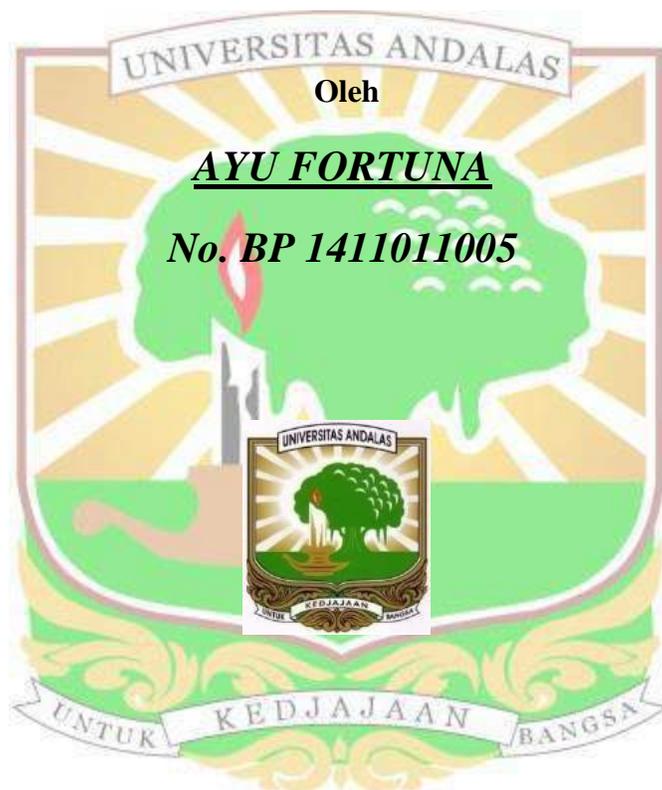


**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER DARI
FRAKSI ETIL ASETAT *Zingiber ottensii* Val.
DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA**

SKRIPSI SARJANA FARMASI



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG**

2018

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayu Fortuna
No. BP : 1411011005
Judul : Isolasi Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil
Asetat *Zingiber ottensii* Val. dan Uji Aktivitas
Antimikroba

Dengan ini menyatakan bahwa:

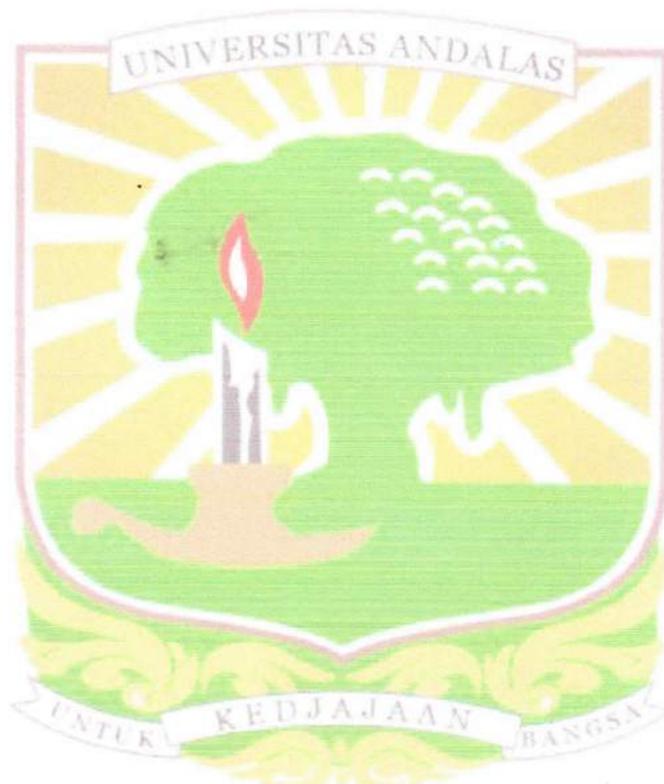
1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Padang, 19 November 2018



Ayu Fortuna

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian
Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas**



Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. H. Dayar Arbain, Apt.

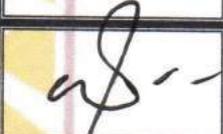
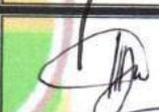
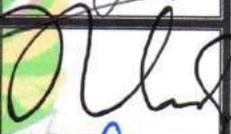
Prof. Dr. H. Dedi Prima Putra, Apt.

Skripsi Ini Telah Dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi

Fakultas Farmasi

Universitas Andalas Padang

Pada Tanggal : 19 November 2018

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Prof. Dr. Dayar Arbain, Apt	Ketua	
2	Prof. Dr. Deddi Prima Putra, Apt	Anggota	
3	Prof. Dr. Hj. Dian Handayani, Apt	Anggota	
4	Prof. Dr. Almahdy A, Apt	Anggota	
5	Deni Noviza, S.Farm, M.Si, Apt	Anggota	

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim

Segala puji bagi Allah SWT atas berkat, rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI ETIL ASETAT *Zingiber ottensii* Val. DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA**”. Skripsi ini dibuat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi dan sebagai syarat menyelesaikan pendidikan program strata satu Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

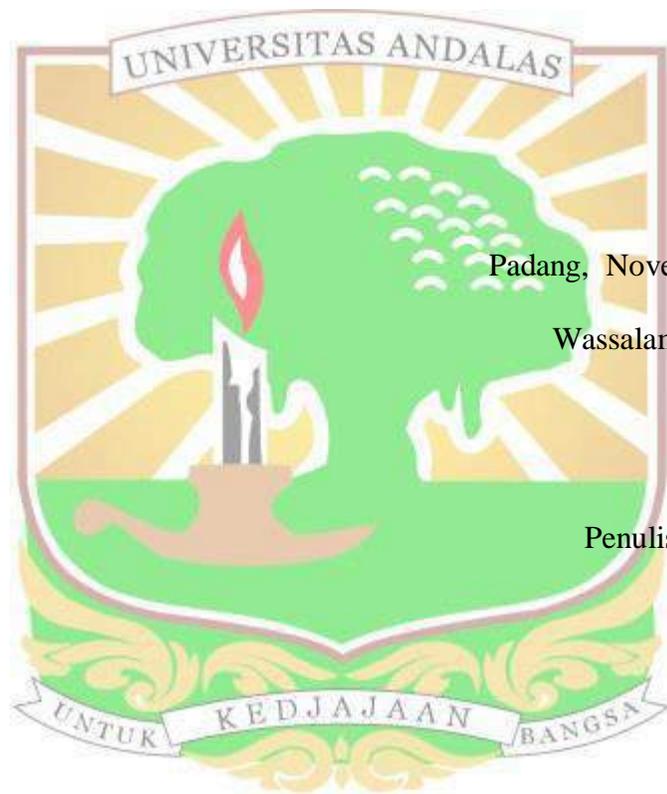
Terimakasih secara khusus penulis persembahkan kepada Bapak Prof. Dr. H. Dayar Arbain, Apt. selaku Pembimbing I, Bapak Prof. Dr. Deddi Prima Putra, Apt. selaku pembimbing II, yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian dan menyusun skripsi ini.

Rasa hormat dan terima kasih sebesar - besarnya juga penulis sampaikan kepada :

1. Kedua orang tua Drs. Asriyanto dan Elzawarti, serta Abang (Dendi Duta Perdana A.md,) dan seluruh keluarga besar, atas doa, dan dukungannya baik moril maupun materil yang tidak bisa diungkapkan dengan barisan kata.
2. Ibuk Prof., Henny Lucida, PhD, Apt. selaku penasehat akademik yang telah membimbing penulis selama menjalani perkuliahan di Fakultas Farmasi.
3. Kemenristekdikti yang memberikan dana hibah kompetensi (DA) tahun 2018 yang telah membantu biaya penelitian ini.

4. Seluruh dosen dan karyawan/ karyawan/ karyawati Fakultas Farmasi Universitas Andalas atas ilmu, perhatian, bimbingan juga bantuan yang telah diberikan.
5. Rekan sepembimbing kerja uni (Amelya Pradipta), yang telah sama-sama berjuang dari awal penelitian sampai akhir penelitian dan mendapatkan gelar sarjana farmasi bersama.
6. Kakak dan Abang Biologi (Kak Suer, Kak Ayi, Bang Ipen, Bang Nando) yang telah memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya dalam pengambilan sampel penelitian.
7. Kakak dan Abang LBS (Kak Mei, Kak Ica, Kak Yozi, Bang Nanda, Bang Nop, Kak Mita dan Yoan Yasril) yang telah membantuk penulis selama proses penelitian.
8. Sahabat WE (Rezti Sawitri Amelia, Retno Gustia Sari, dan Yasherly Febriana), yang selalu menemani, menyemangati dan selalu ada dalam suka dan duka.
9. Sahabat Pejuang S.Farm (Lola Hifzil Furqoni, Grace Kristi dan Pacar Kevin sanjaya s), yang selalu menemani, menyemangati dans selalu ada dalam suka.
10. Rekan Isolasi Keceh (Laura, Kak Loly, Nuning, dan Uni Amel), yang telah sama-sama berjuang dalam penelitian ini.
11. Rekan-Rekan Farmasi 2014 (INCENDIO) dan teman – teman yang selalu hadir dan mendukung dalam seminar (Ira, Uca, Indah WW, Ara, Eka Z, Rama, Nova teman sekamar) yang selalu memberi semangat dan menjadi rekan selama proses perkuliahan.

Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu dengan segala krendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran atas kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini. Semoga penelitian ini dan penjabaran yang ditulis dalam skripsi ini dapat bermanfaat di kemudian.



Padang, November 2018

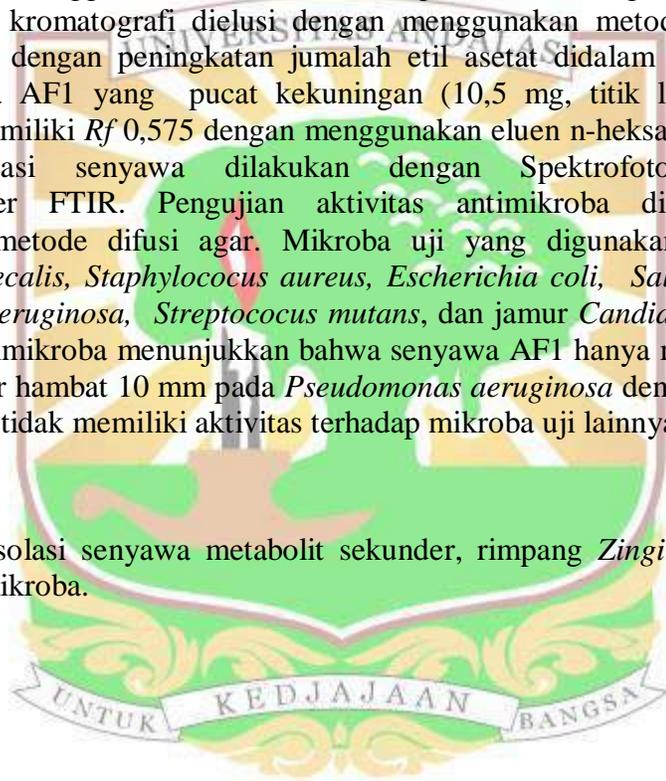
Wassalam

Penulis

ABSTRAK

Penelitian tentang isolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat rimpang *Zingiber ottensii* Val. dan uji aktivitas antimikroba telah dilakukan. Penelitian ini dilatarbelakangi oleh kurangnya informasi mengenai pemanfaatan rimpang dari *Zingiber ottensii* Val. khususnya di Indonesia. Tujuannya adalah untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder fraksi etil asetat dan melakukan uji aktivitas antimikroba terhadap senyawa hasil isolasi. Ekstraksi dilakukan menggunakan menggunakan pelarut metanol, kemudian di fraksinasi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat menghasilkan fraksi non polar dan semi polar. Pemisahan fraksi etil asetat menggunakan metode kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel 60. Kolom kromatografi dielusi dengan menggunakan metode *Step Gradient Polarity* (SGP) dengan peningkatan jumlah etil asetat didalam n-heksana. Hasil isolasi senyawa AF1 yang pucat kekuningan (10,5 mg, titik leleh 226-227°C). Senyawa ini memiliki *R_f* 0,575 dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (2: 3). Karakterisasi senyawa dilakukan dengan Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer FTIR. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Mikroba uji yang digunakan adalah bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, dan jamur *Candida albicans*. Hasil uji aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa senyawa AF1 hanya memiliki aktivitas dengan diameter hambat 10 mm pada *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 1 µg/cakram, dan tidak memiliki aktivitas terhadap mikroba uji lainnya.

Kata Kunci : Isolasi senyawa metabolit sekunder, rimpang *Zingiber ottensii* Val., Aktivitas Antimikroba.



ABSTRACT

Research on isolation of secondary metabolites from *Zingiber ottensii* Val. ethyl acetate fraction and antimicrobial activity test have been carried out. This research is motivated by the lack of information about the use of rhizome of the *Zingiber ottensii* Val. especially in Indonesia. The aim of this research to obtain a secondary metabolites of ethyl acetate fraction and to conduct the antimicrobial activity of the isolated compounds. Extraction was carried out by using methanol, then fractionated with n-hexane and ethyl acetate to produce non-polar and semi-polar fractions. Separation of ethyl acetate fraction was done by using column chromatography using silica gel 60 as a stationary phase. Chromatographic column was eluted by using Step Gradient Polarity (SGP) the increasing amount of ethyl acetat in hexane. This yields compound AF1 as pale yellowish crystals (10.5 mg, mp 226-227 °C). This compound gave a *R_f* of 0.575 using n-hexane: ethyl acetate (2: 3) eluent. Compound characterization was carried out with UV-Vis Spectrophotometer, FTIR Spectrophotometer. Antimicrobial activity was carried out using agar diffusion method. The test microbes used were bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, and fungus *Candida albicans*. Antimicrobial activity test results showed that AF1 compounds only had activity with a diameter of 10 mm inhibition on *Pseudomonas aeruginosa* at concentration of 1 µg/disc, and had no activity against other microbes.

Keywords: Isolation of secondary metabolites, *Zingiber ottensii* Val. rhizome, Antimicrobial activity.



DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	i
PENGESAHAN	ii
PERTAHANAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DARTAR ISI	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. <i>Zingiber ottensii</i> Val.	4
2.1.2 Taksonomi <i>Zingiber ottensii</i> Val.	4
2.1.3 Nama Daerah <i>Zingiber ottensii</i> Val.	4
2.1.4 Morfologi <i>Zingiber ottensii</i> Val.	4
2.1.5 Penggunaan Secara Tradisional <i>Zingiber ottensii</i> Val.	5
2.1.6 Kandungan Kimia <i>Zingiber ottensii</i> Val.	5
2.1.7 Kandungan Kimia Aktif Genus <i>Zingiber</i>	8
2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi	8



2.2.1 Ekstraksi	8
2.2.2 Fraksinasi	9
2.3 Metode Kromatografi dan Pemurnian	9
2.4 Identifikasi Senyawa	10
2.4.1 Kromatografi lapis Lipis (KLT)	10
2.4.2 Spektrosfotometer UV-Vis	11
2.4.3 Spektroskopi FTIR	12
2.5 Pengujian Aktivitas Antimikroba	13
2.5.1 Antibiotik	13
2.5.2 Antibakteri	13
2.5.3 Antijamur	14
2.5.4 Bakteri Uji	14
2.5.4 Metode Pengujian Antimikroba	16
II. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat	18
3.2 Metode Penelitian	18
3.3 Alat dan Bahan	18
3.3.1 Alat	18
3.3.2 Bahan	19
3.4 Cara kerja	19
3.4.1 Pengambilan Sampel	19

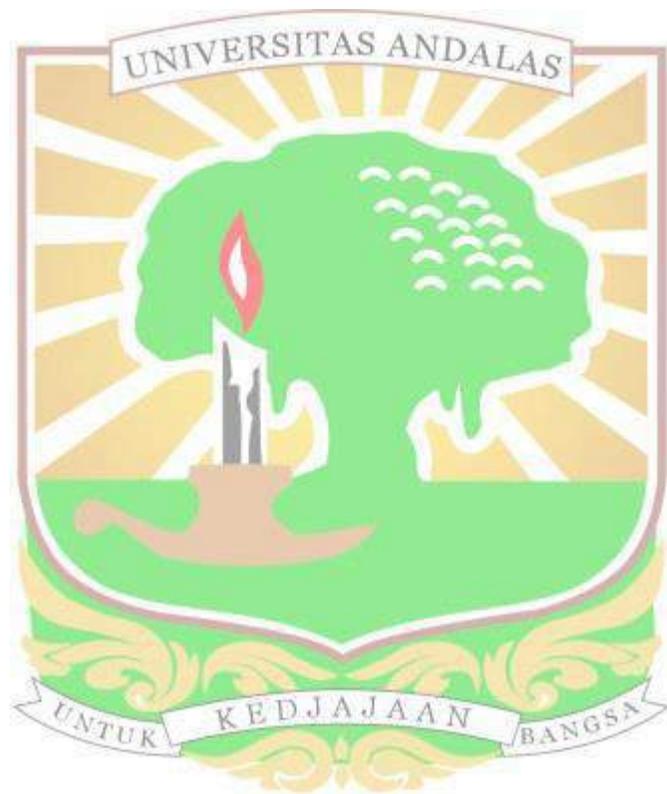


3.4.2 Identifikasi Sampel	20
3.4.3 Penyiapan Sampel	20
3.4.4 Ekstraksi	20
3.4.5 Isolasi	20
3.5 Identifikasi Senyawa	21
3.6 Uji Aktivitas Antimikroba	23
3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	23
3.6.2 Pembuatan Media Pembenihan	23
3.6.3 Pengujian Aktivitas Antimikroba	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Hasil	26
4.2 Pembahasan	28
V. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40



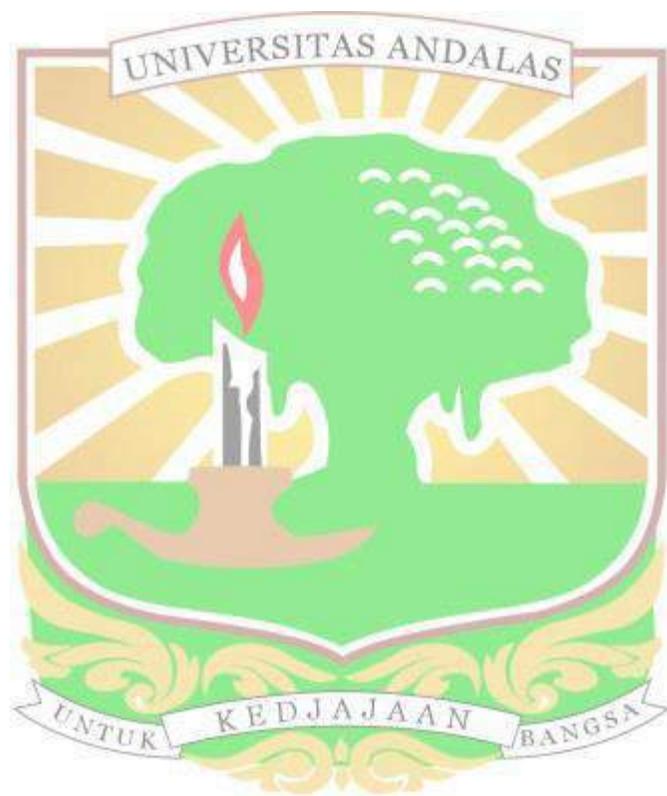
DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Identifikasi Sampel	40
Lampiran 2. Data Hasil Penelitian	41
Lampiran 3. Skema Kerja Penelitian	56



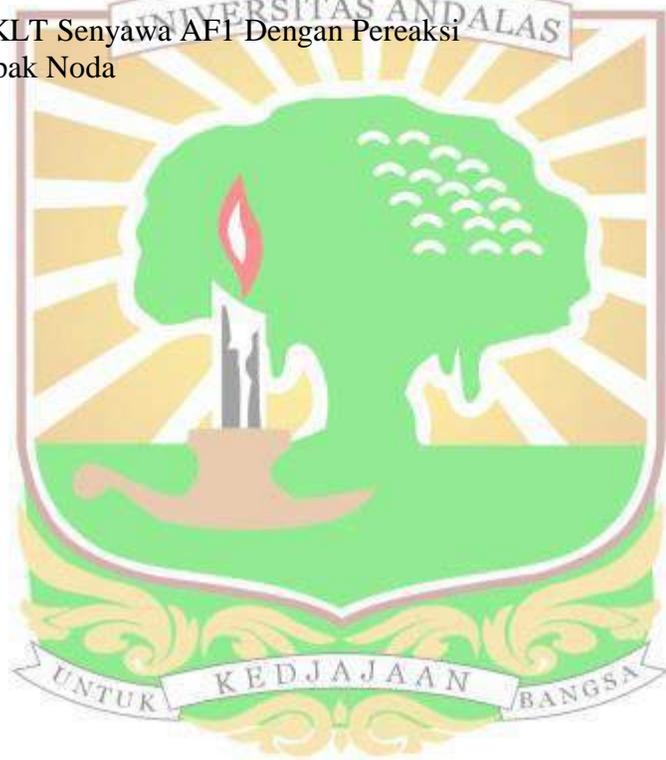
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Zingiber Ottensii</i> Val.	5
Gambar 2. Terpenoid yang terdapat pada rimpang <i>Zingiber ottensii</i> Val.	6
Gambar 3. Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Rimpang <i>Zingiber ottensii</i> yang diekstrak dengan diklorometana	7
Gambar 4. Struktur Senyawa Ottensinin	7
Gambar 5. Struktur gingerol dan Struktur kurkumin	8
Gambar 6. Senyawa Hasil Isolasi	41
Gambar 7. Spektrum UV Senyawa AF1	42
Gambar 8. Spektrum Serapan Sinar Inframerah Senyawa AF1	43
Gambar 9. Profil KLT Fraksi Etil Asetat Rimpang <i>Zingiber Ottensii</i> Val.	44
Gambar 10. Profil KLT Senyawa AF1 (1)	45
Gambar 11. Profil KLT Senyawa AF1 (2)	45
Gambar 12. Profil KLT dengan FeCl ₃	46
Gambar 13. Profil KLT dengan pereaksi Lieberman Burchard	47
Gambar 14. Profil KLT Vanilin Sulfat	47
Gambar 15. Profil KLT dengan pereaksi Dragendorf	48
Gambar 16. Profil KLT dengan pereaksi Sitroborat	48
Gambar 17. Pengujian terhadap <i>S. tyhosa</i>	49
Gambar 18. Pengujian terhadap <i>E. coli</i>	50
Gambar 19. Pengujian terhadap <i>S. aureus</i>	51
Gambar 20. Pengujian terhadap <i>P. aeuroginosa</i>	52
Gambar 21. Pengujian terhadap <i>S. mutans</i>	53
Gambar 22. Pengujian terhadap <i>E. faecalis</i>	54
Gambar 23. Pengujian terhadap <i>C. albicans</i>	55
Gambar 24. Skema Ekstraksi dan Fraksinasi rimpang <i>Zingiber ottensii</i> Val.	56



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Uji Daya Hambat Antimikroba	27
Tabel 2. Data Karakteristik Isolat	41
Tabel 3. Data Spektrum UV Senyawa AF1	42
Tabel 4. Data Serapan Sinar Inframerah Senyawa AF1	43
Tabel 5. Profil KLT Senyawa AF1 Dengan Berbagai Eluen	45
Tabel 6. Profil KLT Senyawa AF1 Dengan Pereaksi Penampak Noda	46



BAB 1 PENDAHULUAN

Tanaman telah lama digunakan sebagai sumber dari obat – obatan. Zingiberaceae merupakan salah satu famili yang memiliki lebih dari 1000 spesies, dan banyak digunakan sebagai sumber dari obat – obatan. Tanaman ini tumbuh di wilayah tropis termasuk di Indonesia. Salah satu tanaman yang tumbuh liar di Indonesia adalah bunglai hantu (*Zingiber ottensii* Val.), tetapi belum banyak ditemukan informasi mengenai penggunaan tanaman ini sebagai obat tradisional ataupun kandungan kimianya (Sinaga *et al.*, 2000).

Dari skrining Fitokimia ekstrak etanol rimpang *Zingiber ottensii* Val. diketahui mengandung senyawa kimia, kelompok ; Tanin, saponin dan triterpenoid (Sulaeman, 2017). Ekstrak protein yang menggunakan pelarut diamonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ rimpang *Zingiber ottensii* Val. ditemukan mengandung senyawa sistein protease, zingipain, yang memiliki aktivitas sebagai antiproliferatif sel HEP-G2 (kanker hati), SW620 (kanker usus besar) pada manusia dan dapat melawan jamur *Exserohilum turicicum* dan *Fusarium oxysporum* (Karnchanatet *et al.*, 2011)

Ekstrak diklorometana dan metanol rimpang *Zingiber ottensii* Val. memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antioksidan dan antialergi (Habsahet *et al.*, 2000). Destilat rimpang *Zingiber ottensii* Val. yang berasal dari Sabah, Malaysia ditemukan mengandung minyak essensial, dengan komponen utama zerumbon, terpinen-4-ol, α -humulene, dan sabine dalam jumlah yang cukup banyak (Sirat *et al.*, 1994).

Jenis zingiber yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional yang tidak asing lagi digunakan oleh masyarakat adalah jahe (*Zingiber officinale* Rosc). Tanaman jahe adalah salah satu bumbu dapur juga digunakan sebagai tanaman obat (Tim, 2004). Jahe biasanya digunakan untuk melancarkan ASI, mengobati batuk, membangkitkan nafsu makan, mengobati mulas, perut kembung, gatal (sebagai obat luar), sakit kepala, dan sebagai obat luar bakar (Agromedia, 2008). Bengle (*Zingiber casumunar*) secara tradisional dipergunakan sebagai obat sakit kuning, demam, sakit kepala, batuk berdahak, perut nyeri, masuk angin, sembelit, cacangan, rematik, mengecilkan perut pasca melahirkan dan kegemukan (Hartati *et al.*, 2013). Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan untuk pengobatan secara tradisional berbagai penyakit, seperti batuk, pilek, sakit perut, diare, sakit tenggorokan, penyakit kulit (Koga, 2016). Diperkirakan tumbuhan *Zingiber ottensii* Val. ini juga mengandung senyawa yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan, untuk itu kami akan mencoba melakukan isolasi komponen senyawa yang berasal dari fraksi etil asetat tumbuhan ini, sekaligus mengetahui bioaktivitas antimikrobanya.

Metode yang dilakukan untuk mengisolasi komponen kimia dari rimpang *Zingiber ottensii* Val. adalah penyarian secara maserasi, pemisahan awal fraksinasi pada fraksi etil asetat, pemeriksaan dengan kromatografi lapis tipis, pemurnian dengan kromatografi kolom dan rekristalisasi.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi meliputi pemeriksaan organoleptis, penentuan titik leleh, pemeriksaan kromatografi lapis tipis (KLT), spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-Vis), spektrofotometer *fourier transform*

infrared (FTIR), dan uji identifikasi golongan senyawa menggunakan penampak noda, serta pengujian aktivitas antimikroba dari senyawa hasil isolasi dan fraksi etil asetat dari rimpang *Zingiber ottensii* Val. dilakukan terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif, jamur dan diamati apakah memiliki efek daya hambat terhadap mikroba uji.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Zingiber ottensii* Val.

2.1.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber ottensii</i> Val. (Marsusiet <i>al.</i> , 2001)



2.1.2 Nama Daerah

Zingiber ottensii Val. memiliki nama daerah panglai hideung (Sunda), bunglai hantu (Sumatera), lampoyang hitam, kunyit hitam, berseh hitam (Malaysia), phai dam dan pai muang (Bangkok) (Siriruga, 1999).

2.1.3 Morfologi

Zingiber ottensii Val. merupakan tanaman herba semusim, berbatang tegak setinggi 2 m, tumbuh merumpun dan rapat, batangnya semu, beralur. Rimpang berwarna ungu dan berbau tajam. Daun tunggal, berbentuk lanset, dan ujung meruncing. Bunga majemuk, berbentuk bulir, bertangkai

dan berujung runcing. Buah berbentuk kotak. Biji berbentuk bulat, berwarna hitam (Agromedia, 2008).



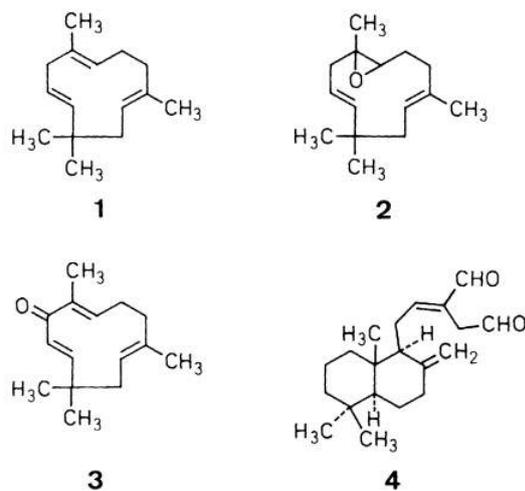
Gambar 1. *Zingiber ottensii* Val.

2.1.4 Penggunaan secara tradisional

Zingiber ottensii Val. secara tradisional dapat digunakan sebagai penghilang rasa sakit, dan kadang digunakan untuk menyembuhkan demam dan batuk terutama untuk anak-anak (Sinagaret *al.*, 2000). Rimpang *Zingiber ottensii* Val. dapat dimanfaatkan sebagai penenang kejang dan sebagai obat sakit pinggang (Sirirugsa, 1999).

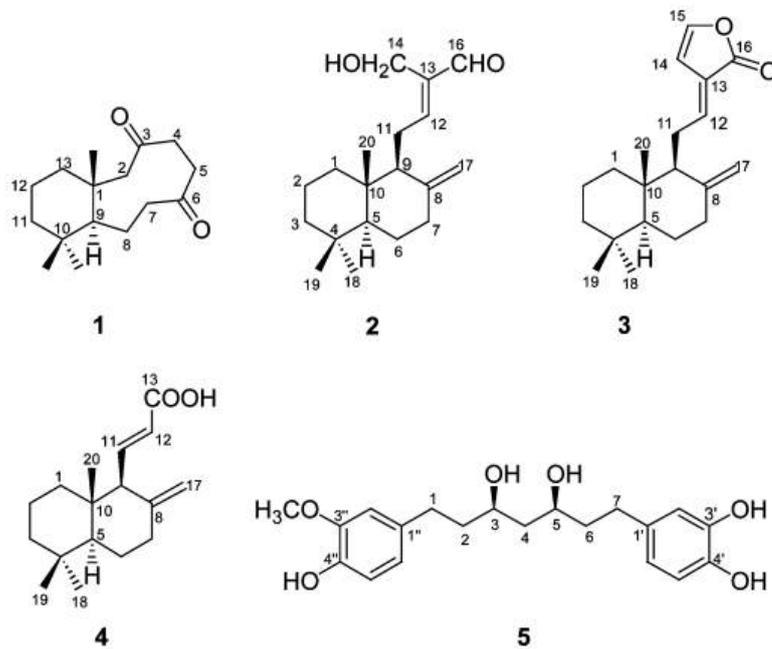
2.1.5 Kandungan Kimia

Ekstrak CHCl_3 rimpang *Zingiber ottensii* Val. mengandung tiga seskuiterpen yaitu (1) humulene, (2) humulene epoxide, (3) zerombone dan satu diterpen yaitu (4) (*E*)-labda-8(17),12-diene-15,16-dial dengan struktur senyawa seperti di bawah ini (Sirat, 1994).



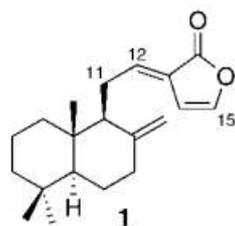
Gambar 2. Terpenoid yang terdapat pada rimpang *Zingiberottensii* Val. (Sirat, 1994).

Menurut Akiyama *et al.*, 2006, telah ditemukan terpenoid dan diarylterpenoid baru yang terdapat pada rimpang tumbuhan bengle hantu yang diekstrak dengan pelarut diklorometana (CH_2Cl_2) yaitu; **(1)** *1,10,10-trimethylbicyclo[7,4,0]tridecane-3,6-dione*, **(2)** *(E)-14-hydroxy-15-norlabda-8(17),12-dien-16-al*, **(3)** *(E)-labda-8(17),12,14-trien-15(16)-olide*, **(4)** *(E)-14,-15,16-trinorlabda-8(17),11-dien-13-oic acid*, dan **(5)** *rel-(3R,5S)-3,5-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7(3,4-dihydroxyphenyl) heptanes*, dengan struktur senyawa seperti di bawah ini.



Gambar 3. Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Rimpang *Zingiber ottensii* Val. yang diekstrak dengan diklorometana (Akiyama *et al.*, 2006).

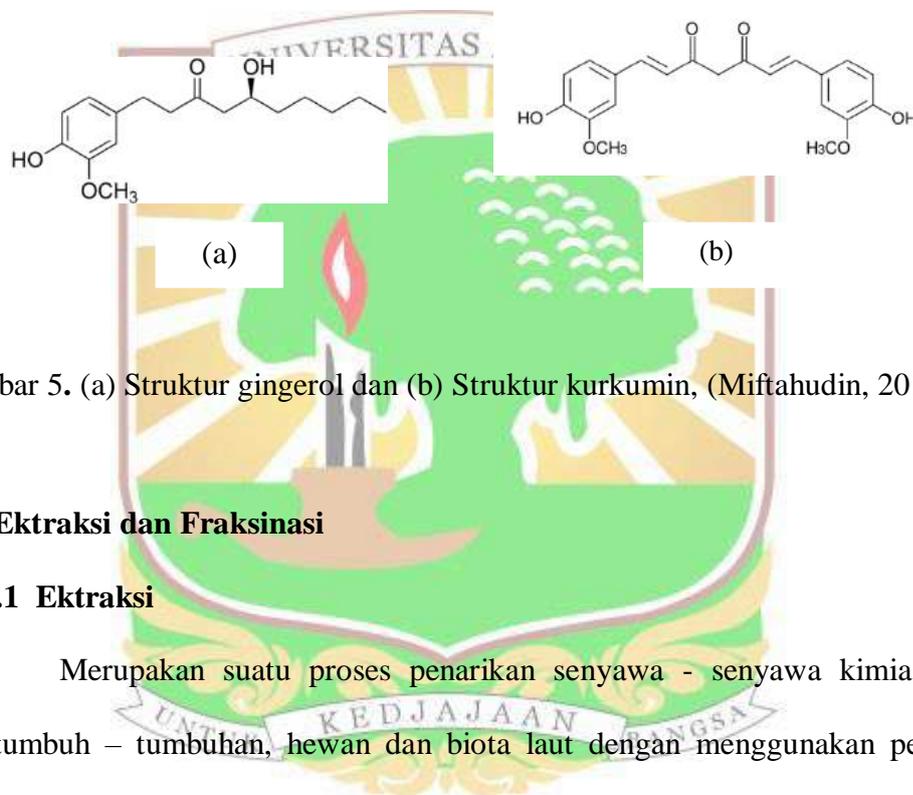
Menurut Boukouvalas dan Wang, 2008, dilaporkan bahwa rimpang *Zingiber ottensii* Val. mengandung senyawa baru yaitu ottensinin yang didapatkan dari revisi struktur menggunakan data spektrum RMI dari α -ylidenebutenolide 1 menjadi γ -pyrone 2



Gambar 4. Struktur Senyawa Ottensinin (BoukouVal.as dan Wang, 2008)

2.1.6 Kandungan Kimia Aktif Genus Zingiber

Kandungan kimia aktif dari jahe (*Zingiber officinale* Rosc) yaitu, gingerol (Hargono *et al*, 2013). Bengle (*Zingiber casumunar*) yaitu, kurkumin (Miftahudin, 2010). Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) yaitu, zerumbon (Suhirman, 2006).



Gambar 5. (a) Struktur gingerol dan (b) Struktur kurkumin, (Miftahudin, 2010).

2.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

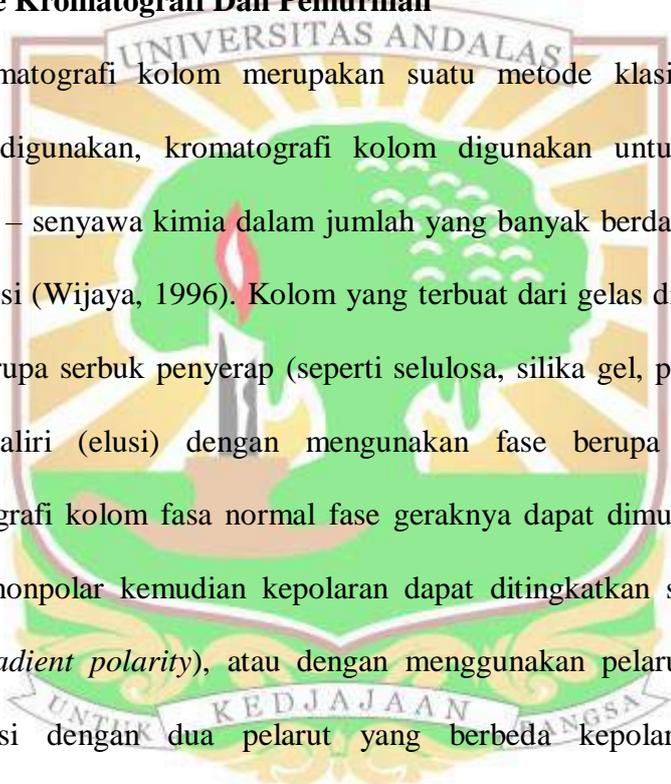
2.2.1 Ekstraksi

Merupakan suatu proses penarikan senyawa - senyawa kimia dari tumbuh - tumbuhan, hewan dan biota laut dengan menggunakan pelarut tertentu. Cara ini digunakan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini berdasarkan prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Perpindahan terjadi pada lapisan antar muka lalu berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987).

2.2.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan penyederhanaan kelompok kandungan kimia ekstrak berdasarkan sifat fisika dan kimia. Ekstrak hasil maserasi diuapkan pelarutnya sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak ini difraksinasi dengan menggunakan berbagai pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda dan tidak saling bercampur (Harbone, 1987).

2.3 Metode Kromatografi Dan Pemurnian



Kromatografi kolom merupakan suatu metode klasik yang masih banyak digunakan, kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan senyawa – senyawa kimia dalam jumlah yang banyak berdasarkan adsorpsi dan partisi (Wijaya, 1996). Kolom yang terbuat dari gelas diisi dengan fase diam berupa serbuk penyerap (seperti selulosa, silika gel, poliamida). Fase diam dialiri (elusi) dengan menggunakan fase berupa pelarut. Pada kromatografi kolom fasa normal fase geraknya dapat dimulai dengan dari pelarut nonpolar kemudian kepolaran dapat ditingkatkan secara bertahap (*step gradient polarity*), atau dengan menggunakan pelarut tunggal atau kombinasi dengan dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai dengan tingkat kepolaran yang dibutuhkan (isokratik). Sampel yang mengandung senyawa kimia di tuang dibagian atas kolom, kemudian sampel dielusi dengan menggunakan fase gerak berupa pelarut. Setiap senyawa kimia/komponen kimia dalam campuran akan akan didorong oleh fase gerak dan akan ditahan oleh fase diam (Gritter, 1991).

Subfraksi yang keluar dari kolom kromatografi ditampung dan di monitor dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Subfraksi – subfraksi yang memiliki nilai R_f yang sama digabungkan, kemudian pelarutnya diuapkan dan diperoleh beberapa subfraksi. Senyawa hasil kolom kromatografi umumnya senyawa murni dan salah satu cara mendapatkan senyawa murni adalah dengan cara rekristalisasi (Gritter, 1991).

Proses rekristalisasi dilakukan dengan cara melarutkan senyawa hasil isolasi dengan menggunakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa dan dekat dengan titik didihnya, penyaringan larutan panas dari partikel yang tidak larut, pemisahan kristal dari larutan induknya. Pada proses ini dapat diulang beberapa kali sampai dihasilkan senyawa murni dengan titik lebur konstan. Senyawa tersebut dapat larut dengan pelarut yang sesuai, jika tidak dapat melarutkan dengan pelarut tunggal maka dapat digunakan pelarut campur. Senyawa tersebut dilarutkan dengan pelarut yang mudah melarutkannya kemudian ditambahkan pelarut lain yang bisa ditambahkan dalam keadaan panas sampai timbul kekeruhan, kemudian panaskan kembali dan tambahkan pelarut mula-mula untuk menghilangkan kekeruhan, biarkan pada suhu kamar dan dinginkan sampai timbul kristal (Gritter, 1991)

2.4 Identifikasi senyawa

2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (disingkat KLT) atau dalam bahasa Inggris disebut *Thin Layer Chromatogram* (TLC) merupakan salah satu

kromatografi plannar disamping kromatografi kertas. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya dikemas dalam bentuk kolom, berbeda dengan kromatografi lapis tips (KLT) fase diamnya dapat berupa lapisan seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik. Parameter yang digunakan untuk menganalisis secara kualitatif adalah nilai R_f . Nilai R_f adalah nilai yang didapatkan dengan membagi jarak yang ditempuh sampel dengan jarak yang ditempuh pelarut dari penotolan awal (Gandjar dan Rohman, 2009).

2.4.2 Spektrofotometer ultraviolet dan visible (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang di absorpsi oleh sampel. Spektrofotometer UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200 – 400 nm dan pada cahaya tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004). Apabila radiasi elektromagnetik dikenakan pada suatu molekul atau atom maka sebagian dari radiasi tersebut diserap oleh molekul atau atom tersebut sesuai dengan strukturnya yang mempunyai gugus kromofor (Mulja, 1990). Ketika suatu atom atau molekul menyerap cahaya maka energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi tersebut tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar

ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya disebut dengan kromofor (Dachriyanus, 2004).

2.4.3 Spektroskopi FTIR

Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) adalah metode spektroskopi inframerah yang dilengkapi *transformasi fourier* untuk menganalisis hasil spektrumnya. Metode spektroskopi yang digunakan adalah metode absorpsi, merupakan metode spektroskopi yang didasarkan atas perbedaan penyerapan radiasi inframerah. Absorpsi inframerah dapat terjadi jika terpenuhi dua syarat, yaitu kesesuaian antara frekuensi radiasi inframerah dengan frekuensi vibrasional molekul sampel dan perubahan moment dipol selama bervibrasi. Atom – atom dalam molekul tidak diam melainkan bergetar (vibrasi) serta berotari pada sumbu keseimbangan. Jika suatu molekul menyerap sinar inframerah, maka dalam molekul tersebut terjadi perubahan tingkat energi vibrasi dan rotasi dari keadaan tingkat energi rendah ke tingkat energi yang tinggi. Supaya molekul dapat menyerap sinar inframerah, maka getaran vibrasi dan rotasi molekul tersebut harus disertai osilasi moment dipol yang terdapat dalam molekul tersebut sama frekuensi IR yang diserap. Penyerapan energi inframerah merupakan proses yang terukur, hanya energi tertentu dari radiasi inframerah yang diserap molekul, sesuai dengan kisaran frekuensi vibrasi rentangan (stretching)

dan vibrasi bengkokan (bending) dari momen dipole (Catwal, 1985). Jika suatu frekuensi tertentu dari radiasi inframerah dilewatkan pada sampel suatu senyawa organik maka akan terjadi penyerapan frekuensi oleh senyawa tersebut. Detektor akan mendeteksi frekuensi yang dilewatkan pada sampel yang tidak diserap oleh senyawa. Banyaknya frekuensi yang melewati senyawa (yang tidak diserap) akan diukur sebagai persen transmittan. Serapan yang tinggi akan memberikan informasi penting tentang ikatan yang ada dalam senyawa. (Dachriyanus, 2004)

2.5 Pengujian Aktivitas Antimikroba

2.5.1 Antibiotik

Antibiotik adalah suatu zat biokimia yang dihasilkan yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mana dapat menghambat suatu pertumbuhan atau bahkan bisa membunuh pertumbuhan mikroorganisme lainnya (Harmita dan Radji, 2008). Turunan dari antibiotik dapat dibuat secara semi sintesis atau sintesis (Tjay dan Rahardja, 2007)

2.5.2 Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat membunuh, menekan pertumbuhan, dan menghambat reproduksi dari bakteri. Suatu zat antibakterial harus bersifat toksisitas selektif, artinya bahwa suatu obat berbahaya terhadap parasit tetapi tidak membahayakan tuan rumah (hospes). Zat antibakteri terbagi atas dua kelompok yaitu antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

(bakteriostatik) dan antibakteri yang dapat membunuh bakteri (bakteriosid) (Talaro, 2008)

2.5.3 Antijamur

Antijamur memiliki dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistatik. Pengertian fungisidal adalah senyawa yang dapat membunuh jamur, sedangkan fungistatik adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa membunuh jamur itu sendiri. Tujuan utama dalam pengendalian jamur yaitu untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membunuh jamur dan inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan dan kerusakan oleh jamur (Pelczar and Chan, 1998).

2.5.4 Bakteri Uji

2.5.4.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat dan berdiameter 0,5-1,5 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur (Kloss dan Bannerman, 1994). *S.aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit seperti, inflamasi pada kulit, infeksi pernapasan, mastitis, sepsis dan sindrom syok toksik (Bhatia dan Zahoor, 2007).

2.5.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif, aerob, dan bergerak dengan menggunakan flagel, dan merupakan bakteri oportunistik (Todar, 2004)

2.5.3.3 *Salmonella typhosa*

S. typhosa merupakan kuman batang Gram-negatif, yang tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik (Iswari, 1998). *S. typhosa* merupakan kuman patogen penyebab demam tifoid, yaitu suatu infeksi sistemik dengan gambaran demam yang berlangsung lama, adanya bakterimia di sertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ-organ hati (Tria dan Triningsih, 1998).

2.5.3.4 *Streptococcus mutans*

S. mutans merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat (coccus) dengan diameter 0,5-2,0 μm , tidak bergerak, tidak berspora dan bersifat fakultatif anaerob (Aviles, 2014). *S. mutans* merupakan penyebab utama terbentuknya karies gigi (Lemos, 2013).

2.5.3.5 *Escherichia coli*

E. coli adalah bakteri Gram-negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora, mikroorganisme ini tidak umum hidup atau terdapat dalam air, sehinggalah keberadaannya dalam air dapat dianggap sebagai

petunjuk terjadinya pencemaran kotoran dalam arti luar, baik dari kotoran hewan maupun manusia (Purnawijayanti, 2001).

2.5.3.6 *Enterococcus faecalis*

E. faecalis adalah bakteri fakultatif anaerob Gram-positif yang berbentuk kokus, dapat tumbuh dengan ada atau tidaknya oksigen dan merupakan flora normal pada manusia yang biasanya terdapat pada rongga mulut, saluran gastrointestinal dan saluran vagina. Bakteri ini dapat menginfeksi saluran urin, pembuluh darah, endokardium, lambung, saluran empedu, luka bakar dan lain-lain (Siqueira, *et al.*, 2002).

2.5.3.7 *Candida albicans*

C. Albicans merupakan jamur opportunistik penyebab sariawan, lesi pada kulit, vulvovaginitis, candida pada urin (candiduria), gastrointestinal kandidiasis yang dapat menyebabkan *gastric ulcer*, atau dapat menyebabkan komplikasi kanker (Kurniawan, 2009)

2.5.4 Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba suatu sampel dapat dideteksi dengan mengamati respon pertumbuhan berbagai jenis mikroba yang berkontak dengan sampel tersebut. Metode pengujian dilakukan dengan menggunakan tiga cara yaitu :

a. Metode dilusi cair atau dilusi padat

Pada prinsipnya sejumlah obat antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair dimana masing-masing konsentrasi obat ditambahkan suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat akan dicampurkan dengan media agar kemudian akan ditanami kuman dan diinkubasi. Setelah masa inkubasi selesai maka selanjutnya diperiksa sampai konsentrasi berapa obat dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 1986)

b. Metode difusi

Pada metode ini suatu cakram kertas saring atau cawan berling renik atau suatu silinder tidak beralas yang sudah mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada media pada yang telah ditanami biakan kuman yang akan diperiksa. Setelah inkubasi selesai garis tengah daerah hambat jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambat obat terhadap organisme yang diperiksa (Jawetz *et al.*, 1986)

c. Metode bioautografi

Bioautografi adalah metode yang spesifik dimana digunakan untuk mengetahui zat yang memiliki aktivitas antimikroba pada kromatogram hasil KLT. Metode ini berdasarkan metode difusi, dimana sampel akan berdifusi dari kromatogram menuju medium yang telah diinokulasi dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan Pada bulan Maret – Oktober 2018, di Laboratorium Biota Sumatra, Laboratorium Sentral, Kebun Tanaman Obat, Farmasi, Universitas Andalas, Padang.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian ini bersifat eksperimental. Rancangan penelitian yang dilakukan adalah :

- a. Penyiapan alat dan bahan
- b. Penyiapan sampel
- c. Isolasi
- d. Identifikasi senyawa hasil isolasi
- e. Uji aktivitas Antimikroba

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Untuk Isolasi; wadah maserasi, seperangkat alat destilasi vacum, seperangkat *alat rotary evaporator*, seperangkat *alat grinder*, corong, corong pisah, *timbangan* analitik, pisau, gelas ukur, pinset, *chamber* KLT, aluminium foil, timbangan, lampu UV 254 nm dan 365 nm, *fisher-john Melting Point*

Apparatus, Spektrofotometer UV-Vis, Spektrofotometer FT-IR, spatel, pipet tetes, erlenmeyer, pipa kapiler kecil, botol vial 10 ml, botol Infus (100 ml, 500 ml), penangas air, kolom kromatografi.

Untuk uji antimikroba; tabung reaksi, cawan petri, pipet mikro, Erlenmeyer, jarum ose, lampu spritus, batang pengaduk, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, labu ukur, autoklaf, timbangan analitik, vortex, *hot plate*.

3.3.2 Bahan

Untuk Isolasi; sampel rimpang *Zingiber ottensii* Val., plat silika 60 F₂₅₄, metanol, n-hexan, etil asetat, DCM, Kloroform, aquades, kapas, silika gel 60.

Untuk uji anti mikroba; mikroba uji (Bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, dan jamur *Candida albicans*), senyawa hasil isolasi, fraksi etil asetat, aquadest, kertas cakram, *cotton bud*, alkohol 70%, Larutan NaCl fisiologis, kloramfenikol, nistatin, dimetil sulfoksida (DMSO), kasa, kapas, benang,



3.4 Cara kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel rimpang *Zingiber ottensii* Val. dipanen langsung di pekarangan Laboratorium Biota Sumatra, Universitas Andalas.

3.4.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi Sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA).

3.4.3 Penyiapan sampel

Sampel rimpang *Zingiber ottensii* Val. sebanyak 9,6 kg dipanen langsung di pekarangan Laboratorium Biota Sumatra Universitas Andalas. Sampel dicuci bersih dari tanah dan dihilangkan akar yang terdapat pada rimpang, rimpang diiris tipis, dikeringkan ke dalam oven dengan suhu 50° C selama 3 hari, dihaluskan dengan menggunakan grinder, sehingga didapatkan sebanyak 1,45 kg sampel yang telah kering dan halus.

3.4.4 Ekstraksi

Sampel rimpang bunglai hantu yang sudah halus dan kering di ekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan metanol selama 24 jam dan dilakukan berulang selama 3 kali pengulangan, selanjutnya maserat di hilangkan pelarutnya *in vacuo* sehingga didapatkan 79,16 gram ekstrak kental metanol.

3.4.5 Isolasi

Ekstrak metanol kental sebanyak 35 gram ditambah metanol dan aquades dan di fraksinasi dengan pelarut n-hexan selanjutnya pisahkan fraksi n-hexana yang didapatkan dan fraksi sisa, fraksi sisa di fraksinasi kembali dengan etil asetat, pisahkan fraksi yang terbentuk. Fraksi etil asetat diuapkan *in vacuo* sampai kental dan didapatkan sebanyak 3,2 gram fraksi kental etil asetat, selanjutnya proses pemisahan fraksi etil asetat, dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom

silikan gel 60 sebanyak 3 gram fraksi etil asetat yang di elusi dengan menggunakan n-heksana dengan penambahan etil asetat dengan perbandingan pelarut yaitu ; n-heksana saja 50 ml, dengan (n-heksana : etil asetat) (19:1) sebanyak 50 ml, (9;1) sebanyak 4 L, (4:1) sebanyak 2,7 L, (2:1) Sebanyak 0,6 L, (1:1) Sebanyak 2,2 L, (1:2) Sebanyak 0,6 L. Hasil kolom di tampung dengan vial 25 ml dan di monitoring dengan KLT di bawah lampu UV λ_{254} dan λ_{365} . Subfraksi yang sama setelah digabungkan dan didapatkan 3 subfraksi yaitu subfraksi FA, FB, dan FC, dari hasil monitoring di dapatkan subfraksi FB yang memiliki jumlah yang banyak setelah di gabungan, lalu subfraksi diuapkan *in vacuo* dan direkrystalisasi, dan didapatkan senyawa hasil isolasi AF1.

3.5 Identifikasi senyawa

Identifikasi senyawa meliputi pemeriksaan sebagai berikut :

1. Pemeriksaan organoleptis

Pemeriksaan dapat berupa bentuk, warna secara visual, yang berhubungan dengan senyawa hasil isolasi.

2. Pemeriksaan titik leleh

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat pengukur titik leleh *melting point apparatus* di Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas Padang. Beberapa zat diletakkan diantara dua kaca objek, kemudian di letakkan dibawah pemanas, dibawah kaca pembesar dan diatur kenaikan suhu nya. Amati perubahan fisik zat catat suhu awal meleleh sampai zat meleleh dengan sempurna.

3. Pemeriksaan kromatografi lapis tipis

Pemeriksaan KLT dilakukan untuk menghitung nilai R_f . R_f dihitung dengan cara membagi jarak yang ditempuh noda dari tempat totolan dengan jarak yang

4. Pemeriksaan spektrum ultraviolet (UV)

Pemeriksaan spektrum ultraviolet dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis di Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Digunakan untuk menentukan λ max isolat senyawa, pada λ max ditunjukkan oleh panjang gelombang yang memberikan serapan terbesar. Sebanyak lebih kurang 1 mg senyawa murni dilarutkan dengan kloroform pro analisis sebanyak 10 ml kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Pelarut kloroform pro analisis digunakan sebagai blanko kemudian sampel diukur serapannya pada panjang gelombang 200-800 nm.

5. Pemeriksaan spektrum inframerah

Spektrum inframerah diukur menggunakan alat *fourier transform infrared* (FTIR) di Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Sebanyak lebih kurang 1 mg sampel dilarutkan dengan kloroform pro analisis 10 ml kemudian dimasukkan ke dalam kuvet, dan diukur serapannya. Serapan pada spektrum Inframerah menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa.

6. Identifikasi golongan senyawa dengan Menggunakan Penampak Noda
Pemeriksaan senyawa hasil isolasi adalah dengan mereaksikan yang sudah

dikembangkan pada plat KLT dengan pereaksi, FeCl_3 1%, Vanilin sulfat, Dragendroff, Sitroborat, dan Lieberman Burchad.

3.6 Uji aktivitas antimikroba

3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, aquadest, kertas cakram, NaCl fisiologis 5 ml dalam tabung reaksi sebanyak 7 buah yang ditutup dengan kapas dibalut kain kasa, Nutrient agar dan potato dektrose Agar yang telah dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditutup mulutnya dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa, kemudian dibungkus dengan kertas koran, lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara diflambir pada lampu spiritus. Laminar air flow dibersihkan dari debu kemudian disemprot dengan etanol 70%, biarkan 15 menit. Setelah itu disterilkan dengan menyalakan lampunya selama 10 menit, lalu nyalakan bunsen selama lebih kurang 10 menit sebelum digunakan.

3.6.2 Pembuatan media pembedihan

3.6.2.1 Nutrien Agar (NA)

Nutrient agar sebanyak 6 gr dilarutkan dengan aquadest sebanyak 300 ml dalam Erlenmeyer dan dipanaskan di atas *hot plate* sambil diaduk sampai terbentuk larutan yang jernih.

3.6.2.2 Potato Dektrose Agar (PDA)

Potato Dektrose Agar sebanyak 2,5 gr dilarutkan dengan aquadest sebanyak 50 ml dan dipanaskan diatas *hot plate* sambil diaduk sampai terbentuk larutan jernih.

3.6.3 Pengujian Aktivitas

Sebelum diujikan setiap bakteri dan jamur di tumbuhkan secara terpisah di media NA untuk bakteri dan media PDA untuk jamur (agar miring) dan diinkubasi pada suhu 37°C untuk bakteri dan 25°C - 30°C untuk jamur selama 24 jam untuk bakteri dan 5 hari untuk jamur. Selanjutnya koloni bakteri dan jamur, diambil dari agar miring 1-2 ose lalu disuspensikan dalam NaCl fisiologis, kemudian divortex sampai koloni tercampur hingga homogen dan diukur kekeruhan yang setara dengan 0,5 (McF) standar Mc Farland, dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml bakteri atau jamur.

Pengujian antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. kontrol positif yang digunakan untuk bakteri yaitu kloramfenikol 0,03 mg/cakram dan untuk jamur digunakan nistatin 100 unit/cakram, sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO. Suspensi bakteri dan jamur yang telah dibuat disapukan di permukaan media NA dan PDA digerakkan ke kiri dan ke kanan serta memutar cawan petri 90°. Selanjutnya 10µL larutan uji yaitu senyawa AF1 konsentrasi (1 µg/cakram, 0,75 µg/cakram, 0,5 µg/cakram) dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 0,15 mg/cakram, dipipet ke kertas cakram steril kemudian diletakkan sesuai dengan tanda pada cawan petri diatas permukaan media NA dan PDA yang

telah disapukan bakteri dan jamur, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C
. Kemudian diamati pertumbuhan mikroba dan diukur diameter hambatnya.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

1. Sampel spesimen herbarium tumbuhan ini diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas Padang (ANDA) sebagai *Zingiber ottensii* Val. dengan family Zingiberaceae (Lampiran 1)
2. Dari 9,6 kg sampel rimbang *Zingiber ottensii* Val. di dapatkan, sampel kering sebanyak 1,45 kg (15,10 %), ekstrak kental metanol di dapatkan sebanyak 79,16 g (5,46 %), selanjutnya ekstrak di fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat sehingga didapatkan fraksi n-heksana 12,0 g (34,28 %) dan fraksi etil asetat 3,2 g (9,14 %).
3. Fraksi etil asetat yang dikromatografi kolom dengan silika gel, diperoleh subfraksi FB, dilanjutkan dengan kristalisasi didapatkan satu senyawa murni AF1 (10,5 mg) dengan R_f 0,575 dengan fase gerak etil asetat : n-heksana (3 : 2), dan DCM : n-heksana (6 : 1) R_f 0,375 (Lampiran 2, Tabel 5, Gambar 10 dan 11)
4. Senyawa AF1 berbentuk kristal pucat kekuningan, dengan jarak leleh 226 – 227 °C. (Lampiran 2, Gambar 6, Tabel 2)
5. Data spektrum Uv-Vis dalam pelarut kloroform senyawa AF1 memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 269 nm (Abs= 0,734) (Lampiran 2, Gambar 7, Tabel 3)
6. Dari data spektrum IR di dapatkan senyawa utama AF1 menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3019,49 cm^{-1} (Regangan O-H), 1523,02

cm⁻¹ (C=C aromatik), 1214,82 cm⁻¹ (C-O eter) dan 668,01 (C-H)
(Lampiran 2, Gambar 8, Tabel 4)

7. Pemeriksaan golongan senyawa dengan pereaksi warna terhadap AF1 bereaksi positif terhadap FeCl₃ 1% yang menunjukkan senyawa ini termasuk golongan fenol warna yang terbentuk ungu kehitaman dan dengan pereaksi Sitroborat menunjukkan noda berpendar pada lampu UV 365 nm , sedangkan dengan pereaksi Dragendorff, Lieberman-Bunchard, Vanilin sulfat tidak bereaksi, diduga senyawa tersebut termasuk golongan flavonoid (Lampiran 2, Tabel 6, Gambar 12 dan 16)

8. Hasil uji aktivitas antimikroba

Tabel 1. Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi etil asetat dan Senyawa AF1

Mikroba uji	Fraksi etil asetat (0,15 mg/cakram)	Konsentrasi senyawa AF1 (µg/cakram)		
		1	0,75	0,5
Diameter daerah hambat (mm)				
<i>S. aureus</i>	14	-	-	-
<i>S. mutans</i>	15	-	-	-
<i>E. faecalis</i>	20	-	-	-
<i>E. coli</i>	15	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	15	10	-	-
<i>S. typhosa</i>	17	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-

Keterangan :

- Satu cakram = 10 μ L

4.2 Pembahasan

Dari penelusuran literatur, terlihat bahwa tumbuhan ini pernah diteliti kandunag kimianya (Sirat,1994). Dengan pertimbangan bahwa tumbuhan ini belum diketahui secara luar dan bisa jadi merupakan varietas dan ekotipe. Penelitian ini tetap dilanjutkan karena bisa jadi memiliki kandungan kimia yang berbeda. Tanaman *Zingiber ottensii* Val. yang dipanen langsung di Laboratorium Biota Sumatra Universitas Andalas, bagian tanaman yang digunakan adalah bagian rimpang. Rimpang *Zingiber ottensii* Val. dipanen sebanyak 9,6 kg, lalu rimpang di bersihkan dari tanah dan untuk rimpang diiris dengan ketebalan \pm 3 mm (Kementrian RI, 2011) , lalu dikeringkan didalam oven dengan suhu 50°C selama 78 jam, untuk menghilangkan kadar air yang terdapat didalam rimpang, agar tidak terjadi pembusukan pada rimpang yang menyebabkan rimpang menjadi berjamur, serta suhu 50 °C dipakai untuk meminimalisir rusaknya senyawa metabolit sekunder pada rimpang akibat adanya panas yang berlebihan. Rimpang kering didapatkan sebanyak 1,45 kg (15,10 %), selanjutnya di grinder sampai halus, hal ini dilakukan untuk memperbesar luas permukaan rimpang, serta mempermudah proses ekstraksi.

Proses ekstraksi senyawa dilakukan dengan menggunakan alat maserasi. Metode maserasi dipilih karena merupakan salah satu metoda ekstraksi dingin yang baik digunakan untuk sampel dengan kandungan kimianya yang belum diketahui. Keuntungan lain dari metode ini menggunakan alat yang sederhana dan proses pengerjaan yang mudah dilakukan. Sebanyak 1,45 kg sampel yang sudah kering dan halus di maserasi, dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut selama tiga hari dengan tiga kali pengulangan, dimana tiap hari sesekali diaduk sehingga membantu percepatan difusi zat dari sampel kedalam pelarut, serta untuk mengurangi kejenuhan pelarut terhadap sampel.

Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi adalah metanol. Pemilihan metanol dikarenakan pelarut metanol merupakan salah satu pelarut universal yang dapat melarutkan semua senyawa organik, baik yang bersifat non polar, semi polar dan yang bersifat polar. Selain itu metanol memiliki titik didih yang relatif rendah (67°C) sehingga mudah diuapkan dan mengurangi resiko terurainya zat yang terkandung di dalam maserat yang bersifat tidak tahan dengan pemanasan saat pelarut diuapkan.

Maserat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporatory* dalam keadaan vakum. Proses ini akan menguapkan pelarut lebih cepat, dimana dengan menurunkan tekanan uap yang menyebabkan pelarut akan mendidih pada temperatur yang lebih rendah dari titik didihnya

sehingga pada proses penguapan tidak memerlukan temperatur yang tinggi dan mempercepat proses penguapan pelarut serta menghindari terjadinya kerusakan senyawa kimia akibat temperatur yang terlalu tinggi. Dari hasil penguapan pelarut metanol diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 79,16 g (5,46 %).

Ekstrak kental metanol (35 g) yang diperoleh selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi merupakan proses pengelompokan senyawa kimia berdasarkan sifat kepolarannya, dengan tujuan membagi senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya sehingga lebih mudah dalam proses isolasi senyawa. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur dan dipisahkan di dalam corong pisah. Fraksinasi dimulai dengan pelarut non polar hingga polar. Senyawa-senyawa yang relatif bersifat non polar difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana. Fraksinasi senyawa-senyawa yang bersifat semi polar digunakan pelarut etil asetat.

Maserat fraksi yang diperoleh diuapkan dengan alat *rotary evaporator* dalam keadaan vakum dan di dapatkan fraksi kental n-heksana yaitu 12 g (34,28 %) dan fraksi kental etil asetat 3,2 g (9,14 %). Untuk mendapatkan senyawa murni dari fraksi etil asetat dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom sebanyak 3 g dari fraksi etil asetat . Kromatografi kolom terdiri dari fase gerak dan fase diam. Fase gerak atau pelarut pengembang

akan bergerak turun sepanjang fase diam karena adanya gaya gravitasi. Pelarut yang digunakan adalah n-heksana dengan penambahan etil asetat (SGP) dengan perbandingan pelarut yaitu n-heksana saja, n-heksana : etil asetat perbandingan (19:1), (9:1), (4:1), (2:1), (1:1) dan (1:2), fase diam yang digunakan adalah silika gel 60.

Pada saat pemisahan terjadi fraksi-fraksi yang diperoleh dari pemisahan kromatografi kolom ditampung didalam vial dan pola KLT masing – masing senyawa dimonitoring dibawah lampu UV λ_{254} atau λ_{365} dimana senyawa dengan pola KLT yang sama akan digabungkan sehingga menghasilkan kelompok senyawa yang disebut subfraksi. Pengelompokan senyawa dari fraksi etil asetat menghasilkan 3 fraksi diantaranya: Subfraksi FA, FB dan FC. Setelah dimonitoring, subfraksi FB menunjukkan satu noda dengan sedikit pengotor dan memiliki jumlah yang lebih banyak, dibandingkan dengan subfraksi lainnya. Sehingga, subfraksi FB perlu direkristalisasi. Rekristalisasi merupakan teknik pemurnian suatu zat padat dari pengotornya dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Pelarut pertama harus dapat melarutkan senyawa yang diinginkan dan pelarut lain tidak dapat melarutkan senyawa tersebut. Pelarut yang digunakan pada proses rekristalisasi ini adalah etil asetat dan n-heksana. Subfraksi FB direkristalisasi beberapa kali sehingga diperoleh senyawa murni yang menunjukkan satu noda bila dimonitoring dengan dengan plat KLT.

Senyawa murni AF1 yang didapatkan berupa kristal kekuningan seberat 10,5 mg. hasil penentuan titik leleh memperlihatkan bahwa senyawa ini meleleh pada suhu 226-227°C. Pemeriksaan spektrum UV dalam pelarut kloroform memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 269 nm (Abs=0,734). Pada pemeriksaan spektrum inframerah, senyawa AF1 menunjukkan nilai serapan pada daerah bilangan gelombang 3019,49 cm^{-1} (Regangan O-H), 1523,02 cm^{-1} (C=C aromatik), 1214,82 cm^{-1} (C-O eter) dan 668,01 (C-H).

Pemeriksaan golongan senyawa, AF1 menunjukkan bereaksi positif terhadap FeCl_3 1% berwarna ungu kehitaman, yang menunjukkan senyawa tersebut positif golongan fenol, dimana apabila golongan senyawa fenol diujikan dengan FeCl_3 akan menghasilkan cincin aromatik yang berwarna ungu kehitaman, dan dengan menggunakan pereaksi Sitroborat senyawa AF1 menunjukan positif senyawa flavonoid, ditunjukkan senyawa AF1 ini berpendar di bawah lampu UV 365 nm.

Fraksi etil asetat dan senyawa hasil isolasi yang didapatkan dilakukan uji aktivitas antimikroba dilakukan terhadap 6 bakteri dan 1 jamur patogen. Metode yang digunakan adalah difusi agar, metoda dipilih karena pengerjaannya sederhana, pengukuran hasil yang didapatkan juga cukup mudah dengan cara mengukur diameter (mm) daerah bening di sekitar cakram yang merupakan daerah hambat pertumbuhan mikroba. Zona bening yang

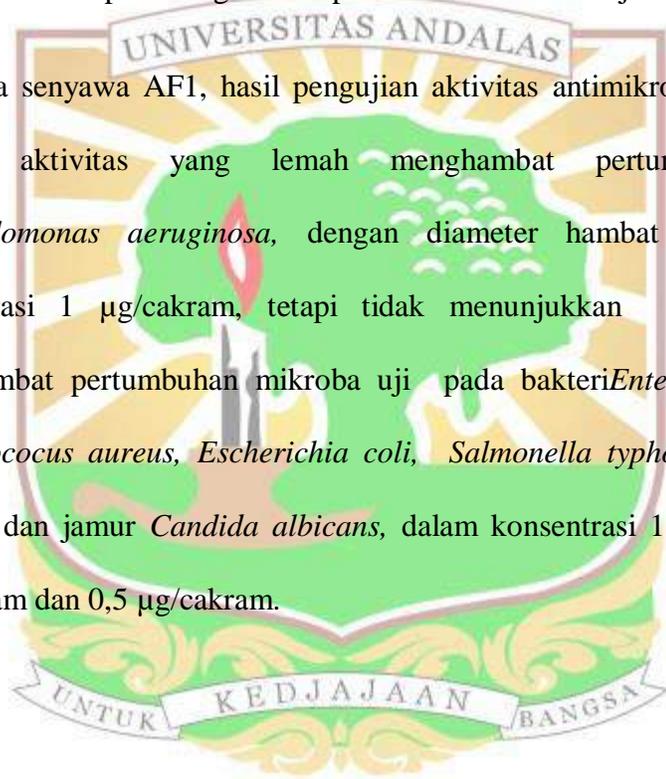
didapatkan karena adanya aktivitas antimikroba dari senyawa yang terdapat dalam cakram, senyawa tersebut akan berdifusi ke media yang telah diinokulasi mikroba uji dan menghambat pertumbuhan mikroba uji sehingga terbentuknya zona bening disekitar cakram. Kontrol positif yang digunakan untuk bakteri uji adalah kloramfenikol (0,03 mg/cakram) dan jamur nistatin (100 unit/cakram) untuk kontrol negatif digunakan dimetilsulfoksida (DMSO). Kontrol positif berfungsi untuk mengetahui mikroba patogen yang diuji tumbuh pada media dan dapat dihambat pertumbuhannya dengan membentuk zona bening disekeliling cakram. Kontrol negatif DMSO digunakan untuk melarutkan sampel uji karena DMSO tidak mempengaruhi proliferasi sel dan DMSO juga bersifat dipolar, aprotik dapat bercampur dengan air serta pelarut organik pada umumnya (Maryanti dan Sutrisna, 2007)

Pada hasil uji aktivitas mikroba pada kontrol positif baik untuk bakteri menggunakan kloramfenikol 0,03 mg/ cakram dan jamur menggunakan nistatin 100 unit/cakram menunjukkan adanya aktivitas yang kuat menghambat pertumbuhan mikroba uji, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya aktivitas menghambat mikroba uji.

Pada fraksi etil asetat yang diujikan terhadap bakteri uji semuanya menunjukkan adanya aktivitas yang kuat menghambat pertumbuhan bakteri uji, pada konsentrasi 0,15 mg/cakram, dimana fraksi etil asetat memiliki sensitivitas menghambat pertumbuhan mikroba uji, yaitu terhadap bakteri

Enterococcus faecalis (20 mm), *Staphylococcus aureus* (14 mm), *Escherichia coli* (15 mm), *Salmonella typhosa* (17 mm), *Streptococcus mutans* (15 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm), dan tidak sensitif menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, hal ini berkaitan dengan masih banyaknya senyawa yang terdapat di dalam fraksi etil asetat yang menyebabkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Pada senyawa AF1, hasil pengujian aktivitas antimikroba menunjukkan adanya aktivitas yang lemah menghambat pertumbuhan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, dengan diameter hambat 10 mm, pada konsentrasi 1 µg/cakram, tetapi tidak menunjukkan adanya aktivitas menghambat pertumbuhan mikroba uji pada bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Streptococcus mutans*, dan jamur *Candida albicans*, dalam konsentrasi 1 µg/cakram, 0,75 µg/cakram dan 0,5 µg/cakram.



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Dari fraksi etil asetat didapatkan senyawa murni yaitu senyawa AF1 sebanyak 10,5 mg.
2. Dari hasil pemeriksaan KLT penampak noda, diperkirakan senyawa AF1 merupakan golongan senyawa flavonoid.
3. Dari pengujian aktivitas antimikroba diketahui bahwa :
 - a. Fraksi etil asetat rimpang *Zingiber ottensii* Val. menunjukkan aktivitas yang kuat (diameter hambat 14-20 mm) menghambat bakteri uji, dan tidak memiliki aktivitas menghambat jamur *Candida albicans*.
 - b. Senyawa AF1 menunjukkan aktivitas yang sedang (diameter hambat 10 mm) menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan tidak memiliki aktivitas menghambat jamur *Candida albicans*.

5.2 Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya, melanjutkan isolasi senyawa antimikroba fraksi etil asetat yang lainnya dari rimpang *Zingiber ottensii* Val. dan melakukan uji bioaktivitas yang memungkinkan pada senyawa lain yang diperoleh dari fraksi etil asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agromedia Pustaka. Buku Pintar Tanaman Obat 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit. Ciganjur, Jagakarsa, Jakarta Selatan: PT Agromedia Pustaka. 2008.
- Akiyama K, Kikuzaki H, Aoki T, Okuda A, Nordin HL, Nakatani N. Terpenoids and A Diarylheptanoid from *Zingiber ottensii*. American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy. Journal of Natural Products. 2006;69(11):1637-40.
- Aviles R, Miller, Simpson H, Lemos, Abranches. Cnm is a major virulence factor of invasive *Streptococcus mutans* and part of a conserved three-gene locus. Molecular oral microbiology and immunology. 2009; 29(2): 141-45.
- Bhatia A & Zahoor S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A Review. J. Clinical and Diagnostic Research. 2007; (2), 188-197.
- Boukouvalas J, Wang JX. Structure Revision and Synthesis of a Novel Labdane Diterpenoid from *Zingiber ottensii*. Organic Letters. 2008;10(16):3397-3399.
- Catwal G. Spectroscopy Atomic and Molecule. Bombay: Himalaya Publishing House; 1985.
- Dachriyanus. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri. Padang: Cv. Trianda Anugrah Pratama; 2004.
- Gandjar IG, Rohman, Abdul. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2009.
- Gritter JR, Bobbin JM, & Schwarting AE. Pengantar Kromatografi. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Bantung : Penerbit ITB; 1991.
- Habsah M, Amran M, Mackeen MM, Lajis NH, Kikuzaki H, Nakatani N, Rahman AA, Ghafar, Ali AM. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. Departement of Chemistry, Universiti Putra Malaysia. Serdang, Selangor, Malaysia. Journal of Ethnopharmacology. 2000; 72, 403-410.

- Hargono, Pradhita F, Aulia MP. Pemisahan Gingerol Dari Rimpang Jahe Segar Melalui Proses Ekstraksi Secara Batch. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Momentum. 2013; 9(2) 16-21.
- Harmita dan Radji M. Kepekaan Terhadap Antibiotik. Dalam: Buku Ajar Analisis Hayati, Ed.3. Jakarta: EGC; 2008.
- Hartati S, Megawati, Artanti N, Meilyawati LM, dan Hanafi M. Identifikasi Senyawa dari Ekstrak Air Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2013; 11(2):197-201.
- Iswari, S Asmono, N Santoso, US, S Lina. Pola kepekaan kuman Salmonella terhadap obat kloramfenikol, ampisilin dan kotrimoksazol selama kurun waktu 1979-1983. Majalah Kedokteran Indonesia. 1998. 36:13-19.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi XXII. Penerjemah: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. 205-209. Jakarta: Penerbit Salemba Medika; 1986.
- Karnchanatat A, N Tiengburanatham, A Boonmee, S Puthong, P Sangvanich. Zingipain, a cysteine protease from *Zingiber ottensii* Val. eton rhizomes with antiproliferative activities against fungi and human malignant cell lines. Preparative Biochemistry and Biotechnology. Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2011; 41(2):138-153.
- Kementerian Kesehatan RI. Pedoman Umum Panen & Pasca Panen tanaman Obat. Jakarta: Badan Litbang kesehatan Balai besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional; 2011.
- Kloss WE & Bannerman TL. Update on Clinical Significance of Coagulase-negatif Staphylococci. Clinical Microbiology Reviews. 1994; 7(1):117-140.
- Koga AY, Beltrame FL, Peleira AV. Several Aspect of *Zingiber zerumbet*: a review. Farmacogn. 2016; 26:385-391.
- Kurniawan JA. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Rimpang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) Terhadap Jamur *Candida albicans* serta Skrining Fitokimianya. [skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2009.
- Lemos, Quivey, H K, J A. Streptococcus mutans: a new Gram-positive paradigm. Microbiology. 2013; 159(3): 436-45.

- Marsusi, Setyawan AD, Listyawati S. Studi kemotaksonomi pada genus Zingiber: A chemotaxonomic study in the genus Zingiber. Surakarta: Jurusan Biologi FMIP UNS; 2001.
- Maryanti dan Sutrisna. Potensi sitotoksik Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L) terhadap sel Hela. *Pharmacol.* 2007;8.
- Masruroh I. Isolasi Senyawa Aktif dari Bangle Hantu (*Zingiber ottensii* Val.) yang Berpotensi Sebagai Antiobesitas. [Skripsi]. Bogor: Sekolah Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor; 2011.
- Miftahudin A. Diferensiasi Temulawak, Kunyit dan Bangle Berdasarkan pola Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. [Skripsi]. Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Bogor; 2010.
- Mulja M. Aplikasi Spektrofotometer UV-VIS. Surabaya : Mecphiso; 1990 hal 3.
- Naphong C, W Pompimon, and P Sombutsiri. Anticancer Activity of Isolated Chemical Constituents From *Milium smithiae*. *American Journal of Applied Sciences*. 2013; 10(8): 787-792.
- Pelczar MJ, Chan ECS. Dasar – Dasar Mikrobiologi 2. Penerjemah : R Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo. Jakarta : UI-Press; 1998.
- Pratiwi S Utami. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta : Erlangga; 2008.
- Purnawijayanti, Hiasinta A. Sanitasi, Higiene, dan Keselamatan kerja dalam Pengolahan Makanan. Yogyakarta: kanisius; 2001.
- Sinaga ESE, Rahayu E, Wahyuningsih, dan Matondang I. Katalog Tumbuhan Obat Di Indonesia: Zingiberaceae. Jakarta: Universitas Nasional Press; 2000.
- Sirat HM, and AB Nordin. Essential Oil of *Zingiber ottensii* Val. *International Journal of Essential Oil Research: JEOR (USA)*. 1994; 1041-2905.6:635-636.
- Sirat HM. Study on the Terpenoids of *Zingiber ottensii*. Department of Chemistry, Faculty of Science, Universiti Teknologi Malaysia. *Planta Med.* 1994;60.
- Siriruga P. Thai Zingiberaceae: Species Diversity And Their Uses. Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, HatYai, Thailand. *International Conference on Biodiversity and Bioresources: Conservation and Utilization* 1999.

- Siqueira JF, Rocas IN, Sauto R, Uzeda M & Colombo AP. *Actinomycetes* Species, *Streptococci*, and *Enterococcus faecalis* in primary root Canal Infection. *J Endod.*2002; 31:312-317.
- Suhirman S, Hermani, Syukur C. Uji Toksisitas Ekstrak Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach.). Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Balai Besar Penelitian Pasca Panen Pertanian. *Bul Littro.* 2006; 17(1):30-38.
- Sulaeman A, Patonah, Nurdin R. Efek Pencegahan Ekstrak Etanol Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* Val.) Dan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr) Terhadap Kadar Lemak Darah Pada Tikus Jantan Obesitas yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak dan Karbohidrat. Departemen Farmakologi, Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. *Prosiding Seminar Nasional.* 2017;7 :19-28.
- Talaro KP. *Foundation in Microbiology: Basic Principles, Sixth Edition.* New York: Mc Graw Hill; 2008.
- Tim Lentera. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah Si Rimpang Ajaib.* Jakarta: Agromedia; 2004.
- Tjay TH dan Rahardja K. *Obat – Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya, Edisi Keenam.* Jakarta: PT. Elex Media Komputindo; 2007.
- Todar K. *Textbook of bacteriology: Pseudomonas aeruginosa.* University of Wisconsin. Madison Department of Bacteriology: USA; 2004.
- Tri Atmodjo P dan Triningsih EM. *Besarnya kasus demam tifoid di Indonesia dan pola resistensi Salmonella typhi terhadap antibiotika.* *Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia.*1998;5:261-263.
- Vijayalakshmi A, PR Kumar, SS Priyadarsini, and C Meenaxshi. *In Vitro Antioxidant and Anticancer Activity of Flavonoid Fraction from the Aerial Parts of Cissus quadrangularis Linn. against Human Breast Carcinoma Cell Lines.* *Journal of Chemistry;* 2013; 150675, 9
- Wijaya. *Tanaman berkasiat obat di Indonesia. Jilid IV.* Jakarta : Pustaka kartini; 1996.

Lampiran 1. Surat Identifikasi Sampel



HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar
Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 ext. *811 e-mail: nas_herb@yahoo.com;
herbariumandaunand@gmail.com

Nomor : 223/K-ID/ANDA/V/2018
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Ayu Fortuna
Di
Padang

Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat mengenai bantuan untuk "Identifikasi Tumbuhan" di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, atas nama:

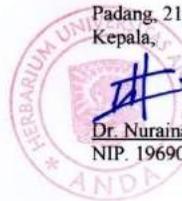
Nama : Ayu Fortuna
NIM : 1411011005
Instansi : Farmasi UNAND

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

Family	Spesies
Zingiberaceae	<i>Zingiber ottensii</i> Valetton

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 21 Mei 2018
Kepala,



Dr. Nurainas, M.Si
NIP. 196908141995122001

Lampiran 2. Data Hasil Penelitian

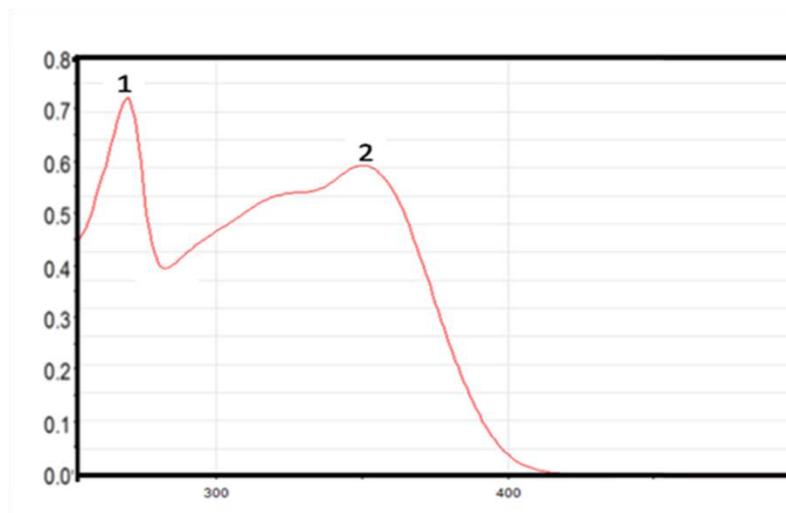
Tabel 2. Data Karakteristik Isolat

Karakteristik	AF1
Bentuk	Kristal
Bau	Tidak berbau
Warna	Kekuningan
Titik Leleh	226-227°C



Gambar 6. Senyawa Hasil Isolasi

Lampiran 2 (Lanjutan) Spektrum UV senyawa AF1

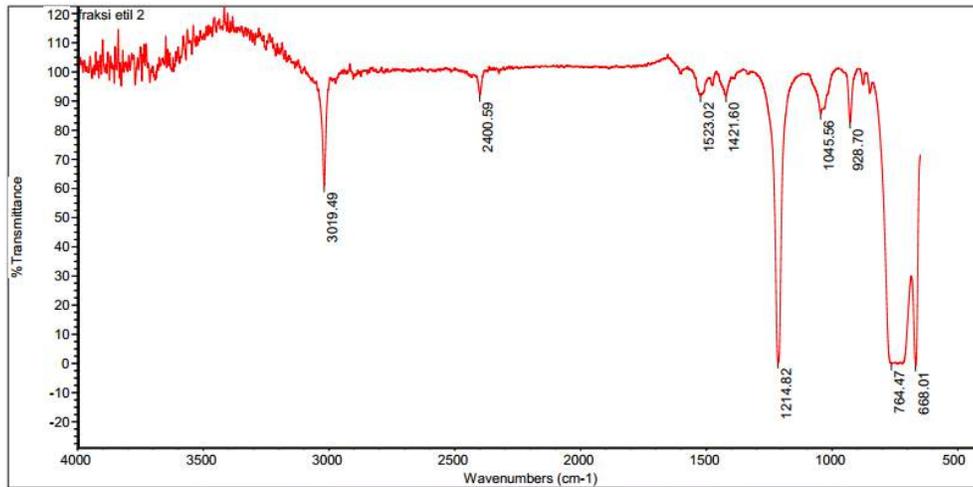


Gambar 7. Spektrum UV senyawa AF1

Tabel 3. Data Spektrum UV Senyawa AF1

No	Panjang Gelombang (nm)	Absorban
1	269	0,734

Lampiran 2. (lanjutan) Spektrum IR senyawa AF1

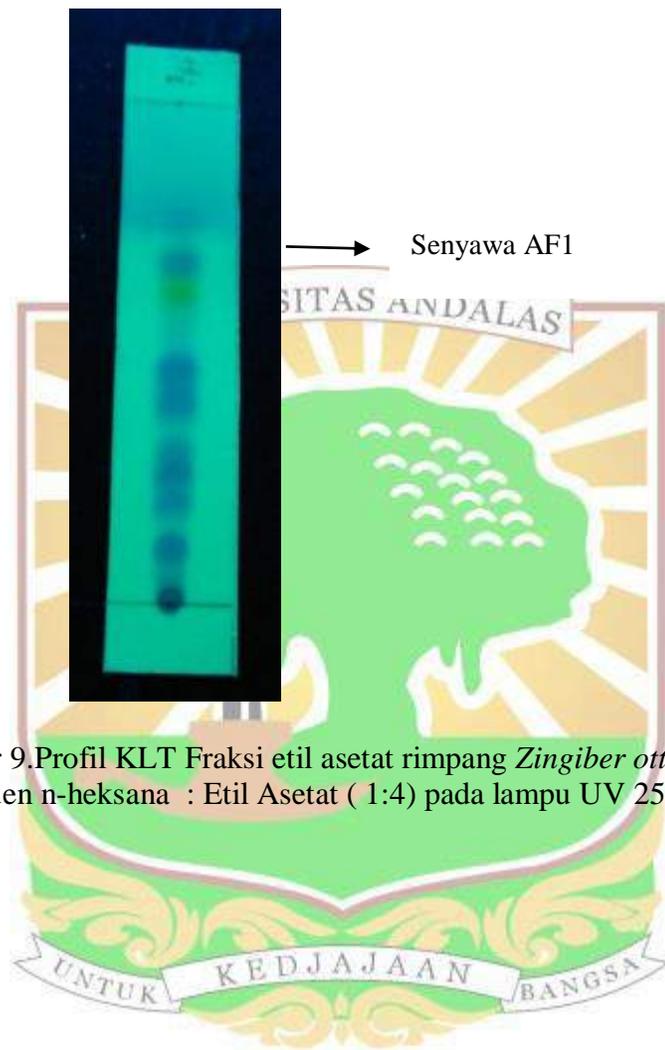


Gambar 8. Spektrum Serapan sinar inframerah senyawa AF1

Tabel 4. Data spektrum Serapan sinar inframerah senyawa AF1

No	Bilangan Gelombang Puncak serapan	Jenis Ikatan
1	3019,49	O-H
2	1523,02	C=C aromatic
3	1214,82	C-O eter
4	668,01	C-H

Lampiran 2 (Lanjutan) Profil KLT Fraksi etil asetat dan senyawa AF1



Gambar 9. Profil KLT Fraksi etil asetat rimpang *Zingiber ottensii* Val.
Eluen n-heksana : Etil Asetat (1:4) pada lampu UV 254 nm

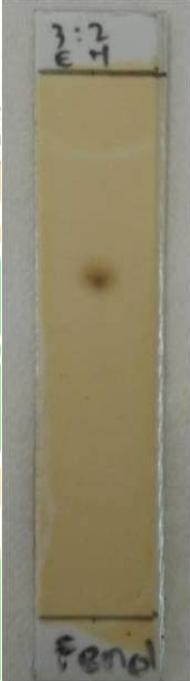
Lampiran 2. (Lanjutan) Profil KLT Senyawa AF1 dengan Berbagai Eluen

Tabel 5. Profil KLT Senyawa AF1 dengan Berbagai eluen

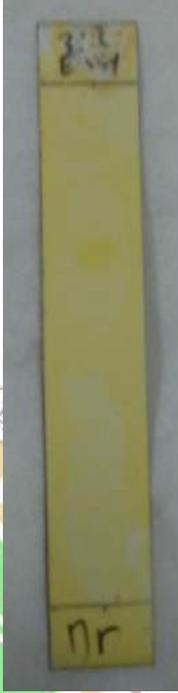
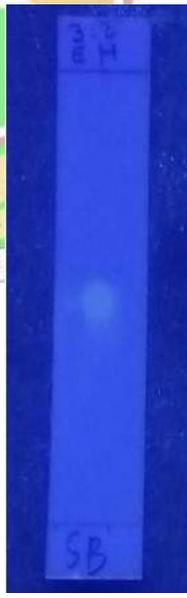
No	Eluen	Gambar	R _f
1	Eluen n-heksana : etil asetat (2:3), Pada lampu UV 254 nm.	 <p>Gambar 10 Profil KLT senyawa AF1 (1)</p>	0,575
2	Eluen DCM : n-heksana (6:1), Pada lampu UV 254 nm	 <p>Gambar 11. Profil KLT Senyawa AF1 (2)</p>	0,375

Lampiran 2 (Lanjutan) Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi Penampak Noda

Tabel .6 Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi Penampak Noda

No	Penampak noda	Hasil	Gambar
1	<p>FeCl_3 1 %</p> <p>Eluen n-heksana : etil asetat (2:3)</p>	(+) fenol, warna ungu kehitaman.	 <p>Gambar 12. Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi FeCl_3 1 %</p>

<p>2</p>	<p>Lieberman Burchard</p> <p>Eluen n- heksana : etil asetat (2:3)</p>	<p>(-) Terpenoid</p>	 <p>Gambar 13. Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi Lieberman Burchard</p>
<p>3</p>	<p>Vanilin Sulfat</p> <p>Eluen n- heksana : etil asetat (3:2)</p>	<p>(-) Terpenoid</p>	 <p>Gambar 14. Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi Vanilin Sulfat</p>

4	<p>Dragendorf</p> <p>Eluen n- heksana : etil asetat (2:3)</p>	<p>(-) Alkaloid</p>	 <p>Gambar 15. Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi Dragendorf</p>
5	<p>Sitroborat</p> <p>Eluen n- heksana : etil asetat (2:3)</p>	<p>(+) Flavonoid, noda berpendar pada lampu UV 365 nm</p>	 <p>Gambar 16. Profil KLT Senyawa AF1 dengan Pereaksi Sitroborat</p>

Lampiran 2 (Lanjutan) . Hasil Pengujian Aktivitas Antimikroba



Gambar 17. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. faecalis*

Keterangan

1 = 0,5 μg /cakram

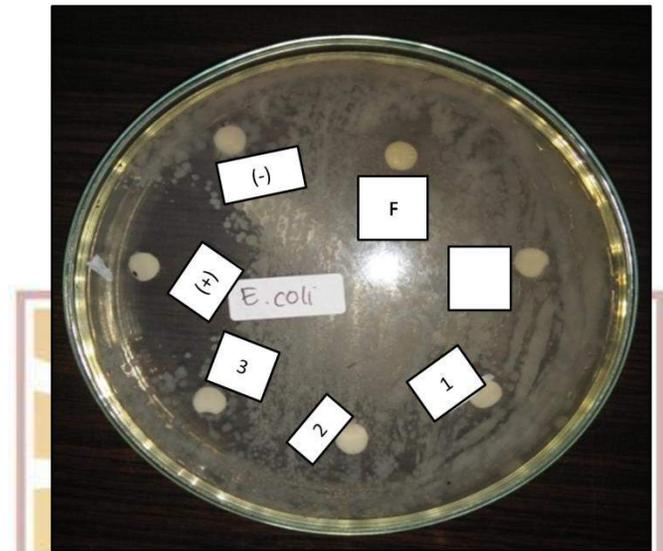
2 = 0,75 μg /cakram

3= 1 μg /cakram

F= Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (Kloramfenikol)

(-) = kontrol (-)(DMSO)



Gambar 18. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. coli*

Keterangan

1 = 0,5 μg /cakram

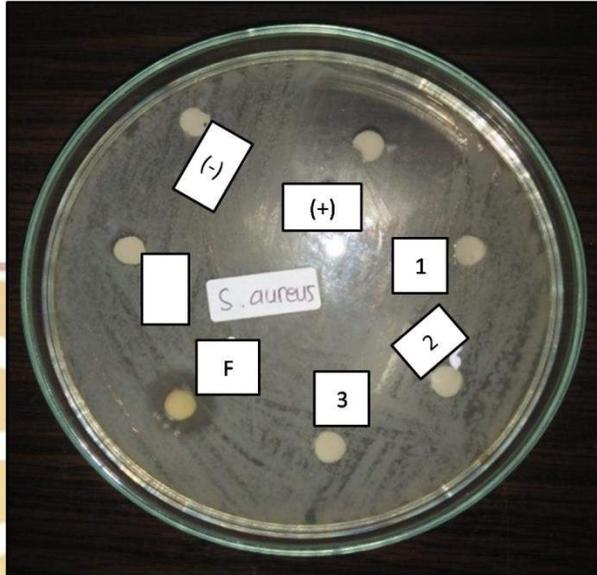
2 = 0,75 μg /cakram

3 = 1 μg /cakram

F = Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (Kloramfenikol)

(-) = kontrol (-) (DMSO)



Gambar 19. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. aureus*

Keterangan

1 = 0,5 μg /cakram

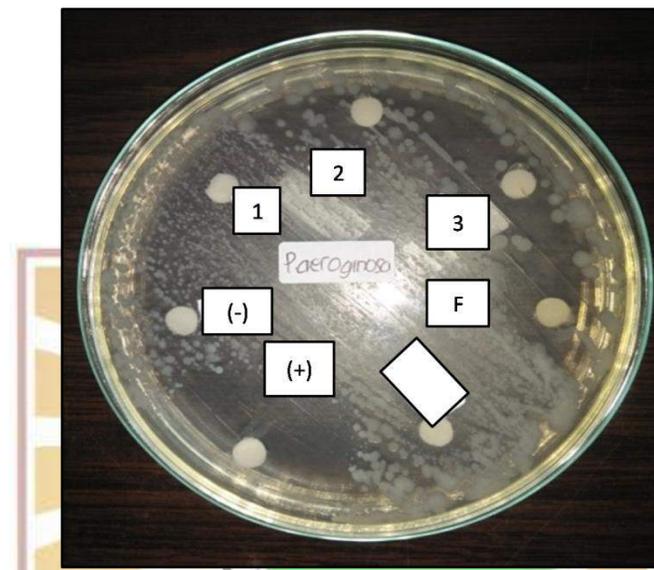
2 = 0,75 μg /cakram

3 = 1 μg /cakram

F = Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (Kloramfenikol)

(-) = kontrol (-) (DMSO)



Gambar 20. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap bakteri *P. aeruginosa*

Keterangan

1 = 0,5 µg/cakram

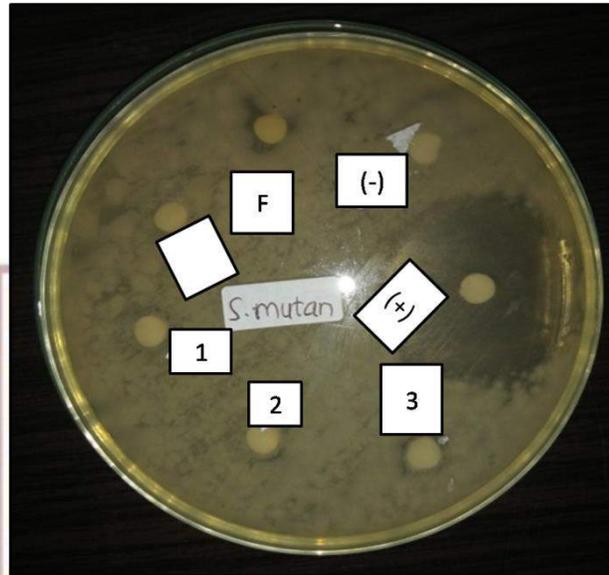
2 = 0,75 µg/cakram

3= 1 µg/cakram

F= Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (Kloramfenikol)

(-) = kontrol (-)(DMSO)



Gambar 21. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. mutans*

Keterangan

1 = 0,5 μg /cakram

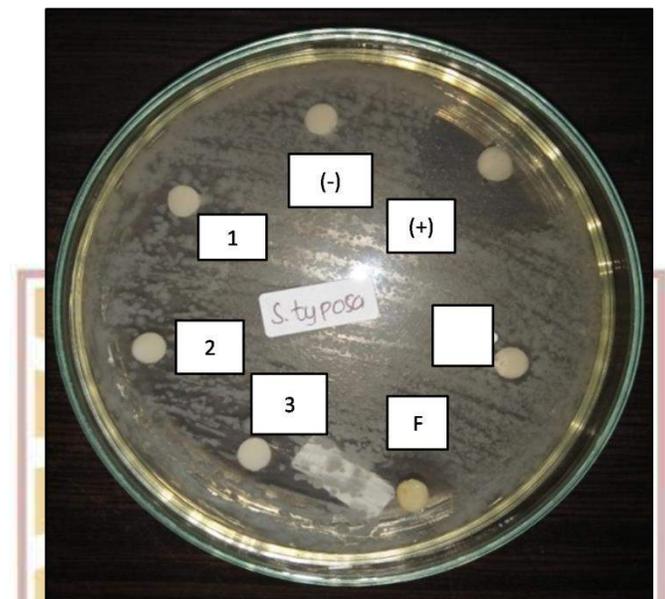
2 = 0,75 μg /cakram

3 = 1 μg /cakram

F = Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (Kloramfenikol)

(-) = kontrol (-) (DMSO)



Gambar 22. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S. typhosa*

Keterangan

1 = 0,5 μg /cakram

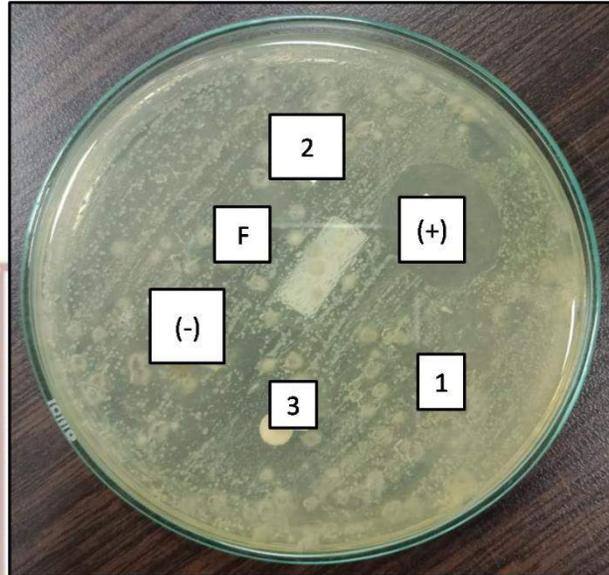
2 = 0,75 μg /cakram

3 = 1 μg /cakram

F = Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (Kloramfenikol)

(-) = kontrol (-) (DMSO)



Gambar 23. Hasil Pengujian Aktivitas antimikroba terhadap jamur *C. albicans*

Keterangan

1 = 0,5 μg /cakram

2 = 0,75 μg /cakram

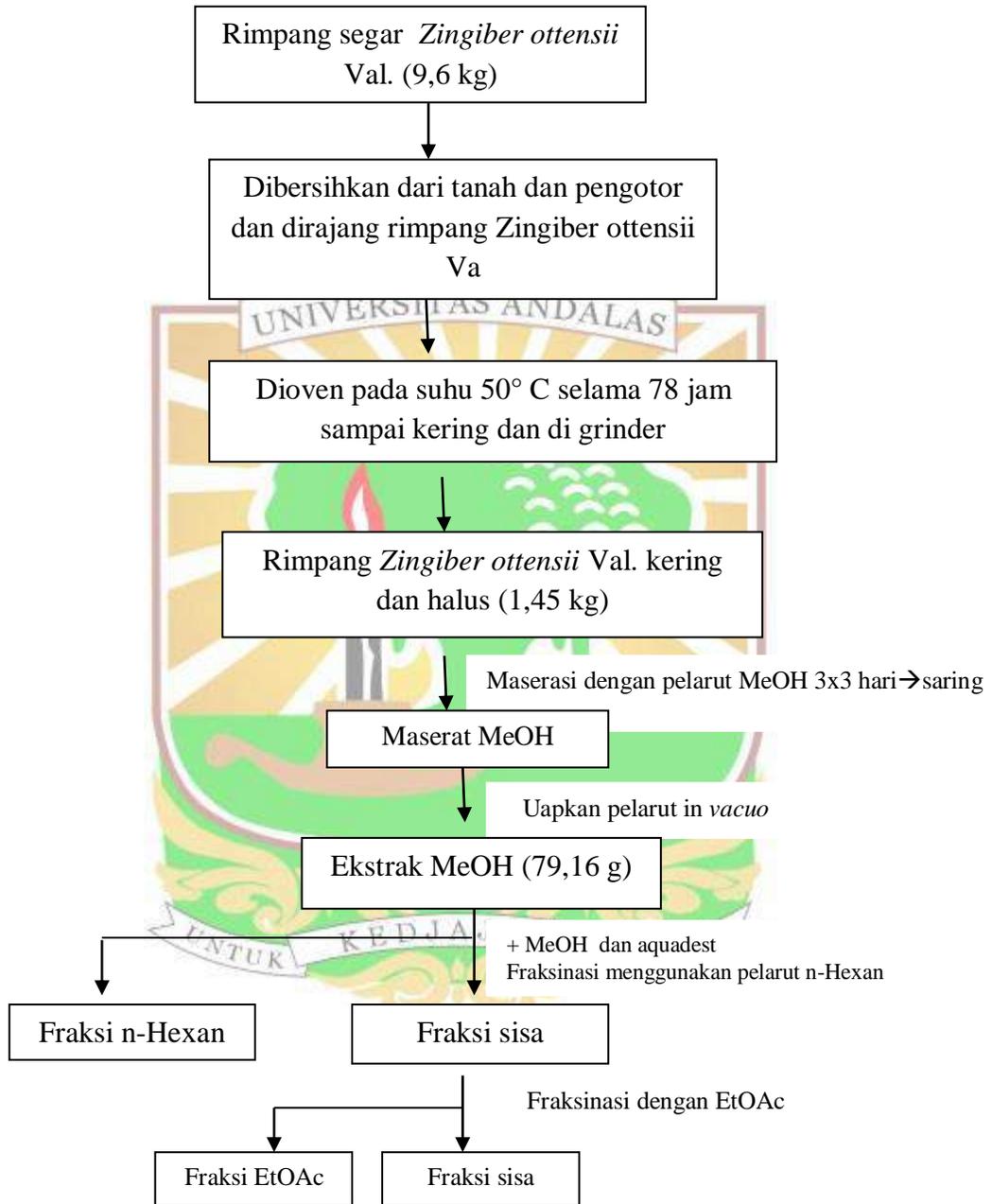
3 = 1 μg /cakram

F = Fraksi etil asetat 0,15 mg/cakram

(+) = Kontrol (+) (nistatin)

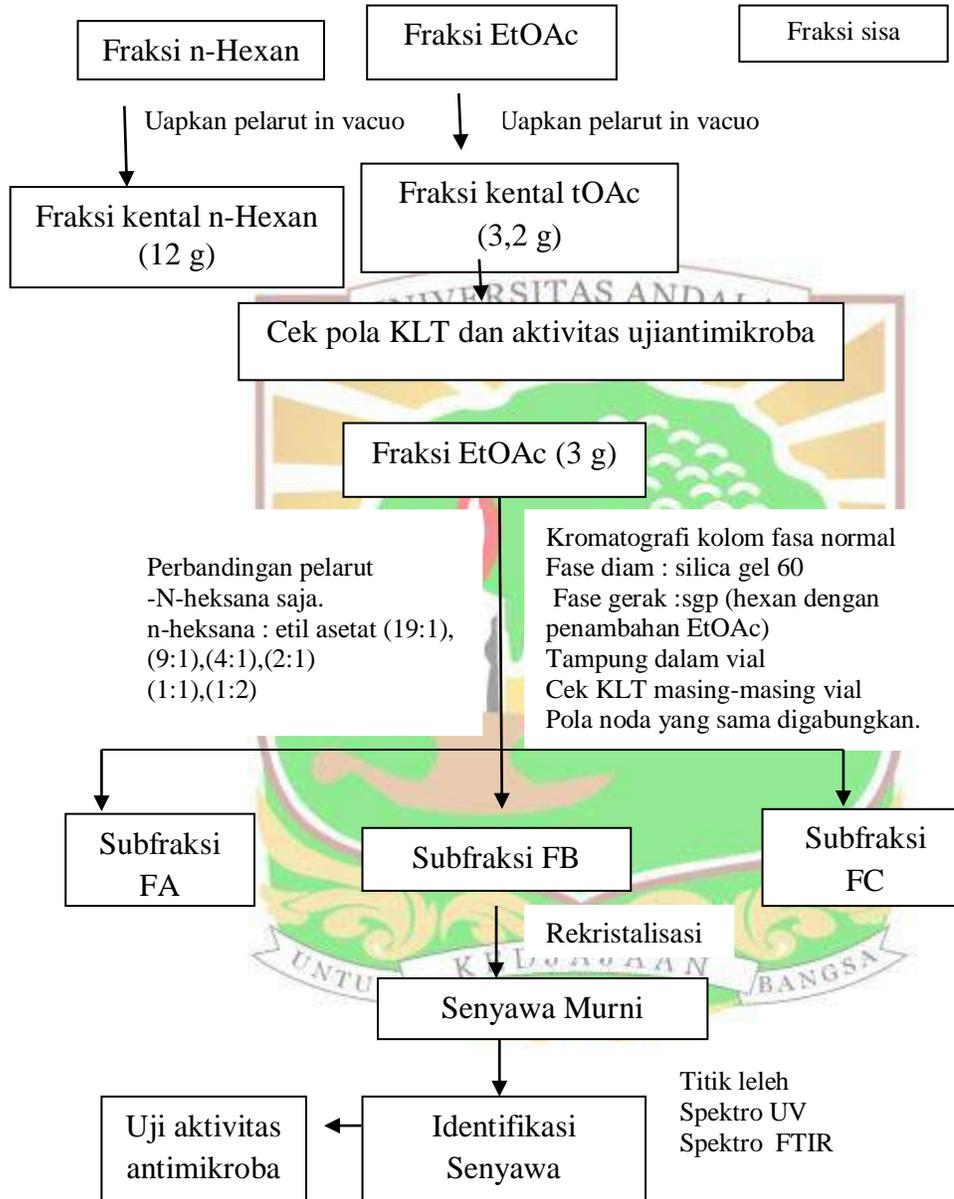
(-) = kontrol (-)(DMSO)

Lampiran 3. Skema Kerja Penelitian



Gambar 24. Skema Ekstraksi dan Fraksinasi rimpang *Zingiber ottensii* Val.

Isolasi Senyawa AF1



Gambar 25. Skema isolasi senyawa AF1