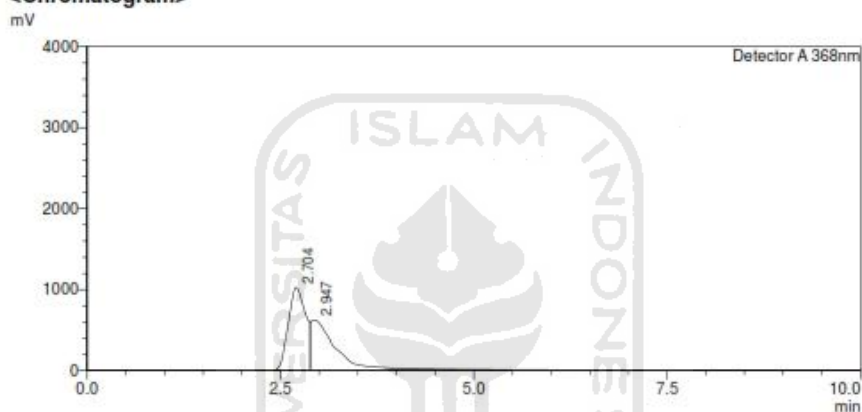
SHIMADZU
LabSolutions Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : Sampel Fraksi 1 ekstrak pekat etanol
 Sample ID :
 Data Filename : Sampel A.lcd
 Method Filename : Quercetin.lcm
 Batch Filename :
 Vial # : 1-1
 Injection Volume : 10 uL
 Date Acquired : 10/06/2016 13:31:39
 Date Processed : 10/06/2016 13:41:40

Sample Type : Unknown
 Acquired by : Yusuf H.
 Processed by : Yusuf H.

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A 368nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.704	16059321	1027087	50.230
2	2.947	15912323	621536	49.770
Total		31971644	1648623	100.000

SHIMADZU
LabSolutions

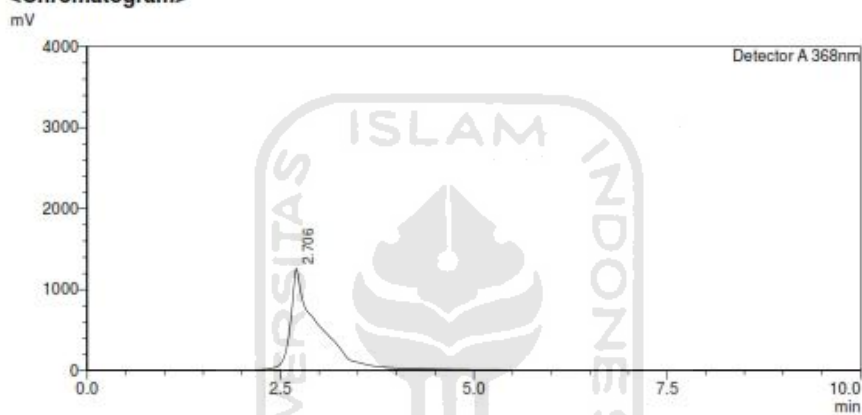
Analysis Report

<Sample Information>

Sample Name : Sampel Fraksi 2 ekstrak pekat etanol
 Sample ID :
 Data Filename : Sampel B.lcd
 Method Filename : Quercetin.lcm
 Batch Filename :
 Vial # : 1-2
 Injection Volume : 10 µL
 Date Acquired : 10/06/2016 13:43:43
 Date Processed : 10/06/2016 13:53:45

Sample Type : Unknown
 Acquired by : Yusuf H.
 Processed by : Yusuf H.

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A 368nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	2.706	33914388	1263686	100.000
Total		33914388	1263686	100.000

14/06/2016 13:30:38 Page 1 / 1

SHIMADZU
LabSolutions

Analysis Report

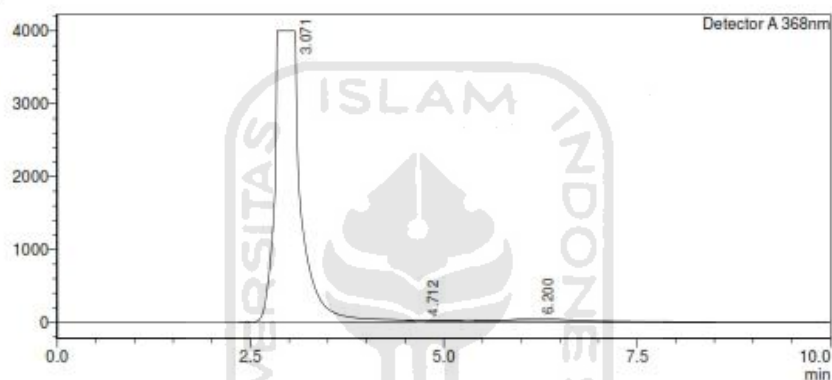
<Sample Information>

Sample Name : Sampel Fraksi etil asetat ekstrak n-heksana
 Sample ID :
 Data Filename : Sampel C.lcd
 Method Filename : Quercetin.lcm
 Batch Filename :
 Vial # : 1-3
 Injection Volume : 10 µL
 Date Acquired : 10/06/2016 14:15:57
 Date Processed : 10/06/2016 14:25:58

Sample Type : Unknown
 Acquired by : Yusuf H.
 Processed by : Yusuf H.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

Detector A 368nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	3.071	98639827	3999529	97.821
2	4.712	122994	5270	0.122
3	6.200	2074340	40824	2.057
Total		100837161	4045624	100.000

SHIMADZU
LabSolutions

Analysis Report

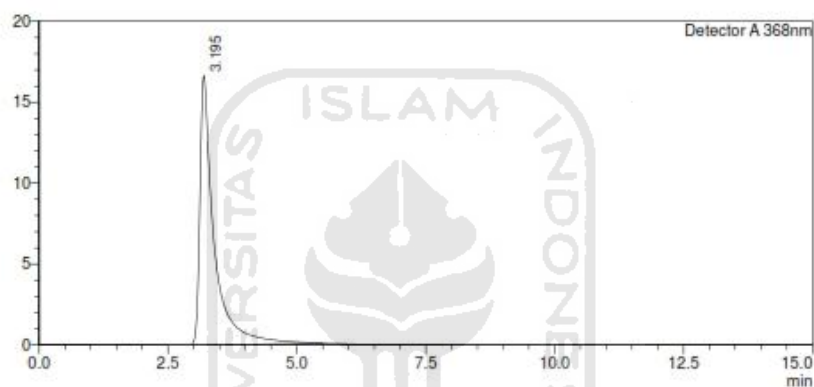
<Sample Information>

Sample Name : Quercetin 10ppm
 Sample ID :
 Data Filename : Quercetin 10ppm.lcd
 Method Filename : Quercetin.lcm
 Batch Filename :
 Vial # : 1-10
 Injection Volume : 10 uL
 Date Acquired : 17/03/2016 8:45:56
 Date Processed : 17/03/2016 9:00:57

Sample Type : Unknown
 Acquired by : Yusuf H.
 Processed by : Yusuf H.

<Chromatogram>

mV



<Peak Table>

Detector A 368nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%
1	3.195	321429	16659	100.000
Total		321429	16659	100.000