

ISOLASI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI FRAKSI NONPOLAR DAUN

“AKA LAMBUANG” (*Merremia peltata* (L.) Merr.) SECARA *GUIDED*

SKRIPSI SARJANA FARMASI



Oleh:

STEFANY FAULA RENDY PUTRI

No. BP: 1411011007

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS ANDALAS

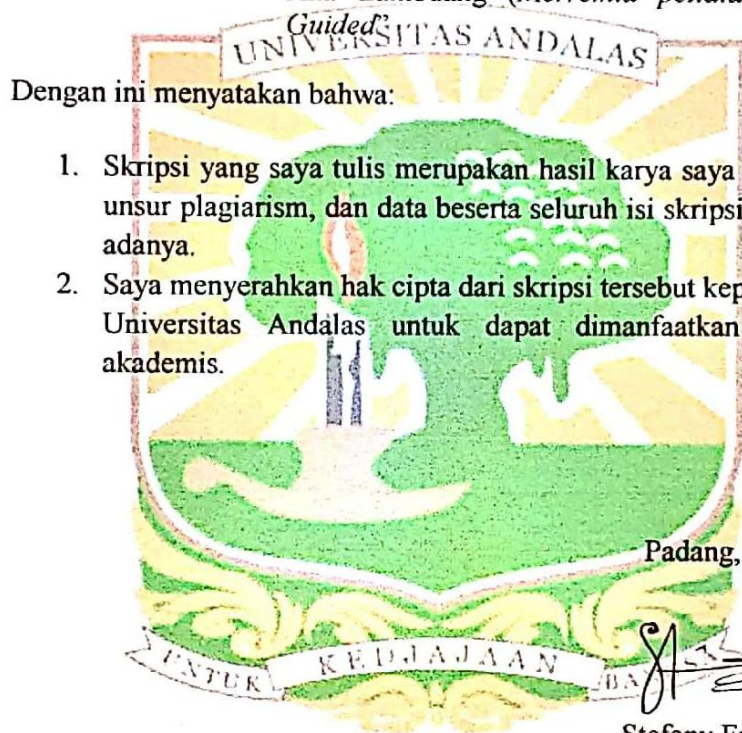
PADANG

2019

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Stefany Faula Rendy Putri
No. BP : 1411011007
Judul Skripsi : "Isolasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Nonpolar Daun Aka Lambuang (*Merremia peltata* (L.) Merr.) secara



Padang, April 2019


Stefany Faula Rendy Putri

Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian

Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi

Universitas Andalas



Disetujui oleh:

Pembimbing I

Dr. H. Johannes Aleti, M.Sc
NIP. 19600303 199103 1001

Pembimbing II

Prof. Dr. Dian Handayani, Apt
NIP. 19680517 199103 002

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia yang tiada henti-hentinya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul **“Isolasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Nonpolar Daun Aka Lambuang (*Merremia peltata* (L.) Merr.) secara *Guided*”**. Skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan program pendidikan strata satu pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Bapak ***Dr. H. Yohannes Alen, M.Sc*** selaku pembimbing I dan Ibu ***Prof. Dr. Dian Handayani, Apt*** selaku pembimbing II yang telah membimbing, mengarahkan dan memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membimbing penulis selama penelitian dan menyusun skripsi ini.

Rasa hormat dan terima kasih, penulis sampaikan kepada:

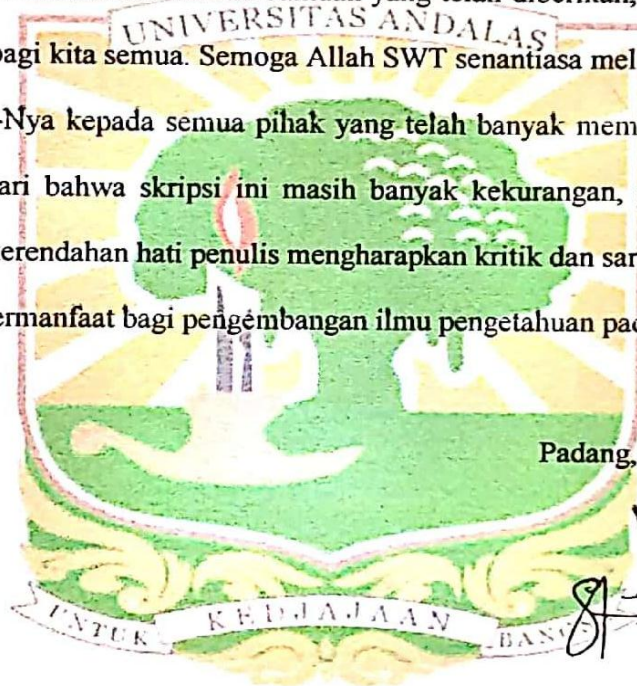
1. Orang tua (***Novinaldy Anwar & Reno Afsah***), abang & adek (***Ferda Ilham Rendy Putra & Ferdo Ilham Rendy Putra***), nenek (***Neng***), tante (***lili***) dan keluarga besar yang selalu memberikan do‘a, dukungan, semangat yang tiada henti-hentinya selama penulisan skripsi ini.
2. Ibu ***Prof. Henny Lucida, Phd, Apt*** selaku penasehat akademik sekaligus ibu kos yang sudah saya anggap seperti ibu sendiri yang telah membimbing, menyemangati dan mendoakan penulis selama menjalani masa kuliah sampai mendapatkan gelar S.Farm di Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

3. Bapak dan Ibu dosen, analis laboratorium serta seluruh civitas akademi Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan ilmu, dukungan, doa, bantuan dan pengalaman berharga kepada penulis. Terkhusus kepada Ibu (*Yulia N.Chaniago, SH*) dan Uni (*Febby*).
4. Rekan sepembimbingan “*Merremia Squad*” (*Bebsfir dan Ane*) yang sama-sama berjuang dari awal sampai akhir. Dapat bonus **pembimbing** +++ (*Kak evi, kak golda, kak ipih, kak meme, danop, bg febri, bg nanda*) tempat diskusi ter-enjoyable yang dapat membuka pikiran dalam penulisan skripsi ini. Teristimewa rekanku ♥*Maghfira Putri Ilham*♥ saksi nyata perjuangan meraih gelar S.Farm yang tidak semudah dibayangkan netizen diluar sana and finally we did it ☺.
5. Sahabat kampus serasa keluarga “**MAGIC**” (*Katty, Nadin, Taya, Mami, Dekchi, Icon, Oyen, Boim*). **Roommate** terbaik (*Nadia Putri Inanta S.Farm*) yang telah menemani keluh kesah perjalanan di farmasi ini. **soBP** terbaik (*Yummi Rahmatika*), “**KeluargaBP07**”, “**AIENSIK**”, “**INCENDIO**”, **SENIOR** dan **JUNIOR** yang slalu membantu dalam banyak hal.
6. Sponsor utama (*Prima Asvendo, SH*) yang selalu memberi dukungan dan energi semangat dalam mendorong penulisan skripsi ini.
7. “**FILOS**”(*Ami,Cindy,Pretty,lady,Wulan,Hamdan,Ryan,Ilham,Yazid*), “**SMA’s Squad**” (*Nini,Indy,SyafiaNanad*), “**BUNDADARI**” (*Kak fany,kak jenny, kak ica, kak ame, kak dika, anne, uput, dini, ica, ellin, ica tishana, weni*), “**DOZEN AMICO**” (*Mimi adet, bunda dhiya, uqi, dekica, cece ayu, kakintan, teteh rindu, puci, maswahyu, omaris,ihsan*) “**KKN BKKBN**”

uca, bebdelin, kak ezah, mita, kak wiwit) yang selalu menemani dan menghibur selama pembuatan skripsi yang berat ini.

8. Semua pihak yang tidak dapat diucapkan satu persatu, terimakasih karena selalu memberi semangat, doa dan dorongan serta selalu mengingatkan penulis untuk menyelesaikan skripsi ini

Terimakasih atas semua bantuan yang telah diberikan, semoga menjadi amal shaleh bagi kita semua. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada semua pihak yang telah banyak membantu penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, maka dari itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada masa mendatang.



Padang, April 2019

Wassalam

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'S' followed by several horizontal strokes.

Penulis

□

**“Isolasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Nonpolar Daun Aka Lambuang
(*Merremia peltata* (L.) Merr.) secara Guided”**

ABSTRAK

Tumbuhan *Merremia peltata* (L.) Merr., atau dikenal dengan nama daerah "Aka Lambuang" merupakan tumbuhan invasif yang digunakan sebagai obat tradisional. Aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan tumbuhan ini terhadap *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa antibakteri dari fraksi *n*-heksan daun *Merremia peltata* (L.) Merr. Isolasi senyawa dilakukan dengan metode kromatografi dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh tiga subfraksi yaitu subfraksi I (6 mg), subfraksi II (18 mg) dan subfraksi III (5 mg). Setiap subfraksi dapat menghambat 9 bakteri uji secara signifikan terutama pada MIC 50 ppm secara berturut-turut aktif terhadap bakteri *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.thypii* dan *S.thypimurium* ATCC 14028. Berdasarkan pemeriksaan kimia, subfraksi I dan II dapat digolongkan sebagai terpenoid sedangkan subfraksi III merupakan golongan steroid. Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS, subfraksi I adalah senyawa *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexil)* dan *2-Pentadecanone 6,10,14 trimethyl*. Subfraksi II adalah senyawa *n-Hexadecanoic acid* dan *Cis-9 Hexadecenal*. Subfraksi III adalah senyawa *Ergost-5en-3ol (3-beta)*, *Stigmasterol* dan *γ Sitosterol*.

Kata kunci: Isolasi, *Merremia peltata* (L.) Merr., Metode Dilusi, Antibakteri, GC-MS

“Isolation of Antibacterial Compound from Non-polar Fraction of Aka Lambuang (*Merremia peltata* (L.) Merr.,) Leaves Guided”

ABSTRACT

Merremia peltata (L.) Merr., with a local name as "Aka Lambuang" is an invasive plant used as traditional medicine. Antibacterial activity of *n*-hexane fraction on this plant against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* showed a significant result in inhibiting bacterial growth. The aims of this study were to isolate the major compound and tested for antibacterial activity from *Merremia peltata* (L.) Merr leaves. Isolation was done by using chromatographic method and antibacterial activity was tested by dilution method. Based on the results, the isolation of three subfractions were obtained as subfraction I (6 mg), subfraction II (18 mg) and subfraction III (5 mg). Each subfraction can inhibit the growth of 9 test bacteria with significant results particularly at MIC of 50 ppm, against bacteria *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.thypii* and *S.thypimurium* ATCC 14028, respectively. Based on the chemical examination, subfraction I and II were classified as terpenoid and subfraction III were classified as steroid. From GC-MS analysis, subfraction I identic with 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-Ethylhexyl) and 2-Pentadecanone 6,10,14 trimethyl. Subfraction II identic with n-Hexadecanoic acid and Cis-9 Hexadecenal. Subfraction III identic with *Ergost-5en-3ol* (3-beta), *Stigmasterol* and γ *Sitosterol*.

Keywords: Isolation, *Merremia peltata* (L.) Merr., Dilution, Antibacterial, GC-MS Method



DAFTAR ISI

JUDUL	
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vii
1. PENDAHULUAN	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan Botani <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.,	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Sinonim	5
2.1.3 Nama Daerah	6
2.1.4 Deskripsi	6
2.1.5 Kandungan Kimia dan Kegunaan	7
2.2 Ekstraksi	8
2.3 Fraksinasi	11
2.4 Pemisahan Senyawa	11
2.4.1 Kromatografi	11
2.4.2 Kromatografi Lapis Tipis	12
2.4.3 Kromatografi Kolom	13
2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri	13
2.5.1 Bakteri	13
2.5.2 Berdasarkan dinding sel	13
2.5.3 Bakteri Uji	14
2.5.4 Mekanisme Kerja Antibakteri	17
2.5.5 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	18
2.5.6 Antibiotik Pembanding	20

2.5.7 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi	21
3. PELAKSANAAN PENELITIAN	26
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2 Prosedur Penelitian	26
3.2.1 Alat	26
3.2.2 Bahan	27
3.3 Prosedur Penelitian	27
3.3.1 Pengambilan Sampel	27
3.3.2 Ekstraksi	27
3.3.3 Fraksinasi	28
3.3.4 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	28
3.3.5 Karakterisasi Sub-fraksi Hasil Isolasi	30
3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri	31
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil	35
4.1.1 Identifikasi Sampel	35
4.1.2 Ekstraksi dan Fraksinasi daun <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.,	35
4.1.3 Senyawa Hasil Isolasi	35
4.1.3.1 Isolasi Dengan Kromatografi	35
4.1.3.2 Senyawa Hasil Isolasi	37
4.1.3.3 Hasil Uji Aktis svitas Antibakteri	38
4.1.3.4 Hasil Analisis GC-MS	38
4.2 Pembahasan	38
5. KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Data Hasil Penelitian	58
2	Skema Kerja	94
3	Foto Penelitian	96
4	Hasil Identifikasi Tanaman <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.	99



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1	Berat Sub-fraksi <i>n</i> -heksan	35
2	Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-31-12	36
3	Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-36-03	36
4	Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-36-06	36
5	Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-36-10	37
6	MIC Fraksi <i>n</i> -heksan, Subfraksi I, Subfraksi II, Subfraksi III	38
7	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Escheria coli</i> pada <i>Microplate Reader</i>	62
8	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Streptococcus mutans</i> pada <i>Microplate Reader</i>	63
9	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Bacillus subtilis</i> pada <i>Microplate Reader</i>	65
10	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> pada <i>Microplate Reader</i>	66
11	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Vibrio cholerae</i> pada <i>Microplate Reader</i>	68
12	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Salmonella thyposa</i> pada <i>Microplate Reader</i>	69
13	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Pseudo aeruginosa</i> pada <i>Microplate Reader</i>	71

14	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Samonella thypimurium</i> Pada Microplate Reader	72
15	Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Samonella thypii</i> Pada Microplate Reader	74
16	Pemeriksaan Fisika dan Pemeriksaan Kimia Senyawa	75



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Struktur Kloramfenikol	21
2	Profil KLT Fraksi <i>n</i> -heksan & Senyawa Hasil Isolasi	58
3	Profil KLT Hasil Pemurnian dengan Metode <i>Multiple Developing System</i> (MDS)	58
4	Profil KLT Subfraksi I yang Disemprot dengan Reagen Penampak Noda	59
5	Profil KLT Subfraksi II yang Disemprot dengan Reagen Penampak Noda	60
6	Profil KLT Subfraksi III yang Disemprot dengan Reagen Penampak Noda	60
7	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Escheria coli</i>	61
8	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	62
9	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	64
10	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	65
11	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Vibrio cholera</i>	67
12	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Salmonella thyposa</i>	68
13	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri <i>Pseudo aeruginosa</i>	70
14	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap Bakteri <i>Samonella thypimurium</i>	71

15	Uji Aktivitas Senyawa Terhadap Bakteri <i>Samonella thypii</i> .	73
16	Spektrum UV-vis Subfraksi I	76
17	Spektrum UV-vis Subfraksi II	76
18	Spektrum UV-vis Subfraksi III	77
19	Spektrum Inframerah Subfraksi I	78
20	Spektrum Inframerah Subfraksi II	79
21	Spektrum Inframerah Subfraksi III	80
22	Hasil Analisis GC-MS	81
23	Kromatogram GC-MS Subfraksi I dengan Beberapa Puncak	82
24	Kromatogram GC-MS Subfraksi I puncak I	83
25	Kromatogram GC-MS Subfraksi I puncak II	82
26	Spektrum Massa Puncak I	82
27	Spektrum Massa <i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)</i>	83
28	Spektrum Massa Puncak I	84
29	Spektrum Massa <i>2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl</i>	84
30	Hasil Analisis GC-MS	84
31	Kromatogram GC-MS Subfraksi II beberapa puncak	85
32	Kromatogram GC-MS Subfraksi II puncak I	86
33	Kromatogram GC-MS Subfraksi II puncak II.	86
34	Spektrum Massa Puncak I	87

35	Spektrum Massa <i>Cis-9-hexadecenal</i>	87
36	Spektrum Massa Puncak I	87
37	Spektrum Massa <i>n-Hexadecanoic acid</i>	88
38	Hasil Analisis GC-MS	89
39	Kromatogram GC-MS Subfraksi III beberapa puncak	90
40	Kromatogram GC-MS Subfraksi III puncak I	90
41	Kromatogram GC-MS Subfraksi III puncak II	91
42	Kromatogram GC-MS Subfraksi III puncak III	91
43	Spektrum Senyawa Puncak I	92
44	Spektrum Massa <i>Stigmasterol</i>	92
45	Spektrum Senyawa Puncak I	92
46	Spektrum Massa γ <i>sitosterol</i>	93
47	Spektrum Senyawa Puncak I	93
48	Spektrum Massa <i>Ergost-5-en-3-ol, (3,beta)</i>	93
49	Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa	94
50	Metabolit Sekunder <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.,	95
51	Skema Kerja Isolasi Fraksi <i>n</i> -heksan Daun <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.,	96
52	Tumbuhan <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.,(Habitat)	97
53	Kromatografi Kolom Fraksi <i>n</i> -heksan	98
54	Subfraksi Hasil Pemisahan dengan Kromatografi Kolom	98



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tumbuhan merupakan gudang kimia terkaya, karena banyak komponen kimia yang bermanfaat secara kefarmasian terkandung didalamnya (Rivai, 2002). Tumbuh-tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat telah banyak dipelajari secara ilmiah, alhasil tanaman obat memiliki kandungan zat-zat atau senyawa yang secara klinis dapat digunakan sebagai obat. Keadaan ini menjadi peluang untuk mengembangkan obat tradisional sebagai pilihan pengobatan dan pencegahan penyakit. Salah satu tumbuhannya adalah *Merremia peltata* (L.) Merr.,

Tumbuhan *Merremia peltata* (L.) Merr., atau dikenal dengan nama daerah minang “Aka Lambuang” famili Convolvulaceae. Menurut *Global Invasive Species Database* “GISD” (2015) merupakan tanaman herba yang sering melilit tanaman lainnya. Batangnya licin, panjangnya dapat mencapai 20 m dan pada bagian ujungnya berbentuk spiral. Daunnya tunggal, berselingan dengan pertulangan di bawah daun berwarna merah keunguan dan tepi daun berkilin. Sinonim tanaman ini adalah *Convolvulus peltatus* Linn., *Merremia nymphaeifolia* Hallier f., *Ipomoea nymphaeifolia* Blume, *Ipomoea peltata* Choisy, *Chironia lanosantha* Blanco, *Chironia capsularis* Blanco (Bourdy & Walter, 1992).

Di Vanuatu sebuah negara kepulauan di Samudera Pasifik bagian selatan, masyarakat menggunakan daun *Merremia peltata* (L.) Merr., ini untuk membantu proses kelahiran dengan cara mencampurkan daun *Merremia peltata* dan *Merremia odorata*, yang kemudian diperas dan diminum air perasannya (Bourdy & Walter, 1992). Di Kalimantan Timur, tumbuhan ini digunakan masyarakat untuk mengobati bagian tubuh yang bengkak akibat gigitan serangga (Rahayu, 2007). Lebih lanjut (Ruslin dan Sahidin, 2008) melalui kajian *etnobotani*, bahwa Suku Tolaki di Sulawesi Tenggara memanfaatkan tumbuhan ini untuk mengobati ketombe dan penyakit kulit sedangkan khusus bagian akarnya digunakan untuk pengobatan kencing nanah, raja singa, pembersih darah dan keputihan. Selain itu daunnya untuk mengobati bisul, anti-emetik, bengkak, rematik dan daun *Merremia peltata* (L.) Merr., juga digunakan oleh masyarakat Papua New Guinea untuk pengobatan kaki gajah, demam, radang pada mata (Waruruai, 2011).

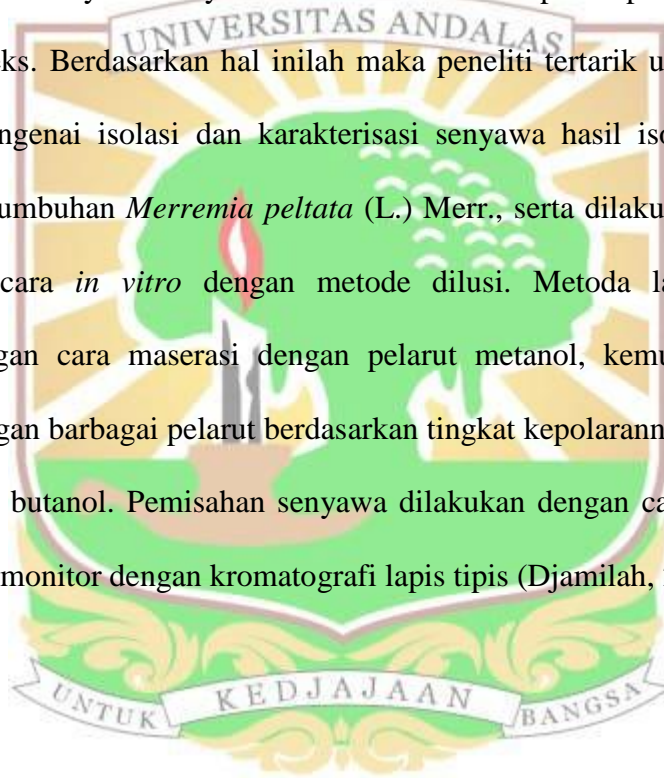
Di Sumatera Barat, tumbuhan ini digunakan sebagai obat diare, sakit perut, batuk, sakit mata, luka, radang dan pengompres luka yang disebabkan oleh bakteri (Alen *et al.*, 2012). Selanjutnya masyarakat Maluku Utara dengan meminum air perasan daunnya untuk wanita pasca bersalin. Batang dari tumbuhan ini juga digunakan sebagai obat batuk dengan meminum air rebusannya dan juga digunakan untuk memperbanyak ASI bagi wanita menyusui dengan meminum air tumbukan batang tumbuhan tersebut (Susiarti, 2015).

Penelitian tentang pengujian aktivitas antibakteri telah dilakukan dengan menggunakan fraksi heksan, fraksi etil asetat dan fraksi sisa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas pada Konsentrasi

Hambat Minimum (KHM) masing-masing 500 ppm. Pada fraksi yang sama terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas pada (KHM) masing-masing 1000 ppm (Alen *et al.*, 2012). Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol *Merremia peltata* (L.) Merr., juga dilakukan terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*) menunjukkan hasil yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut (Perez *et al.*, 2015). Selain itu sudah dilakukan pengujian efek antikanker dari ekstrak etanol daun *Merremia peltata* (L.) Merr, secara *in vivo* pada mencit putih jantan dengan metode *Micronucleus Assay*. Pada dosis 30, 100, dan 300 mg/KgBB mempunyai aktivitas antikanker. Hasil menunjukkan terjadinya penurunan jumlah sel mikronuklei hewan percobaan dibandingkan jumlah sel mikronuklei kelompok hewan yang hanya diberi siklofosfamida (kelompok kontrol positif) secara bermakna (Alen *et al.*, 2009). Dilanjutkan hasil penelitian uji sitotoksik menggunakan *Brine Shrimp Lethality Method* menunjukkan nilai LC₅₀ ekstrak daun “Aka Lambuang” 19,678 ppm, fraksi heksan didapat nilai LC₅₀ 22,029, fraksi etil asetat didapatkan nilai LC₅₀ 130,918 (Alen *et al.*, 2016).

Uji pendahuluan pada ekstrak dan fraksi secara *in vitro* dengan menggunakan plat KLT yang disemprot dengan reagen DPPH (*2,2-diphenil-1-picrylhidrazil*) menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Hasil uji skrining fitokimia daun segar tanaman ini, diketahui tanaman ini memiliki kandungan metabolit sekunder berupa terpenoid, steroid, saponin dan fenolik (Fitriwati, 2007).

Fungsi dan peran setiap komponen kimia tumbuhan belum terungkap seluruhnya. Sementara bukti khasiat dari komponen kimia tersebut banyak terlihat seperti pemanfaatannya secara empiris sebagai obat tradisional (Kardinan dan Taryono, 2003). Khasiat tumbuhan obat disebabkan oleh kandungan zat berkhasiat yang terdapat dalam tanaman. Kandungan kimia yang ada dalam suatu tanaman banyak jenisnya dan juga jumlah kandungannya relatif sedikit, dimana cara mengisolasi senyawa-senyawa kimia tersebut merupakan permasalahan yang cukup kompleks. Berdasarkan hal inilah maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi senyawa hasil isolasi dari fraksi heksan daun tumbuhan *Merremia peltata* (L.) Merr., serta dilakukan uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* dengan metode dilusi. Metoda lainnya meliputi ekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut metanol, kemudian dilakukan fraksinasi dengan berbagai pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu heksan, etil asetat dan butanol. Pemisahan senyawa dilakukan dengan cara kromatografi kolom yang dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (Djamilah, 2010).

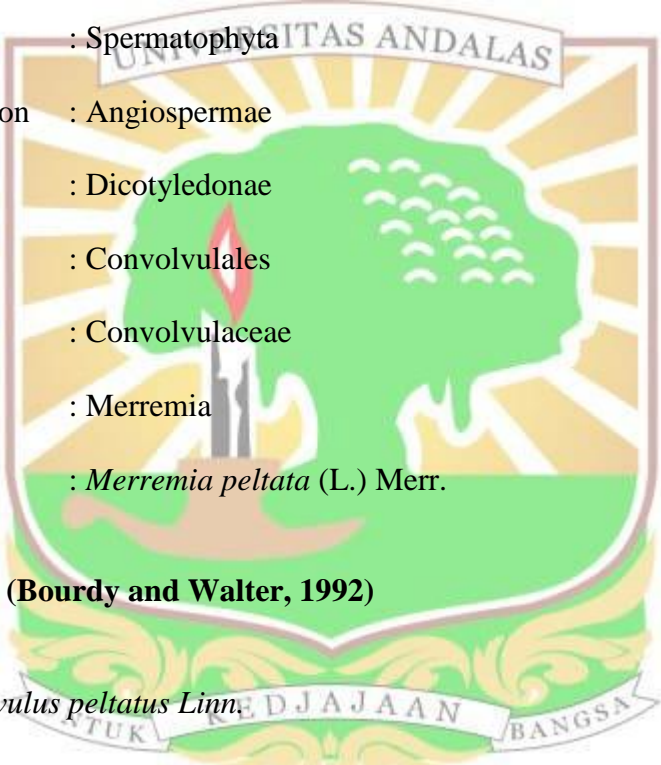


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani *Merremia peltata* (L.) Merr.

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan (Paynter, 2006)



Divisio	: Spermatophyta
Subdivision	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Convolvales
Famili	: Convolvaceae
Genus	: <i>Merremia</i>
Spesies	: <i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.

2.1.2 Sinonim (Bourdy and Walter, 1992)

- *Convolvulus peltatus* Linn.
- *Merremia nymphaeifolia* Hallier f.
- *Ipomoea nymphaeifolia* Blume
- *Ipomoea peltata* Choisy
- *Chironia lanosantha* Blanco
- *Chironia capsularis* Blanco.

2.1.3 Nama daerah

Akar ulan, akar ulan gajah (Indonesia), Akar sambang, rabana uding, ritang melading, aka lambuang (Sumatera), Kangkong bukit, areuy charayum, aeruy ki parumpung/ki palumpung, klurak, kangkung tirto, akar beloran (Jawa), Bukalung (Bali), Blaran, akar kachangbing (Kalimantan), Balanteteh, talabo, wanaring, manaring, tichinian, bura'an'a, afay (Sulawesi) dan daun rambut, obat rambut, halen, hailale, long, kuge, kugete, koege (Maluku) (Dekker, 2007).

2.1.4 Deskripsi

Tumbuhan *Merremia peltata* (L.) Merr., merupakan herba perennial yang menjalar, seringkali melilit pada tumbuhan lain. Batangnya licin, panjangnya dapat mencapai 20 m dan pada bagian ujungnya berbentuk spiral. Daunnya tunggal, berselingan dengan pertulangan di bawah daun berwarna merah keunguan, tepi daun berlilin. Memiliki bunga majemuk, biseksual, berbentuk pentamer, calyx (kelopak) berjumlah 5, persisten, corolla berlobus, berbentuk corong, berwarna putih, stamen 5, pada dasar tabung corolla, bakal buah bicarpel, syncarpous plasenta sumbu. Getah berwarna putih susu (GISD, 2015).

Tumbuhan ini tumbuh di hutan dan semak belukar, merambat dan menutupi semak dan pepohonan. Penyebaran *Merremia peltata* (L.) Merr., di Indonesia dapat ditemukan di Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, Kalimantan dan Maluku (Smith, 1991). Penyebaran di luar Indonesia dapat ditemukan di Afrika bagian timur, Madagaskar, Samudra Hindia dan kepulauan Andaman, Thailand, Malaysia,

Singapura, Indonesia, Filipina, Nugini, Kaledonia baru, Australia (Queensland), Kepulauan Pasifik (GISD, 2015).

2.1.5 Kandungan Kimia dan Kegunaan

1. Kandungan Kimia

Dari hasil studi literatur diketahui bahwa tumbuhan ini memiliki kandungan metabolit sekunder berupa terpenoid, steroid, saponin dan fenolik (Honesty, 2012). Uji pendahuluan pada ekstrak dan fraksi secara *in vitro* dengan menggunakan plat KLT yang disemprot dengan reagen DPPH (2,2-diphenil-1-picrylhidrazil) menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan (Fitriwati, 2007).

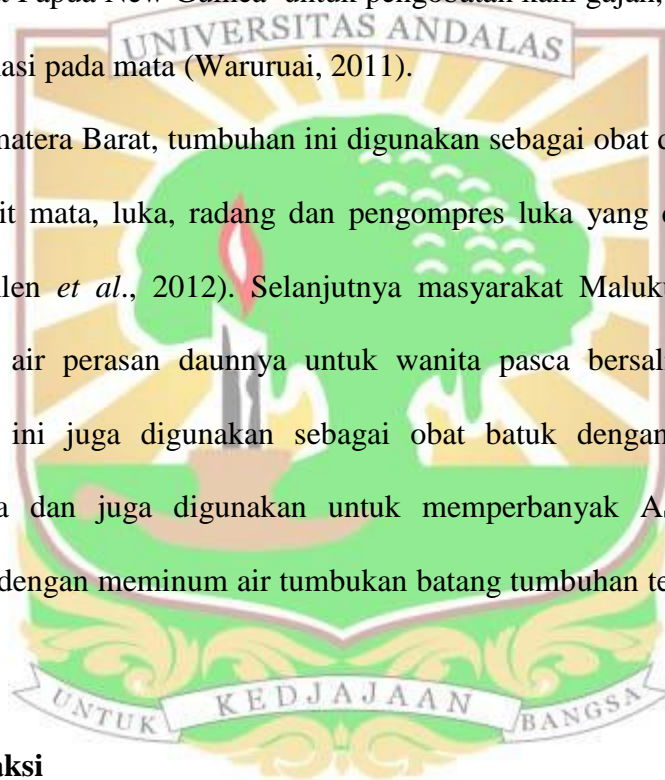
Selain itu juga sudah dilakukan pengujian efek antikanker dari ekstrak etanol daun *Merremia peltata* (L.) Merr., secara *in vivo* pada mencit putih jantan dengan metode *Micronucleus Assay*. Hasil menunjukkan terjadinya penurunan jumlah sel mikronuklei hewan percobaan dibandingkan jumlah sel mikronuklei kelompok hewan yang hanya diberi siklofosfamida (kelompok kontrol positif) secara bermakna (Alen *et al.*, 2009).

2. Kegunaan

Di Vanuatu sebuah negara kepulauan di Samudera Pasifik bagian selatan, menggunakan daun *Merremia peltata* (L.) Merr., ini untuk membantu proses kelahiran dengan cara mencampurkan daun *Merremia peltata* dan *Merremia odorata*, yang kemudian diperas dan diminum air perasannya (Bourdy & Walter, 1992). Di Kalimantan Timur, tumbuhan ini digunakan masyarakat untuk mengobati bagian tubuh yang bengkak akibat gigitan serangga (Rahayu,

2007). Lebih lanjut (Ruslin dan Sahidin, 2008) melalui kajian etnobotani, bahwa Suku Tolaki di Sulawesi Tenggara memanfaatkan tumbuhan ini untuk mengobati ketombe dan penyakit kulit sedangkan khusus bagian akarnya digunakan untuk pengobatan kencing nanah, raja singa, pembersih darah dan keputihan. Selain itu daunnya untuk mengobati bisul, anti-emetik, bengkak, rematik dan daun *Merremia peltata* (L.) Merr., juga digunakan oleh masyarakat Papua New Guinea untuk pengobatan kaki gajah, demam, rhinitis dan inflamasi pada mata (Waruruai, 2011).

Di Sumatera Barat, tumbuhan ini digunakan sebagai obat diare, sakit perut, batuk, sakit mata, luka, radang dan pengompres luka yang disebabkan oleh bakteri (Alen *et al.*, 2012). Selanjutnya masyarakat Maluku Utara dengan meminum air perasan daunnya untuk wanita pasca bersalin. Batang dari tumbuhan ini juga digunakan sebagai obat batuk dengan meminum air rebusannya dan juga digunakan untuk memperbanyak ASI bagi wanita menyusui dengan meminum air tumbukan batang tumbuhan tersebut (Susiarti, 2015).



2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000). Setelah

proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi.

Menurut Alen *et al.*, (2016) yang dikutip dari (Djamal, 1990), teknik yang umum untuk ekstraksi senyawa kimia adalah dengan cara maserasi, sokletasi, perkolasi, digestasi, infusa dan dekokta:

1. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian sederhana yaitu dengan merendam sampel dengan pelarut yang sesuai beberapa kali selama 3-5 hari. Pelarut akan menembus ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena perbedaan konsentrasi antara larutan dan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan pekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut akan terjadi berulang-ulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam sel dan diluar sel yang ditandai dengan pelarut pada sampel sudah bening.

2. Sokletasi

Sokletasi merupakan teknik penyarian dengan pelarut organik menggunakan alat sokhlet. Pada cara ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsip kerjanya adalah penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Biasanya pelarut yang digunakan mudah menguap atau mempunyai titik didih yang rendah. Akan tetapi metode sokletasi ini dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil.

3. Perkolasi

Perkolasi merupakan teknik penyarian dengan pelarut organik menggunakan alat perkolator. Prinsipnya mirip dengan maserasi. Perbedaannya adalah pada sistem pelarut yang digunakan. Pada maserasi pelarut yang digunakan hanya diaduk-aduk dengan alat pengaduk selama perendaman, sebaliknya pada perkolasi sampel diletakkan pada alat perkolator dan pelarut dialirkan melewati sampel secara kontinu sehingga penyarian lebih sempurna. Proses ekstraksi dihentikan apabila cairan yang keluar dari perkolator (perkolat) sudah tidak berwarna lagi atau sudah tidak terdeteksi lagi dengan pemeriksaan kimia terhadap golongan senyawa yang diinginkan.

4. Digesti

Digesti adalah proses penyarian yang sama seperti maserasi dengan menggunakan pemanasan pada suhu 30°C – 40°C . Cara ini digunakan untuk simplisia yang pada suhu biasa tidak tersari dengan baik.

5. Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit, kecuali dinyatakan lain, dilakukan dengan cara sebagai berikut : simplisia dengan derajat kehalusan tertentu dimasukkan ke dalam panci dan ditambahkan air secukupnya, panaskan diatas penangas air, dihitung pada saat suhu mencapai 90°C sesekali diaduk, serkai selagi panas menggunakan kain

flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki.

6. Dekokta

Dekokta adalah suatu proses penyarian yang hampir sama dengan infusa, perbedaannya pada dekokta digunakan pemanasan selama 30 menit dihitung mulai suhu mencapai 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang mengandung bahan aktif yang tahan terhadap pemanasan.

2.3 Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya merupakan teknik pemisahan ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Senyawa yang bersifat polar akan tertarik ke pelarut yang polar, senyawa yang bersifat semi polar akan tertarik ke pelarut semi polar, dan senyawa yang bersifat non polar akan tertarik ke pelarut non polar (Day & Underwood, 2002).

2.4 Pemisahan Senyawa

2.4.1 Kromatografi

Kromatografi adalah suatu teknik yang diterapkan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran yang cukup rumit. Semua metoda kromatografi didasarkan atas pembagian zat yang harus dipisahkan kepada dua jenis fasa. Fasa yang pertama disebut fasa stasioner, karena dengan atau tanpa bantuan suatu medium (zat pendukung) yang padat. Fasa yang kedua disebut fasa gerak, karena bergerak melalui fasa yang pertama (Djamal, 1990).

Metode yang umum digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa hasil ekstraksi dan fraksinasi menjadi komponen senyawa sederhana atau

tunggal yaitu metode kromatografi. Untuk tujuan kualitatif, kuantitatif, atau preparatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT), sedangkan untuk pemisahan dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom (Day & Underwood, 2002).

2.4.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah suatu metode pemisahan berdasarkan sifat fisika atau kimia dari suatu zat. Suatu zat dapat dipisahkan dari campuran persenyawaan kimia atau fisika kedalam komponen-komponen murni yang membentuk senyawa tersebut, dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca (Suganda, 1997).

Pelaksanaan Kromatografi Lapis Tipis lebih mudah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Dalam Kromatografi Lapis Tipis peralatan yang digunakan relatif lebih sederhana. Fase diam yang paling sering digunakan dalam KLT adalah silika dan bubuk selulosa. Selain itu juga digunakan alumina, sephadex dan kieselguhr (Gandjar dan Rohman, 2007).

Selain fase diam, hal yang perlu diperhatikan adalah pemilihan fase gerak. Beberapa petunjuk dalam pemilihan fase gerak untuk KLT adalah:

- a) Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang tinggi
- b) Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga R_f terletak antara 0,2-0,8
- c) Pemisahan dengan fase diam yang bersifat polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut.

2.4.3 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan teknik pemisahan berdasarkan daya adsorpsi dari suatu adsorben, baik terhadap hasil isolasi maupun terhadap pengotornya. Prinsip kromatografi kolom adalah perbedaan daya serap masing-masing komponen. Sebelum kromatografi kolom, dilakukan terlebih dahulu Kromatografi Lapis Tipis untuk menentukan adsorben dan pelarut yang sesuai agar menghasilkan hasil yang terbaik. Adsorben yang sering digunakan adalah silika gel, aluminium, dan sephadex. Ada dua metode penggunaan fasa gerak pada kromatografi kolom. Pertama metode SGP (*Step Gradient Polarity*) dimana fase gerak yang digunakan dimulai dari pelarut non polar kemudian kepolaran dilanjutkan secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal maupun kombinasi. Selanjutnya, metode yang kedua adalah metode isokratik, dimana fase gerak yang digunakan tetap, baik berupa pelarut tunggal maupun campuran pelarut yang berbeda kepolarannya dengan kombinasi yang sesuai. Metode isokratik digunakan apabila komponen-komponen kimia dalam suatu fraksi dapat memisah dengan baik yang diketahui dari pola Kromatografi Lapis Tipis (Gritter *et al.*, 1991).

2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

2.5.1 Bakteri

Bakteri adalah makhluk hidup yang berukuran sangat kecil, terdiri dari satu sel, berkembang biak dengan membelah diri atau secara aseksual, dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop (Shlegel, 1994).

2.5.2 Berdasarkan dinding selnya bakteri dapat dibedakan atas :

1. Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram sehingga akan berwarna biru atau ungu dibawah mikroskop (Volk dan Wheeler, 1990).

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*.

2. Bakteri Gram negatif

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram sehingga akan berwarna merah bila diamati dibawah mikroskop (Volk dan Wheeler, 1990).

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyphi*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhosa* dan *Vibrio chlorae*.

2.5.3 Bakteri uji

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,5-1,5 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur (Kloos dan Bannerman, 1994). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit yang tidak berkaitan dengan makanan, seperti inflamasi pada kulit, infeksi pernafasan, mastitis, sepsis, dan sindroma syok toksik (Kloos dan Bannerman, 1994).

b. *Salmonella typhimurium*

Salmonella typhimurium merupakan bakteri yang ditemukan di Amerika pada tahun 1899. Sakit yang disebabkan oleh *Salmonella* ini disebut

salmonellosis. Gejala salmonellosis yang paling sering terjadi adalah gastroenteritis. Gastroenteritis terjadi pada usus selama lebih dari 18 jam. Ciri-cirinya adalah demam, sakit kepala, muntah, diare, sakit pada abdomen (abdomen pain) yang terjadi selama 2-5 hari.

c. *Salmonella typhosa*

Salmonella typhosa adalah bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi sistemik yang dikenal dengan demam thypoid dan biasanya mengenai saluran pencernaan dengan gejala demam lebih dari satu minggu, gangguan pencernaan, dan gangguan kesadaran (Djide *et al.*, 2006; Brooks *et al.*, 2005).

d. *Salmonella thyphi*

Salmonella thyphi adalah bakteri gram negatif batang yang menyebabkan demam tifoid. *Salmonella thyphi* merupakan salah satu penyebab infeksi tersering didaerah tropis, khususnya ditempat-tempat dengan higiene yang buruk (Brooks *et al.*, 2005).

e. *Vibrio cholera*

Vibrio cholerae merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk koma (comma shaped). *Vibrio cholerae* memiliki satu flagela disalah satu kutubnya sehingga memiliki motilitas yang tinggi. Bakteri ini bisa hidup dan berkembang pada keadaan aerob dan anaerob. Air dengan kadar garam tinggi seperti air laut adalah tempat hidup alami dari bakteri ini. *Vibrio cholerae* tidak tahan dengan suasana asam dan tumbuh baik pada suasana basa (pH 8,0-9,5) (Jawetz *et al.*, 2005).

f. ***Bacillus subtilis***

Bacillus subtilis merupakan bakteri yang sangat baik digunakan sebagai agen biokontrol, merupakan bakteri gram positif berbentuk batang, bersifat aerobik, serta dapat menghasilkan endospora (Irina *et al.*, 2001).

g. ***Pseudomonas aeruginosa***

Pseudomonas aeruginosa, berbentuk batang, gram negatif, ditemukan pada kulit saluran usus manusia. Dapat menimbulkan infeksi pada saluran kemih, saluran pernafasan (Pelczar *et al.*, 1988; Gan, 1987).

h. ***Escherichia coli***

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. Coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. Manifestasi klinik infeksi oleh *E. Coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Jawetz *et al.*, 2005).

i. ***Streptococcus mutans***

Streptococcus mutans merupakan gram positif, spesies fakultatif anaerob yang sering ditemukan didalam rongga mulut manusia dan merupakan penyebab signifikan terhadap karies gigi. Bakteri ini berperan penting dalam metabolisme sukrosa menjadi asam laktat, yang menyebabkan demineralisasi email gigi. Selain itu dalam kolonisasi awal, yang membentuk plak dan melekat pada gigi (Kim, 2008).

2.5.4 Mekanisme Kerja Antibakteri

Aktivitas zat antibakteri antara lain menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan membunuh bakteri (bakterisid). Menurut Volk dan Wheeler (1990) mekanisme kerja zat antibakteri dibedakan atas :

1. Menghambat sintesa dinding sel bakteri.

Dinding sel bakteri mengandung zat yang secara kimia merupakan suatu polimer kompleks atau mukopeptida (petidoglikan) terdiri dari polisakarida dan polipeptida. Suatu obat antibakteri bila berikatan dengan reseptor selnya dapat mengakibatkan kerusakan pada dinding sel bakteri atau menghambat reaksi pembentukan dinding sel. Kerusakan pada dinding sel atau hambatan pembentukannya dapat berakibat lisis pada sel sehingga sel bakteri akan mati.

2. Menghambat sintesa protein sel bakteri

Protein merupakan suatu senyawa yang sangat penting pada bakteri, dua pertiga dari berat kering bakteri terdiri dari protein. Sel bakteri dalam kehidupannya perlu mensintesis protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Ribosom bakteri terdiri atas dua sub unit yang dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk dapat berfungsi pada sintesa protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan sintesis protein dapat terjadi dengan cara mencegah masuknya asam amino baru ke dalam rantai peptida yang baru. Pengamatan sintesis ini dapat juga dikarenakan pesan mRNA salah dibaca pada daerah pengenalan ribosom, akibatnya asam

amino yang dimasukkan ke dalam peptida ini menghasilkan protein yang tidak fungsional.

3. Mempengaruhi membran sel bakteri

Membran sel adalah struktur yang semipermeabel yang merupakan tempat jalannya metabolit ke dalam dan keluar sel. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida yang mengakibatkan kematian sel.

4. Menghambat biosintesa asam nukleat

Pada umumnya antibakteri menghambat sintesa asam nukleat dengan cara berikatan dengan benang halus ganda DNA. Kompleks DNA dengan antibakteri yang terbentuk menghambat RNA polimerasi yang terlibat dalam biosintesa DNA atau RNA dan menghambat pembentukan mRNA. Penghambatan sintesis ini dapat juga dengan cara berikatan dengan RNA polimerase sehingga menghambat sintesa bakteri.

2.5.5 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bakteri terhadap suatu obat pada prinsipnya adalah penentuan konsentrasi obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Pengujian aktivitas antibakteri ini dapat dibagi atas beberapa cara yaitu:

a. Metode Dilusi

Metoda dilusi merupakan metoda yang paling sederhana dibandingkan metoda pengujian aktivitas antibakteri lainnya. Sampel uji dicampur

dengan medium cair yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji (Reeves, 1978). Prinsip metoda ini adalah sampel diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, lalu masing-masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri dalam media. Setelah inkubasi, diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri dengan melihat kekeruhan dari masing-masing konsentrasi sampel yang dibandingkan dengan kontrol. Sampel uji yang efektif sebagai antibakteri adalah sampel uji yang memberikan larutan bening pada medium yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Konsentrasi sampel terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan, disebut dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

b. Metode Difusi

Metoda difusi merupakan metoda yang sederhana dalam pengujian aktivitas antibakteri. Pada metoda ini pencadang (reservoir) yang mengandung sampel uji ditempatkan pada permukaan medium yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Setelah inkubasi, diameter daerah bening sekitar pencadang diukur. Prinsip metoda difusi yaitu pengukuran luas daerah hambatan pertumbuhan bakteri karena berdifusinya sampel dari titik awal pemberian ke daerah difusi (Reeves, 1978).

c. Metoda Bioautografi

Metoda ini merupakan metoda untuk melokalisasi aktivitas antibakteri pada kromatogram. Prosedur umumnya berdasarkan difusi dari sampel pada plat KLT atau pada Kromatogram kertas ke lapisan agar.

Permasalahan yang disebabkan oleh perbedaan daya difusi dari kromatogram ke lapisan agar dapat diatasi dengan teknik bioautografi langsung, yaitu dengan mendeteksi langsung pada kromatogram. Plat KLT disemprot dengan suspensi mikroba, kemudian diinkubasi selama beberapa hari. Daerah hambatan pada noda yang memberikan aktivitas antimikroba dilihat dengan penampak noda yang cocok (Betina, 1973).

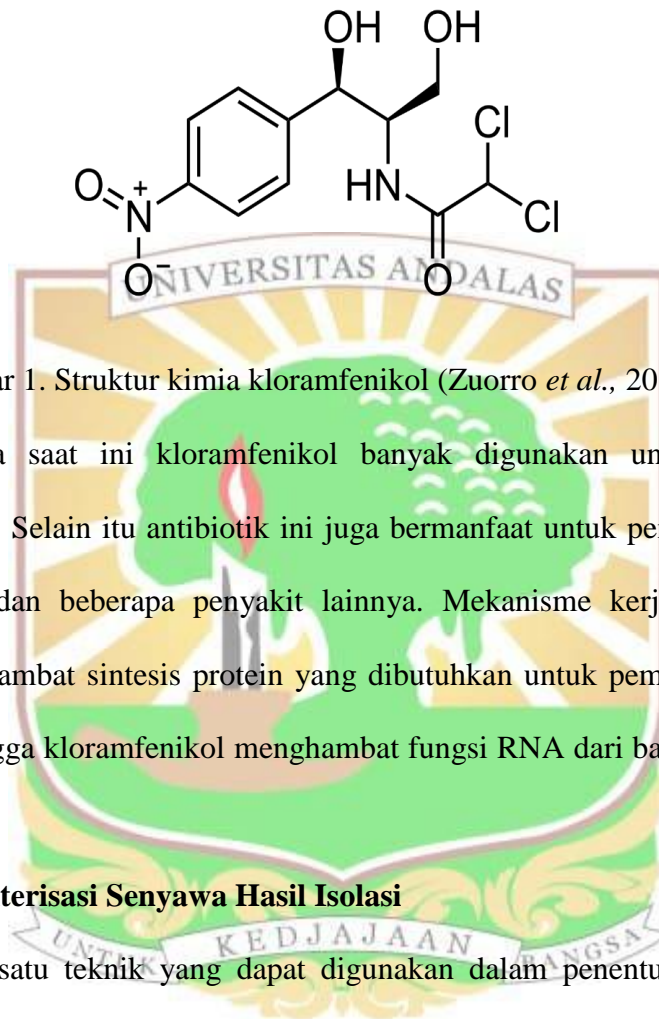
2.5.6 Antibiotik Pembanding

Dalam pengujian aktifitas antibiotik atau antimikroba biasanya digunakan antibiotik atau antimikroba yang telah diketahui aktifitasnya. Tujuan pembanding ini adalah untuk mengetahui kepekaan mikroba uji yang digunakan. Senyawa antimikroba yang digunakan biasanya berspektrum luas atau dapat bekerja pada semua kelompok mikroba uji (Reeves *et al.*, 1978).

Kloramfenikol atau kloramisetin adalah antibiotik yang mempunyai spektrum luas yang dihasilkan oleh bakteri *Streptomyces venezuela* (Sumardjo, 2006). Antibiotik berspektrum luas ini berkhasiat bakteriostatik terhadap hampir semua kuman Gram-positif dan sejumlah kuman Gram-negatif, juga terhadap *spirochaeta*, *Chlamydia trachomatis* dan *Mycoplasma*. Bekerja bakterisid terhadap *Streptococcus pneumoniae*, *Neiss. Meningitides* dan *H. influenzae* (Tjay, 2007).

Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri, yang dihambat adalah enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesa protein bakteri. Kloramfenikol umumnya bersifat bakteriostatik. Pada konsentrasi tinggi

kloramfenikol kadang-kadang bersifat bakterisid pada bakteri tertentu. Kloramfenikol berspektrum luas sehingga aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Zuorro *et al.*, 2010).



Gambar 1. Struktur kimia kloramfenikol (Zuorro *et al.*, 2010)

Hingga saat ini kloramfenikol banyak digunakan untuk pengobatan penyakit tifus. Selain itu antibiotik ini juga bermanfaat untuk pengobatan kolera, batuk rejan, dan beberapa penyakit lainnya. Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat sintesis protein yang dibutuhkan untuk pembentukan sel-sel bakteri, sehingga kloramfenikol menghambat fungsi RNA dari bakteri (Sumardjo, 2006).

2.5.7 Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Salah satu teknik yang dapat digunakan dalam penentuan struktur dari suatu senyawa organik adalah teknik spektroskopi. Teknik spektroskopi ini didasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik (Fessenden & Fessenden, 1999). Radiasi elektromagnetik tersebut dapat berupa radiasi sinar γ , sinar-X (X-ray), UV-Vis (ultra ungu-tampak), infra merah (IR), gelombang mikro dan gelombang radio (Harvey, 2000).

1. Spektroskopi Inframerah

Spektroskopi inframerah dapat digunakan untuk identifikasi senyawa organik dengan menentukan gugus fungsi senyawa tersebut. Spektrum inframerah dari senyawa organik mempunyai sifat fisik yang khas, artinya kemungkinan kecil sekali dua senyawa mempunyai spektrum yang sama. Spektrum inframerah terletak pada daerah dengan panjang gelombang berkisar 0,78 - 1000 μm . Instrumen spektrum inframerah dibagi ke dalam tiga radiasi, yaitu inframerah dekat, pertengahan, dan jauh (Bintang, 2010).

Energi suatu molekul terdiri dari energi translasi, rotasi, vibrasi, dan elektronik. Pada serapan inframerah, molekul akan menyerap energi radiasi dengan memperbesar energi vibrasinya. Di dalam spektrofotometer molekul diradiasi dengan frekuensi inframerah, akan tetapi molekul hanya menyerap radiasi yang sesuai dengan frekuensi vibrasi alamiah molekul tersebut. Sementara itu, intensitas absorpsi tergantung kepada efektivitas energi foton inframerah yang dapat dipindahkan kepada molekul (Noerdin, 1986).

Ada 2 macam vibrasi utama dalam molekul (Noerdin, 1986):

1. Vibrasi regang (*stretching*): terjadi terus-menerus perubahan jarak antara dua atom di dalam suatu molekul. Vibrasi regang ini ada dua macam, yaitu vibrasi regang simetris dan tak simetris.

2. Vibrasi lentur (*bending*): terjadi perubahan sudut antara dua ikatan kimia.

Ada 4 macam vibrasi lentur, yaitu vibrasi lentur dalam bidang (*in-plane bending*) yang dapat berupa guntingan (*scissoring*) atau goyangan

(*rocking*) dan vibrasi keluar bidang(*out of plane bending*) yang dapat berupa kibasan (*twisting*) atau pelintiran (*waging*).

Daerah infra merah terletak antara spektrum radiasi elektromagnetik cahaya tampak dan spektrum radiasi radio, yakni antara 4000 dan 400cm^{-1} . Jika radiasi infra merah dilewatkan melalui sampel senyawa organik, maka terdapat sejumlah energi yang diserap dan yang ditranmisikan tanpa diserap. Molekul yang menyerap energi infra merah akan mengalami perubahan energi vibrasi dan perubahan tingkat energi rotasi sehingga menghasilkan suatu frekuensi yang khas (Silverstein *et al.*, 2005; Skoog, *et al.*, 1998).

2. Spektroskopi Ultraviolet dan Visibel

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Spektrofotometer UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Akan tetapi, spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif (Dachriyanus, 2004).

Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200 - 400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400 - 800 nm. Sebagai sumber cahaya biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten untuk pengukuran cahaya tampak. Panjang gelombang dari sumber cahaya akan dibagi oleh pemisah panjang gelombang (*wavelength separator*) seperti prisma atau monokromator. Spektrum didapat

dengan cara *scanning* oleh *wavelength separator* sedangkan pengukuran kuantitatif bisa dibuat spektrum atau pada panjang gelombang tertentu (Dachriyanus, 2004).

Istilah-istilah terkait senyawa yang mampu memberikan serapan didaerah UV-Vis yaitu dikenal dengan kromofor dan auksokrom. Kromofor (*chromophore*) adalah suatu gugus kovalen tak jenuh yang bertanggung jawab terhadap serapan elektron (gugus fungsi yang menyerap radiasi pada daerah ultraviolet). Struktur kromofor ini memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, seperti benzen, diena, dan dienon. Auksokrom (*auxochrome*) adalah gugus jenuh yang bila terikat suatu kromofor akan mempengaruhi panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum, yakni seperti -OH, -NH₂, -NO₂ dan C₁ (Kosela, 2010). Jenis pergeseran dalam spektrofotometer UV-Vis dapat dibedakan menjadi pergeseran batokromik, hipsokromik, hiperkromik dan hipokromik. Pergeseran batokromik atau pergeseran merah adalah pergeseran serapan maksimum ke panjang gelombang yang lebih besar akibat pengaruh pelarut atau substituen. Pergeseran hipsokromik atau pergeseran biru adalah pergeseran serapan maksimum ke panjang gelombang yang lebih pendek akibat pelarut atau substituen. Efek hiperkromik adalah efek yang mengakibatkan kenaikan intensitas serapan dikarenakan oleh pekatnya konsentrasi zat terlarut (Supratman, 2010).

3. GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectroscopy*)

GC-MS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC)

untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Gas kromatografi merupakan salah satu teknik spektroskopi yang menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Gas kromatografi biasa digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terdapat pada campuran gas dan juga menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam fase gas. Spektroskopi massa adalah suatu metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang muatannya diketahui dengan mengukur jari-jari orbit melingkarnya dalam medan magnetik seragam (Pavia, 2006).



BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juni-Desember 2018, di Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Laboratorium Biota Sumatra Universitas Andalas dan Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Universitas Andalas.

3.2 Prosedur Penelitian

Dimulai dari pengambilan sampel, identifikasi tumbuhan, pemeriksaan kandungan kimia utama, ekstraksi sampel, fraksinasi, pemeriksaan kromatografi lapis tipis (KLT) lanjut dengan metoda uji aktivitas antibakteri serta karakterisasi senyawa hasil isolasi.

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah inkubator (Gallenkamp®), Laminar Air Flow (LAF) (Biobase®), vortex (Etech®), timbangan analitik (Kern Abj®), autoklaf (All American®), seperangkat alat rotary evaporator (Bunchi®), penangas air (Bunchi®), oven (Kirin®), aluminium foil, lampu UV, hotplate (Cimarec®), kolom kromatografi (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), erlenmeyer (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), rak tabung reaksi, kapas, benang, plastik wrap, lampu spiritus, mistar, pinset, pipet kapiler, pipet mikro (Biokit proline®), bejana kromatografi lapis tipis (chamber), vial, spatel, microtiterplate 96-well, microplate reader (Bio-

Rad®) dan alat laboratorium lainnya.

3.2.2 Bahan-Bahan

Daun segar *Marremia peltata* (L.) Merr., metanol, *n*-heksan, etil asetat, aquades (Brataco®), plat KLT silika gel 60 F254 20x20 cm (Merck®), silika gel 60 (Merck®), pereaksi vanilin asam sulfat, FeCl₃, DMSO(dimetil sulfoksida), media *Nutrient Broth* (Merck®), NaCL fisiologis, etanol 70%, kloramfenikol dan mikroba uji (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Salmonella thypimurium* ATCC 14028, *Salmonella thyposa* NCTC 786, *Salmonella thypii*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas auruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Streptococcus mutans* dan *Vibrio cholerae*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang diteliti adalah daun segar *Merremia peltata* (L.) Merr., yang diambil di daerah Lubuk Minturun (Sumatra Barat).

3.3.2 Ekstraksi Sampel

10 kg daun segar *Merremia peltata* (L.) Merr., yang telah dirajang halus, dimasukkan ke dalam beberapa botol gelap lalu direndam (maserasi) dengan menggunakan metanol sampai semua sampel terendam sempurna oleh pelarut. Dimana masing-masing botol menggunakan pelarut dan direndam selama 5 hari. Rendaman dikocok setiap hari. Selanjutnya hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring dan di ambil maseratnya. Maserasi dilakukan sampai hasil saringan tidak bewarna lagi. Gabungan filtrat dari setiap maserasi diuapkan *In vacuo* dengan destilasi vakum sehingga diperoleh

ekstrak kental metanol. Ekstrak metanol kemudian ditimbang dan dilarutkan dengan penambahan aquadest secukupnya.

3.3.3 Fraksinasi

Fraksinasi bertingkat menggunakan berbagai pelarut yang ditingkatkan kepolarannya lalu dipisahkan dengan corong pisah. Fraksinasi diawali dengan penambahan pelarut nonpolar *n*-heksan sebanyak 7 liter sampai fraksi *n*-heksan hampir tidak berwarna, sehingga diperoleh dua fraksi yaitu fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Fraksi *n*-heksan pelarutnya diuapkan secara *In vacuo* sehingga didapatkan fraksi kental *n*-heksan dengan berat 105,55 gram.

3.3.4 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Fraksi kental *n*-heksan terlebih dahulu dimonitor dengan metoda KLT. Dimana pada pemantauan ini memperlihatkan pemisahan noda yang jelas dengan menggunakan eluen *n*-heksan : etil asetat (7:3). Setelah itu baru dilakukan isolasi senyawa fraksi *n*-heksan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan metode SGP (*Step Gradient Polarity*) sebanyak 8 gram yang dilakukan dengan metode basah, yaitu dengan membuat suspensi atau bubuk silika terlebih dahulu yang dijenuhkan dengan pelarut *n*-heksan dan kemudian dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam kolom dengan keadaan kran yang terbuka. Setelah eluen mengalir sampai batas tertentu, kemudian masukkan sampel yang telah di preadsorpsi sebelumnya ke dalam kolom secara perlahan, kemudian kolom dielusi dengan menggunakan fase gerak dengan perbandingan yang ditingkatkan secara bertahap (*Step Gradient Polarity*) dengan komposisi eluen sebagai berikut:

<i>n</i> -heksan	100%
<i>n</i> -heksan : Etil asetat	7:3
<i>n</i> -heksan : Etil asetat	1:1
Etil asetat : Metanol	9,75 : 0,25
Metanol	100%

Fraksi yang keluar dari kromatografi kolom ditampung dengan vial dilanjutkan dengan monitor kromatografi lapis tipis (KLT), spot noda yang memiliki nilai R_f yang sama digabung menggunakan penampak noda lampu UV_{254nm}.

Pada pemisahan ini didapatkan beberapa sub-fraksi *n*-heksan. Kemudian dipilih sub-fraksi dengan jumlah yang paling banyak yaitu sub-fraksi SFRP-14-31-12 (810 mg) berupa senyawa yang belum murni. Pada sub-fraksi SFRP-14-31-12 di KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan untuk pengoloman yaitu *n*-heksan : etil asetat (9:1). Dari pemisahan ini didapatkan senyawa SFRP-14-36-03 (131 mg), SFRP-14-36-06 (83 mg) dan SFRP-14-36-10 (26 mg). Pengoloman selanjutnya, sub-fraksi SFRP-14-36-03 dengan eluen yang sesuai yaitu 1% etil asetat dalam *n*-heksan didapatkan SFRP-14-39-19 (6 mg). Selanjutnya pengoloman sub-fraksi SFRP-14-36-06 eluen 1% etil asetat dalam *n*-heksan didapatkan SFRP-14-46-02 (18 mg). Selanjutnya pengoloman SFRP-14-36-10 dengan eluen *n*-heksan : etil asetat (9:1) didapatkan SFRP-14-47-02 (5 mg).

3.3.5 Karakterisasi Sub-fraksi Hasil Isolasi

1. Pemeriksaan Fisika

a. Pemeriksaan organoleptis

Pemeriksaan dilakukan dengan mengamati secara visual bentuk, warna, dan bau isolat.

b. Pemeriksaan Kelarutan

Pemeriksaan ini dilakukan dengan menambahkan pelarut tertentu kedalam senyawa hasil isolasi.

2. Pemeriksaan Kimia

a. Pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis

Pemeriksaan KLT dilakukan untuk penentuan Rf dari senyawa hasil isolasi dengan fase gerak yang sesuai. Pemeriksaan kemurnian ditegaskan dengan *Multiple Developing System* yang menunjukkan pola KLT satu noda setelah dielusi berulang pada plat KLT yang sama.

b. Penentuan Golongan Senyawa

Pemeriksaan ini dilakukan dengan mereaksikan senyawa hasil isolasi dengan pereaksi tertentu yang menunjukkan golongan senyawa kimia utama seperti pereaksi Dragendorff, vanilin asam sulfat dan FeCl_3 .

3. Pemeriksaan Fisikokimia

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimal

Penentuan dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang serapan maksimal ditunjukkan oleh

panjang gelombang yang memberikan serapan terbesar. Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dengan *chloroform pro analysis* sebanyak 5 mL. Dipipet 1 mL dan dicukupkan dengan *chloroform pro analysis* hingga 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Pelarut *chloroform pro analysis pro analysis* digunakan sebagai blanko kemudian sampel diukur serapannya.

4. Penentuan Gugus Fungsi

Penentuan gugus fungsi dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer FT-IR *Thermo Scientific*. Serapan pada spektrum FT-IR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa.

5. Penentuan Massa Molekul

Kolom yang digunakan adalah kolom DB-5. Sebanyak 4 μ L sampel diinjeksikan ke instrument GC-MS untuk dianalisis. Suhu awal sebesar 70°C dipertahankan selama 20 menit dan ditingkatkan secara bertahap hingga 300°C selama 10-35 menit. Gas pembawa yang digunakan adalah Helium 99,995 %. Laju aliran gas helium diatur menjadi 1,5 mL/menit. Suhu pada injektor sampel dipertahankan pada 260°C. Spektrum massa direkam pada rentang 40-1000 m/z selama 35 menit (Purushoth *et al.*, 2012).

3.3.6 Uji Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. vial, pipet, gelas ukur, tabung reaksi dan erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas dan kain kasa, kemudian dibungkus dengan kertas aluminium

foil. Sedangkan *microtiterplate* dibungkus terpisah dengan kertas perkamen. Kemudian semua alat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara *flambier* pada lampu spiritus. *Laminar Air Flow* (LAF) dibersihkan terlebih dahulu dengan etanol 70 % dan disterilkan dengan cara menyalakan lampu Ultraviolet selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

b. Pembuatan media pembiakan

1. Nutrient Agar (NA)

Serbuk NA sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 1 liter aquadest dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan sampai terbentuk larutan jernih. Lalu sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit.

2. Nutrient Broth (NB)

Sebanyak 8 gram serbuk Nutrient Broth dilarutkan dalam 1 liter air suling. Homogenkan kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 lbs selama 15 menit.

c. Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji dari kultur murni diinokulasikan pada media agar miring NA, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

d. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Koloni bakteri uji diambil dari agar miring NA 1 - 2 ose, lalu disuspensikan ke dalam 10 ml Nutrien Broth (NB) dalam tabung reaksi steril.

Kemudian dihomogenkan dengan vorteks. Kekeruhannya dibandingkan dengan standar 0,5% Mc-Farland pada latar belakang hitam.

e. Penyiapan Sampel Uji

Masing-masing senyawa hasil isolasi fraksi *n*-heksan dibuat konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm, dan 6,25 ppm dengan menggunakan pelarut DMSO.

f. Pengujian Aktivitas Antimikroba dengan Metode Dilusi

Aktivitas antibakteri diuji dengan metoda dilusi menggunakan *microtiterplate* 96-well. Sampel uji sebanyak 20 µl dimasukkan dalam lubang pertama sampai lubang kelima pada *microtiterplate* 96-well, selanjutnya ditambahkan 180 µl suspensi bakteri dan dihomogenkan dengan pipet mikro dan didapatkan konsentrasi masing-masing sampel 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

Selanjutnya sebanyak 20 µl kontrol positif (kloramfenikol) dimasukkan kedalam lubang pertama *microtiterplate* 96-well kemudian tambahkan 180 µl suspensi bakteri, dipipet sebanyak 100 µl pada lubang pertama, kemudian dipindahkan ke lubang kedua. Pada lubang kedua tersebut ditambahkan 100 µl suspensi bakteri begitu seterusnya sampai lubang ke lima dan 100 µl terakhir dibuang. Berikutnya untuk kontrol negatif, masukkan 10 µl DMSO kemudian ditambahkan 90 µl suspensi bakteri dan homogenkan (Alen *et al.*, 2012).

Selanjutnya *microtiterplate* diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Kemudian diamati daya hambat pertumbuhan bakteri uji. Daya hambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan perbedaan kekeruhan pada masing-

masing lobang *microtiterplate* setelah masa inkubasi yang dapat diamati secara visual. Konsentrasi terendah dari suspensi bakteri uji pada lobang yang terlihat bening menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dan sekaligus merupakan konsentrasi hambat minimum atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Alen *et al.*, 2003). Pengujian dilakukan dengan sistem triplo atau pengulangan tiga kali. Kemudian kekeruhannya juga diukur untuk mendapatkan nilai absorban masing - masing lobang *microtiterplate* dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 400 nm.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Identifikasi Sampel

Sampel diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas Padang (ANDA) sebagai *Merremia peltata* (L.) Merr., dengan famili Convolvulaceae (Lampiran 4).

4.1.2 Ekstraksi dan Fraksinasi daun *Merremia peltata* (L.) Merr.,

Daun segar *Merremia peltata* (L.) Merr., 10 kg yang dimaserasi dengan metanol didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 1900 gram (19 %). Setelah difraksinasi, didapatkan fraksi *n*-heksan seberat 105 gram (5,55 %), fraksi etil asetat 205 gram (10,80 %) dan fraksi sisa seberat 1595 gram (83,63 %).

4.1.3 Senyawa Hasil Isolasi

4.1.3.1 Isolasi Dengan Kromatografi

Sebanyak 8 gram fraksi *n*-heksan diisolasi dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel 60 (0,063-0,200 mm) menggunakan fase gerak dengan perbandingan yang ditingkatkan secara bertahap (*Step Gradient Polarity*) dimulai dari eluen heksan 100% maka didapatkan beberapa sub-fraksi sebagai berikut (Tabel 1). Tabel 1. Berat Sub-fraksi *n*-heksan

No	Fraksi <i>n</i> -heksan	Berat Sub-fraksi (mg)
1.	SFRP-14-31-12	810 mg
2.	SFRP-14-31-13	474 mg
3.	SFRP-14-31-15	218 mg

Berikutnya, dari ketiga sub-fraksi fraksi *n*-heksan yang didapatkan diatas, maka dipilih sub-fraksi yang memiliki jumlah yang lebih banyak yaitu SFRP-14-31-12(810 mg) untuk dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom silika gel 60. Untuk SFRP-14-31-12 menggunakan eluen *n*-heksan: etil asetat (9:1) sehingga didapat beberapa sub-fraksi (Tabel 2).

Tabel 2. Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-31-12

No.	Sub-Fraksi <i>n</i> -heksan	Berat Sub-fraksi (g)
1.	SFRP-14-36-03	131 mg
2.	SFRP-14-36-06	83 mg
3.	SFRP-14-36-10	26 mg

Dilanjutkan untuk pemisahan SFRP-14-36-03 menggunakan eluen 1% etil asetat dalam *n*-heksan dan didapatkan beberapa sub-fraksi (Tabel 3).

Tabel 3. Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-36-03

No.	Sub-Fraksi <i>n</i> -heksan	Berat Sub-Fraksi
1.	SFRP-14-39-19	6 mg

*Keterangan SFRP-14-39-19 : Subfraksi I

Dilanjutkan untuk pemisahan SFRP-14-36-06 menggunakan eluen 1% etil asetat dalam *n*-heksan dan didapatkan beberapa sub-fraksi (Tabel 4).

Tabel 4. Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-36-06

No.	Sub-Fraksi <i>n</i> -heksan	Berat Sub-Fraksi
1.	SFRP-14-46-02	18 Mg

*Keterangan SFRP-14-46-02 : Subfraksi II

Dilanjutkan untuk pemisahan SFRP-14-36-10 menggunakan eluen *n*-heksan : etil asetat (9:1) dan didapatkan beberapa sub-fraksi (Tabel 5).

Tabel 5. Berat Sub-fraksi Kolom Kromatografi SFRP-14-36-10

No.	Sub-Fraksi <i>n</i> -heksan	Berat Sub-Fraksi
1.	SFRP-14-47-02	5 Mg

*Keterangan SFRP-14-47-02 : Subfraksi III

4.1.3.2 Senyawa Hasil Isolasi

Hasil pengoloman sub-fraksi SFRP-14-31-12 didapatkan 3 subfraksi dengan spesifikasi sebagai berikut:

1. Pemisahan SFRP-14-36-03 didapatkan subfraksi I dengan berat 6 mg berbentuk amorf bewarna kuning pucat dengan Rf 0,4 dengan eluen *n*-heksan:etil asetat (9:1) (Lampiran 1, tabel 16). Data spektrum UV-vis (Lampiran 1, tabel 17), data spektrum IR (Lampiran 1, tabel 20) serta hasil analisis dengan GC-MS (Lampiran 1, gambar 24, tabel 23).
2. Pemisahan SFRP-14-36-06 didapatkan subfraksi II dengan berat 18 mg berbentuk kristal putih dan Rf 0,4 dengan eluen 8% etil asetat dalam *n*-heksan (Lampiran 1, tabel 16). Data spektrum UV-vis (Lampiran 1, tabel 18), data spektrum IR (Lampiran 1, tabel 21) serta hasil analisis dengan GC-MS (Lampiran 1, gambar 25, tabel 24).
3. Pemisahan SFRP-14-36-10 didapatkan subfraksi III dengan berat 5 mg berbentuk amorf bewarna hijau pekat dengan Rf 0,3 dengan eluen *n*-heksan:etil asetat (8:2). (Lampiran 1, tabel 16). Data spektrum UV-vis

(Lampiran 1, tabel 19), data spektrum IR (Lampiran 1, tabel 22) serta hasil analisis dengan GC-MS (Lampiran 1, gambar 26, tabel 25).

4.1.3.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Tabel 6. MIC Fraksi *n*-heksan(a) Subfraksi I (b) Subfraksi II (c) Subfraksi III (d)

Bakteri	Konsentrasi (ppm)			
	A	B	C	D
<i>Salmonella thypii</i>	25	100	50	100
<i>Salmonella thypimurium</i> ATCC 14028	100	100	100	50
<i>Pseudomonas auruginosa</i> ATCC 27853	25	50	100	100
<i>Salmonella thyposa</i> NCTC 786	100	100	100	100
<i>Vibrio cholera</i>	100	100	100	100
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	100	100	100	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	100	100	100	100
<i>Streptococcus mutans</i>	100	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	50	50	100	100

4.1.3.4 Hasil Analisis GC-MS

Hasil analisis dengan GC-MS, subfraksi I memberikan dua puncak. Pada puncak I sebagai senyawa *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexil)*, pada puncak II sebagai senyawa *2-Pentadecanone 6,10,14 trimethyl*. Pada subfraksi II juga memberikan dua puncak. Puncak I sebagai senyawa *n-Hexadecanoic acid* dan puncak II senyawa *Cis-9 Hexadecenal* dan subfraksi III memberikan tiga puncak dengan puncak I sebagai senyawa *Ergost-5en-3ol (3-beta)*, puncak II senyawa *Stigmasterol* dan puncak III senyawa γ *Sitosterol*.

4.2 Pembahasan

Isolasi fraksi *n*-heksan dari daun *Merremia peltata* (L.) Merr., dimulai dari ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Dimana sampel

tersebut dirajang halus terlebih dahulu dengan tujuan untuk memperluas permukaan sampel, sehingga saat direndam dengan metanol maka luas permukaan kontak antara pelarut dengan sampel pada proses ekstraksi menjadi lebih besar dan akhirnya akan mempermudah proses pelarutan senyawa-senyawa yang terkandung di dalam jaringan sampel. Dalam penelitian ini digunakan sampel daun segar dengan tujuan agar pelarut yang digunakan untuk maserasi nantinya dapat diserap secara maksimal oleh sel-sel yang ada pada daun sehingga senyawa yang ditarik oleh pelarut tersebut mendapatkan hasil yang maksimal.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dimana sampel direndam dalam metanol di dalam botol gelap dan tertutup selama 5 hari sambil sesekali dikocok. Maserasi juga dilakukan di tempat yang terlindung dari cahaya agar terhindar dari kemungkinan terjadinya proses degradasi struktur terutama untuk senyawa berwarna yang memiliki gugus kromofor yang kurang stabil terhadap paparan cahaya (Depkes RI, 2000)

Proses maserasi diikuti dengan pengocokan untuk meratakan difusi pelarut. Senyawa metabolit akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa metabolit yang ada dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang konsentrasinya lebih tinggi akan terdifusi ke konsentrasi yang lebih rendah (difusi). Setelah tercapai kesetimbangan proses maserasi diulangi beberapa kali atau sampai maserat yang didapatkan relatif bening atau tidak berwarna lagi (Harborne, 2006).

Maserasi menggunakan pelarut metanol, hal ini disebabkan karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar, semi polar ataupun senyawa non polar. Di samping itu metanol memiliki titik didih yang relatif rendah (67°C) sehingga mudah diuapkan dan mengurangi resiko terurainya zat yang terkandung di dalam maserat saat penguapan pelarut dan harga pelarut ini pun relatif lebih murah. Penelitian sebelumnya penyarian senyawa metabolit sekunder dari daun tumbuhan aka lambuang ini juga menggunakan pelarut metanol dan ekstrak tersebut pada pengujian aktivitas "*Brine Shrimp Lethality Bioassay*" diperoleh nilai LC_{50} 19,678 ppm (Alen *et al.*, 2016).

Setelah beberapa hari perendaman (meserasi) selanjutnya dilakukan penyaringan untuk mendapatkan maserat metanol. Maserat metanol yang didapatkan kemudian dipekatkan secara *in vacuo* dan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 1900 gram (19%). Penggunaan alat vakum ini untuk mengurangi tekanan uap pelarut, sehingga mengurangi titik didihnya, sehingga pelarut dapat cepat menguap pada suhu yang relatif rendah. Kemudian dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak kental metanol dengan menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu *n*-heksan dan etil asetat. Tujuan dilakukannya fraksinasi ini adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dimana senyawa yang bersifat non-polar akan tertarik oleh pelarut non-polar dan senyawa yang bersifat semi-polar akan tertarik oleh pelarut yang bersifat semi-polar. Masing-masing fraksi yang didapatkan kemudian diuapkan secara *in vacuo*. (Harwood & Woody, 1989). Berdasarkan

hasil fraksinasi didapatkan berat fraksi kental *n*-heksan sebanyak 105 gram (5.55 %). Selanjutnya sebanyak 8 gram fraksi kental *n*-heksan dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60 (0,040-0,063 μ m) dengan menggunakan eluen *n*-heksan, etil asetat dan metanol yang kepolarannya ditingkatkan secara bertahap (*Step Gradient Polarity*).

Pada pemisahan ini didapatkan beberapa sub-fraksi dan dipilih sub-fraksi yang memiliki jumlah yang lebih banyak yaitu SFRP-14-31-12 (subfraksi 12) dengan berat 810 mg untuk itu dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom silika gel 60. Pada subfraksi 12 pemisahan menggunakan eluen *n*-heksan: etil asetat (9:1) didapatkan subfraksi SFRP-14-36-03 dengan berat 131 mg, subfraksi SFRP-14-36-06 seberat 83 mg dan subfraksi SFRP-14-36-10 seberat 26 mg. Untuk mendapatkan senyawa murni masing-masing ke tiga subfraksi tersebut dilakukan pemisahan lebih lanjut yaitu dari subfraksi SFRP-36-03 menggunakan eluen 1% etil asetat dalam heksan dan didapatkan senyawa SFRP-14-39-19 (Subfraksi I) sebanyak 6 mg. Dari profil KLT subfraksi I dengan eluen *n*-heksan: etil asetat (9:1) terlihat satu noda dengan R_f 0,4 yang dilihat pada lampu UV $_{254}$ nm. Untuk mempertegas kemurnian senyawa, dilakukan elusi berulang pada plat yang sama atau dikenal dengan istilah *Multiple Developing System (MDS)* dan tetap menunjukkan pola satu noda pada plat KLT tersebut (Alen *et al.*, 2018).

Dilanjutkan untuk pemisahan senyawa kedua untuk subfraksi SFRP-14-36-06 menggunakan eluen 1% etil asetat dalam *n*-heksan didapatkan senyawa SFRP-14-46-02 (Subfraksi II) seberat 18 mg. Dari profil KLT subfraksi II dengan

eluen 8% etil asetat dalam *n*-heksan terlihat satu noda dengan R_f 0,4. Selanjutnya untuk pemisahan senyawa ketiga dari subfraksi SFRP-14-36-10 menggunakan eluen *n*-heksan : etil asetat (9:1) didapatkan senyawa SFRP-14-47-02 (Subfraksi III) seberat 5 mg yang dilihat pada lampu UV $_{254}$ nm. Untuk mempertegas kemurnian kedua subfraksi tersebut, dilakukan elusi berulang pada plat yang sama atau dikenal dengan istilah *Multiple Developing System (MDS)* dan tetap menunjukkan pola satu noda pada plat KLT tersebut (Alen *et al.*, 2018).

Masing-masing subfraksi kemudian dikarakterisasi dengan dilakukannya pemeriksaan fisika dan pemeriksaan kimia.

a. Subfraksi I

Hasil identifikasi dan karakterisasi secara fisika, subfraksi I memiliki bentuk berupa amorf bewarna kuning pucat, tidak berbau, larut dalam *n*-heksan, etil asetat dan larut dalam metanol. Hasil analisis secara kimia (penentuan golongan senyawa), senyawa I negatif (-) terhadap pereaksi $FeCl_3$ karena tidak memberikan warna biru tua yang artinya tidak termasuk golongan fenolik dan pada saat disemprot dengan pereaksi Dragendorff juga tidak memberikan warna oranye yang berarti negatif (-) alkaloid tetapi pada saat penyemprotan pereaksi vanillin asam sulfat memberikan warna ungu yang artinya positif (+) terpenoid. Pemeriksaan secara fisikokimia juga dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-visibel. Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan gugus kromofor, ikatan rangkap terkonjugasi dan ausokrom dari suatu senyawa organik serta menjelaskan informasi struktur berdasarkan panjang gelombang dan

intensitas sinar ultraviolet serta cahaya tampak yang di absorpsi oleh senyawa yang dianalisa. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mengeksitasi elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Dachriyanus, 2004).

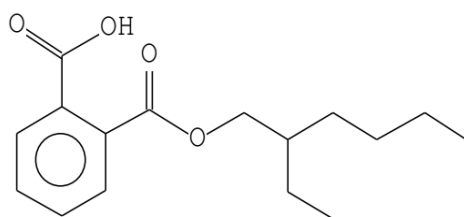
Subfraksi I memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 219 nm dengan absorban 0,308. Berdasarkan pita serapan maksimum tersebut terindikasi adanya ikatan rangkap terkonjugasi karena sistem konjugasi menyerap cahaya pada panjang gelombang diatas 200 nm dan menandakan adanya gugus kromofor (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pemeriksaan selanjutnya yaitu dengan spektrofotometer FT-IR *Thermo Scientific*. Tujuannya adalah untuk mengetahui absorbansi ikatan yang khas dan spesifik dari gugus fungsi senyawa organik dengan membandingkan daerah sidik jarinya (Dachriyanus, 2004). Subfraksi I memberikan puncak yang jelas pada bilangan gelombang $3019,13\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan COOH/COH, $1521,65\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C=C pada alkena, pada bilangan gelombang $1421,58\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-H pada alkana/alkil. Bilangan gelombang 745,87; 668,52 menunjukkan ikatan C=C-H pada alkena dan pada bilangan gelombang 928,81; 1046,16 1214,67 menunjukkan adanya ikatan C-C pada alkana.

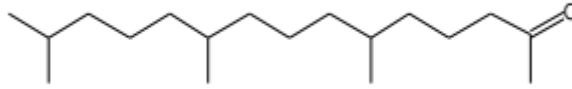
Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan instrumen GS-MS. Dimana instrumen GC berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan MS berfungsi untuk mendeteksi masing-masing

molekul komponen yang dipisahkan pada sistem GC (Sastrohamidjojo, 2005). Hasil analisis dengan GC-MS didapatkan dua data yaitu kromatogram yang berasal dari analisis kromatografi gas (GC) dan spektrum massa dari hasil analisis spektroskopi massa (MS).

Hasil analisis dengan GC-MS subfraksi I (Lampiran 1, gambar 22, tabel 23) memberikan dua buah puncak. Pada puncak I (Lampiran 1, gambar 23) dengan waktu retensi 19,299 memiliki luas area 12.155.680 (28,59 %) dan ketinggian puncak 7.308.595 (33,37 %). Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl* dengan persen kemiripan sebanyak 95% dan berat molekul 268 (C₁₈H₃₆O) (Lampiran 1, gambar 28). Pada puncak II (Lampiran 1, gambar 24) dengan waktu retensi 26,675 memiliki luas area 10.915.394 (25,67 %) dan ketinggian puncak 3.612.939 (16,50 %). Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)* dengan persen kemiripan 96% dan berat molekul 278 (C₁₆H₂₂O₄) (Lampiran 1, gambar 26) (NIST chemistry book,2018). Salah satu data pendukungnya terdapat pada hasil spektrum infra merah yang memiliki gugus fungsi COOH, C=C pada alkena, C-H pada alkana, C-C pada alkana, C=C-H pada alkena, yang bisa dilihat pada struktur hasil GC-MS:



Struktur *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)*



Struktur 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl

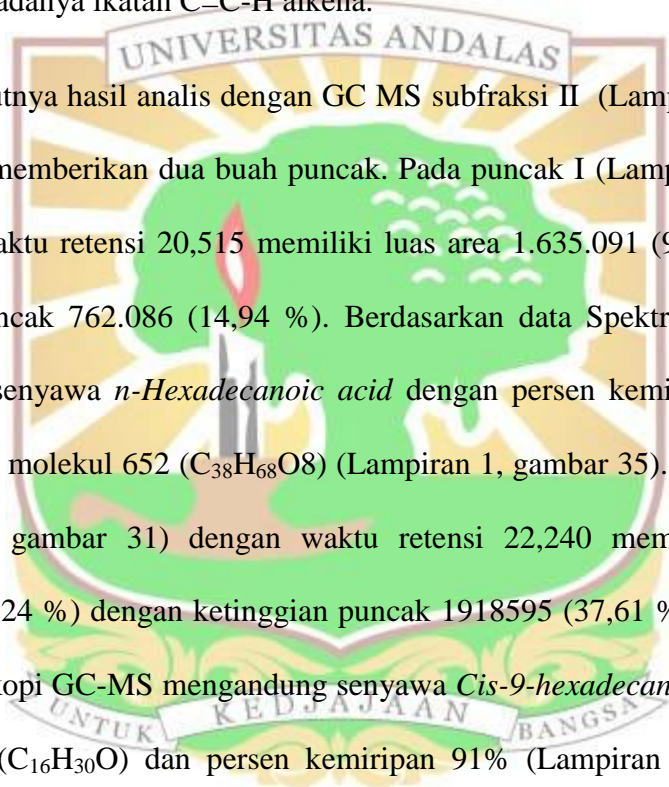
Hasil identifikasi senyawa bioaktif 1,2- Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) yang menunjukkan aktivitas sitotoksik yang potensial terhadap kultur sel kanker HepG 2 dan MCF-7 yang diperoleh dari *Streptomyces sp.* VITSJK8 (Krishnan *et al.*, 2014). Selanjutnya senyawa ini mempunyai aktivitas aktivitas antimikroba, antioksidan, antijamur dan antikanker yang kuat (Karthikeyan *et al.*, 2014).

b. Subfraksi II

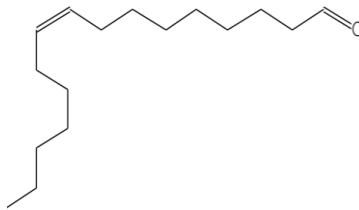
Subfraksi II memiliki bentuk berupa kristal berwarna putih, tidak berbau, larut dalam etil asetat dan tidak larut dengan *n*-heksan serta metanol. Hasil analisis secara kimia (penentuan golongan senyawa), subfraksi II negatif (-) terhadap pereaksi FeCl_3 karena tidak memberikan warna biru tua, yang artinya tidak termasuk golongan fenolik. Begitu juga saat disemprot dengan peraksi Dragendorff tidak memberikan warna oranye yang berarti negatif (-) serta terhadap golongan alkaloid akan tetapi pada penyemprotan vanillin asam sulfat memberikan warna ungu yang artinya positif (+) terpenoid.

Pemeriksaan dengan spektrofotometer UV-visibel subfraksi II memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 221 nm dengan

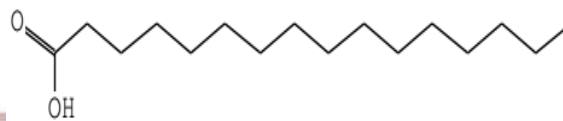
absorban 0,378. Pemeriksaan dengan spektrum inframerah memperlihatkan serapan bilangan gelombang pada $3018,85\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan COOH/COH, bilangan gelombang $1521,53\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C=C alkena, pada bilangan gelombang $1475,63$; $1422,09\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-H alkana dan bilangan gelombang $1214,52$ menunjukkan adanya ikatan C-C alkana serta bilangan gelombang $1016,61$; $928,78$; $877,29$; $668,69\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C=C-H alkena.



Selanjutnya hasil analisis dengan GC MS subfraksi II (Lampiran 1, gambar 29, tabel 24) memberikan dua buah puncak. Pada puncak I (Lampiran 1, gambar 30) dengan waktu retensi 20,515 memiliki luas area 1.635.091 (9,76 %) dengan ketinggian puncak 762.086 (14,94 %). Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *n-Hexadecanoic acid* dengan persen kemiripan sebanyak 93% dan berat molekul 652 ($\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{O}_8$) (Lampiran 1, gambar 35). Pada puncak II (Lampiran 1, gambar 31) dengan waktu retensi 22,240 memiliki luas area 9.924.075 (59,24 %) dengan ketinggian puncak 1918595 (37,61 %). Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *Cis-9-hexadecanal* dengan berat molekul 238 ($\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}$) dan persen kemiripan 91% (Lampiran 1, gambar 33) (NIST chemistry book,2018). Salah satu data pendukungnya terdapat pada hasil spektrum infra merah yang memiliki gugus fungsi COOH, C-C pada alkena, C-H pada alkana, C=C-H pada alkena, C-C pada alkane yang bisa dilihat pada struktur hasil GC-MS:



Struktur *Cis-9-hexadecanal*



Struktur *n-Hexadecanoic acid*

Berdasarkan studi literatur, senyawa *Cis-9-hexadecanal* aktif terhadap antimikroba dan antiinflamasi (Purushoth *et al.*, 2012).

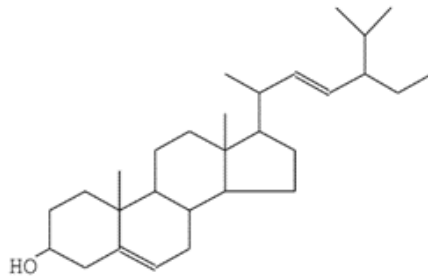
c. Subfraksi III

Subfraksi III memiliki bentuk berupa amorf berwarna hijau pekat, berbau, larut dalam etil asetat dan tidak larut dalam *n*-heksan serta metanol. Subfraksi III tidak memberikan warna biru tua ketika disemprot dengan pereaksi FeCl_3 yang artinya memberikan hasil negatif (-) yakni golongan fenol yang artinya tidak aktif alkaloid karena tidak memberikan warna oranye ketika disemprot dengan Dragendroff serta disemprot dengan vanillin asam sulfat memberikan hasil negatif (-) karena tidak memberikan warna ungu.

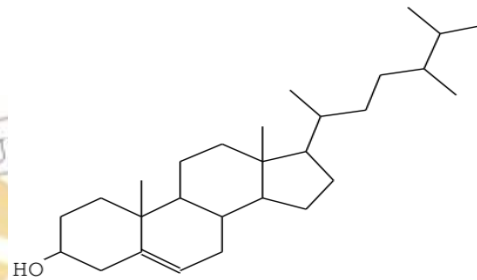
Pemeriksaan dengan spektrofotometer UV-visible subfraksi III memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 536 nm dengan absorbansi 0,355. Pemeriksaan dengan spektrum inframerah memperlihatkan

serapan bilangan gelombang pada $3019,52\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan COOH/COH, $1212,51\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-C, $668,45\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C=C-H.

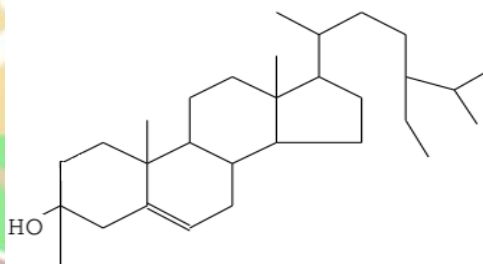
Hasil analisis dengan GC-MS subfraksi III (Lampiran 1, gambar 36, tabel 25) memberikan tiga buah puncak. Pada puncak I (Lampiran 1, gambar 37) dengan waktu retensi 30,583 memiliki luas area 3.0225.722 (9,05 %) dengan ketinggian puncak 1.439.658 (4,28 %). Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *Ergost-5-en-3-ol, (3.beta)* dengan persen kemiripan sebanyak 83% dan berat molekul 400 ($\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$) (Lampiran 1, gambar 45). Pada puncak II (Lampiran 1, gambar 38) dengan waktu retensi 32,937 memiliki luas area 47.576.324 (14,24 %) dengan ketinggian puncak 2.258.631 (6,71 %). Data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *Stigmasterol* dengan berat molekul 412 ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$) dan persen kemiripan 90% (Lampiran 1, gambar 41). Pada puncak III (Lampiran 1, gambar 39) dengan waktu retensi 38,625 memiliki luas area 10.4058.122 (31,14 %) dengan ketinggian puncak 3.757.595 (11,16 %). Berdasarkan data Spektroskopi GC-MS mengandung senyawa *Ysitosterol* dengan berat molekul 414 ($\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$) dan persen kemiripan 85% (Lampiran 1, gambar 43) (NIST chemistry book,2018). Salah satu data pendukungnya terdapat pada hasil spektrum infra merah yang memiliki gugus fungsi COH, C-C pada alkana, dan C=C-H pada alkena yang bisa dilihat pada struktur hasil GC-MS:



Struktur *Stigmasterol*



Struktur *Ergost-5-en-3-ol, (3.beta)*



Struktur *Y sitosterol*

Menurut Yinusa *et al.*, (2014) senyawa *Stigmasterol* aktif sebagai antibakteri dan antijamur serta aktif terhadap antiinflamasi (Zeb *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelusuran literatur diatas, disimpulkan bahwa masing-masing senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas antibakteri. Oleh karena itu untuk membuktikan aktivitas antibakteri tersebut, dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap masing-masing senyawa hasil isolasi dengan menggunakan metode dilusi. Metode dilusi dipilih dalam penelitian ini karena dengan metode ini didapatkan data kuantitatif berupa MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*),

sampel dan media yang digunakan lebih sedikit serta menjamin homogenitas yang lebih besar antara media, larutan sampel dan mikroba dibanding dengan metode difusi dengan kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol karena kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas dan efektif terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negative (Reeves *et al.*, 1978).

Kloramfenikol dapat menghambat sintesis protein bakteri dengan berikatan pada ribosom sub-unit 50S dan menghambat aktivitas enzim *peptidil transferase* sehingga ikatan peptida tidak terbentuk pada proses sintesis protein bakteri (Gunawan, 2011). Sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO, karena DMSO tidak mempengaruhi proliferasi sel dan juga merupakan pelarut yang bersifat dipolar aprotik dan dapat bercampur dengan air serta pelarut organik pada umumnya (Pratiwi, 2008).

Konsentrasi yang dilakukan untuk pengujian aktivitas antibakteri dari konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm. Subfraksi I, II dan III, diujikan terhadap sembilan bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, 12228, *Salmonella thypimurium* ATCC 14028, *Salmonella thyposa* NCTC 786, *Salmonella thypii*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas auruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 11775, *Enterococcus faecalis* ATCC 1054 dan *Vibrio cholerae*. Menurut Holezt dkk (2002), aktivitas antibakteri dibedakan menjadi empat yaitu aktivitas antibakteri sangat kuat jika MIC kurang dari 100 ppm, cukup kuat jika MIC 100-500 ppm, lemah jika MIC 500-1000 ppm dan tidak memiliki aktivitas jika MIC lebih dari 1000 ppm. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari uji aktivitas antibakteri ini menunjukkan bahwa ketiga subfraksi

hasil isolasi yaitu subfraksi I, II dan III memiliki aktivitas yang cukup kuat hingga sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dengan MIC yang berbeda-beda untuk tiap senyawa terhadap semua bakteri uji.

Subfraksi I didapatkan MIC 100 ppm terhadap bakteri *Salmonella thypii*, *Salmonella thypimurium* ATCC 14028, *Salmonella thyposa* NCTC, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Streptococcus mutans*, *Vibrio cholerae* yang artinya cukup kuat aktivitas antibakterinya, sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11775 dan *Pseudomonas auruginosa* ATCC 27853 didapatkan MIC 50 ppm yang artinya sangat kuat terhadap aktivitas antibakteri.

Selanjutnya, untuk subfraksi II terhadap bakteri *Salmonella thypii* didapatkan MIC 50 ppm yang artinya sangat kuat terhadap aktivitas antibakteri akan tetapi, terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Salmonella thypimurium* ATCC 14028, *Streptococcus mutans*, *Vibrio cholera* dan *Escherichia coli* ATCC 11775 didapatkan MIC 100 ppm yang artinya memiliki aktivitas antibakteri cukup kuat.

Berikutnya untuk subfraksi III terhadap bakteri *Salmonella thypimurium* ATCC 14028 didapatkan MIC 50 ppm, artinya memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Streptococcus mutans*, *Salmonella thyposa* NCTC 786, *Pseudomonas auruginosa* ATCC 27853 dan *Escherichia coli* ATCC 11775 didapatkan MIC 100 ppm yang artinya cukup kuat aktivitas antibakteri

Tampak dari hasil uji aktivitas antibakteri yang menghasilkan MIC berbeda-beda dapat disebabkan oleh bakteri itu sendiri. Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram negatif . struktur dinding sel yang lebih kompleks dari Gram positif. Perbedaan utamanya lapisan membran luar yang meliputi peptidoglikan. Yang menyebabkan dinding sel bakteri Gram negatif terdapat lapisan lipopolisakarida yang bersifat sebagai penghalang masuknya beberapa zat. Sedangkan dinding sel bakteri Gram positif tidak memiliki lipopolisakarida sehingga mengakibatkan sel mudah mengalami lisis (Volk, 1992). Sehingga diduga hal ini menyebabkan senyawa antibakteri lebih mudah berpenetrasi dan menghambat pertumbuhan bakteri. Serta dipengaruhi oleh mekanisme kerja dari masing-masing senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan dengan mengganggu sintesis dinding sel, penghambatan sintesis protein (fungsi ribosom), mengganggu sintesis asam nukleat, penghambatan jalur metabolisme dan gangguan membran sitoplasma (Tenover, 2006). Diduga ketiga subfraksi yaitu subfraksi I, II dan III memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda sehingga MIC yang didapat juga berbeda.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Dari 10 kg daun segar *Merremia peltata* (L.) Merr., didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 1900 gram (19%) dan fraksi *n*-heksan seberat 105 gram (5,55 %).
2. Didapatkan tiga subfraksi dari fraksi *n*-heksan daun *Merremia peltata* (L.) Merr., yaitu subfraksi I (6 mg), subfraksi II (18 mg) dan subfraksi III (5 mg). Berdasarkan pemeriksaan fisika dan kimia subfraksi I dan II termasuk golongan terpenoid sedangkan subfraksi III golongan steroid.
3. Berdasarkan hasil GS-MS, subfraksi I adalah senyawa *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexil) dan 2-Pentadecanone 6,10,14 trimethyl*. Subfraksi II adalah senyawa *n-Hexadecanoic acid* dan *Cis-9 Hexadecenal*. Subfraksi III adalah senyawa *Ergost-5en-3ol (3-beta)*, *Stigmasterol* dan γ *Sitosterol*.
4. Masing-masing subfraksi dapat menghambat pertumbuhan 9 bakteri uji, terutama berturut-turut aktif terhadap bakteri *P.auruginosa* ATCC 27853, *S.thypii* dan *S.thypimurium* ATCC 14028 dengan nilai MIC 50 ppm.

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan analisis NMR serta uji farmakologis lainnya dari daun *Merremia peltata* (L.) Merr.

DAFTAR PUSTAKA

- Alen Y, Suhatri dan R. Selawati. Uji Efek Anti Kanker Ekstrak Etanol Daun “Aka Lambuang” (*Merremia peltata* (L.) Merr.) pada Mencit Putih Jantan dengan Metoda *Micronucleus Assay*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. Padang : Fakultas Farmasi UNAND; 2009:14:1.
- Alen Y, Rustini dan Resta H. Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Aka Lambuang. Jurnal Farmasi Indonesia: 2012:6(2).
- Alen Y, Sari P, Aldi Y, Yulianis, Nakajima S, Baba N and Djamaal A. Extraction, Fractionation And Cytotoxicity Test Of *Merremia Peltata* (L.) Merr., (Fam. Convolvulaceae) Leaves. Der Pharmacia Lettre. 2016; 8(11):48-52.
- Betina V. Bioautography in Paper and Thin Layer Chromatography and its Scope in the Antibiotic Field. J Chromatogr. 1973;78:41–51.
- Bintang M. Biokimia: Teknik Penelitian. Jakarta: Erlangga; 2015.
- Bourdy G, Walter A. Maternity and Medicinal Plants in Vanuatu I. The Cycle of Reproduction. Journal of Ethnopharmacology. 1992; 37:179-196.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Medical Microbiology. Penerjemah: Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B. Jakarta: Salemba Medika; 2005.
- Dachriyanus. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri Edisi I. Padang: CV. Trianda Anugrah Pratama: 2004.
- Day RA, Underwood AL. Analisa Kimia Kuantitatif. Penerjemah: Dr. Ir. Lis Sopyan, M. Eng, Edisi IV. Jakarta: Erlangga; 2002.
- Dekker RJ, Wirjahardja S. *Merremia peltata* (L.) Merr., diakses tanggal 16 April 2018 dari http://nbin.biotrop. Org/species_detail. Php?id_species=3983.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
- Djamal R. Prinsip-prinsip Dasar Bekerja Dalam Bidang Kimia Bahan Alam. Padang : UNAND; 1990.
- Djamilah. Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Serta Uji Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis*). [Tesis]. Bogor : FMIPA Program Magister Ilmu Kimia Universitas Indonesia; 2010.
- Djide N, Sartini, Kadir S. 2006. Analisis mikrobiologi farmasi. Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi FMIPA UNHAS; 1990.

- Fessenden RJ, Fessenden JS. Organic Chemistry. Penerjemah: Putjatmaka, A.H.Edisi III. Jakarta: Erlangga; 1999.
- Fitriwati. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Fraksi Etil Asetat Daun Aka Lambuang (*Merremia peltata* (L.) Merr). [Skripsi]. Padang: FMIPA UNAND; 2007.
- Gandjar IG, Rohman A. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007.
- Gritter JR, Bobbitt JM, Schwarting AE. Pengantar Kromatografi. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Bandung. ITB:1991.
- Harborne JB. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung: ITB; 2006.
- Harvey D. Modern Analytical Chemistry. McGraw-Hill. USA; 2000.
- Honesty R. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Aka Lambuang (*Merremia peltata* (L.) Merr). [Skripsi]. Padang: Universitas Andalas: 2012.
- Invasive Species Specialist Group (ISSG). Global Invasive Species Database. Diakses tanggal 1 maret 2018 dari <http://www.iucngisd.org/gisd/search.php>
- Irina VP, Philippe B, Bernard V, Bernard F. Invitro Anti *Helicobacter pylori* Activity of the Probiotic Strain *Bacillus subtilis* is Due To Secreation of Antibiotic, Antimicrob agent Chemother. 2001: 45: 3156-3161.
- Jawetz, Melnick, Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran. (Edisi XX). Penerjemah: E. Nugroho dan R. F Maulany. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran; 1995.
- Jawetz, Melnick, Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20. Jakarta : EGC; 2005.
- Kardinan A, Taryono. Mengenal Lebih Dekat Tanaman Obat Penggempur Kanker. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2003.
- Karthikeyan SC, Velmurugan S, Donio MBS, Michaelbabu M, Citarasu T. Studies on the antimicrobial potential and structural characterization of fatty acids extracted from Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2014;13(1):1-11.
- Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative *staphylococci*. Clin. Microb. 1994;7:117-140.
- Krishnan K, Mani A, Jasmine S. Cytotoxic activity of bioactive compound 1, 2- benzene dicarboxylic acid, mono 2- ethylhexyl ester extracted from a

- marine derived *Streptomyces sp.* VITSJK8. *Int J Mol Cell Med.* 2014;3(4):246–54.
- Molyneux P. The Use of Radical 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, Songklanarin. *J.Sci. Technol.* 2004; 26: 211-219.
- NIST Chemistry WebBook. *2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl* [Internet]. National Institute of Standards and Technology U.S. Department of Commerce,. Available from: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
- NIST Chemistry WebBook. *1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)* [Internet]. National Institute of Standards and Technology U.S. Department of Commerce,. Available from: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
- NIST Chemistry WebBook. *n-Hexadecanoic acid* [Internet]. National Institute of Standards and Technology U.S. Department of Commerce,. Available from: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
- NIST Chemistry WebBook. *Cis-9-hexadecanal* [Internet]. National Institute of Standards and Technology U.S. Department of Commerce,. Available from: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
- Noerdin D. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik dengan Cara Spektroskopi Ultralembayung dan Inframerah.* Bandung: Angkasa; 1986.
- Paynter Q, Harman H, Waipara N. *Prospects for Biological Control of Merremia peltata.* Landcare Research New Zealand: Conservation International; 2006.
- Perez KJB, Jose MAI, Aranico E, Madamba RSB. Phytochemical and Antibacterial Properties of the Ethanolic Leaf Extract of *Merremia peltata* (L.) Merr., and *Rubus* SPP. *AENSI Journal Advances in Environmental Biology.* 2015; 9(19): 50-56
- Pratiwi S. *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta: Gelora Aksara Pratama; 2008.
- Rahayu YD, Sutedjo, Matius P. *Kajian Potensi Tumbuhan Obat di Kawasan Malinau Research Forest (Mrf) Cifor Kabupaten Malinau Kalimantan Timur.* *Jurnal Kehutanan Unmul.* 2007: 3(1).
- Reeves DS, Philips I, William J.D. *Laboratory Methods in Antimicrobial Chemoterapy.* New York: Chirchill Livingstone; 1978.
- Rivai E. *Pengembangan Fitofarmaka sebagai Salah Satu Komoditas Agromedisin untuk Pengobatan Alternatif,* Makalah Seminar Ilmiah Nasional PIN VIII dan Munas IX ISMAFARMASI; 2002

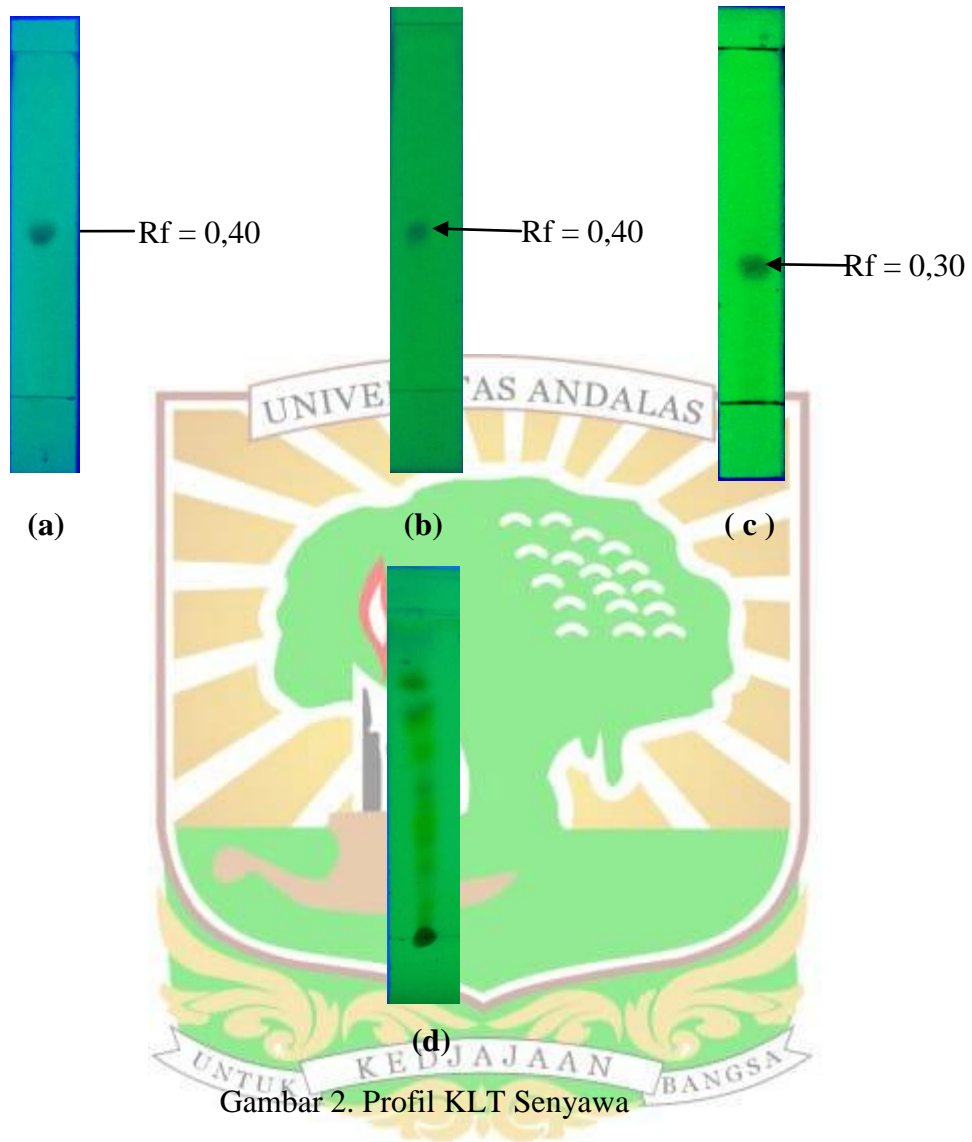
- Ruslin I, Sahidin. Identifikasi dan determinasi tanaman obat tradisional masyarakat Sulawesi Tenggara pada Arboretum Prof. Mahmud Hamundu Universitas Haluoleo. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19, 2, 102; 2008.
- Sastrohamidjojo H. Kimia Dasar Yogyakarta: UGM Press: 2005.
- Shlegel HG. Mikrobiologi Umum. Yogyakarta : UGM Press; 1994.
- Silverstein B., Morcill. Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik. ITS: Semarang; 1986.
- Smith AC. Flora Vitiensis Nova: A New Flora Of Fiji. National Tropical Botanical Garden Lawai Kauai. Hawaii; 1991:5: 626.
- Suganda. Kromatografi Lapis Tipis. Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi. Bandung, 7-8 Juli 1997. ITB, Bandung; 1997.
- Sumardjo D. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Strata I Fakultas Bioeksakta. Jakarta. EGC; 2006.
- Supratman U. Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Bandung : Widya Padjajaran; 2010.
- Susiarti S, Rahayu M, Royyani MF. Pengetahuan dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Masyarakat Tobelo Dalam di Maluku Utara. *Media Litbangkes*. 2015; 25 (4): 211-218.
- Pelczar MJ, Chan, ECS. Elements of Microbiology. Penerjemah: Hadioetemo, RS, Imas, T. Jakarta: Universitas Indonesia Press; 1988.
- Tenover FC. *The American Journal of Medicine*; 2006: 119: S3-S10.
- Tjay HT, Rahardja K. Obat Obatan Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya. Jakarta. Gramedia; 2007.
- Volk WA, Wheeler MF. Mikrobiologi Dasar. (Edisi V). Penerjemah: S. Adisumartono. Jakarta: Erlangga; 1990.
- Waruruai J, Sipana B, Koch M, Barrows LR, Matainaho TK, Rai PP. An Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants Used In the Siwai and Buin Districts of the Autonomous Region of Bougainville. *J Ethnopharmacol*: 2011.
- Yinusa I, George NI, Shuaibu UOA, Ayo RG. Original Research Article Bioactivity of stigmasterol isolated from the aerial part of *Spilanthes acmella* (Murr) on selected microorganism. 2014;3(2):475–9.

Zeb MA, Ullah S, Rahman TU, Sajid M. Isolation and biological activity of β - sitosterol and stigmasterol from the roots of *Indigofera heterantha*. 2017;204–7.

Zuorro A, Fidaleo M, Lavecchia R. Solubility Enhancement and Antibacterial activity of Cholamfenicol Included Modified β - Cyclodextrins. *Jurnal Korean Chemical*. 2010;31(1)



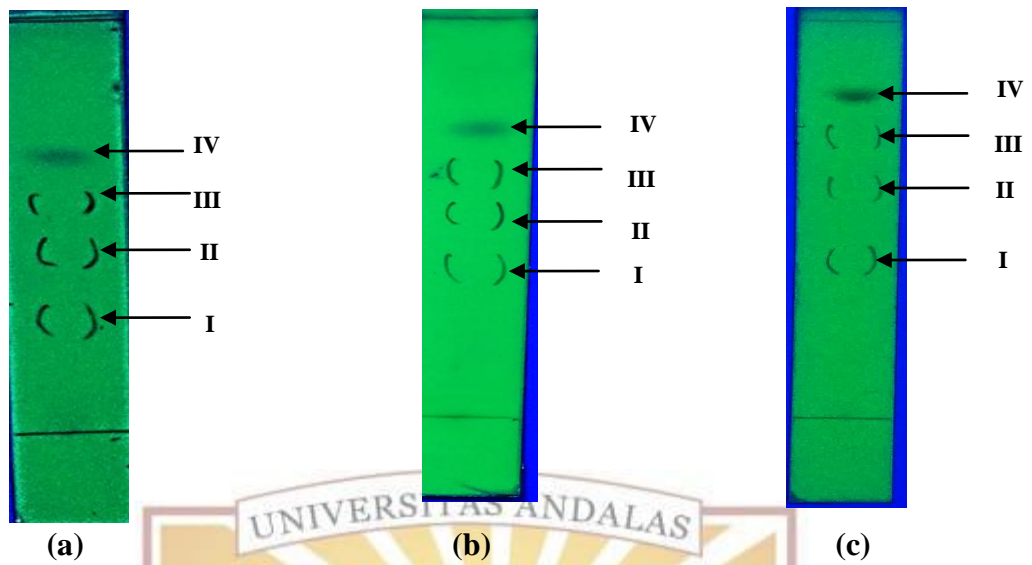
Lampiran 1. Data Hasil Penelitian



Gambar 2. Profil KLT Senyawa

Keterangan:

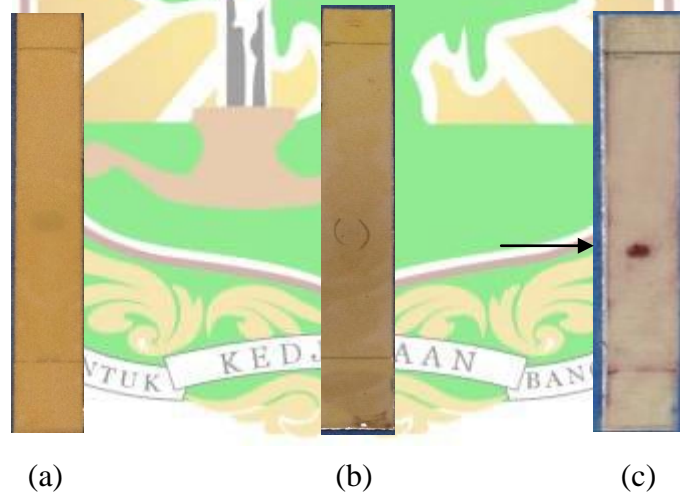
- (a) Subfraksi I Eluen *n*-heksan : etil asetat (9:1) $R_f = 0,40$
- (b) Subfraksi II Eluen 8% etil asetat dalam *n*-heksan $R_f = 0,40$
- (c) Subfraksi III Eluen *n*-heksan : etil asetat (8:2) $R_f = 0,30$
- (d) Profil KLT Fraksi *n*-heksan Eluen *n*-heksan : etil asetat (7:3)



Gambar 3. Profil KLT Senyawa dengan Metode *Multiple Developing System* (MDS)

Keterangan:

(a) Subfraksi I (b) Subfraksi II (c) Subfraksi III

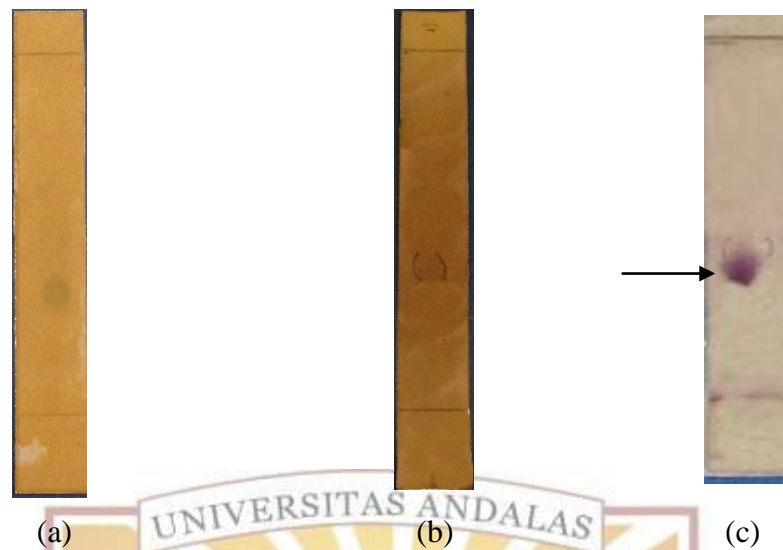


Gambar 4. Profil KLT Subfraksi I yang Disemprot dengan Reagen Penampak Noda. Keterangan:

(a) Menggunakan FeCl_3 = (-) fenol

(b) Menggunakan Dragendorff = (-) alkaloid

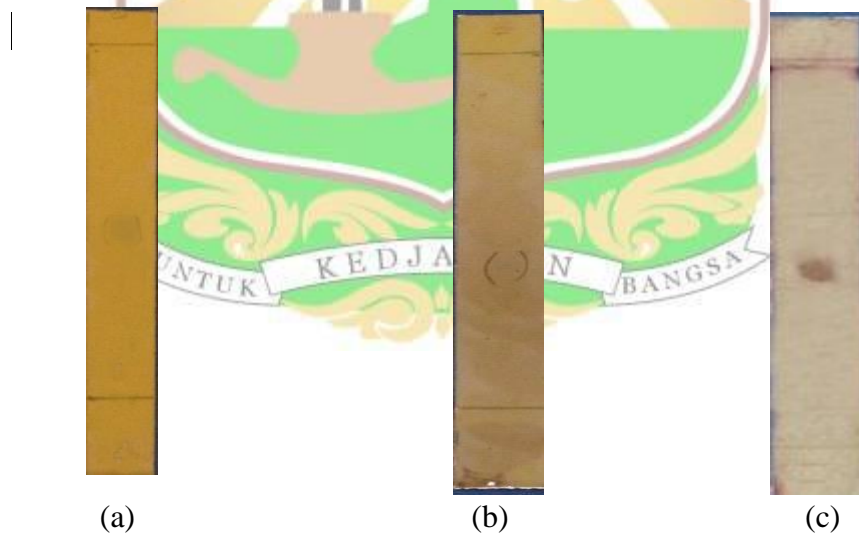
(c) Menggunakan vanilin asam sulfat = (+) terpenoid



Gambar 5. Profil KLT Subfraksi II yang Disemprot dengan Reagen Penampak Noda

Keterangan:

- (a) Menggunakan $\text{FeCl}_3 = (-)$ fenol
- (b) Menggunakan Dragendorff $= (-)$ alkaloid
- (c) Menggunakan vanilin asam sulfat $= (+)$ terpenoid

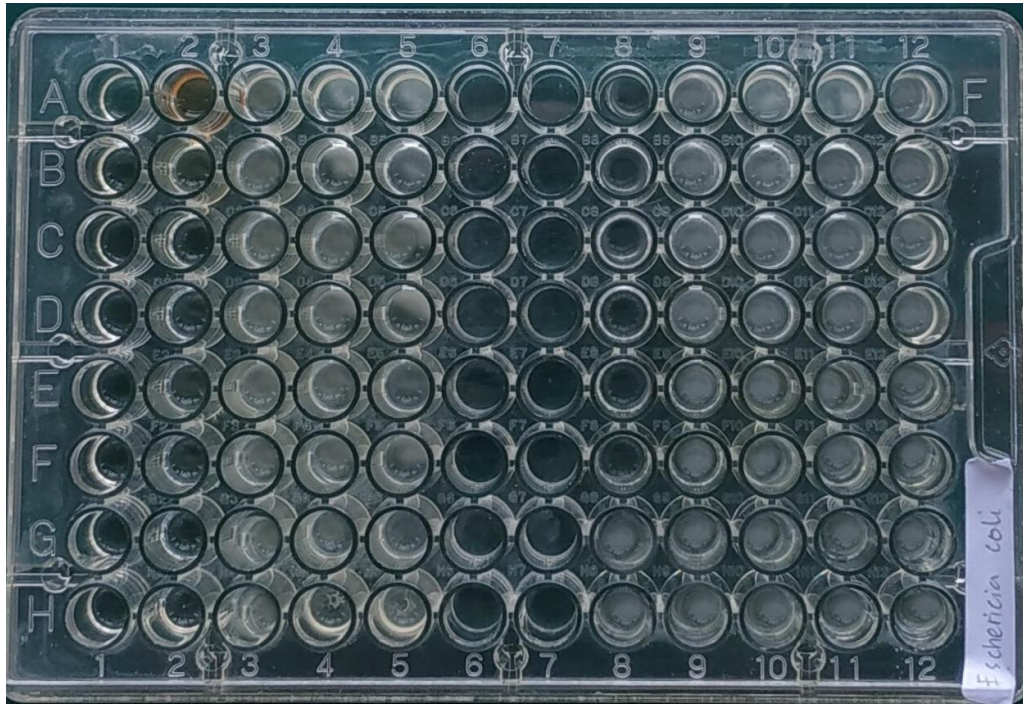


Gambar 6. Profil KLT Subfraksi III yang Disemprot dengan Reagen Penampak Noda

Keterangan :

- (a) Menggunakan $\text{FeCl}_3 = (-)$ fenol

- (b) Menggunakan Dragendorff = (-) alkaloid
- (c) Menggunakan vanilin asam sulfat = (-) terpenoid



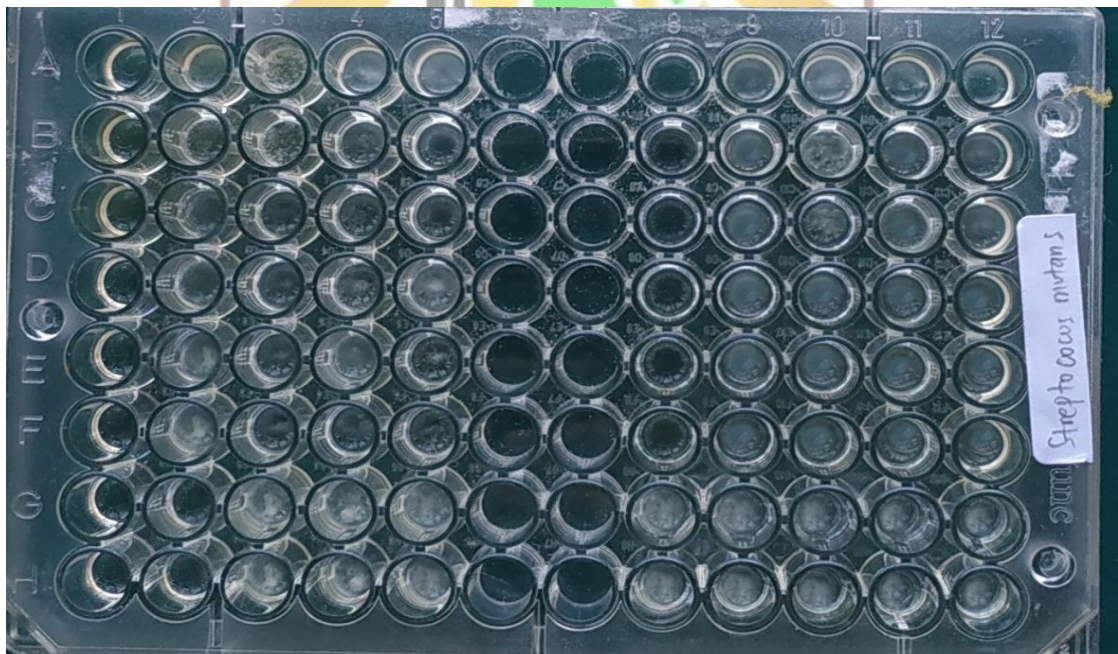
Gambar 7 Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Escheria coli*.

Keterangan:

- A,B,C 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- A,B,C 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)
- G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 7. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escheria coli* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,080	0,197	0,582	0,688	9,523	50 ppm
	2	0,089	0,234	0,644	0,603	9,585	
	3	0,081	0,200	0,596	0,608	9,601	
Subfraksi I	1	0,086	0,304	0,378	0,474	8,509	50 ppm
	2	0,086	0,319	0,400	0,463	8,592	
	3	0,086	0,245	0,425	0,501	8,599	
Subfraksi II	1	0,113	0,679	0,993	1,234	1,563	100 ppm
	2	0,116	0,699	0,825	1,229	1,460	
	3	0,119	0,679	0,993	1,234	1,478	
Subfraksi III	1	0,098	0,527	0,618	0,893	0,193	100 ppm
	2	0,081	0,574	0,681	0,869	0,284	
	3	0,209	0,634	0,689	0,882	0,208	
Kontrol (+)	1	0,080	0,319	0,785	0,142	0,209	50 Ppm
	2	0,111	0,304	0,594	0,630	0,084	
Kontrol (-)	1	0,614	0,943	1,076	1,289	1,371	-
	2	0,593	0,975	1,185	1,203	1,207	



Gambar 8. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Keterangan:

A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

A,B,C 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

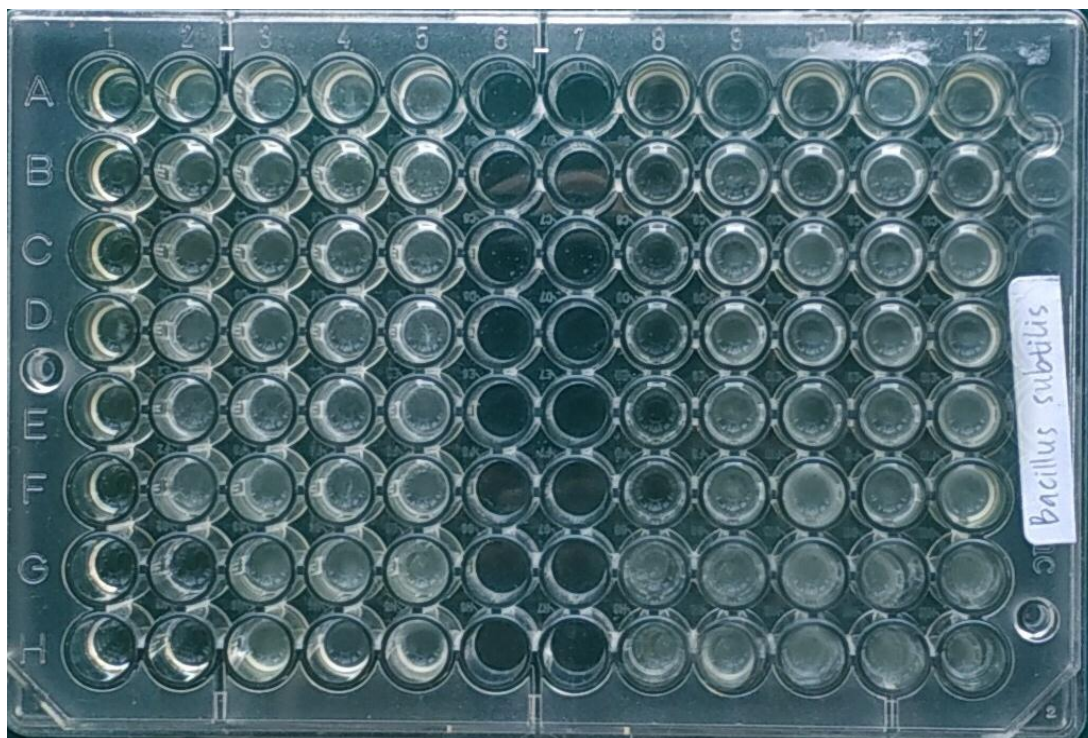
D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)

G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 8 Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,152	0,458	0,563	0,620	0,795	100 ppm
	2	0,322	0,442	0,500	0,629	0,784	
	3	0,306	0,454	0,513	0,570	0,740	
Subfraksi I	1	0,124	0,364	0,405	0,458	0,595	100 ppm
	2	0,162	0,353	0,401	0,495	0,601	
	3	0,124	0,360	0,399	0,530	0,617	
Subfraksi II	1	0,135	0,355	0,400	0,528	0,600	100 ppm
	2	0,160	0,362	0,397	0,507	0,628	
	3	0,177	0,375	0,421	0,525	0,599	
Subfraksi III	1	0,214	0,357	0,477	0,582	6,941	100 ppm
	2	0,218	0,362	0,457	0,587	6,841	
	3	0,211	0,347	0,487	0,562	6,947	
Kontrol (+)	1	0,125	0,251	0,354	0,500	0,612	50 ppm
	2	0,150	0,249	0,346	0,510	0,600	
Kontrol (-)	1	0,346	0,399	0,486	0,585	0,677	-
	2	0,354	0,400	0,503	0,597	0,687	



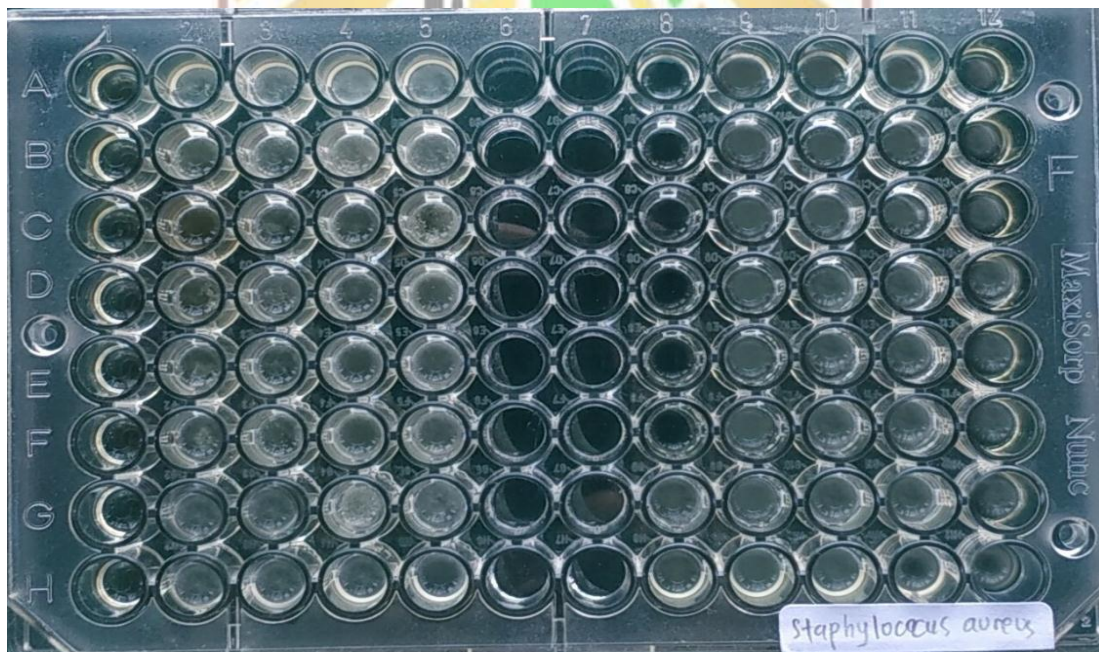
Gambar 9. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

Keterangan:

- A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- A,B,C 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)
- G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 9. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Bacillus subtilis* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,254	0,743	0,804	0,882	0,979	100 ppm
	2	0,209	0,759	0,823	0,858	0,877	
	3	0,212	0,751	0,814	0,871	0,900	
Subfraksi I	1	0,163	0,799	0,908	0,927	0,999	100 ppm
	2	0,172	0,719	0,913	0,945	1,010	
	3	0,167	0,725	0,910	0,925	1,015	
Subfraksi II	1	0,231	0,583	0,640	0,836	1,021	100 ppm
	2	0,218	0,614	0,684	0,787	0,910	
	3	0,225	0,405	0,735	0,798	0,914	
Subfraksi III	1	0,280	0,759	0,808	0,907	0,923	100 ppm
	2	0,254	0,743	0,809	0,902	0,927	
	3	0,228	0,741	0,928	0,947	0,957	
Kontrol (+)	1	0,170	0,279	0,681	0,822	1,119	50 ppm
	2	0,200	0,267	0,755	0,092	1,112	
Kontrol (-)	1	0,466	0,623	0,824	0,958	0,966	-
	2	0,575	0,723	0,861	0,986	1,114	



Gambar 10. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Keterangan:

A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

A,B,C 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

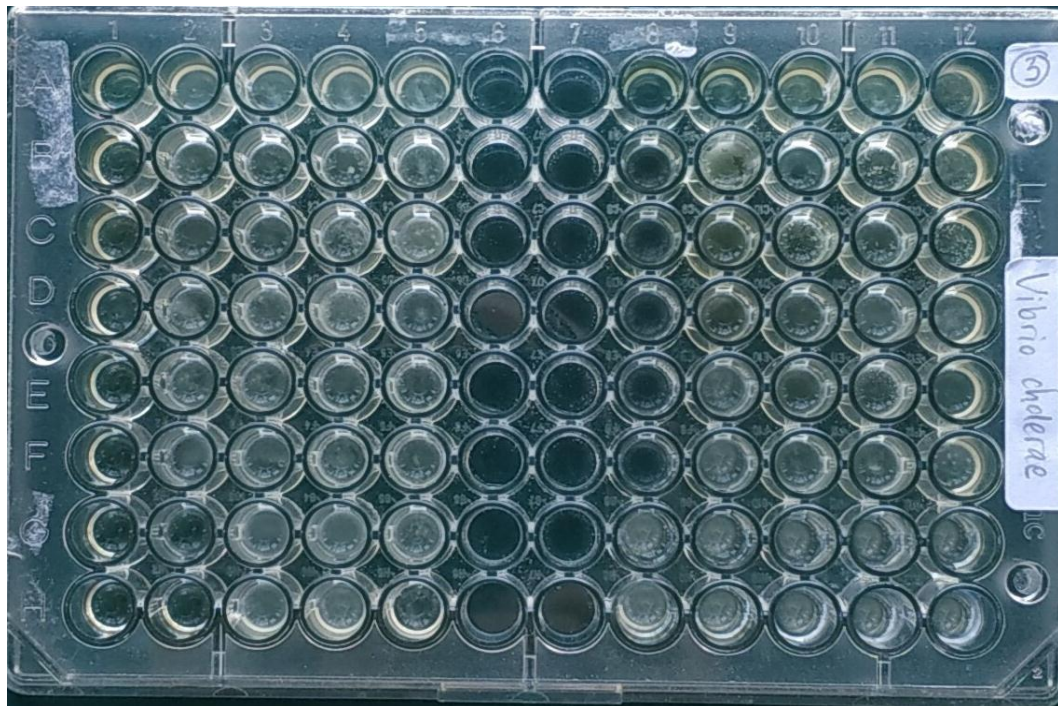
D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)

G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 10. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,149	0,342	0,587	0,719	0,641	100 ppm
	2	0,234	1,101	1,053	0,963	1,176	
	3	0,273	0,998	1,064	0,988	1,043	
Subfraksi I	1	0,173	0,998	1,000	1,155	1,250	100 ppm
	2	0,184	1,013	1,032	1,075	0,834	
	3	0,170	1,120	1,209	1,014	1,013	
Subfraksi II	1	0,097	0,066	0,223	0,115	0,068	100 ppm
	2	0,170	0,761	1,041	0,615	0,059	
	3	0,219	1,073	0,702	0,822	0,064	
Subfraksi III	1	0,259	0,272	0,913	0,061	0,057	100 ppm
	2	0,339	1,133	1,211	0,263	0,062	
	3	0,362	1,162	1,398	0,084	0,062	
Kontrol (+)	1	0,107	0,560	0,325	1,367	1,127	100 ppm
	2	0,186	0,463	1,334	0,991	0,913	
Kontrol (-)	1	0,477	0,609	1,189	0,106	0,065	-
	2	1,204	1,113	1,213	0,251	0,083	



Gambar 11. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Vibrio cholerae*

Keterangan:

A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

A,B,C 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

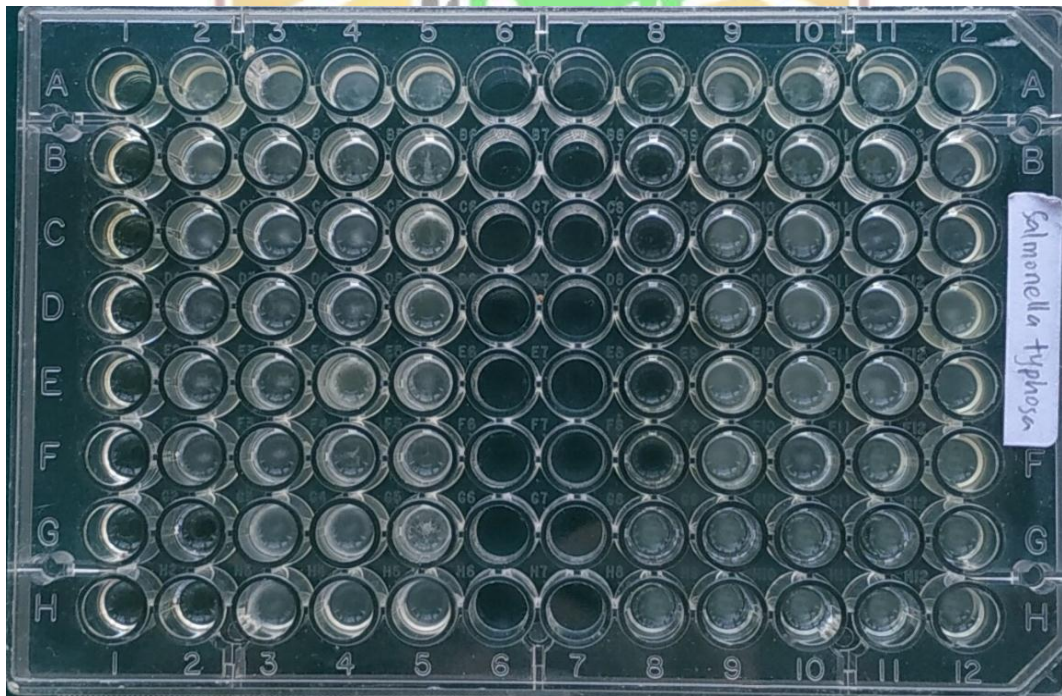
D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)

G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 11. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,156	0,600	0,853	1,044	1,085	100 ppm
	2	0,145	0,661	0,892	1,048	1,081	
	3	0,146	0,780	0,832	1,038	1,079	
Subfraksi I	1	0,118	1,182	1,275	1,394	1,670	100 ppm
	2	0,120	1,182	1,282	1,389	1,165	
	3	0,128	1,189	1,268	1,399	1,168	
Subfraksi II	1	0,161	0,724	0,812	0,991	1,217	100 ppm
	2	0,163	0,738	0,832	0,995	1,226	
	3	0,158	0,727	0,828	0,989	1,219	
Subfraksi III	1	0,167	0,751	0,843	0,943	1,129	100 ppm
	2	0,170	0,738	0,865	0,950	1,116	
	3	0,166	0,736	0,854	0,948	0,144	
Kontrol (+)	1	0,146	0,165	0,873	0,962	1,261	50 ppm
	2	0,128	0,158	1,221	0,968	1,190	
Kontrol (-)	1	1,170	1,182	1,190	1,235	1,261	-
	2	1,178	1,182	1,189	1,238	1,265	



Gambar 12. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Salmonella typhosa*

Keterangan:

A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

A,B,C 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

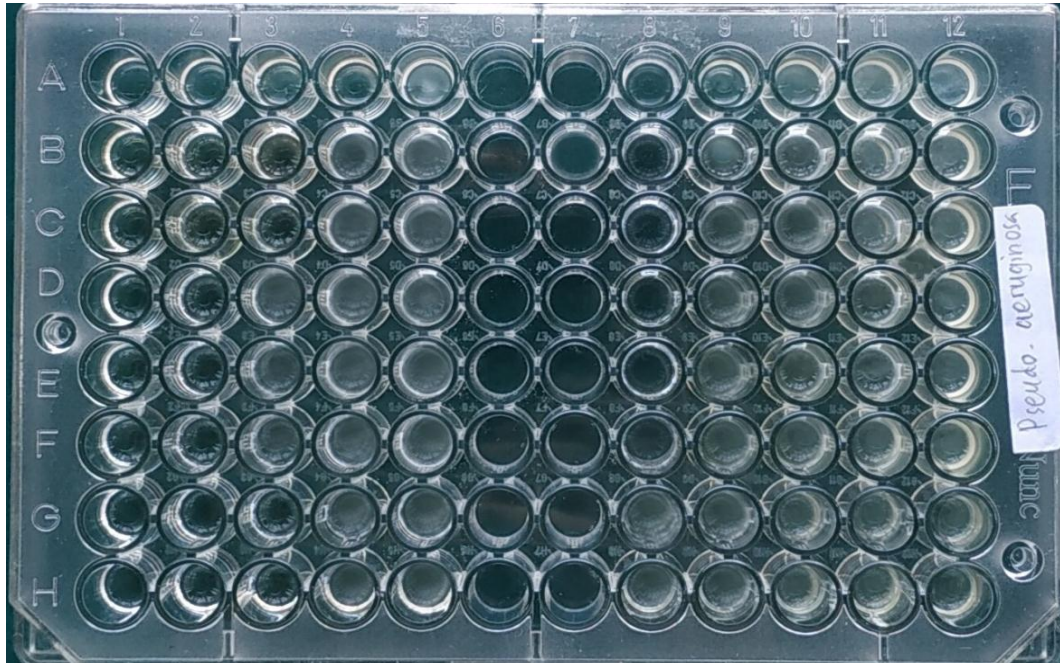
D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)

G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 12. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Salmonella thyposa* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,144	1,175	1,316	1,501	1,763	100 ppm
	2	0,137	1,169	1,297	1,489	1,699	
	3	0,233	1,297	1,300	1,385	1,700	
Subfraksi I	1	0,104	1,216	1,350	1,466	1,185	100 ppm
	2	0,150	1,503	1,585	1,466	1,185	
	3	0,252	1,438	1,512	1,049	1,056	
Subfraksi II	1	0,197	1,422	1,597	1,761	1,192	100 ppm
	2	0,167	1,329	1,575	1,762	1,956	
	3	0,112	1,309	1,554	1,775	2,003	
Subfraksi III	1	0,210	0,487	0,509	0,734	0,827	100 ppm
	2	0,253	0,863	1,294	1,385	1,412	
	3	0,305	0,335	0,640	0,702	0,933	
Kontrol (+)	1	0,140	0,200	0,416	0,534	0,911	50 ppm
	2	0,144	0,253	0,537	0,882	0,936	
Kontrol (-)	1	0,440	0,608	0,741	0,840	0,942	-
	2	0,445	0,611	0,735	0,830	0,950	-



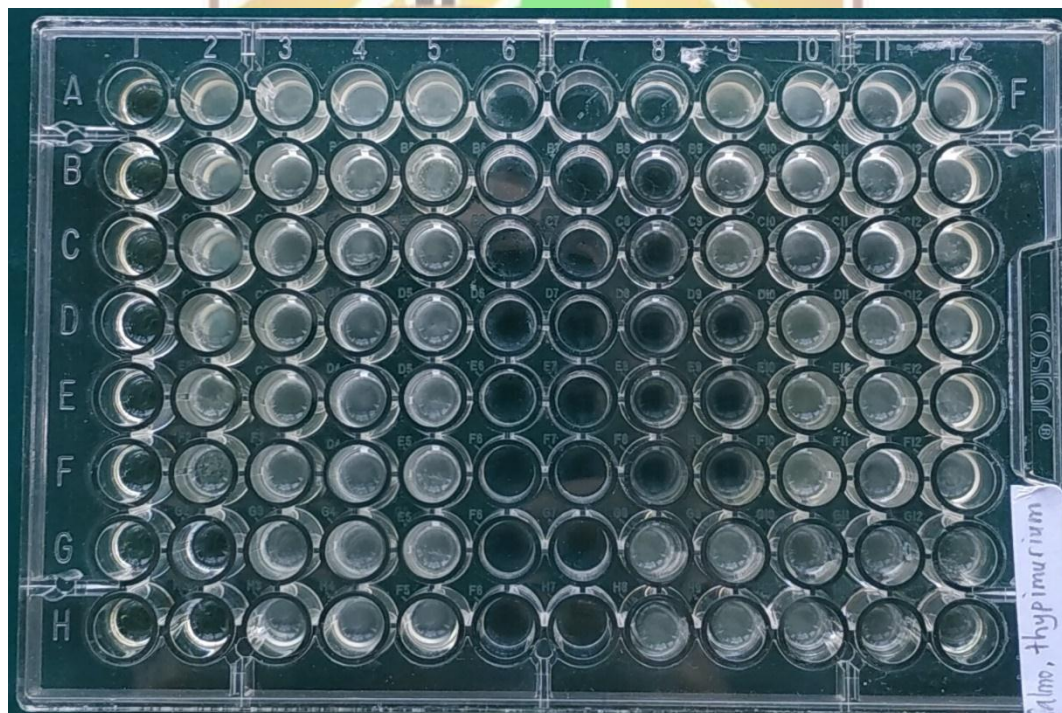
Gambar 13. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap bakteri *Pseudo aeruginosa*

Keterangan:

- A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- A,B,C, 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)
- G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 13. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudo aeruginosa* pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,077	0,075	0,091	0,070	0,083	25 ppm
	2	0,102	0,112	0,085	0,070	0,164	
	3	0,074	0,236	0,133	0,129	0,189	
Subfraksi I	1	0,066	0,075	0,065	0,402	0,760	50 ppm
	2	0,113	0,067	0,118	0,331	0,241	
	3	0,144	0,113	0,122	0,070	0,772	
Subfraksi II	1	0,072	0,208	0,742	1,41	0,0467	100 ppm
	2	0,077	0,441	1,006	1,235	1,274	
	3	0,079	0,594	0,907	0,989	1,380	
Subfraksi III	1	0,273	0,106	0,934	1,181	1,022	100 ppm
	2	0,120	0,356	0,887	1,186	0,665	
	3	0,101	0,313	0,676	0,774	1,369	
Kontrol (+)	1	0,066	0,061	0,085	0,145	0,058	25 ppm
	2	0,067	0,064	0,088	0,102	0,059	
Kontrol (-)	1	0,152	0,149	0,177	0,186	0,174	-
	2	0,155	0,175	0,166	0,172	0,139	-



Gambar 14. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap Bakteri *Samonella thypimurium*.

Keterangan:

A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

A,B,C, 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

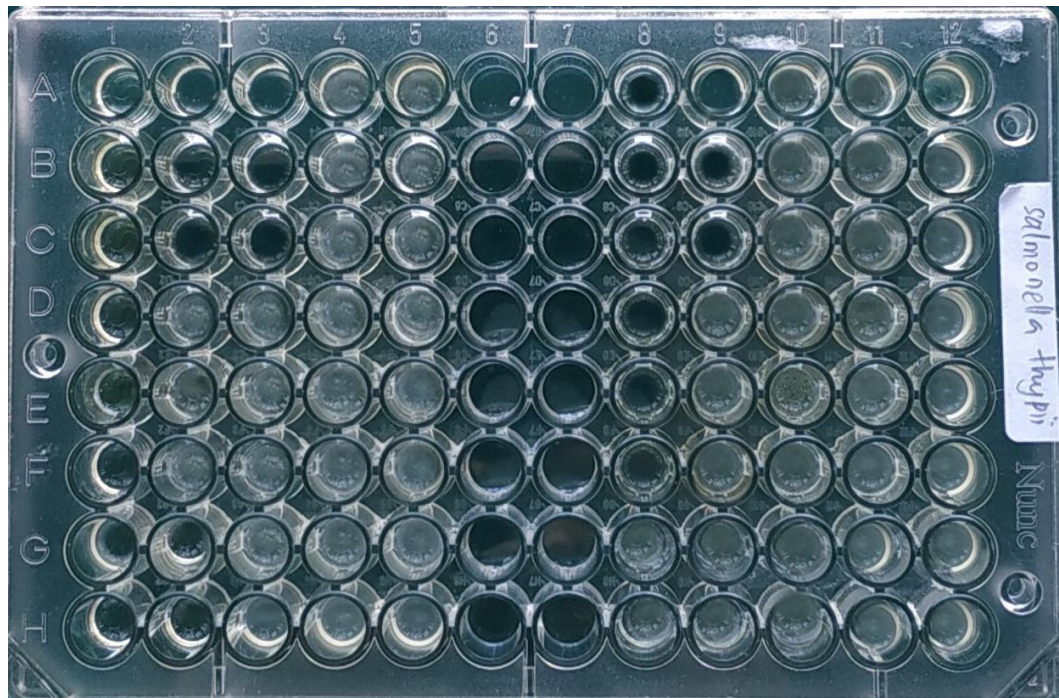
D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.

G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)

G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

Tabel 14. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Samonella thypimurium* Pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,106	0,535	1,046	1,053	1,362	100 ppm
	2	0,142	0,631	0,885	1,245	0,894	
	3	0,148	0,584	0,811	0,939	1,357	
Subfraksi I	1	0,125	0,385	0,838	0,933	1,471	100 ppm
	2	0,129	0,393	0,938	0,931	1,468	
	3	0,131	0,376	0,879	0,948	1,684	
Subfraksi II	1	0,131	0,706	0,885	0,967	1,072	100 ppm
	2	0,141	0,725	0,849	0,996	1,096	
	3	0,143	0,710	0,873	0,961	1,080	
Subfraksi III	1	0,138	0,150	0,389	0,577	0,895	50 ppm
	2	0,133	0,149	0,349	0,523	0,824	
	3	0,131	0,138	0,313	0,565	0,884	
Kontrol (+)	1	0,122	0,700	0,613	0,723	0,815	100 ppm
	2	0,158	0,683	0,584	0,765	0,827	
Kontrol (-)	1	0,393	0,623	0,824	0,958	1,093	-
	2	0,376	0,723	0,861	0,986	1,103	



Gambar 15. Uji Aktivitas Senyawa Terhadap Bakteri *Samonella thypii*.

Keterangan:

- A,B,C, 1-5 : Fraksi *n*-heksan dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 1-5 : Subfraksi I dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- A,B,C, 8-12 : Subfraksi II dengan tiga kali pengulangan (A,B,C) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- D,E,F 8-12 : Subfraksi III dengan tiga kali pengulangan (D,E,F) dengan konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm dan 6,25 ppm.
- G-H, 1-5 : Kontrol positif (+)
- G-H, 8-12 : Kontrol negatif (-)

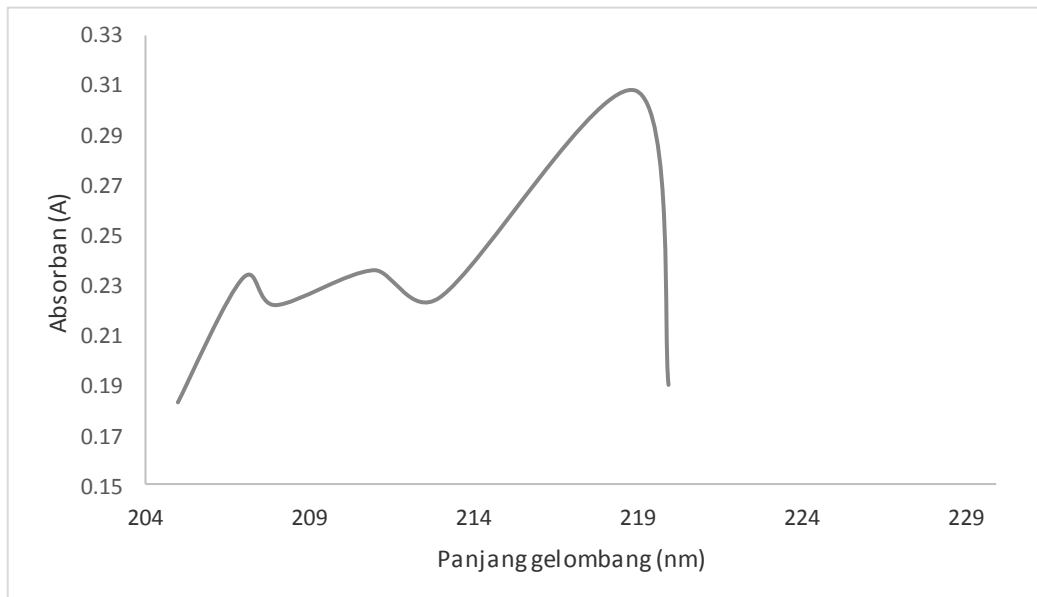
Tabel 15. Nilai Absorban Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Samonella thypii* Pada *Microplate Reader*

Senyawa		100 ppm	50 ppm	25 ppm	12,5 ppm	6,25 ppm	MIC
Fraksi <i>n</i> -heksan	1	0,191	0,255	0,400	0,841	1,179	25 ppm
	2	0,120	0,231	0,405	0,835	1,339	
	3	0,194	0,255	0,399	0,841	1,179	
Subfraksi I	1	0,140	0,530	0,692	0,785	0,981	100 ppm
	2	0,134	0,545	0,672	0,800	1,011	
	3	0,145	0,537	0,692	0,789	0,981	
Subfraksi II	1	0,218	0,253	0,561	0,785	1,017	50 ppm
	2	0,341	0,453	0,580	0,780	1,032	
	3	0,216	0,253	0,561	0,785	1,017	
Subfraksi III	1	0,195	0,507	0,741	0,832	1,219	100 ppm
	2	0,258	0,567	0,889	0,836	1,094	
	3	0,301	0,565	0,767	0,903	1,164	
Kontrol (+)	1	0,173	0,413	0,721	0,930	1,049	50 ppm
	2	0,165	0,400	0,791	1,040	1,190	
Kontrol (-)	1	0,725	0,849	1,025	1,211	1,477	-
	2	0,743	0,831	1,058	1,262	1,438	



Tabel 16. Pemeriksaan Fisika dan Pemeriksaan Kimia Senyawa

No	Karakterisasi	Subfraksi I	Subfraksi II	Subfraksi III
1	Organoleptis	Berbentuk amorf, tidak berbau, berwarna kuning pucat	Berbentuk kristal berwarna putih, tidak berbau	Berbentuk amorf berwarna hijau pekat, berbau
	Pemeriksaan Fisika	Kelarutan Larut dalam <i>n</i> -heksan, etil asetat dan metanol	Larut dalam etil asetat serta tidak larut dalam <i>n</i> -heksan dan metanol	Larut dalam etil asetat, serta tidak larut dalam <i>n</i> -heksan dan methanol
2	Pemeriksaan Kimia	<i>n</i> -heksan : etil asetat (9:1) Rf : 0,40	8% dalam etil asetat Rf : 0,40	<i>n</i> -heksan : etil asetat (8:2) Rf : 0,30
		FeCl ₃	-	Biru tua
		Dragendroff	-	-
		Vanillin Asam Sulfat	Ungu	Ungu



Gambar 16. Spektrum UV-vis Subfraksi I

Tabel 17. Data Spektrum UV-vis Subfraksi I

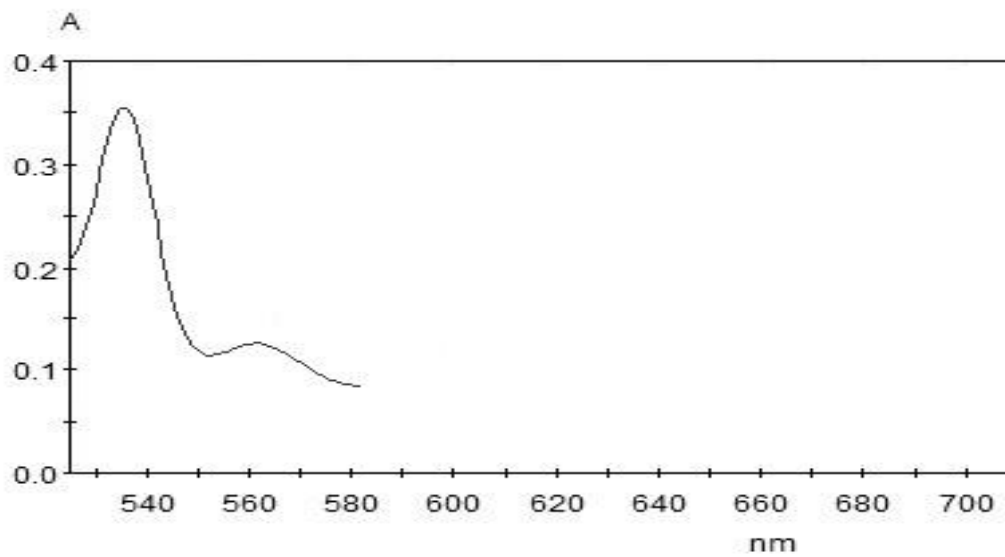
Panjang Gelombang (nm)	Absorban
207	0,233
211	0,236
219	0,308



Gambar 17. Spektrum UV-vis Subfraksi II

Tabel 18. Data Spektrum UV-vis Subfraksi II

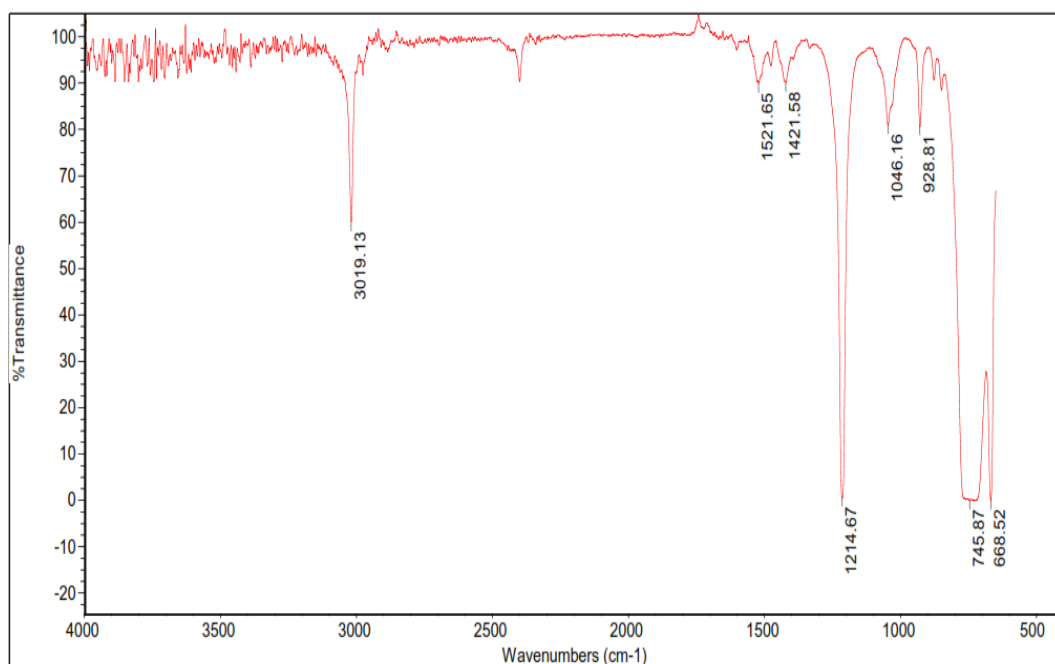
Panjang Gelombang (nm)	Absorban
210	0,311
216	0,360
221	0,378



Gambar 18. Spektrum UV-vis Subfraksi III

Tabel 19. Data Spektrum UV-vis Subfraksi III

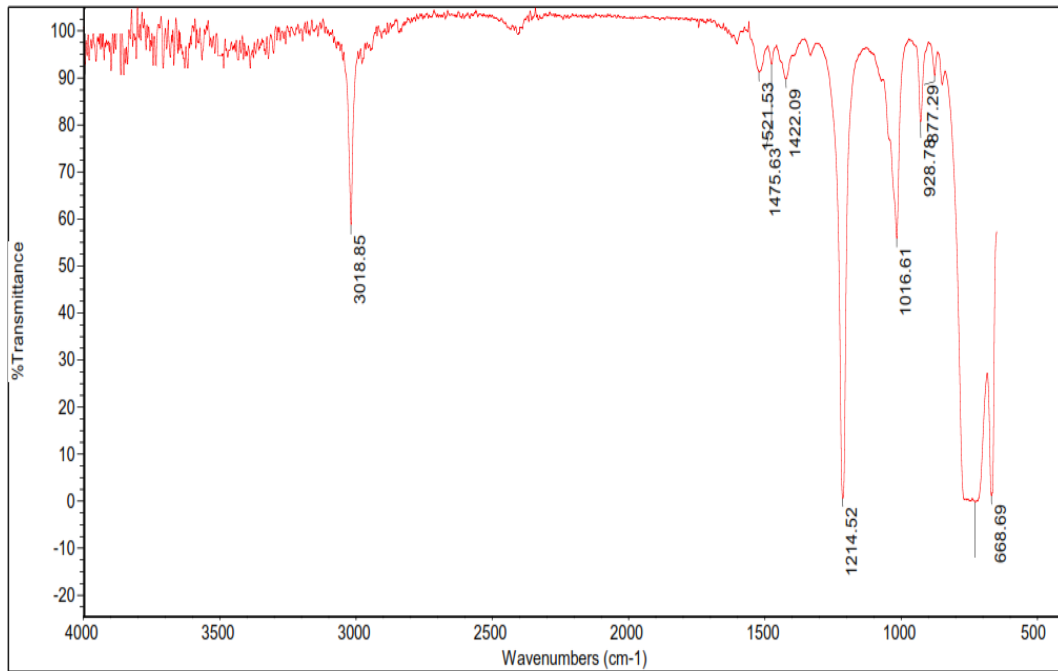
Panjang Gelombang (nm)	Absorban
536	0,355
581	0,084



Gambar 19. Spektrum Inframerah Subfraksi I

Tabel 20. Data Spektrum Inframerah Subfraksi I

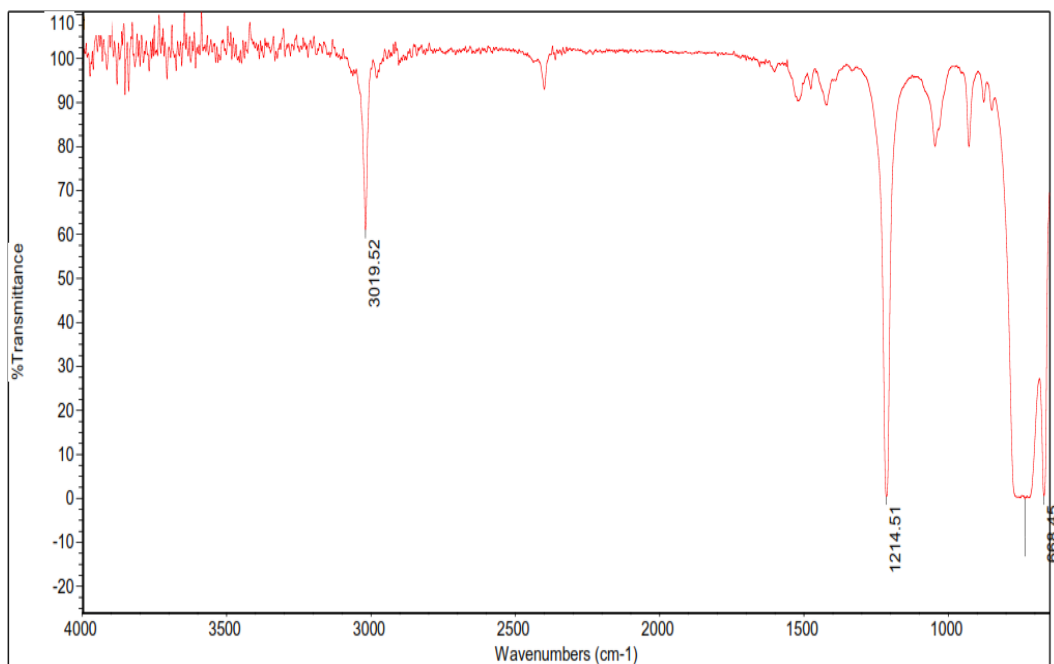
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Jenis Ikatan
3019,13	COOH/COH
1521,65	C=C
1421,58	C-H
1214,67; 1046,16; 928,81	C-C
745,87; 668,52	C=C-H



Gambar 20. Spektrum Inframerah Subfraksi II

Tabel 21. Data Spektrum Inframerah Subfraksi II

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Jenis Ikatan
3018,85	COOH/COH
1521,53	C=C
1475,63; 1422,09	C-H
1016,61; 928,78; 877,29; 668,69	C=C-H
1214,52	C-C



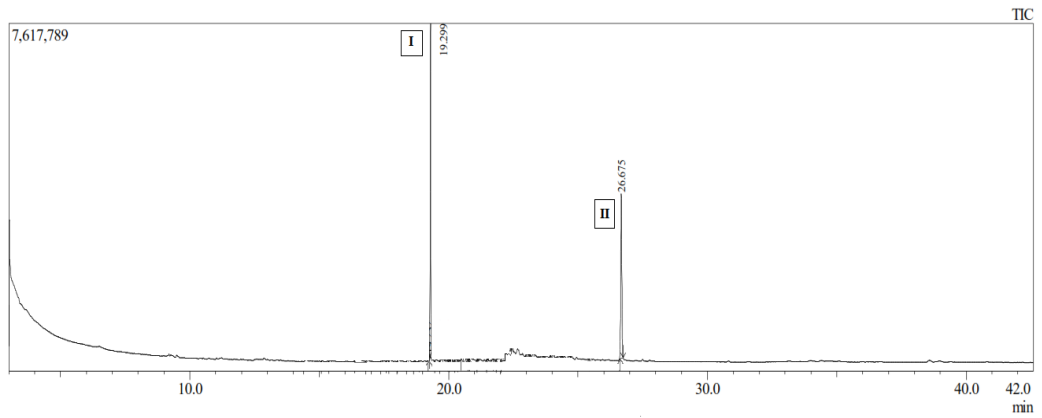
Gambar 21. Spektrum Inframerah Subfraksi III

Tabel 22. Data Spektrum Inframerah Subfraksi III

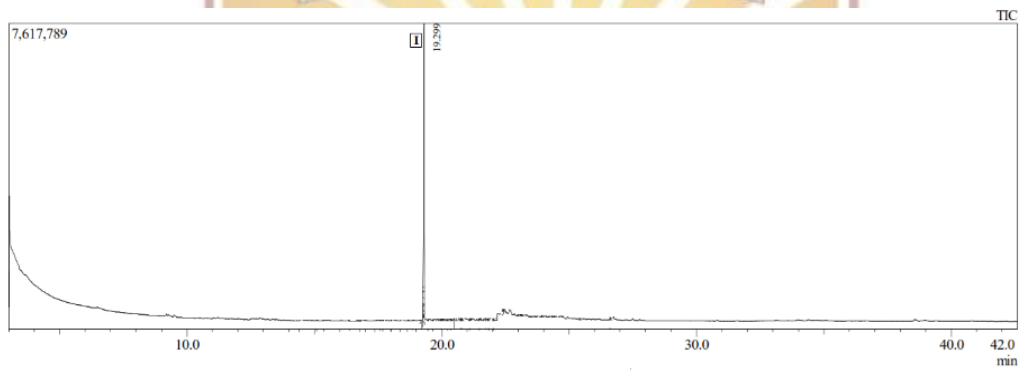
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Jenis Ikatan
3019,52	COOH/COH
1214,51	C-C
668,45	C=C-H

Peak Report TIC										
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	6.577	6.520	6.640	91492	0.03	37007	0.11	2.47		Decane
2	7.363	7.315	7.465	217438	0.07	84105	0.25	2.59		1-Hexanol, 2-ethyl-
3	7.510	7.465	7.840	240892	0.07	30647	0.09	7.86	V	2-Propyl-1-pentanol
4	8.972	8.875	9.265	790976	0.24	79401	0.24	9.96		2,4-Decadien-1-ol
5	9.963	9.790	10.060	179763	0.05	22251	0.07	8.08		2,4-Pentadien-1-ol, 3-pentyl-, (2Z)-
6	10.120	10.060	10.195	171691	0.05	27307	0.08	6.29	V	2,6-Nonadienal, (E,Z)-
7	10.225	10.195	10.390	98185	0.03	21197	0.06	4.63	V	9-Octadecenoic acid (Z)-, hexyl ester
8	12.772	12.550	12.985	278887	0.08	28703	0.09	9.72		2-Methoxy-4-vinylphenol
9	13.980	13.750	14.080	202172	0.06	22240	0.07	9.09		Tetradecane
10	14.454	14.395	14.770	1946966	0.58	564728	1.68	3.45		Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester
11	14.800	14.770	14.890	220205	0.07	93941	0.28	2.34	V	Dodecane, 4,6-dimethyl-
12	15.009	14.890	15.070	285543	0.09	73310	0.22	3.90	V	1-Dodecanol
13	15.115	15.070	15.280	154078	0.05	28964	0.09	5.32	V	7-Tetradecyne
14	15.409	15.280	15.490	158909	0.05	52501	0.16	3.03	V	Butylated Hydroxytoluene
15	15.783	15.730	15.940	232161	0.07	72680	0.22	3.19		10-Oxodecanoic acid, methyl ester
16	16.102	15.940	16.195	93435	0.03	15591	0.05	5.99	V	Dodecanoic acid
17	16.457	16.195	16.780	1633958	0.49	313127	0.93	5.22	V	Diethyl Phthalate
18	16.844	16.780	17.005	225755	0.07	37876	0.11	5.96	V	Cyclohexane, 2-chloro-4-methyl-1-(1-methylethyl)-
19	17.504	17.455	17.635	275312	0.08	62782	0.19	4.39		1-Tridecanol
20	17.727	17.680	17.875	458218	0.14	142198	0.42	3.22		Methyl 12-oxo-9-dodecenoate
21	18.040	17.875	18.190	2218798	0.66	832609	2.47	2.66	V	Methyl 12-oxo-9-dodecenoate
22	18.416	18.190	18.565	596018	0.18	84337	0.25	7.07	V	Tetradecanoic acid
23	18.677	18.565	18.730	503258	0.15	174164	0.52	2.89	V	Methyl 12-oxo-9-dodecenoate
24	18.868	18.730	19.030	4102385	1.23	1524988	4.53	2.69	V	Methyl 12-oxo-9-dodecenoate
25	19.135	19.030	19.150	450887	0.13	138743	0.41	3.25	V	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z)
26	19.239	19.150	19.450	6456704	1.93	2413430	7.17	2.68	V	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol
27	19.495	19.450	19.645	1499569	0.45	579413	1.72	2.59	V	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol
28	19.691	19.645	19.855	2102850	0.63	901251	2.68	2.33	V	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol
29	19.885	19.855	19.915	159720	0.05	59114	0.18	2.70	V	Phosphonous dichloride, (1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane-2-ylidene)-
30	19.945	19.915	19.960	120276	0.04	45441	0.14	2.65	V	2,5-Pyrrolidione, N-[2-(thienyl)acetyloxy]-
31	19.988	19.960	20.020	285026	0.09	118492	0.35	2.41	V	6,10,14,18,22-Tetracosapentaen-2-ol, 3-bromo-
32	20.110	20.020	20.215	2475301	0.74	540106	1.60	4.58	V	1-Hexacosene
33	20.317	20.215	20.425	591844	0.18	92204	0.27	6.42	V	6-Octadecenoic acid, (Z)-
34	20.525	20.425	21.670	8284964	2.48	1765785	5.25	4.69	SV	n-Hexadecanoic acid
35	20.846	20.785	20.965	279933	0.08	47035	0.14	5.95	T	1-Eicosanol
36	21.074	20.980	21.340	730879	0.22	66430	0.20	11.00	T	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate
37	21.511	21.430	21.550	160712	0.05	55535	0.17	2.89	T	5-Pentacosanone
38	21.614	21.565	21.670	278062	0.08	94194	0.28	2.95	T	1-Octadecyne
39	21.760	21.670	21.775	2661590	0.80	250071	0.74	10.64	V	Methyl 10-oxo-8-decenoate
40	21.967	21.775	22.045	8483786	2.54	798289	2.37	10.63	V	Phytol
41	22.251	22.045	22.405	19549456	5.85	2956071	8.78	6.61	V	cis-9-Hexadecenal
42	22.449	22.405	22.600	4357061	1.30	818971	2.43	5.32	V	Octadecanoic acid
43	22.677	22.600	22.930	4802759	1.44	684259	2.03	7.02	V	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol
44	23.023	22.930	23.455	6607611	1.98	332803	0.99	19.85	V	9,12-Octadecadien-1-ol, (Z,Z)-
45	23.569	23.455	23.590	1196553	0.36	176897	0.53	6.76	V	1-Heptadec-1-ynyl-cyclohexanol
46	23.691	23.590	23.890	3941436	1.18	878154	2.61	4.49	V	13-Tetradecen-1-ol acetate
47	23.979	23.890	24.145	2198095	0.66	231376	0.69	9.50	V	2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethyl-
48	24.269	24.145	24.325	1496279	0.45	192785	0.57	7.76	V	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide
49	24.384	24.325	24.550	1673757	0.50	141093	0.42	11.86	V	10-12-Pentacosadiynoic acid
50	24.792	24.550	24.865	8244471	2.47	2160988	6.42	3.82	V	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester
51	24.961	24.865	26.590	28621503	8.57	3029411	9.00	9.45	SV	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol
52	25.367	25.315	25.405	102352	0.03	26428	0.08	3.87	T	2,5-Octadecadienoic acid, methyl ester
53	25.555	25.405	25.675	319544	0.10	37772	0.11	8.46	TV	1,4-Methanoazulen-9-one, decahydro-1,5,5,8a-
54	25.825	25.705	25.885	115909	0.03	18370	0.05	6.31	T	Tridecanedial
55	25.960	25.885	26.050	101299	0.03	26141	0.08	3.88	TV	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracosan-2,10,14,
56	26.230	26.065	26.350	544127	0.16	75799	0.23	7.18	T	Phenol, 2,4-bis(1-methyl-1-phenylethyl)-
57	26.500	26.380	26.545	52335	0.02	11791	0.04	4.44	T	12-Methyl-oxa-cyclododecan-2-one
58	26.675	26.590	26.935	5259535	1.57	1510129	4.49	3.48	V	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhe
59	27.777	27.670	27.850	94173	0.03	17582	0.05	5.36		Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
60	29.857	29.575	29.995	464940	0.14	32314	0.10	14.39		26,26-Dimethyl-5,24(28)-ergostadien-3.beta.-o
61	30.583	29.995	30.985	30225722	9.05	1439658	4.28	21.00	V	Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)-
62	31.060	30.985	31.180	82062	0.02	12952	0.04	6.34	V	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl
63	32.937	32.290	33.415	47576324	14.24	2258631	6.71	21.06		Stigmasterol
64	33.580	33.415	33.820	374199	0.11	25838	0.08	14.48	V	5.alpha.-Androstan-3.alpha.-ol-17-one glucosyl
65	36.104	35.560	37.135	7922604	2.37	210893	0.63	37.57		Vitamin E
66	38.625	37.630	39.025	104058122	31.14	3757595	11.16	27.69		.gamma.-Sitosterol
67	39.205	39.025	39.445	835263	0.25	46006	0.14	18.16	V	Stigmasterol
68	39.774	39.445	40.225	2914203	0.87	154521	0.46	18.86	V	Fucosterol
				334130292	100.00	33657415	100.00			

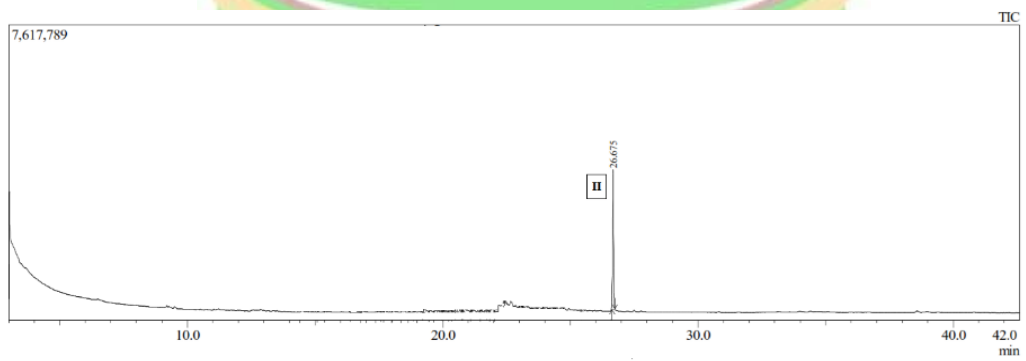
Gambar 22. Hasil Analisis GC-MS



Gambar 23. Kromatogram GC-MS Subfraksi I dengan beberapa puncak



Gambar 24. Kromatogram GC-MS Subfraksi I puncak I



Gambar 25. Kromatogram GC-MS Subfraksi I puncak II

Tabel 23. Data Kromatogram Subfraksi I Berdasarkan Database NIST.LIB

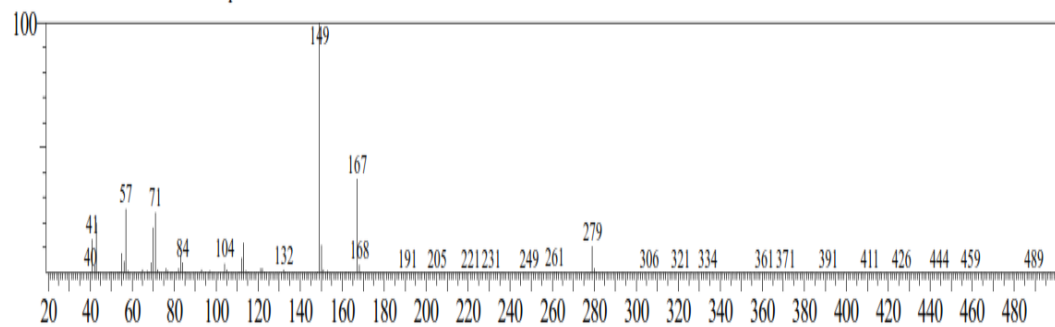
Peak	Waktu Retensi (Menit)	% Kemiripan	Senyawa Berdasarkan Database NIST27.LIB	Rumus Molekul	Berat Molekul
1.	19,299	95 %	<i>2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl</i>	C ₁₈ H ₃₆ O	268
2.	26,675	96 %	<i>1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl)</i>	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278

<<Target >>

Line#:52 R.Time:26.675(Scan#:4736) MassPeaks:323

RawMode:Averaged 26.670-26.680(4735-4737) BasePeak:149.00(999708)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

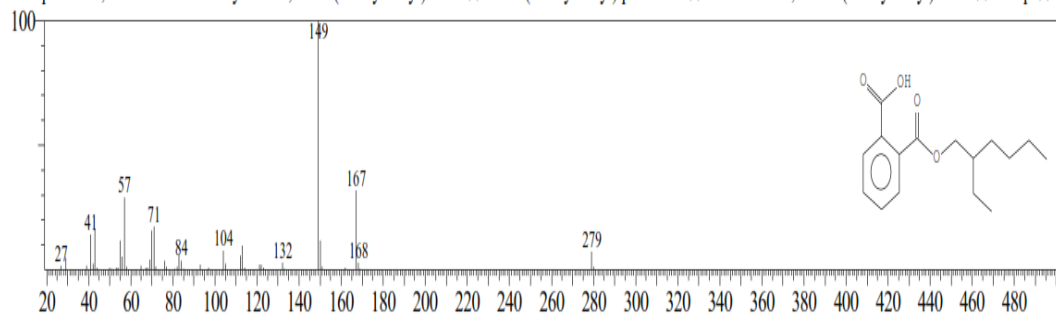


Gambar 26. Spektrum Massa Puncak 1

Hit#:1 Entry:82509 Library:NIST147.LIB

SI:96 Formula:C₁₆H₂₂O₄ CAS:4376-20-9 MolWeight:278 RetIndex:0

CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester \$\$ Mono(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ Phthalic acid, mono-(2-ethylhexyl) ester \$\$ Mehp \$\$



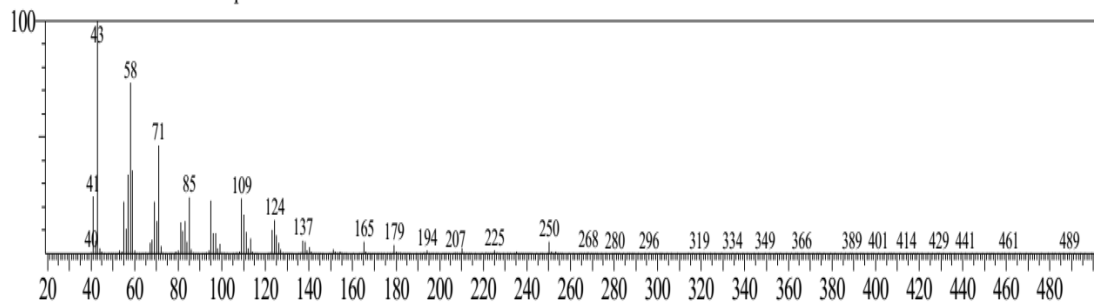
Gambar 27. Spektrum Massa 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)

<<Target >>

Line#:15 R.Time:19.300(Scan#:3261) MassPeaks:302

RawMode:Averaged 19.295-19.305(3260-3262) BasePeak:43.00(997534)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

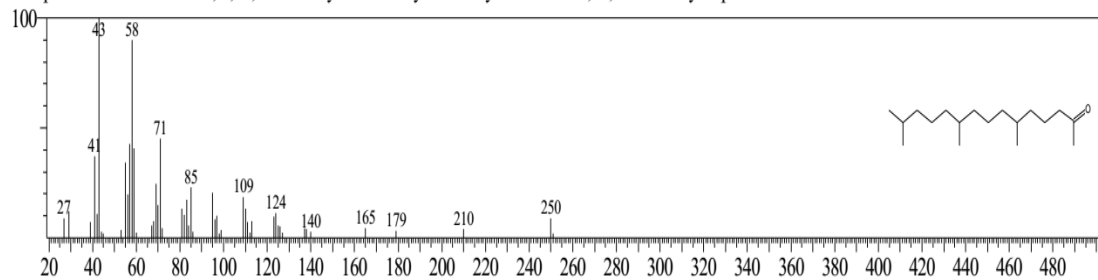


Gambar 28. Spektrum Massa Puncak 1

Hit#:2 Entry:77484 Library:NIST147.LIB

SI:95 Formula:C18H36O CAS:502-69-2 MolWeight:268 RetIndex:0

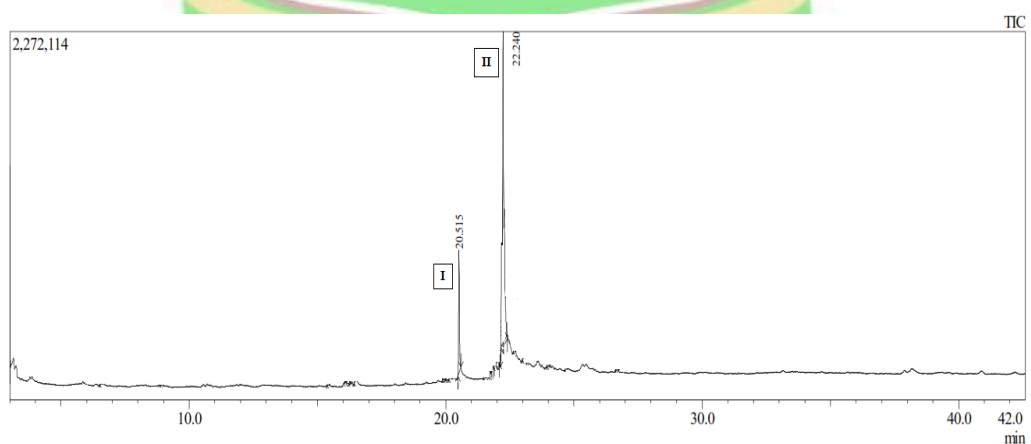
CompName:2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- \$\$ Hexahydrofarnesyl acetone \$\$ 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone \$\$



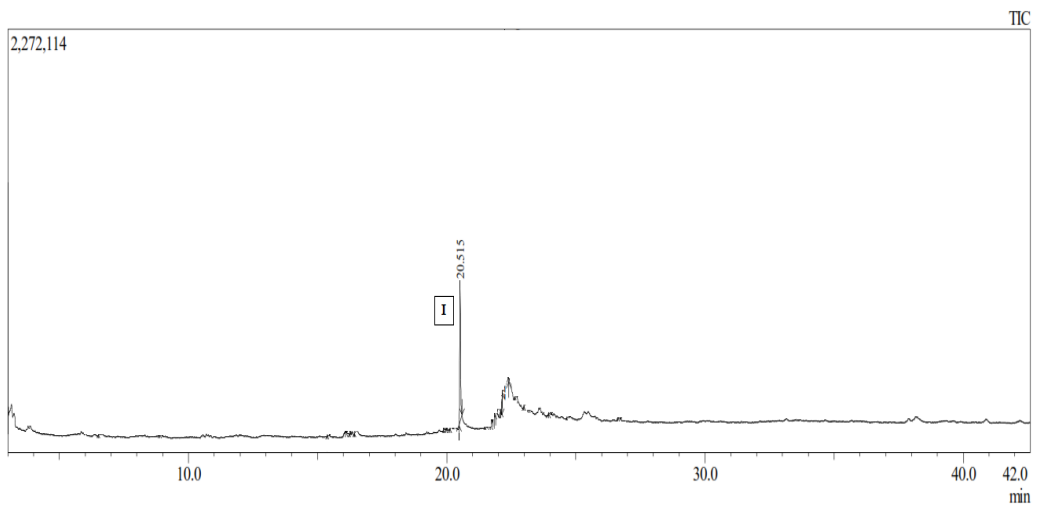
Gambar 29. Spektrum Massa 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl

Peak Report TIC										
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	6.602	6.505	6.690	554009	3.31	89318	1.75	6.20	MI	Decane
2	8.924	8.890	9.000	45476	0.27	10403	0.20	4.37	MI	Nonane, 5-(1-methylpropyl)-
3	15.406	15.380	15.475	261908	1.56	118050	2.31	2.22	MI	Butylated Hydroxytoluene
4	16.104	16.080	16.140	152372	0.91	100253	1.97	1.52	MI	Diethyl Phthalate
5	16.265	16.240	16.295	42459	0.25	26730	0.52	1.59	MI	Diethyl Phthalate
6	16.460	16.430	16.535	693636	4.14	264819	5.19	2.62	MI	Diethyl Phthalate
7	19.883	19.865	19.895	14359	0.09	12028	0.24	1.19	MI	Phosphonous dichloride, (1,7,7-trimethylbicycl
8	19.983	19.960	20.010	67599	0.40	42784	0.84	1.58	MI	6,10,14,18,22-Tetracosapentaen-2-ol, 3-bromo-
9	20.151	20.125	20.185	267485	1.60	169299	3.32	1.58	MI	Hexadecanoic acid, methyl ester
10	20.515	20.480	20.590	1635091	9.76	762086	14.94	2.15	MI	n-Hexadecanoic acid
11	21.506	21.480	21.525	36803	0.22	23176	0.45	1.59	MI	Oleyl Alcohol
12	21.734	21.710	21.765	103082	0.62	64972	1.27	1.59	MI	1-Octadecanol
13	21.806	21.785	21.835	417785	2.49	293908	5.76	1.42	MI	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
14	21.868	21.840	21.895	529746	3.16	310384	6.08	1.71	MI	8-Octadecenoic acid, methyl ester
15	21.929	21.905	21.955	147249	0.88	90176	1.77	1.63	MI	Oxiraneoctanoic acid, 3-octyl-, methyl ester, tr
16	22.105	22.090	22.130	62532	0.37	55888	1.10	1.12	MI	Octadecanoic acid, methyl ester
17	22.240	22.150	22.385	9924075	59.24	1918595	37.61	5.17	MI	cis-9-Hexadecenal
18	22.441	22.410	22.485	468893	2.80	238114	4.67	1.97	MI	Octadecanoic acid
19	22.682	22.630	22.730	265791	1.59	104282	2.04	2.55	MI	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
20	23.028	22.990	23.075	144682	0.86	55137	1.08	2.62	MI	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
21	23.182	23.165	23.225	18449	0.11	13921	0.27	1.33	MI	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-hepta
22	23.973	23.950	24.050	82554	0.49	28482	0.56	2.90	MI	2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-eth
23	24.688	24.650	24.775	219388	1.31	102207	2.00	2.15	MI	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
24	26.666	26.620	26.740	597478	3.57	206919	4.06	2.89	MI	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhe
				16752901	100.00	5101931	100.00			

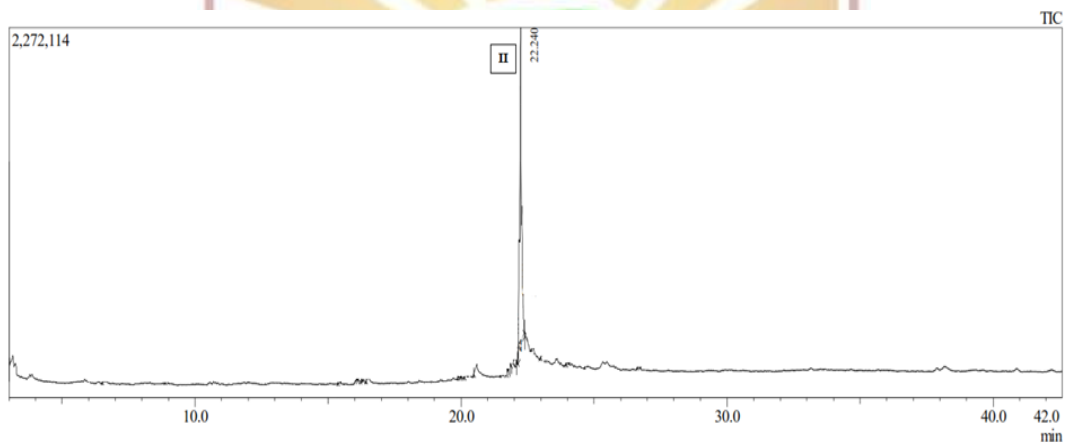
Gambar 30. Hasil Analisis GC-MS



Gambar 31. Kromatogram GC-MS Subfraksi II dengan beberapa puncak



Gambar 32. Kromatogram GC-MS Subfraksi II puncak I



Gambar 33. Kromatogram GC-MS Subfraksi II puncak II

Tabel 25. Data Kromatogram Subfraksi II Berdasarkan Database NIST.LIB

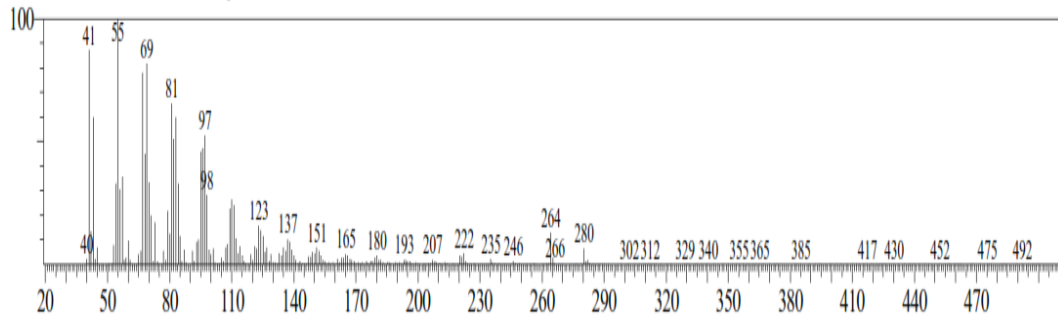
Peak	Waktu Retensi (Menit)	% kemiripan	Senyawa Berdasarkan Database NIST27.LIB	Rumus Molekul	Berat Molekul
1.	20,515	93%	<i>n-Hexadecanoic acid</i>	$C_{38}H_{68}O_8$	652
2.	22.240	91%	<i>Cis-9-Hexadecenal</i>	$C_{26}H_{50}O$	238

<< Target >>

Line#:17 R.Time:22.240(Scan#:3849) MassPeaks:344

RawMode:Averaged 22.235-22.245(3848-3850) BasePeak:55.00(115455)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

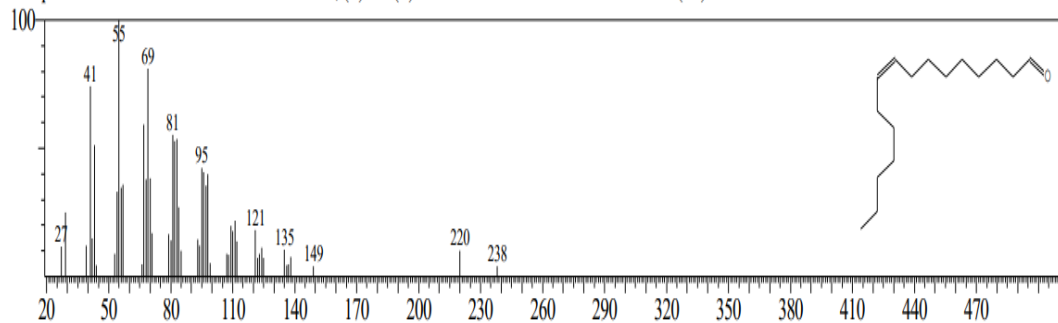


Gambar 34. Spektrum Massa Puncak 1

Hit#:1 Entry:61354 Library:NIST147.LIB

SI:91 Formula:C16H30O CAS:56219-04-6 MolWeight:238 RetIndex:0

CompName:cis-9-Hexadecenal \$\$ 9-Hexadecenal, (Z)- \$\$ (Z)-9-Hexadecenal \$\$ Z-9-Hexadecenal \$\$ (9Z)-9-Hexadecenal # \$\$



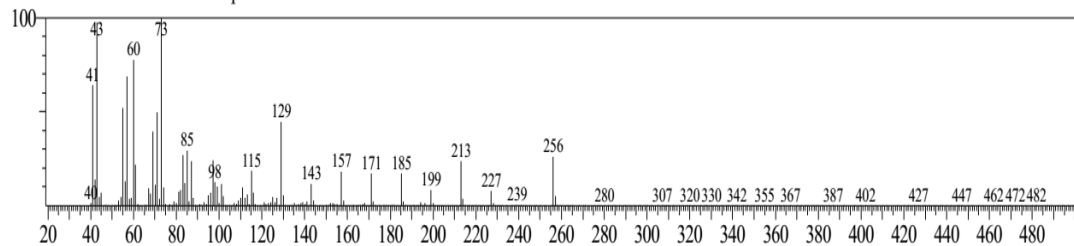
Gambar 35. Spektrum Massa *Cis-9-hexadecenal*

<< Target >>

Line#:10 R.Time:20.515(Scan#:3504) MassPeaks:317

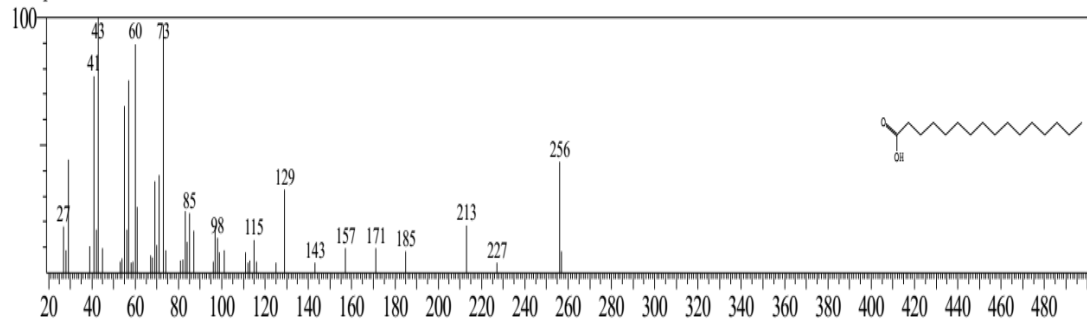
RawMode:Averaged 20.510-20.520(3503-3505) BasePeak:73.00(60694)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Gambar 36. Spektrum Massa Puncak 1

Hit#:1 Entry:21295 Library:NIST27.LIB
SI:93 Formula:C16H32O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
CompName:n-Hexadecanoic acid

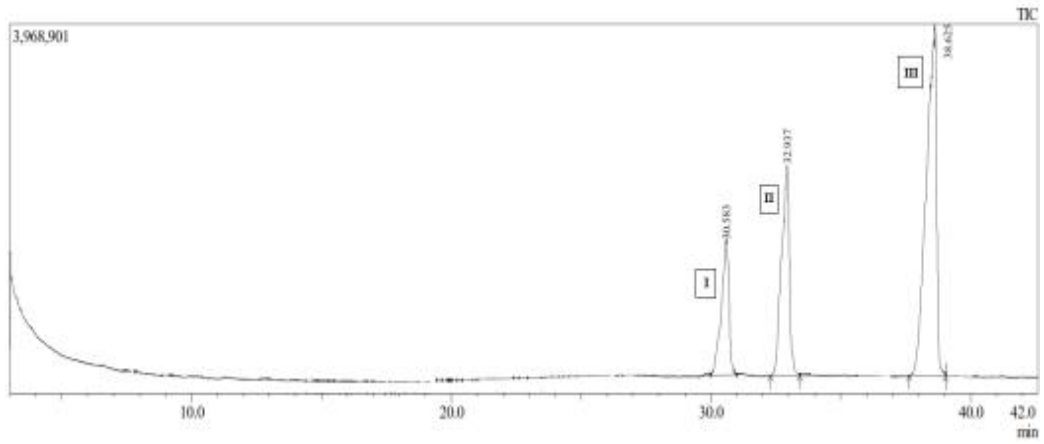


Gambar 37. Spektrum Massa *n*-Hexadecanoic acid

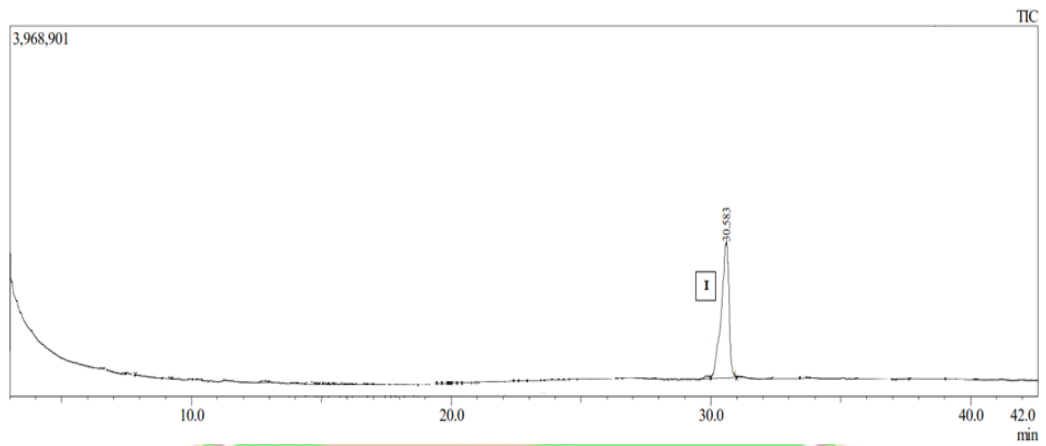


Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
33	20.317	20.215	20.425	591844	0.18	92204	0.27	6.42	V	6-Octadecenoic acid, (Z)-
34	20.525	20.425	21.670	8284964	2.48	1765785	5.25	4.69	SV	n-Hexadecanoic acid
35	20.846	20.785	20.965	279933	0.08	47035	0.14	5.95	T	1-Eicosanol
36	21.074	20.980	21.340	730879	0.22	66430	0.20	11.00	T	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate
37	21.511	21.430	21.550	160712	0.05	55535	0.17	2.89	T	5-Pentacosanone
38	21.614	21.565	21.670	278062	0.08	94194	0.28	2.95	T	1-Octadecyne
39	21.760	21.670	21.775	2661590	0.80	250071	0.74	10.64	V	Methyl 10-oxo-8-decenoate
40	21.967	21.775	22.045	8483786	2.54	798289	2.37	10.63	V	Phytol
41	22.251	22.045	22.405	19549456	5.85	2956071	8.78	6.61	V	cis-9-Hexadecenal
42	22.449	22.405	22.600	4357061	1.30	818971	2.43	5.32	V	Octadecanoic acid
43	22.677	22.600	22.930	4802759	1.44	684259	2.03	7.02	V	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol
44	23.023	22.930	23.455	6607611	1.98	332803	0.99	19.85	V	9,12-Octadecadien-1-ol, (Z,Z)-
45	23.569	23.455	23.590	1196553	0.36	176897	0.53	6.76	V	1-Heptadec-1-ynyl-cyclohexanol
46	23.691	23.590	23.890	3941436	1.18	878154	2.61	4.49	V	13-Tetradecen-1-ol acetate
47	23.979	23.890	24.145	2198095	0.66	231376	0.69	9.50	V	2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethyl-
48	24.269	24.145	24.325	1496279	0.45	192785	0.57	7.76	V	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide
49	24.384	24.325	24.550	1673757	0.50	141093	0.42	11.86	V	10-12-Pentacosadienoic acid
50	24.792	24.550	24.865	8244471	2.47	2160988	6.42	3.82	V	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester
51	24.961	24.865	26.590	28621503	8.57	3029411	9.00	9.45	SV	E,E,Z-1,3,12-Nonadecatriene-5,14-diol
52	25.367	25.315	25.405	102352	0.03	26428	0.08	3.87	T	2,5-Octadecadienoic acid, methyl ester
53	25.555	25.405	25.675	319544	0.10	37772	0.11	8.46	TV	1,4-Methanoazulen-9-one, decahydro-1,5,5,8a-
54	25.825	25.705	25.885	115909	0.03	18370	0.05	6.31	T	Tridecanedial
55	25.960	25.885	26.050	101299	0.03	26141	0.08	3.88	TV	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,10,14,
56	26.230	26.065	26.350	544127	0.16	75799	0.23	7.18	T	Phenol, 2,4-bis(1-methyl-1-phenylethyl)-
57	26.500	26.380	26.545	52335	0.02	11791	0.04	4.44	T	12-Methyl-oxa-cyclododecan-2-one
58	26.675	26.590	26.935	5259535	1.57	1510129	4.49	3.48	V	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhe
59	27.777	27.670	27.850	94173	0.03	17582	0.05	5.36		Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
60	29.857	29.575	29.995	464940	0.14	32314	0.10	14.39		26,26-Dimethyl-5,24(28)-ergostadien-3.beta.-o
61	30.583	29.995	30.985	30225722	9.05	1439658	4.28	21.00	V	Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)-
62	31.060	30.985	31.180	82062	0.02	12952	0.04	6.34	V	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl
63	32.937	32.290	33.415	47576324	14.24	2258631	6.71	21.06		Stigmasterol
64	33.580	33.415	33.820	374199	0.11	25838	0.08	14.48	V	5.alpha.-Androstan-3.alpha.-ol-17-one glucoro
65	36.104	35.560	37.135	7922604	2.37	210893	0.63	37.57		Vitamin E
66	38.625	37.630	39.025	104058122	31.14	3757595	11.16	27.69		.gamma.-Sitosterol
67	39.205	39.025	39.445	835263	0.25	46006	0.14	18.16	V	Stigmastanol
68	39.774	39.445	40.225	2914203	0.87	154521	0.46	18.86	V	Fucosterol
				334130292	100.00	33657415	100.00			

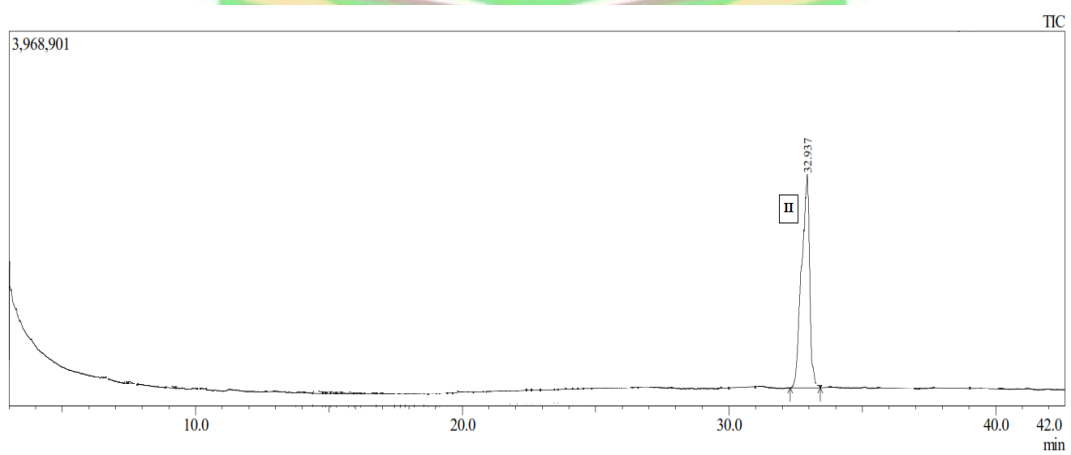
Gambar 38. Hasil Analisis GC MS



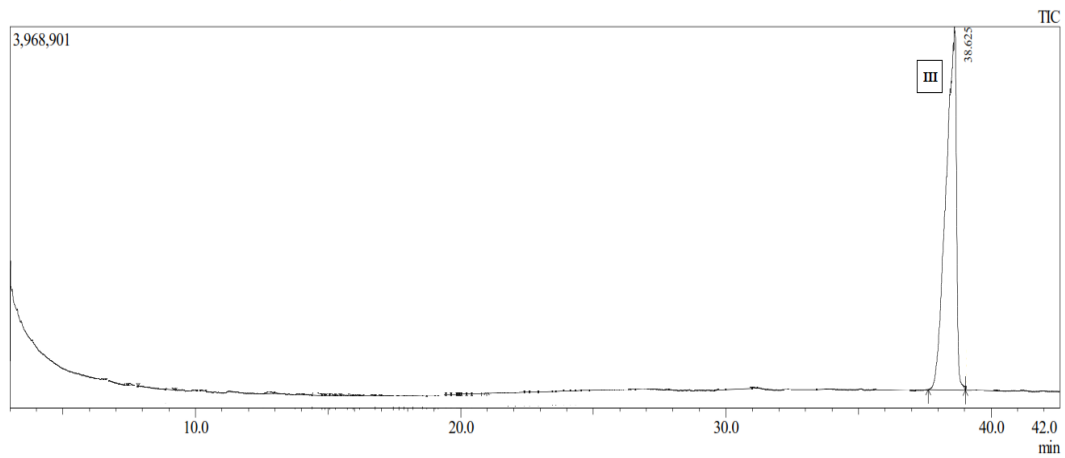
Gambar 39. Kromatogram GC-MS Subfraksi III dengan beberapa puncak



Gambar 40. Kromatogram GC-MS Subfraksi III puncak I



Gambar 41. Kromatogram GC-MS Subfraksi III puncak II



Gambar 42. Kromatogram GC-MS Subfraksi III puncak III

Tabel 28. Data Kromatogram Senyawa III Berdasarkan Database NIST.LIB

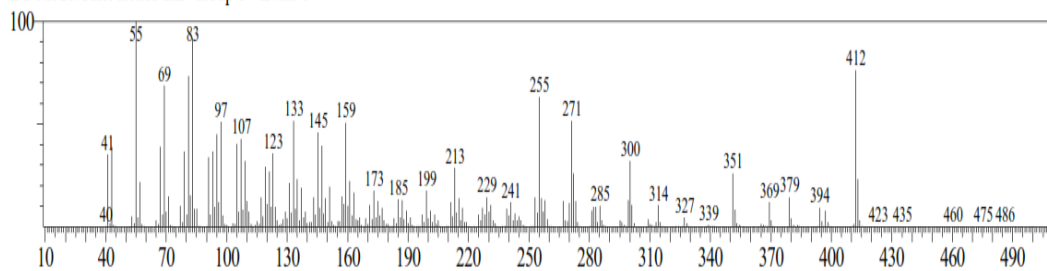
Peak	Waktu Retensi (Menit)	% Kemiripan	Senyawa Bedasarkan Database NIST27.LIB	Rumus Molekul	Berat Molekul
1.	30,583	83%	<i>Ergost-5-en-3-ol, (3.beta)</i>	$C_{28}H_{48}O$	400
2.	32,937	90 %	<i>Stigmasterol</i>	$C_{29}H_{48}O$	412
3.	38,625	85%	<i>γ sitosterol</i>	$C_{29}H_{50}O$	414

<< Target >>

Line#:63 R.Time:32.935(Scan#:5988) MassPeaks:407

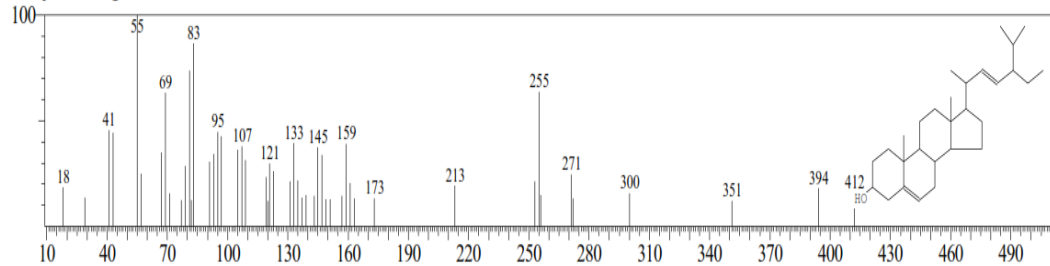
RawMode:Averaged 32.930-32.940(5987-5989) BasePeak:55.00(86811)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Gambar 43. Spektrum Senyawa Puncak 1

Hit#:1 Entry:26766 Library:NIST27.LIB
 SI:90 Formula:C₂₉H₄₈O CAS:83-48-7 MolWeight:412 RetIndex:0
 CompName:Stigmasterol

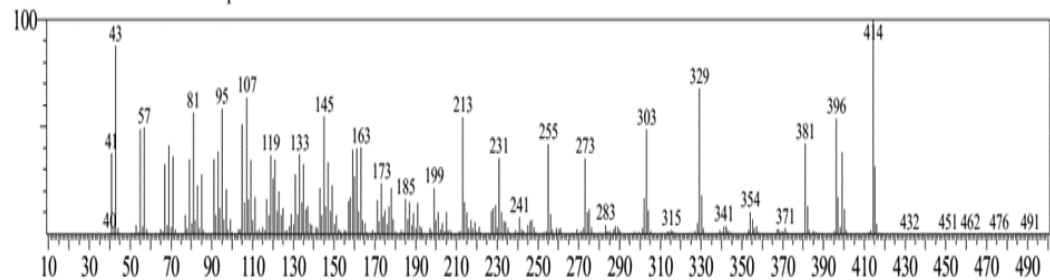


Gambar 44. Spektrum Massa *Stigmasterol*



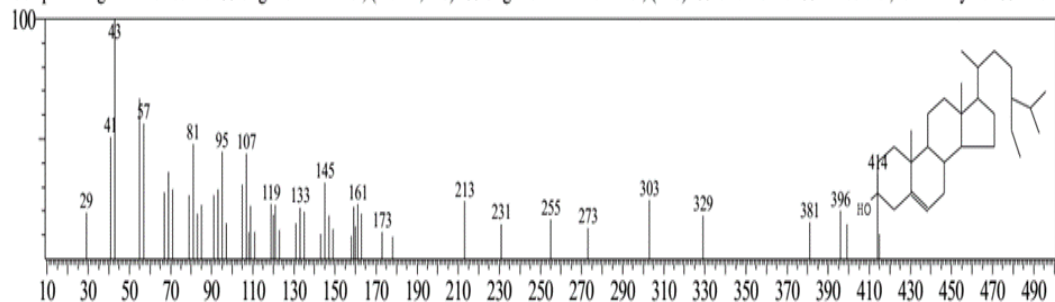
<< Target >>

Line#:66 R.Time:38.625(Scan#:7126) MassPeaks:407
 RawMode:Averaged 38.620-38.630(7125-7127) BasePeak:414.20(126655)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Gambar 45. Spektrum Senyawa Puncak 1

Hit#:1 Entry:132488 Library:NIST147.LIB
 SI:85 Formula:C₂₉H₅₀O CAS:83-47-6 MolWeight:414 RetIndex:0
 CompName:..gamma.-Sitosterol \$\$ Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.,24S)- \$\$ Stigmast-5-en-3.beta.-ol, (24S)- \$\$ Clionasterol \$\$ Fucosterol, .beta.-dihydro- \$\$ 24.be



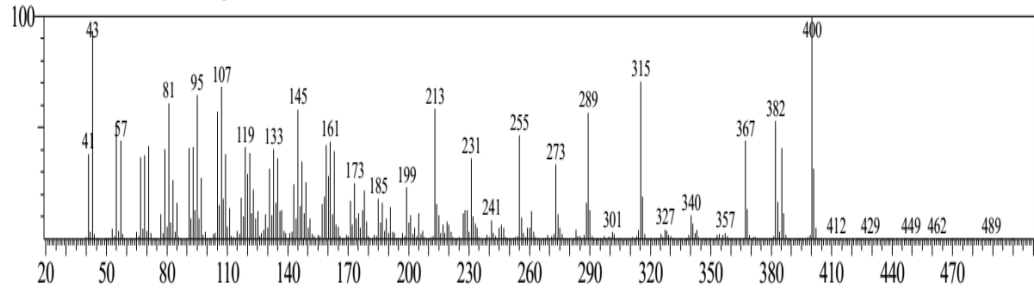
Gambar 46. Spektrum Massa γ *sitosterol*

<<Target >>

Line#:61 R.Time:30.585(Scan#:5518) MassPeaks:386

RawMode:Averaged 30.580-30.590(5517-5519) BasePeak:400.15(46477)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

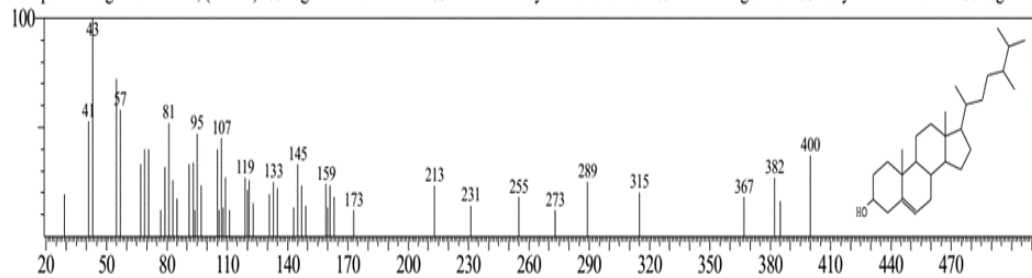


Gambar 47. Spektrum Senyawa Puncak 1

Hit#:1 Entry:130030 Library:NIST147.LIB

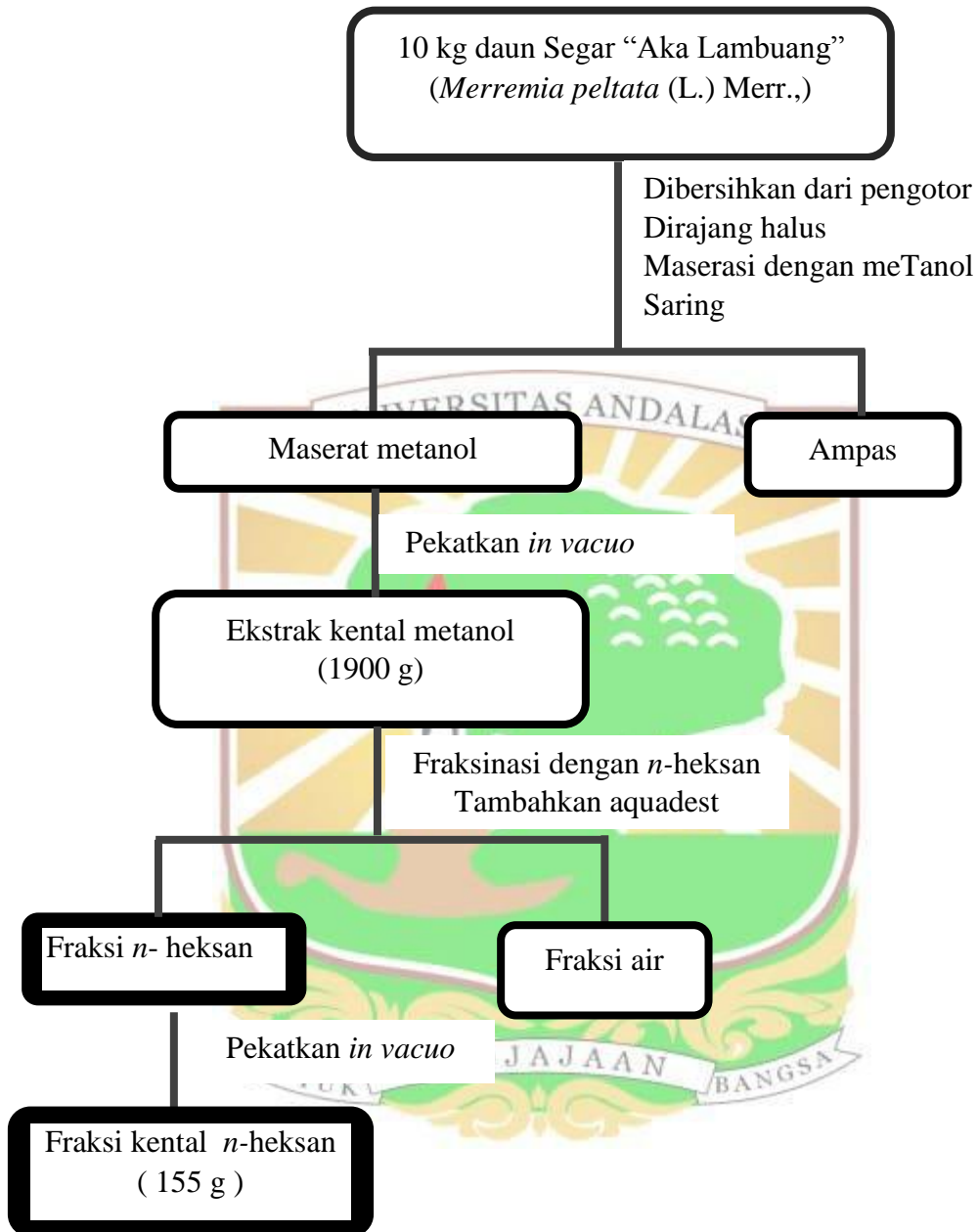
SI:83 Formula:C₂₈H₄₈O CAS:4651-51-8 MolWeight:400 RetIndex:0

CompName:Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)- \$\$ Ergost-5-en-3.beta.-ol \$\$.delta.22-Dihydrobrassicasterol \$\$.delta.5-Ergostenol \$\$ Dihydrobrassicasterol \$\$ Ergost-5

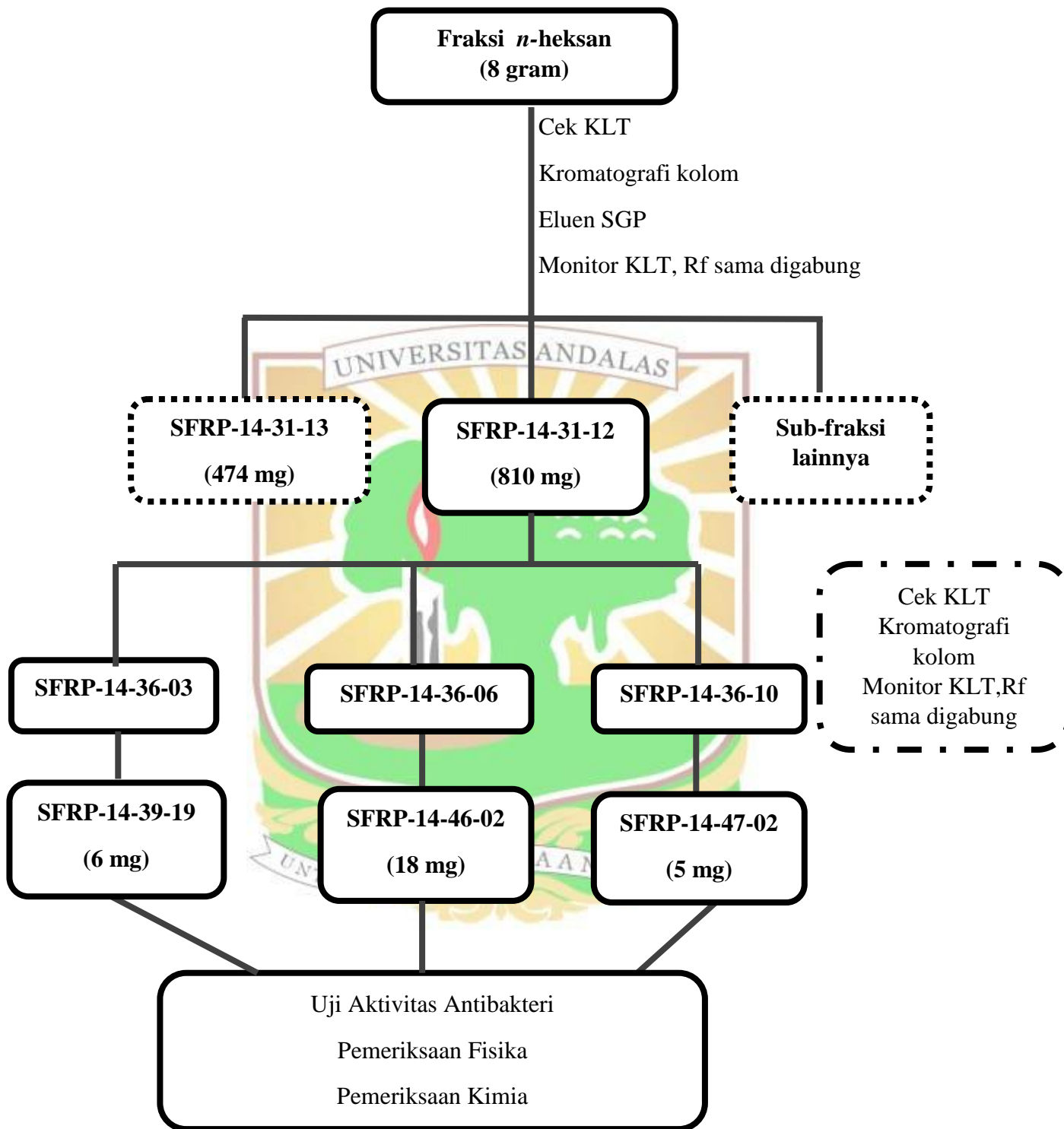


Gambar 48. Spektrum Massa *Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)*

Lampiran 2. Skema Kerja



Gambar 49. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Metabolit Sekunder *Merremia peltata* (L.) Merr.

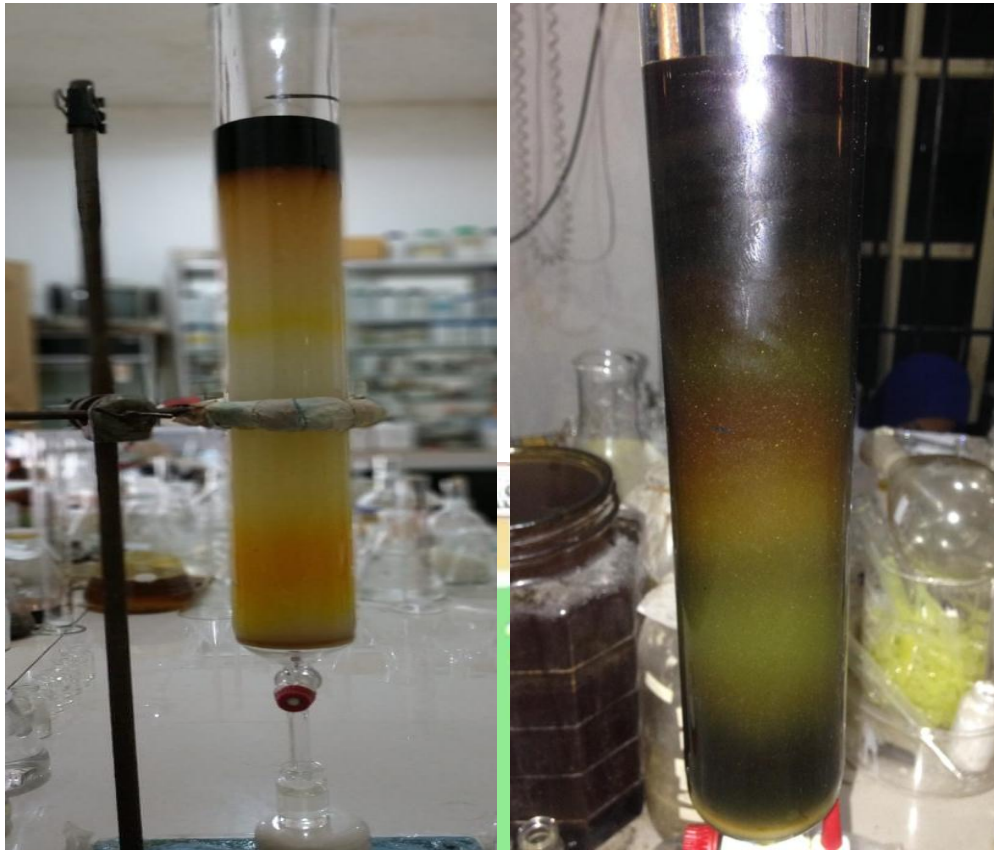


Gambar 50. Skema Kerja Isolasi Fraksi *n*-heksan Daun *Merremia peltata* (L.) Merr.,

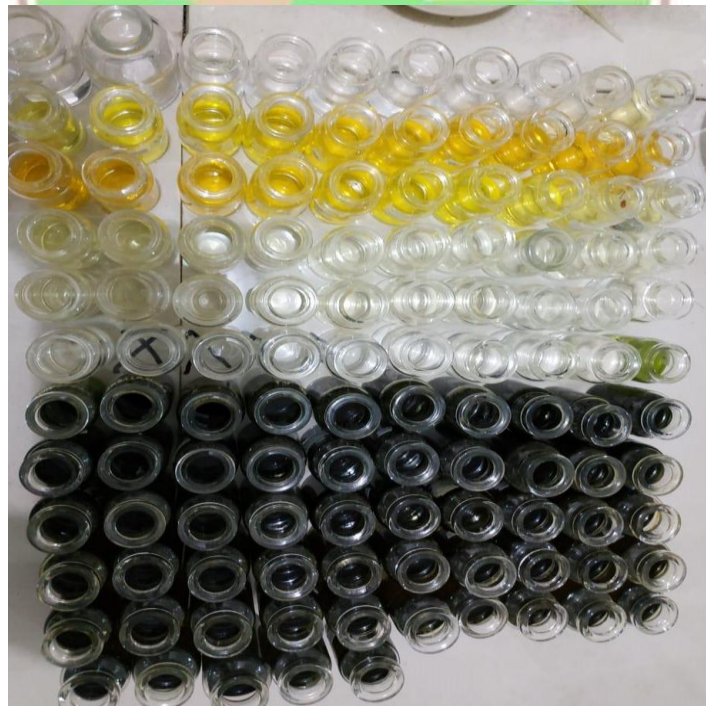
Lampiran 3. Foto Penelitian



Gambar 51. Tumbuhan *Merremia peltata* (L.) Merr., (Habitat)



Gambar 52. Kromatografi Kolom Fraksi *n*-heksan



Gambar 53. Sub-fraksi Hasil Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Lampiran 4. Hasil Identifikasi Tanaman *Merremia peltata* (L.) Merr.



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 : 034/K-ID/ANDA/I/2018
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada yth,
Maghfira Putri Ilham
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 : Maghfira Putri Ilham
No. BP : 1411011025
Instansi : Farmasi UNAND

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

No	Family	Spesies
I.	Convolvulaceae	<i>Merremia peltata</i> (L.) Merr.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 26 Januari 2018
Kepala,

Dr. Nurainas, M.Si
NIP. 196908141995122001