

**ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI
EKSTRAK AKTIF ANTIBAKTERI DAUN TUMBUHAN**
Vernonia amygdalina

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Studi Kimia**



Oleh :

LIUS APRIANTO

08031281621031

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

**ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK AKTIF
ANTIBAKTERI DAUN TUMBUHAN *Vernonia amygdalina***

SKRIPSI

Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains Bidang Studi Kimia

Oleh :

Lius Aprianto

08031281621031

Indralaya, 15 Januari 2020

Pembimbing I



Dr. Muharni, M.Si.
NIP. 196903041994122001

Pembimbing II



Prof. Dr. Elfita, M.Si.
NIP. 196903261994122001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Dr. Iskhaq Iskandar, M.Sc.
NIP. 197210041997021001

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa skripsi ini dengan judul "Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Aktif Antibakteri Daun Tumbuhan *Vernonia amygdalina*" telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji dalam sidang sarjana Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 14 Januari 2020 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai masukan yang diberikan.

Indralaya, 15 Januari 2020

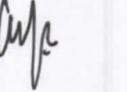
Ketua :

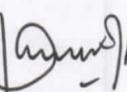
1. Dr. Muharni, M.Si.
NIP. 196903041994122001

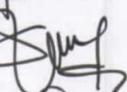
()

Anggota :

2. Prof. Dr. Elfita, M.Si.
NIP. 196903261994122001
3. Dr. Eliza, M.Si.
NIP. 196407291991022001
4. Dra. Julinar, M.Si.
NIP. 196507251993032002
5. Dr. Hasanudin, M.Si.
NIP. 197205151997021003

()

()

()

()

Mengetahui,

Dekan FMIPA



Prof. Dr. Iskhaq Iskandar, M.Sc.

NIP. 197210041997021001

Ketua Jurusan Kimia



Dr. Dedi Rohendi, M.T.

NIP. 196704191993031001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama Mahasiswa : Lius Aprianto

NIM : 08031281621031

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Kimia

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan maupun tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 21 Januari 2020

Yang menyatakan,



Lius Aprianto

NIM. 08031281621031

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Lius Aprianto
NIM : 08031281621031
Fakultas/Jurusan : MIPA/Kimia
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya hak bebas royalti non-ekslusif (*nonexclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: "Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Aktif Antibakteri Daun Tumbuhan *Vernonia amygdalina*". Dengan hak bebas royalti non-ekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, edit/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 21 Januari 2020

Yang menyatakan,



Lius Aprianto

NIM. 08031281621031

Science should be open to all, not behind paywalls
(Alexandra Elbakyan, creator of Science.hub)

Lima kekuatan (pancabala) dalam meraih keberhasilan : Keyakinan (Saddhabala), Semangat (Viriyabala), Perhatian (Satibala), Konsentrasi (Samadhibala), dan Kebijaksanaan (Pannabala)

(Anguttara Nikaya 5.14, Vitthatasutta)

Melihat proses tak hanya dari pandangan diri sendiri, tetapi dari berbagai sudut pandang
(Lius Aprianto)

Daripada hidup selama seratus tahun bermalas-malasan dan kurang berusaha, lebih baik hidup satu hari yang penuh dengan semangat perjuangan.

(Dhammadapada; Sahassavagga 112)

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

Keluargaku selalu memberikan dukungan dan doa selama menjalankan masa perkuliahan.

Sahabat-sahabat ku yang selalu ada di saat suasana suka maupun duka

Universitasku si Kuning Sriwijaya, Fakultasku si Orange FMIPA

Tanah air tempat kelahiranku, Indonesia

KATA PENGANTAR

Salam sejahtera bagi kita semua,

Puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga Penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Aktif Antibakteri Daun Tumbuhan *Vernonia amygdalina*”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si.) pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, Penulis banyak dibimbing dan didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan berkat melalui kesehatan hingga saya mendapat kesempatan untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orangtua (ayah dan ibu) yang telah memberikan banyak dukungan baik secara doa, moral, dan materil selama 3,2 tahun saya menjalankan kegiatan perkuliahan hingga berhasil mencapai gelar sarjana ini.
3. Kakak dan adik serta nenek saya selalu ada sebagai pemberi semangat dan dukungan dalam kegiatan saya sehari-hari.
4. Bapak Dr. Dedi Rohendi, M.T selaku Kepala Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya yang telah banyak membantu saya hingga saat ini.
5. Bapak Prof. Aldes Lesbani, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan mengarahkan serta telah membantu dalam proses perkuliahan saya selama 3,2 tahun ini.
6. Ibu Dr. Muharni, M.Si. dan Prof. Dr. Elfita, M.Si. selaku pembimbing Tugas Akhir saya yang telah selalu sabar dan berusaha keras membimbing saya selama ini mengejar mimpi saya untuk bisa menjadi lulusan tercepat terutama dalam bidang Kimia Organik Bahan Alam.
7. Ibu Dr. Eliza, M.Si., Ibu Dra. Julinar, M.Si., dan Bapak Dr. Hasanudin, M.Si. selaku tim dosen pembahas dan penguji tugas akhir saya. Terimakasih atas

bimbingan dan nasehat untuk saya selama ini agar ilmunya bisa terus dipakai dalam kehidupan di luar kampus.

8. Seluruh dosen jurusan kimia tiap bidang ilmunya yang membuat saya terus tertarik mempelajari Ilmu Kimia terutama dalam hal bidang Kimia Organik yang telah diajarkan oleh dosen-dosen Kimia Organik. Semoga penelitian kimia organik semakin berkembang di jurusan kimia.
9. Analis Laboratorium Dasar Bersama (LDB) dan Laboratorium Jurusan Kimia dan Farmasi FMIPA UNSRI yang telah memberikan izin dalam mendukung terlaksana penelitian ini tepat pada waktunya.
10. Staf admin jurusan kimia, Kak Iin dan Mbak Novi yang selama ini selalu ramah, baik, memberikan dukungan dan informasi kepada saya.
11. Rukaf Squad seperjuangan, Sarah, Chika, dan Fiore yang selalu sabar dan saling memberikan dukungan hingga skripsi kita dapat terselesaikan dengan baik. Mohon maaf jika selama ini saya memberikan beban kepada kalian terutama saat penelitian berlangsung, terimakasih banyak sekali lagi kepada kalian. Semoga perbuatan baiknya akan dibalas di kemudian hari.
12. Sahabat saya yang telah banyak menyemangati dan membantu dalam proses pencapaian saya ini Mamamkuy.plg X numnum.kuy (Icha, Dian, Mila, Bila, dan Ayas), teman belajar bareng (Agathis, Dyah, Nurul, Yusri, Anik, Melati, Cisna, Mifta, Rani, Intan, Novie, Ayjul, Fahmi, Normah, dan Yasinta) yang sering mendengar cerita ku, meminjamkan catatannya, dan lain selama masa perkuliahan kita, semangat buat kalian semoga lancar sampai menuju sarjana.
13. Organik Squad (Revo, Vallen, Patrick) terimakasih atas dukungannya dan semoga lancar penelitiannya dan segera menyusul menjadi seorang sarjana bidang Kimia Organik
14. Sahabat angkatan 2016 lainnya yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terimakasih telah tetap saling mendukung, tertawa bersama, dan selalu menyempatkan hadir di setiap seminar saya. Semoga lancar terus hingga mencapai gelar sarjana.
15. Alumni chemist'15 (Kak Danil, Vilan, Kak Iqbal, dan Kak Fadhil), alumni chemist'14 (Ko Hensen, Kak Ariyanti, Kak Resta, dan Kak Faisal)

terimakasih telah memberikan arahan selama perkuliahan ini hingga saya bisa mencapai gelar sarjana.

16. Adik-adik chemist'17 penerus Organik Squad with Bos Besar (Fella, Suci, Nadia, Putra, dan Deli), Deni, Ramdan, Elsha, Ory, Utari, Alfan, Yohanna, Indri, Puput, Vio, dan lainnya terimakasih banyak atas dukungannya dan semoga lancar mencapai gelar.
17. Adik asuh chemist'18 Irene, Ghaffar, Sandi, Awe, Chandra, Afif, Restri, Chandra, Jeniva, Ikki, Arif, Arip, Devi, dan lainnya semoga perkuliahan lancar hingga lulus mencapai gelar sarjana juga.
18. Pengurus Wihara (Kak Kukuh, Ko Lisan, Os, Mihu, Roberto, Kevin, Roni, Metta, Moris, Ervina) yang banyak sekali membantu baik hal peminjaman, pengeditan, dukungan, semangat, dan lainnya hingga mencapai gelar sarjana ini.
19. Basecamp Bangau dan RSBI 3 yang telah memberikan dukungan dan semangat hingga mencapai gelar sarjana ini.
20. Seluruh pihak yang telah membantu memberikan saran dan masukan baik secara langsung maupun tidak langsung selama ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu namanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, sangat diharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca yang berguna untuk memperbaikinya. Akhir kata penulis berharap skripsi ini berguna para pembaca untuk menambah pengetahuan untuk kemajuan ilmu pengetahuan dimasa yang akan datang.

Terimakasih atas semuanya.

Indralaya, 21 Januari 2020

Penulis

SUMMARY

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITIC COMPOUND FROM ACTIVE ANTIBACTERIAL *Vernonia amygdalina* LEAF EXTRACT

Lius Aprianto; guided by Dr. Muharni, M.Si. and Prof. Dr. Elfita, M.Si.

Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University

xviii+ 72 pages, 22 pictures, 15 tables, 8 attachments

Exploration of new medicinal ingredients from natural product have been continued, one of which relates to antibacterial activity. *Vernonia amygdalina* have been used traditionally for the treatment of diabetes and other diseases related to antibacterial activity. Information on the chemical compounds and biological activity of this plant has been widely reported but especially from non polar extracts are still limited. This research aims to isolate secondary metabolites from the active antibacterial extract the leaves of *V. amygdalina*. The research was initiated by used maceration method extraction using gradient polarity solvents, then antibacterial of each was tested by disk diffusion method with test bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Shigella dysenteriae*. Separation and purification of antibacterial activity extract was carried out using chromatographic techniques. The pure compound obtained were tested antibacterial activity and structural determination by spectroscopic data analysis of the UV-Vis, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, HMBC, and HSQC spectra as well as comparised of data in the literature. From n-hexane extract, pure compounds were obtained two compounds in the form yellow solid H1 (11 mg) and white crystal M1 (15 mg). M1 compound at a concentration of 1000 ppm showed moderate antibacterial activity against the *S. aureus* with a diameter of 7.4 mm. Based on spectroscopic data analysis, H1 compound in the form of fatty acids having aromatic ring compound and M1 compound is stigmasterol. Stigmasterol is a compound that was first reported from the n-hexane extract the leaves of *V. amygdalina*.

Keywords : antibacterial, stigmasterol, n-hexane, *Vernonia amygdalina*

Citations : 43 (1981 – 2019)

RINGKASAN

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK AKTIF ANTIBAKTERI DAUN TUMBUHAN *Vernonia amygdalina*

Lius Aprianto; dibimbing oleh Dr. Muharni, M.Si. dan Prof. Dr. Elfita, M.Si.

Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

xviii + 72 Halaman, 22 gambar, 15 tabel, 8 lampiran

Pencarian sumber bahan obat baru dari bahan alam terus dilakukan salah satunya berkaitan dengan aktivitas antibakteri. Tumbuhan *Vernonia amygdalina* telah digunakan secara tradisional untuk pengobatan diabetes dan penyakit berkaitan dengan aktivitas antibakteri. Informasi kandungan kimia dan aktivitas biologis tumbuhan ini telah banyak dilaporkan tetapi khususnya dari ekstrak non polar masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak aktif antibakteri daun *V. amygdalina*. Penelitian diawali dengan ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat, selanjutnya diuji aktivitas antibakteri masing-masing ekstrak dengan metode difusi cakram dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Shigella dysenteriae*. Pemisahan dan pemurnian ekstrak aktif antibakteri dilakukan menggunakan teknik kromatografi. Senyawa murni yang diperoleh selanjutnya juga dilakukan uji aktivitas antibakteri dan penentuan struktur melalui analisa data spektroskopi meliputi spektrum UV-Vis, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, HMBC, dan HSQC serta dengan membandingkan data pada literatur. Dari ekstrak n-heksana, diperoleh dua senyawa berupa padatan kuning H1 (11 mg) dan kristal putih M1 (15 mg). Senyawa M1 pada konsentrasi 1.000 ppm menunjukkan aktivitas antibakteri sedang terhadap bakteri uji *S. aureus* dengan diameter 7,4 mm. Berdasarkan analisa data spektroskopi, senyawa H1 berupa asam lemak tercampur dengan senyawa yang memiliki cincin aromatik dan senyawa M1 diidentifikasi adalah senyawa stigmasterol. Stigmasterol ini merupakan senyawa untuk pertama kalinya dilaporkan dari ekstrak n-heksana daun *V. amygdalina*.

Kata kunci : Antibakteri, stigmasterol, n-heksana, *Vernonia amygdalina*

Kepustakaan : 43 (1981 – 2019)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
SUMMARY	x
RINGKASAN.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Afrika (<i>Vernonia amygdalina</i>).....	4
2.2. Khasiat dan Kegunaan <i>V. amygdalina</i>	5
2.3. Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologis Daun <i>V. amygdalina</i> .	5
2.4. Senyawa Metabolit Sekunder	9
2.4.1. Metabolit Sekunder Steroid	9
2.5. Ekstraksi.....	11

2.6.	Kromatografi	12
2.7.	Identifikasi Struktur	13
2.7.1.	Spektrofotometri UV-Vis	13
2.7.2.	Spektrofotometri IR.....	14
2.7.3.	Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Proton ^1H NMR....	15
2.7.4.	Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Karbon ^{13}C NMR .	16
2.7.5.	Spektrofotometri NMR 2D	16
2.8.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	17
2.9.	Senyawa Antibakteri.....	17
2.10.	Bakteri Uji	18

BAB III. METODE LOGI PENELITIAN

3.1.	Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2.	Alat dan Bahan	20
3.2.1.	Alat	20
3.2.2.	Bahan.....	20
3.3.	Prosedur Penelitian	21
3.3.1.	Persiapan dan Ekstraksi Sampel.....	21
3.3.2.	Uji Aktivitas Antibakteri Masing-masing Ekstrak.....	21
3.3.2.1.	Sterilisasi Alat dan Bahan	21
3.3.2.2.	Pembuatan Media	21
3.3.2.3.	Pembuatan Larutan Kontrol	22
3.3.2.4.	Pembuatan Konsentrasi Uji	22
3.3.2.5.	Peremajaan Bakteri Uji	22
3.3.2.6.	Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	22
3.3.2.7.	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak	22
3.3.2.8.	Analisa Statistik Data Aktivitas Antibakteri Masing-masing Ekstrak.....	23
3.3.3.	Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis	23
3.3.4.	Kromatografi Cair Vakum (KCV)	24
3.3.5.	Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)	24
3.3.6.	Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Murni	25

3.3.7. Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	25
3.3.7.1. Spektrofotometri UV-Vis.....	25
3.3.7.2. Spektrofotometri IR	25
3.3.7.3. Spektrofotometri NMR	25
3.3.8. Analisa Data Isolat	26
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun <i>V. amygdalina</i>	27
4.2. Pemisahan dan Pemurnian Ekstrak n-Heksana Daun <i>V. amygdalina</i>	30
4.3. Analisis Data Spektroskopi Senyawa H1.....	32
4.4. Pemisahan dan Pemurnian Fraksi H2 dari Ekstrak n-Heksana Daun <i>V. amygdalina</i>	34
4.5. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Murni M1	35
4.6. Analisa Data Spektroskopi Senyawa M1	37
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	45
5.2. Saran	45
 DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Tumbuhan daun afrika (<i>Veronica amygdalina</i>).....	5
Gambar 2.2. Kerangka dasar karbon steroid	10
Gambar 2.3. Struktur kimia senyawa metabolit sekunder dari 2,3-eposiskualen.....	11
Gambar 4.4. Pola kromatogram analisis KLT hasil KCV ekstrak n-heksana eluen n-heksana: EtOAc (8:2) dengan penampak noda lampu UV λ 245 nm (a) dan serum sulfat (b).....	30
Gambar 4.5. Pola kromatogram analisis KLT hasil KKG pemisahan fraksi H1 eluen n-heksana : EtOAc (9:1) dengan penampak noda lampu UV λ 245 nm.....	31
Gambar 4.6. Pola kromatogram analisis KLT penggabungan fraksi H1.1 sampai dengan H1.4 eluen n-heksana : EtOAc (5:5) dengan penampak noda lampu UV λ 245 nm	31
Gambar 4.7. Padatan kuning senyawa H1 (a) Hasil KLT padatan M1 eluen n-heksana : EtOAc (9:1) dengan penampak noda lampu UV λ 245 nm (b)	32
Gambar 4.8. Spektrum ^1H NMR senyawa H1	32
Gambar 4.9. Pelebaran spektrum ^1H NMR senyawa H1 daerah δ_{H} 7,5-9,8 (a), 3,6-5,5 (b), dan 0,7-2,8 ppm (c).....	33
Gambar 4.10. Pola kromatogram analisis KLT hasil KKG pemisahan fraksi H2 eluen n-heksana : EtOAc (5:5) dengan penampak noda lampu UV λ 245 nm.....	34
Gambar 4.11. Kristal putih senyawa M1 (a) KLT kristal M1 eluen n-heksana:kloroform (9:1) (b) dan eluen n-heksana:EtOAC (9:1) (c) dengan penampak noda lampu UV (b1, c1) dan serum sulfat (b2, c2)	35
Gambar 4.12. Spektrum UV senyawa M1	37
Gambar 4.13. Spektrum IR senyawa M1	37
Gambar 4.14. Spektrum ^1H NMR senyawa M1 daerah δ_{H} 3,4-5,2 ppm.....	38
Gambar 4.15. Pelebaran spektrum ^1H NMR senyawa M1 daerah δ_{H} 1,1-2,1 (a) dan 0,5-0,9 ppm (b).....	39
Gambar 4.16. Pelebaran spektrum ^{13}C NMR senyawa M1 daerah δ_{C} 50-140 (a) dan 12-43 ppm (b).....	40

Gambar 4.17. Contoh spektrum DEPT 135 terhadap spektrum ^{13}C NMR senyawa M1	41
Gambar 4.18. Spektrum HSQC senyawa M1 pada δ_{H} 3,6-5 ppm dengan δ_{C} 70-120 ppm (a) dan HMBC pada δ_{H} 1-7 ppm dengan δ_{C} 10-200 ppm (b)	41
Gambar 4.19. Spektrum HSQC senyawa M1 pada δ_{H} 0,5-1,1 ppm dengan δ_{C} 11-26 ppm	42
Gambar 4.20. Spektrum HMBC senyawa M1 pada δ_{H} 0,5-1,1 ppm dengan δ_{C} 10-60 ppm (a) dan pada δ_{H} 0,98-1,22 ppm dengan δ_{C} 136-141 ppm (b)	43
Gambar 4.21. Korelasi HMBC struktur senyawa M1	43
Gambar 4.22. Struktur senyawa hasil isolasi M1	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Nama lokal <i>Vernonia amygdalina</i> pada beberapa negara	4
Tabel 2.2. Transisi elektron pada tiap jenis kromofor	14
Tabel 2.3. Daerah regang pada spektrum inframerah	14
Tabel 2.4. Daerah sinyal resonansi proton pada spektrum NMR	15
Tabel 2.5. Daerah nilai pergeseran kimia atom karbon	16
Tabel 4.6. Nilai diameter zona hambat masing-masing ekstrak daun <i>V. amygdalina</i>	27
Tabel 4.7. Nilai zona hambat rata-rata larutan tetrakisiklin	29
Tabel 4.8. Tabel kesetaraan tetrakisiklin terhadap masing-masing ekstrak	29
Tabel 4.9. Hasil fraksi pemisahan KCV ekstrak n-heksana daun <i>V. amygdalina</i> menggunakan KCV	30
Tabel 4.10. Hasil fraksi pemisahan H1 menggunakan KKG	31
Tabel 4.11. Hasil fraksi pemisahan H2 menggunakan KKG	34
Tabel 4.12. Nilai zona hambat senyawa M1	35
Tabel 4.13. Tabel kesetaraan tetrakisiklin terhadap isolat murni	36
Tabel 4.14. Data spektrum NMR senyawa hasil isolasi dan stigmasterol pembanding*	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema kerja ekstraksi	51
Lampiran 2. Skema kerja pemisahan dan pemurnian	52
Lampiran 3. Skema kerja uji aktivitas antibakteri	53
Lampiran 4. Data uji aktivitas antibakteri ekstrak dan isolat murni	54
Lampiran 5. Foto uji aktivitas antibakteri	55
Lampiran 6. Analisis statistik data aktivitas antibakteri	60
Lampiran 7. Persamaan regresi linier tetrasiklin terhadap bakteri dan perhitungan kesetaraan tetrasiklin terhadap masing-masing ekstrak.....	68
Lampiran 8. Spektrum DEPT 135 terhadap spektrum ^{13}C NMR senyawa M1	71

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pencarian sumber bahan obat baru terus dilakukan seiring timbulnya berbagai macam penyakit yang dialami masyarakat, khusus untuk beberapa obat yang berkaitan dengan antibakteri. Beberapa obat antibakteri yang telah dikenal sudah bersifat resisten. Untuk itu, pencarian sumber bahan obat baru yang berkaitan dengan aktivitas antibakteri masih perlu dilakukan. Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan secara tradisional untuk pengobatan adalah tumbuhan daun Afrika yang digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, luka, demam, diabetes, dan kurap (Yeap *et al.*, 2010).

Tumbuhan daun Afrika termasuk *family Asteraceae* memiliki nama latin *Vernonia amygdalina*. Tumbuhan ini di beberapa negara dikenal dengan nama *Jankpantire* di Ghana, *Olusia* di Kenya, *Bitter Leaf* di Inggris, dan lain-lain (Quattrocchi, 1999). Bagian daun dari tumbuhan ini dikenal dengan rasa yang pahit, sehingga orang mempercayai kepahitan tersebut terkait dengan khasiatnya sebagai obat secara tradisional (Nursuhaili *et al.*, 2019). Menurut Audu *et al.* (2012) rasa pahit yang terdapat pada daun *V. amygdalina* berasal dari senyawa antinutrisi (metabolit sekunder) yang terkandung seperti alkaloid, saponin, tanin, dan glikosida. Hal ini dibuktikan dengan analisis fitokimia bagian daun *V. amygdalina* yang telah dilakukan oleh Bestari *et al.* (2018) menunjukkan positif mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid, steroid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin.

Berdasarkan studi pustaka, informasi aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak daun tumbuhan ini telah dilaporkan seperti pada ekstrak air dan etanol daun *V. amygdalina* aktif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans* (Ghamba *et al.*, 2014). Ekstrak air daun *V. amygdalina* juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Oboh and Masodje, 2009). Kambizi and Afolayan (2001) melaporkan ekstrak kloroform dari daun *V. amygdalina* memiliki efek antibakteri terhadap

Bacillus cereus, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus kristinae*, *S. aureus*, *Enterobacter cloacae*, dan *E. coli*.

Informasi mengenai kandungan senyawa kimia dan aktivitas biologis dari ekstrak daun *V. amygdalina* sudah cukup banyak dilaporkan. Beberapa kelompok senyawa yang telah dilaporkan antara lain pada ekstrak metanol ditemukan senyawa golongan flavonoid yaitu luteolin dan turunannya mengikat glukosa pada karbon posisi 7 berupa glukosida dan glukuronosida oleh Igile *et al.* (1993), senyawa derivat pthalat oleh Zenebe *et al.* (2015), dan senyawa steroid kerangka stigmastan (Anh *et al.*, 2018). Quasie *et al.* (2016) melaporkan senyawa steroid lain yang terikat dengan gugus gula yaitu vernoniamiosida A-D dari ekstrak etanol. Senyawa yang banyak ditemukan pada bagian daun yaitu senyawa seskuiterpen lakton seperti vernalida dari ekstrak etil asetat dan vernodalol dari ekstrak metanol oleh Erasto *et al.* (2006), dan lainnya. Aktivitas biologis dari kelompok senyawa yang berhasil ditemukan oleh peneliti seperti senyawa flavonoid sebagai antioksidan, derivat pthalat sebagai antibakteri, dan steroid sebagai anti-inflamasi. Senyawa seksuiterpen lakton yang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas biologis seperti antikanker, antibakteri, antifidan, dan anti-inflamasi.

Meskipun sudah cukup banyak informasi kandungan kimia maupun aktivitas biologis dari daun *V. amygdalina* namun belum pernah dilaporkan kandungan kimia dari ekstrak n-heksana sehingga dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-heksana daun *V. amygdalina*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Senyawa metabolit sekunder apakah yang terdapat pada ekstrak n-heksana bagian daun *V. amygdalina*.
2. Bagaimana aktivitas antibakteri dari senyawa yang berhasil diisolasi pada ekstrak n-heksana bagian daun *V. amygdalina*.

1.3. Tujuan Penelitian

1. Menguji sifat antibakteri dari beberapa ekstrak daun *V. amygdalina*.
2. Mengisolasi dan menentukan struktur senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-heksana pada bagian daun *V. amygdalina*.
3. Menentukan aktivitas antibakteri dari senyawa yang berhasil diisolasi.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi kandungan kimia dari spesies *Vernonia amygdalina* khususnya dari genus *Vernonia* umumnya sehingga dapat dikembangkan oleh bidang ilmu terkait.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1985. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Ahmed, Y., Rahman, S., Akther, P., Islam, F., Rahman, M., and Yaakob, Z. 2013. Isolation of Steroids from n-Hexane Extract of The Leaves of *Saurauia roxburghii*. *International Food Research Journal*. 20 (5): 2939-2943.
- Akinyele, B. J., Oladejo, B. O., Akinyemi, A. I., and Ezem, L. O. 2014. Comparative Study of The Antibacterial Effect of Mouth Washes and *Vernonia amygdalina* (del.) on Some Tooth Decay Causing Bacteria. *British Microbiology Research Journal*. 4 (7): 749-758.
- Anh, H. L. T., Lien, L. T., Cuong, P. V., Arai, M., Ha, T. P., Dat, T. T. H., and Cuong, L. C. V. 2018. Sterols and Flavone from The Leaves of *Vernonia amygdalina* Growing in Thua Thien Hue. *Vietnam Journal of Science and Technology*. 56 (6): 681-687.
- Asih, I. A. R. A. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia*. 3 (1): 33-40.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. 8 (2): 53-61.
- Audu, S. A., Taiwo, A. E., and Ojuolape, A. R. 2012. A Study Review of Documented Phytochemistry of *Vernonia amygdalina* (Family Asteraceae) as The Basis of Pharmacologic Activity of Plant Extract. *Journal of Natural Sciences Research*. 2 (7): 1-8.
- Bangkele, E. Y., Nursyamsi, dan Greis, S. 2015. Efek Antibakteri dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpina galangal* [L] Swartz) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*. 1 (2): 1-78.
- Bestari, R., Ichwan, M., Mustofa, and Satria, D. 2018. Anticancer Activity of *Vernonia amygdalina* Del. Extract on WiDr Colon Cancer Cell Line. *Advances in Health Sciences Research*. 9 (2): 172-176.
- Chandra, R., Dwivedi, V., Shivam, K., and Jha, A. K. 2011. Detection of Antimicrobial Activity of *Oscimum sanctum* (Tulsi) & *Trigonella foenum graceum* (Methi) Against Some Selected Bacterial & Fungal Strains. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical Sciences*. 2 (4): 809-813.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Sumatera Barat: LPTIK Universitas Andalas.
- Djaenuddin, N. dan Muis, A. 2015. *Karakteristik Bakteri Antagonis *Bacillus Subtilis* dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Tanaman*. Prosiding Seminar Nasional Serealia, 1: 489-494.

- Erasto, P., Grierson, D. S., and Afolayan, A. J. 2006. Bioactive Sesquiterpene Lactones from The Leaves of *Vernonia amygdalina*. *Journal of Ethnopharmacology*. 1 (106): 117-120.
- Farombi, E. O. and Owoeye, O. 2011. Antioxidative and Chemopreventive Properties of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia biflavonoid*. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 8 (1): 2533-2555.
- Ganjian I., Kubo I., and Fludzinski, P. 1983. Insect Antifeedant Elemanolide Lactones from *Vernonia amygdalina*. *Phytochemistry*. 22 (1): 2525-2526.
- Ghamba, P. E., Balla, H., Goje, L. J., Halidu, A., and Dauda, M. D. 2014. In Vitro Antimicrobial Activities of *Vernonia amygdalina* on Selected Clinical Isolates. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3 (4): 1103-1113.
- Haryati, S. D., Darmawati, S., dan Wilson, W. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, 1: 348-352.
- Holzgrabe, U., Wawer, I., and Diehl, N. 2008. *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Amsterdam: Elsevier.
- Igile, G. O., Oleszek, W., Jurzysta, M., Burda, S., Fafunso M., and Fasanmade, A. A. 1994. Flavonoids from *Vernonia amygdalina* and Their Antioxidant Activities. *J. Agric. Food Chem.* 42 (1): 2445-2448
- Jisaka, M., Ohigashi, H., Takegawa, K., Huffman, M. A., and Koshimizu, K. 1993. Antitumoral and Antimicrobial Activities of Bitter Sesquiterpene Lactones of *Vernonia amygdalina*, a Possible Medicinal Plant Used by Wild Chimpanzees. *Biosci, Biotech, Biochem.* 57 (5): 833-834.
- Kambizi, L. and Afolayan, A. J. 2001. An Ethnobotanical Study of Plants Used for The Treatment of Sexually Transmitted Disease (*Njovhera*) in Guruve District, Zimbabwe. *Journal of Ethnopharmacology*. 77 (1): 5-9.
- Kreis, W. and Uri, F. M. 2010. Biochemistry of Sterols, Cardiac Glycosides, Brassinosteroids, Phytoecdysteroids, and Steroid Saponins. *Annual Plant Review*. 6 (40): 304-363.
- Luo, X., Jiang, Y., Fronczek, F. R., Lin, C., Izevbogie, E. B., Lee, S., and Lee, K. S. 2011. Isolation and Structure Determination of A Sesquiterpene Lactone (Vernodalinol) from *Vernonia amygdalina* Extracts. *Pharmaceutical Biology*. 49 (5): 464–470.
- Mpila, D. A., Fatiwali, dan Wiyono, W. I. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap

- Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara In-Vitro. *Pharmacon.* 1 (1): 1-9.
- Muharni, Fitrya, dan Farida, S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia.* 7 (2): 127-135.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan.* 7 (2): 361-367.
- Noerdin, D. 1986. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik dengan Cara Spektroskopi Ultralembayung dan Inframerah.* Bandung: Angkasa Bandung.
- Nursuhaili, A. B., Nur, A. S. P., Martini, M. Y. A., and Mahmud, T. M. M. 2019. A Review : Medicinal Values, Agronomic Practices and Postharvest Handlings of *Vernonia amygdalina*. *Food Research.* 3 (5): 380-390.
- Oboh, F. O. J. and Masodje, I. 2009. Nutritional and Antimicrobial Properties of *Vernonia amygdalina* Leaves. *International Journal of Biomedical and Health Sciences.* 5 (2): 51-56.
- Owoeye, O., Yousuf, S., Akhtar, M. N., Qamar, K., Dar, A., Farombi, E. O., Onwuka S. K., and Choudhary, M. I. 2010. Another Anticancer Elemanolide from *Vernonia amygdalina* Del. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 4 (1): 226-234.
- Padmawinata, K. dan Soediro, I. 1981. *Analisis Spektrum Senyawa Organik.* Bandung: ITB.
- Pratiwi, R. S., Tjiptasurasa, dan Wahyuningrum, R. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. *Pharmacy.* 8 (3): 1-10.
- Pretsch, O., Buhlmann, P., and Badertscher, M. 2009. *Structure Determination of Organic Compounds.* German: Springer.
- Puspadiwi, R., Adirestuti, P., dan Abdulbasith, A. 2017. Deteksi *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* pada Jajanan Sirup. *Jurnal Ilmiah Manuntung.* 3 (1): 26-33.
- Puspawati, N. M., Simpe, I. N., dan Miwada, I. N. S. 2012, Isolasi Gelatin dari Kulit Kaki Ayam Broiler dan Karakterisasi Gugus Fungsinya dengan Spektrofotometri FTIR. *Jpkimia.* 1 (1): 1907-9850.
- Quasie, O., Zhang, Y., Zhang, H., Luo, J., and Kong, L. 2016. Four New Steroid Saponins with Highly Oxidized Side Chains from The Leaves of *Vernonia amygdalina*. *Phytochemistry Letters.* 15 (1): 16–20.

- Quattrocchi, U. 1999. *CRC World Dictionary of Plant Names: Common Names, Scientific Names, Eponyms Synonyms, and Etymology*. New York: CRC Press.
- Rohdiana, D., Arief, D. Z., dan Budiman, A. 2013. Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* oleh Berbagai Jenis Teh dan Seduhannya. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 16 (1): 37-44.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sinisi, A., Millan, E., Abay, S. M., Habluetzel, A., Appendino, G., Munoz, E., and Scafati, O. T. 2015. Poly-Electrophilic Sesquiterpene Lactones from *Vernonia amygdalina*: New Members and Differences in Their Mechanism of Thiol Trapping and in Bioactivity. *Journal of Natural Product*. 78 (1): 1618-1623.
- Taiwo, I. A., Odeigah, P. G. C., and Ogunkanmi, L. A. 1999. The Glycaemic Effects of *Vernonia amygdalina* and *Vernonia tenoreana* with Tolbutamide in Rats and The Implications for The Treatment of Diabetes Mellitus. *J. Sci. Res. Dev.* 11 (1): 122-130.
- Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Liang, W. S., Ky, H., Yousr, A. H. N. and Alitheen, N. B. 2010. *Vernonia amygdalina*, An Ethnoveterinary and Ethnomedical Used Green Vegetable with Multiple Bioactivites. *J. Med. Plant Res.* 4 (25): 2787-2812.
- Zenebe, M. M., Dessie, B. K., Getachew G./Mariam W./Hana, and Werkneh, A. A. 2015. Isolation, Structural Elucidation, and Bioactivity Studies of Leaf Extract of *Vernonia amygdalina*. *American Journal of Applied Chemistry*. 3 (1): 14-20.