

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) pada Fraksi Polar dan Uji Antibakteri

Isolation and Identification of Secondary Metabolite Compound Methanol Extract of purple leaves (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) on the Polar Fraction and Antibacterial Test

¹⁾Niluh Devi Yulyantari, ²⁾Iwan Dini, ³⁾Netti Herawati
^{1,2,3)}Jurusan Kimia, Universitas Negeri Makassar, Indonesia
Email: niluhdeviyulyantari120794@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini adalah penelitian eksplorasi yang bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol daun ungu (*G. pictum* (L.) Griff) serta uji antibakteri dari sampel yang berasal dari desa Pepuro Barat, kecamatan Wotu, kabupaten Luwu Timur, Sulawesi Selatan. Isolasi dilakukan dengan beberapa tahap : maserasi, fraksinasi dan pemurnian. Identifikasi dilakukan dengan uji pereaksi dan alat spektrosko. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil penelitian berupa isolat berbentuk serbuk berwarna putih yang terdekomposisi pada suhu 202°C dan positif terhadap pereaksi FeCl₃. Identifikasi dengan spektrofotometer inframerah teridentifikasi adanya gugus -OH, C-O alkohol sekunder, C-H alifatik, C=C conj., dan C=C aromatik. Berdasarkan uji pereaksi dan identifikasi dengan spektrofotometer inframerah disimpulkan bahwa senyawa yang diperoleh adalah flavonoid. Hasil uji antibakteri menunjukkan ekstrak kasar, fraksi N, dan isolat murni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Kata kunci: Antibakteri, Daun Ungu, Flavonoid, *G. pictum* (L.)Griff

ABSTRACT

This is an exploratory research that aims to isolate and identify secondary metabolite compound as well as antibacterial test contained in Methanol Extract of purple leaves from the Pepuro Barat village, Wotu district, Luwu Timur regency, South Sulawesi. The isolation was done through several stages: maceration, fractionation, purification and identification. Antibacterial of assay with agar diffusion method. The results was obtained in white powder, decomposition at 202°C, and the FeCl₃ reagent est indicated that the sample are positive. Identification by analyzing the infrared spectrum which showed -OH groups, C-O of secondary alcohols, aliphatic C-H, C = C conj., And C = C aromatic. Based on the test reagents and identification with an infrared spectrophotometer showed the isolate is considered as flavonoid. The results of antibacterial test extract, fractions N, and isolate can be inhibit the growth of bacteria *S.aureus* and *E.coli*.

Keywords: Antibacterial, Purple Leaves, Flavonoid, *G. pictum* L. (Griff)

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara beriklim tropis sehingga berbagai macam tumbuhan dapat tumbuh dengan subur dan menjadikan Indonesia sebagai negara yang kaya akan berbagai jenis flora. Flora yang beranekaragam memiliki banyak manfaat bagi keberlangsungan hidup manusia, baik sebagai bahan pangan, obat-obatan, dan banyak lainnya.

Senyawa pada tumbuhan yang bersifat bioaktif dapat dijumpai di seluruh bagian tumbuhan seperti daun, batang, bunga, buah atau akarnya. Senyawa metabolit sekunder bersifat spesifik, artinya tidak semua tumbuhan mengandung senyawa sejenis, mempunyai struktur yang bervariasi, setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri atau untuk mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Atun, 2010).

Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat adalah tanaman daun ungu. Tanaman ini termasuk dalam famili Acanthaceae dengan nama spesies *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. Tanaman ini dimanfaatkan sebagai tanaman obat, bagian tanaman yang umum digunakan adalah bagian daun. Secara empiris daun ungu berkhasiat sebagai obat wasir, obat bisul, luka-luka radang, peluruh air seni,

melunakkan feses juga untuk menghilangkan konstipasi, adapun kandungan senyawa kimia yang diduga berperan menyebabkan efek tersebut adalah turunan senyawa fenol. Hasil uji ekstrak etanol daun ungu juga memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan juga memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) sebesar 54,998 $\mu\text{g/mL}$ dengan kadar fenolik total 147,064 mg/g sampel (Isnawati, 2003; Proboseno, 2011 dan Da'i 2012).

Daun ungu diketahui mengandung tannin, flavonoid, antosianin, dan leukoantosianin. Pemeriksaan lebih lanjut dengan metode kromatografi kertas diketahui mengandung tannin galat, asam protokatekuat, flavon dan flavonol (Isnawati, 2003). Penelitian yang telah dilakukan oleh Tukiran (2014), juga melaporkan bahwa pada ekstrak metanol daun ungu mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar seperti alkaloid serta fenolik, selain itu pada ekstrak kloroform juga diketahui mengandung senyawa polar fenolik.

Berdasarkan uraian diatas menunjukkan adanya potensi ditemukan senyawa metabolit sekunder pada tanaman daun ungu yang dapat dijadikan sebagai senyawa aktif dalam bidang farmasi dengan menggunakan pelarut metanol pada fraksi polarnya serta uji aktivitas antibakterinya. Bagian tanaman yang akan diisolasi yaitu bagian daun yang sering digunakan sebagai obat tradisional.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat untuk preparasi sampel yaitu blender dan wadah sampel. Alat untuk proses ekstraksi dan identifikasi yaitu neraca analitik, wadah kaca tertutup untuk maserasi, evaporator HAHN HS- 2005V-N, corong Buchner, pompa vakum, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 50 mL, gelas ukur 10 mL, gelas kimia 1000 mL, gelas kimia 250 mL, gelas kimia 100 mL, corong biasa, pipet tetes, plat tetes, pipa kapiler, spoit 1 mL, jarum preparat, spatula, hot plate, botol semprot, botol vial, batang pengaduk, lampu UV VL-4.LC 254-365 nm, oven memmert, chamber, kolom untuk KKC, kolom untuk KKF, botol kaca kapasitas 100 mL, statif dan klem, spektrofotometer FTIR Shimadzu Prestige-21. Serta alat untuk uji antibakteri meliputi cawan petri, erlenmeyer 250 mL, gelas kimia 500 mL, pinset, batang pengaduk, hot plate, autoklaf, inkubator, mikropipet, kawat ose, tabung reaksi, dan jangka sorong.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah serbuk halus daun ungu. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol, *n*-heksana, etil asetat, kloroform dan aseton. Beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Burchard, Wagner, Meyer dan FeCl₃. Bahan-bahan lain yang digunakan, pelat KLT aluminium berlapis silika gel 60 G F₂₅₄, aluminium foil, kertas saring Whatman, tissu, silica gel 60 H (untuk kolom vakum), silica gel 60 (0,2-0,5 mm) untuk impretasi sampel, silika gel 60 (0,063-0,200mm) untuk

KKT, serum sulfat (CeSO₄) dan label. Serta bahan-bahan untuk uji antibakteri meliputi Medium Nutrien Agar, aquades, kapas, aluminium foil, NaCl 0,9%, bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, dan dimetil sulfoksida (DMSO).

B. PROSEDUR KERJA

1. Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Daun ungu yang telah dibersihkan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat dalam daun ungu, kemudian sampel kering dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Sampel serbuk Daun ungu diperoleh sebanyak 2,52 kg dimaserasi dengan metanol sebanyak 15 L. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam disertai dengan sesekali pengadukan. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan corong buncher dan pompa vakum dan diperoleh maserat sebanyak 10 L. Maserat kemudian dipekatkan menggunakan evaporator pada suhu 40°C dan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 43,9 gram yang berbentuk pasta berwarna hijau. Terhadap ekstrak metanol ini dilakukan uji golongan dengan menggunakan berbagai pereaksi diantaranya pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid), FeCl₃ (flavonoid), Meyer (alkaloid), dan Wagner (alkaloid).

2. Fraksinasi, Pemurnian dan Identifikasi

Ekstrak metanol daun ungu yang diperoleh terlebih dahulu diuji menggunakan kromatografi lapis

tipis (KLT) untuk menentukan jenis pelarut yang sesuai pada kromatografi kolom cair vakum dengan larutan pengembang (eluen) *n*-heksana-etil asetat, *n*-heksana-aseton dan aseton-etilasetat pada berbagai perbandingan, kemudian dideteksi dibawah lampu UV 254 dan 365 nm dan dilanjutkan dengan penyemprotan penampak noda CeSO_4 2% lalu dipanaskan.

Proses fraksinasi pertama dilakukan dengan metode kromatografi kolom cair vakum, sebanyak 8,2675 gram ekstrak kental metanol daun ungu yang berbentuk pasta terlebih dahulu di impregnasi dengan silika gel 60 (0,2-0,5 mm) sebanyak 24,0780 gram hingga tercampur merata dan berbentuk pasir. Kemudian kedalam kolom ditempatkan secara berturut-turut dari bagian bawah hingga atas yaitu silika gel 60 H merk sebanyak ± 60 gram pada bagian paling bawah (fase diam) dan dirapatkan hingga padat, kertas saring whatman, sampel yang telah di impregnasi dan kembali kertas saring whatman. Kolom yang telah terkemas kemudian di elusi, pengelusan dimulai dari pelarut yang bersifat nonpolar yaitu *n*-Heksan 100% kemudian ditingkatkan kepolarannya dengan campuran pelarut etil asetat dalam *n*-Heksan mulai dari perbandingan 1: 9 dan ditingkatkan secara bergradien hingga etil asetat 100%. Kemudian dengan eluen aseton dalam etil asetat mulai perbandingan (1:9) hingga eluen aseton 100% dan terakhir dengan pelarut polar yaitu metanol 100%.

Fraksi-fraksi yang dihasilkan kemudian di uji KLT, fraksi 1-52 di uji KLT dengan perbandingan eluen

etil asetat dalam *n*-Heksan (2:8), karena fraksi 32-52 tidak menampakkan noda pada plat KLT maka diuji KLT kembali dengan eluen etil asetat 100%. Kemudian dilakukan penggabungan fraksi dan diperoleh 22 fraksi gabungan. Fraksi gabungan ini kemudian di KLT dengan eluen etil asetat dalam *n*-Heksan(2:8), karena fraksi gabungan 16-22 tidak menampakkan noda maka dilakukan uji KLT kembali dengan eluen etil asetat dalam *n*-heksan (4:6). Fraksi-fraksi yang memiliki noda, warna dan pola pemisahan yang sama kemudian digabungkan dan diuapkan.

Fraksi N dengan bobot 0,5263 gram terpilih untuk difraksinasi dengan metode kromatografi kolom tekan, sebelum difraksinasi lebih lanjut dengan KKT terlebih dahulu dilakukan KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan. Kolom untuk fraksinasi dengan KKT diisi dengan gel 60 (0,063-0,200mm) hingga tinggi ± 15 cm sebagai fase diam kemudian diisi sampel yang telah diimpregnasi. Pengelusan dilakukan dengan menggunakan eluen *n*-heksana 100%, eluen etil asetat dalam *n*-Heksan (1:9) hingga etil asetat 100%, kemudian dilanjutkan dengan eluen aseton-etil asetat dengan perbandingan 2:8, 4:6, 6:4, 8:2 dan 100% aseton. Serta eluen metanol-aseton dengan perbandingan 3:7, 4:6, 9:1 dan terakhir metanol 100%. Fraksi-fraksi tersebut kemudian di uapkan dan di uji KLT untuk penggabungan fraksi. Eluen yang digunakan pada KLT yaitu perbandingan *n*-heksan-etil asetat (4:6).

Isolat yang diperoleh dimurnikan dengan cara dekantasi

dengan menggunakan metanol. Kemurnian isolat yang diperoleh ditentukan dengan KLT sistem tiga eluen dengan menggunakan larutan pengembang atau eluen yang sesuai, noda tunggal pada kromatogram menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh telah murni. Tahap pemurnian yang lain yakni dengan melakukan uji suhu terdekomposisi dari isolat yang diperoleh.

Isolat diuji menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl_3 , Wagner dan Meyer untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh. Identifikasi lebih lanjut dilakukan uji spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR Prestige-21 SHIMADZU untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa tersebut.

3. Uji Antibakteri

Sampel uji meliputi ekstrak kasar, Fraksi N hasil KKCVC dan isolat yang diperoleh. Sampel uji terlebih dahulu dilarutkan dengan menggunakan pelarut dimetil sulfoxida (DMSO) pada konsentrasi 5%, kemudian *Paper disc* diisi dengan sampel yang telah dilarutkan. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan cara menuangkan sebanyak ± 20 ml medium NA ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat.

Kemudian di tuangkan suspensi bakteri kedalam medium NA tersebut dan diratakan hingga seluruh permukaan medium terdapat bakteri. Meletakkan paper disc yang telah berisi sampel uji dan larutan DMSO sebagai kontrol negatif diatas permukaan medium yang telah terinokulasi bakteri. Kemudian di inkubasi selama 1 x 24 jam. Apabila hasil inkubasi menunjukkan zona bening disekitar paper disc, menandakan adanya efek penghambatan larutan uji terhadap bakteri uji. Zona bening yang ada merupakan zona hambat, dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

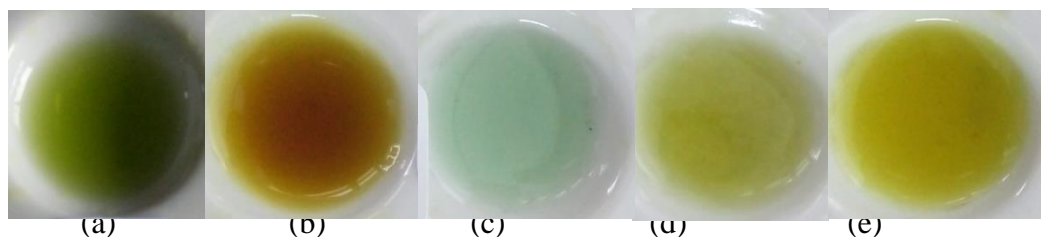
1. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Ungu

a. Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol daun ungu. Uji dilakukan dengan pereaksi Lieberman-Burchard, Besi (III) klorida (FeCl_3), Meyer, dan Wagner, hasilnya pengujian dapat dilihat pada Tabel 1 dan perubahan yang terjadi pada masing-masing pereaksi dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil Uji Pendahuluan Ekstrak Metanol Daun Ungu

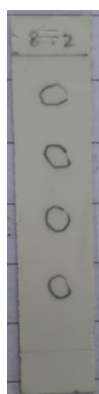
No	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Lieberman-Burchard	warna biru	+ Steroid
2	FeCl_3	warna hijau kekuningan	+ Flavonoid
3	Meyer	Warna kuning	– Alkaloid
4	Wagner	Warna coklat	– Alkaloid



Gambar 1. Hasil Uji Pendahuluan Ekstrak Metanol Daun Ungu (a)Sampel (b)wagner (c)Lieberman-Burchard (d)Meyer (e)FeCl₃

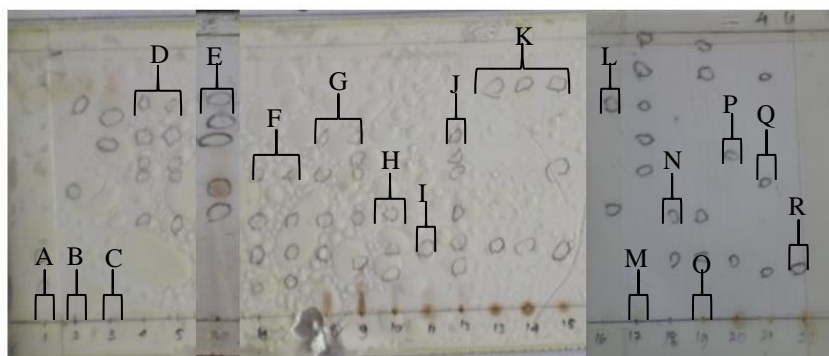
a. Fraksinasi, Pemurniaan dan Identifikasi

Uji KLT dilakukan sebelum proses KKCVC bertujuan untuk mengetahui perbandingan eluen yang akan digunakan pengelusan. Perbandingan eluen etil asetat dalam *n*-heksana (2:8) memberikan penampakan noda yang jelas dan pemisahan yang baik sebagaimana terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram Lapis Tipis Ekstrak Metanol

Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan silika gel 60 H sebagai fase diam dan larutan yang ditingkatkan kepolarannya sebagai fase gerak. Pemisahan dilakukan berdasarkan pita-pita warna yang terdapat pada fase diamnya, dan diperoleh sebanyak 52 fraksi. Fraksi-fraksi tersebut kemudian di uji KLT untuk penggabungan fraksi, berdasarkan kemiripan pola noda dan pemisahan yang terbentuk pada kromatogram maka dihasilkan 18 fraksi gabungan utama (yaitu A-R). Fraksi 1-15 dengan eluen etil asetat dalam *n*-Heksana (2:8) serta fraksi 16-22 dengan eluen etil asetat dalam *n*-Heksana (4:6).



Gambar 3. Kromatogram lapis tipis fraksi gabungan hasil KKCVC

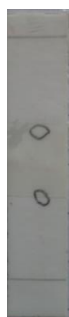
Fraksi N dengan bobot 0,5263 gram kemudian difraksinasi lebih lanjut dengan metode kromatografi kolom tekan (KKT) dan menghasilkan 22 fraksi. Fraksi-fraksi tersebut kemudian di uji KLT dengan eluen

n-Heksan dalam etil asetat (4:6) dan berdasarkan pola pemisahan yang terbentuk pada kromatogram dihasilkan 10 fraksi gabungan.

Tabel 2. Penggabungan Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Tekan

Fraksi	Gabungan	Berat (g)	Wujud
1-2	N ₁	0,0174	Padatan
3-5	N ₂	0,0444	Padatan
6-7	N ₃	0,0114	Padatan
8-9	N ₄	0,0055	Padatan
10-11	N ₅	0,0079	Padatan
12-13	N ₆	0,0263	Padatan
14	N ₇	0,0034	Padatan
15-16	N₈	0,0278	Serbuk
17-21	N ₉	2,2736	Cair
22	N ₁₀	1,6924	Cair

Fraksi-fraksi diuapkan pada suhu ruang. Fraksi N₈ berwarna hijau dengan berat 0,0278 g dipilih karena terbentuk padatan pada dasar botol vial saat proses penguapan. Fraksi ini kemudian di KLT dengan eluen n-heksan dalam etil asetat(4:6) dan menghasilkan kromatogram dengan dua noda,hal ini menunjukkan fraksi tersebut belum murni, sehingga perlu dilakukan proses pemurnian.



Gambar 4. Kromatogram Fraksi N₈ Sebelum Dimurnikan

Fraksi N₈ dimurnikan, proses pemurnian dilakukan dengan cara dekantasi menggunakan pelarut yang

tidak melarutkan isolat namun dapat melarutkan zat warna dari fraksi tersebut. Pelarut yang digunakan yaitu metanol. Setelah dilakukan dekantasi diperoleh isolat murni berbentuk serbuk berwarna putih.



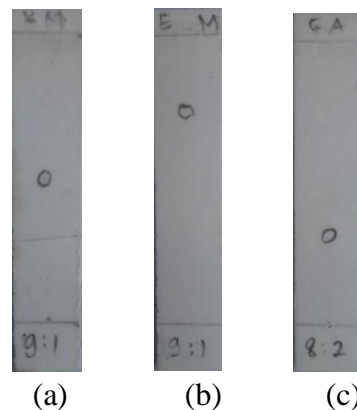
Gambar 5. (a)Isolat Fraksi N₈ sebelum dimurnikan (b)Isolat Fraksi N₈ setelah dimurnikan

Isolat yang diperoleh dengan bobot 4,8 mg kemudian diuji kemurniannya dengan KLT tiga sistem eluen dengan menggunakan perbandingan pelarut yang berbeda.

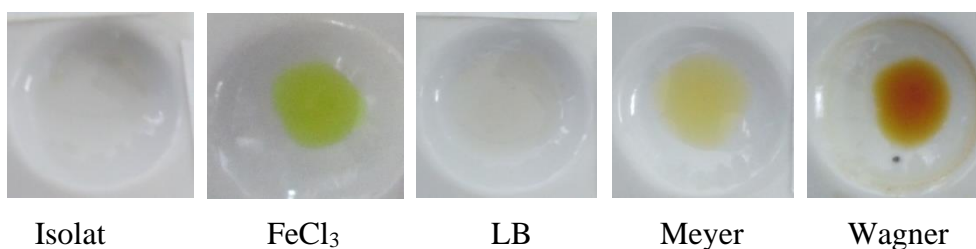
Kromatogram noda tunggal isolat pada plat KLT terlihat setelah pemberian penampak noda $CeSO_4$ dan pemanasan yakni berwarna coklat. Eluen yang digunakan yaitu (a)aseton-etil asetat (2:8), (b)metanol-kloroform(1:9) dan (c)metanol: etil asetat (1:9). Berdasarkan hasil KLT tiga eluen, isolat dapat dikatakan murni serta terdekomposisi pada suhu $202^{\circ}C$.

Isolat yang diperoleh kemudian diidentifikasi dengan melakukan uji dengan beberapa pereaksi untuk mengetahui golongan senyawa yang diperoleh. Hasil uji pereaksi dapat

dilihat pada Gambar 7. Adapun datanya dapat dilihat pada Tabel 5.



Gambar 6. Kromatogram Isolat Hasil KLT Tiga Sistem Eluen

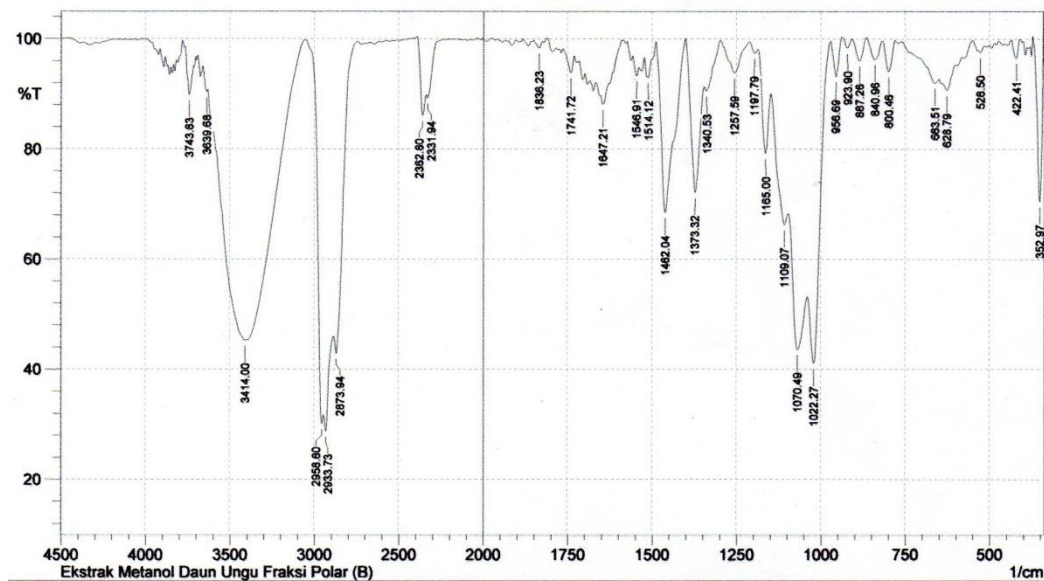


Gambar 7. Uji Golongan Isolat

Tabel 3. Hasil Uji Golongan Isolat

No.	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Lieberman-Burchard	tidak berwarna	- Steroid
2.	$FeCl_3$	warna hijau kekuningan	+ Flavonoid
3.	Meyer	warna kuning	- Alkaloid
4.	Wagner	warna coklat	- Alkaloid

Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan spektroskopi FTIR Prestige-21 SHIMADZU yang bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsional dari suatu senyawa yang diperoleh.



Gambar 8. Spektrum Inframerah Isolat

1. Uji Antibakteri

Ekstrak kasar, fraksi N hasil KKCVC dan isolat yang diperoleh dari proses isolasi dilakukan uji

antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Hasil pengujian setelah diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Bakteri	Sampel			
	(-) DMSO	Ekstrak Kental	Fraksi N	Isolat
<i>S. aureus</i>	-	10,60 mm	8,30 ,mm	5,30 mm
<i>E. coli</i>	-	aktif	aktif	aktif

Keterangan : diameter zona hambat tanpa diameter paper disc (6mm).

B. Pembahasan

1. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Ungu.

Uji pendahuluan pada ekstrak metanol daun ungu bertujuan untuk mendapat informasi awal tentang metabolit sekunder apa yang terdapat pada daun ungu. Berdasarkan hasil uji pendahuluan diketahui bahwa pada daun ungu mengandung metabolit sekunder flavonoid dan steroid. Penelitian yang telah dilakukan Tukiran(2014), dilaporkan bahwa ekstrak metanol daun ungu

mengandung triterpenoid, alkaloid, dan flavonoid (termasuk fenol) namun pada penelitian ini tidak terdapat alkaloid dan triterpenoid namun terdapat steroid. Hal ini disebabkan karena kandungan metabolit sekunder pada tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu faktor ekologi tumbuhan. Menurut Harborne (1987), dua bidang penelitian ekologi yang menentukan kandungan metabolit sekunder ialah antaraksi tumbuhan-hewan dan antaraksi tumbuhan-tumbuhan sehingga

meskipun jenis tumbuhan yang sama akan memiliki kandungan metabolit sekunder yang berbeda bergantung kondisi lingkungan hidupnya.

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel berdasarkan sifat kepolarannya. Pada penelitian ini digunakan metode Kromatografi Kolom Cair Vakum (KKCV) yang dilanjutkan dengan metode Kromatografi Kolom Tekan (KKT). Proses fraksinasi menggunakan silika sebagai fase diam dan eluen yang ditingkatkan kepolarannya secara bergradien sebagai fase gerak, sehingga senyawa yang ada pada sampel akan terfraksinasi. Sampel sebelum di fraksinasi, terlebih dahulu diimpregnasi dengan silika kasar dengan tujuan agar sampel dapat berikatan dengan silika sehingga nantinya sampel tidak langsung menerobos melalui dinding kolom ketika dielusi. Proses KKCV dilakukan dengan menggunakan silika yang memiliki ukuran partikel yang halus dan dilakukan secara vakum sehingga memiliki kerapatan silika yang bagus pada kolom sedangkan proses KKT digunakan silika yang lebih kasar dan menggunakan tekanan untuk mendorong laju eluen dalam silika. Fraksi N hasil KKCV terpilih untuk dipisahkan lebih lanjut dengan KKT, hal ini didasarkan pada terbentuknya serbuk berwarna putih pada dasar vial dan jumlah noda yang sedikit dan pemisahannya jelas pada KLT gabungan. Fraksi N₈ hasil KKT kemudian terpilih untuk dimurnikan, karena pada proses penguapan terbentuk serbuk yang berwarna hijau.

Pemurnian dilakukan dengan cara dekantasi untuk memisahkan isolat dengan zat-zat warna tumbuhan yang masih melekat pada isolat sehingga diperoleh isolat murni berbetuk serbuk berwarna putih dengan hasil kromatogram KLT tiga sistem eluen terdapat noda tunggal ketika disemprotkan dengan serum sulfat dan dipanaskan, noda tunggal yang dihasilkan berwarna coklat. Berdasarkan eluen yang digunakan pada uji KLT tiga sistem eluen dapat kita ketahui bahwa isolat yang diperoleh bersifat polar yang dilihat dari nilai R_f pada masing-masing plat. Menurut Atun (2014), pemisahan senyawa dianggap cukup apabila telah diperoleh isolat yang menunjukkan noda tunggal pada beberapa uji KLT dengan menggunakan berbagai variasi eluen yang berbeda. Adanya noda tunggal menunjukkan sudah diperoleh senyawa dengan kemurnian yang tinggi. Selain itu, isolat terdekomposisi pada suhu 202°C ditandai dengan perubahan warna dari putih menjadi warna kuning, suhu terdekomposisi yang tinggi memberikan informasi bahwa senyawa telah murni.

Proses identifikasi pada penelitian ini dilakukan dengan uji pereaksi dan spektroskopi FTIR untuk mengetahui gugus-gugus fungsi pada isolat tersebut. Berdasarkan uji pereaksi diketahui bahwa isolat yang diperoleh merupakan senyawa golongan flavonoid. Dimana uji positif terhadap pereaksi FeCl₃ membentuk warna hijau kekuningan (Harborne, 1987). Pereaksi FeCl₃ merupakan pereaksi yang dapat menunjukkan keberadaan senyawa fenolik secara

umum, namun tidak dapat membedakan jenisnya.

Identifikasi dilanjutkan dengan menggunakan spektroskopi, berdasarkan analisis spektrum inframerah terdapat beberapa gugus fungsi. Daerah serapan pada bilangan gelombang 3414.00 cm^{-1} dengan pita yang lebar dengan intensitas kuat yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur O-H (lit. 3200-3550 cm^{-1}). Vibrasi ikatan ini merupakan vibrasi dari gugus OH yang mengalami ikatan hidrogen antarmolekul. Hal ini didukung dengan adanya lebih dari satu serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah 1109.07 cm^{-1} , 1070.49 cm^{-1} dan 1022.27 cm^{-1} yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-O (lit. 1300-1000 cm^{-1}) alkohol. Selain itu menurut Mohrig (2010),

vibrasi ulur C-O pada alkohol sekunder berada pada serapan 1130-1000 cm^{-1} .

Pada bilangan gelombang 2958,80 cm^{-1} , 2933,73 cm^{-1} , 2873,94 cm^{-1} terdapat serapan yang kuat dan tajam menunjukkan adanya vibrasi ulur C-H alifatik (lit. 2990-2850 cm^{-1}), yang didukung dengan serapan pada 1373,32 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk C-H alifatik dengan intensitas sedang. Serapan pada daerah 1647.21 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur dari C=C conj. (lit. 1650-1600 cm^{-1}) dengan intensitas lemah. Dan terdapat serapan pada 1462,04 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur dari C=C aromatik (lit. 1620-1440 cm^{-1}) dengan intensitas sedang.

Tabel 5. Interpretasi Spektrum Inframerah dari Isolat

Bilangan Gelombang (ν , cm^{-1})	Bilangan Gelombang Pustaka (ν , cm^{-1})	Bentuk Pita	Penempatan Gugus Terkait	Intensitas
3414.00	(3200-3550)*	Melebar	-OH (ikatan hidrogen antar molekul)	Kuat
2958,80; 2933,73 dan 2873,94	(2990-2850)*	Tajam	-C-H (alifatik)	Kuat
1647.21	(1650-1600)*	Melebar	C=C conj.	Lemah
1462,04	(1620-1440)*	Tajam	C=C aromatik	Sedang
1373,32	1340 – 1480*	Tajam	-CH (alifatik) tekuk	Sedang
1109.07, 1070,49 dan 1022,27	(1300-1000)** (1130-1000)*	Tajam	C-O (alkohol sekunder)	Kuat

Sumber : *) Mohrig (2010); **) Sastrohamidjojo (1992)

Berdasarkan interpretasi data spektrum FTIR isolat, senyawa yang diperoleh merupakan golongan flavanoid, yang memiliki gugus fungsi -OH, C-O alkohol sekunder, -C-H alifatik, C=C conj., dan C=C aromatik. Struktur senyawa flavanoid umumnya memiliki gugus karbonil

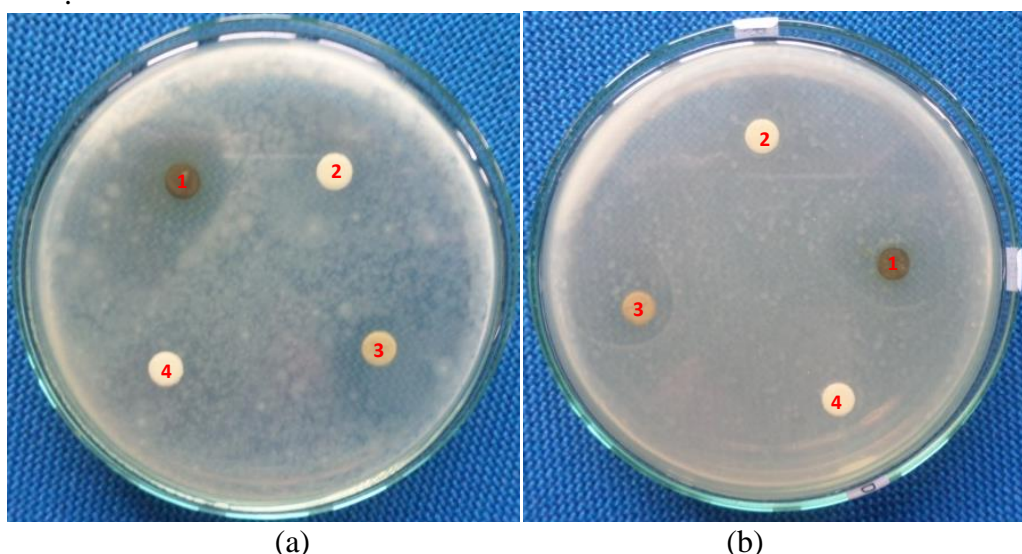
(C=O), namun tidak semua senyawa flavanoid memiliki gugus C=O. Pada spektrum isolat penelitian ini tidak ditemukan adanya serapan pada daerah sekitar 1700 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C=O.

Menurut Achmad (1986), jenis utama dan struktur dasar flavonoid

alam yang tidak memiliki gugus C=O adalah turunan flavan dan katekin. Selain itu, penelitian yang telah dilakukan oleh Sukadana (2009) terhadap buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn. L) teridentifikasi senyawa flavonoid jenis katekin dimana pada spektrum inframerah yang dihasilkan tidak terdapat serapan yang menunjukkan adanya gugus C=O.

2. Uji Antibakteri

Bakteri yang digunakan pada uji bioaktivitas ini yaitu *E. coli* sebagai gram negatif dan *S. aureus* sebagai gram positif. Sebelum dilakukan pengujian terlebih dahulu alat dan bahan disterilisasi dengan tujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang terdapat pada alat dan bahan tersebut



Gambar 9. Hasil Uji Antibakteri (a) *S.aureus* (b) *E. coli*.
(1)ekstrak kasar, (2)isolat, (3)fraksi N, (4)kontrol (-) DMSO

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa ekstrak kasar, fraksi N dan isolat pada konsentrasi 5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E.coli*(Tabel 4.6). Daya hambat paling besar pada ekstrak kasar, hal ini disebabkan karena pada ekstrak masih terdapat banyak senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* maupun *E.coli*. Sedangkan pada fraksi N dan Isolat murni daya hambat semakin menurun, hal ini disebabkan karena terjadinya proses fraksinasi sehingga senyawa-

senyawa yang memiliki sifat aktif terhadap bakteri telah terpisah-pisah kedalam beberapa fraksi.

Pengamatan pada bakteri *S.aureus* yaitu terbentuk zona bening yang berada disekitar *paper disc* setelah diinkubasi selama 24 jam dan begitu pula pada hari berikutnya, hal ini menunjukkan sampel uji bersifat membunuh bakteri *S.aureus*. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Proboseno (2011), yang melaporkan bahwa pada ekstrak etanol daun ungu bersifat aktif terhadap bakteri *S. aureus*. Pengamatan terhadap bakteri *E.coli*

setelah proses inkubasi 24 jam terbentuk zona bening namun bakteri tumbuh kembali, hal ini menunjukkan bahwa sampel uji bersifat aktif dapat menghambat bakteri *E.coli*.

Kontrol negatif pada pengujian ini adalah dimetil sulfoxida (DMSO), tujuannya yaitu untuk mengetahui pengaruh DMSO dalam proses pelarutan terhadap daya hambat yang dihasilkan. Pengujian ini menggunakan metode difusi agar dimana sampel yang telah terdapat pada *paper disc* akan berdifusi pada media Nutrien Agar dan membentuk zona bening setelah diinkubasi selama 24 jam, terbentuknya zona bening menunjukkan bahwa sampel uji bersifat aktif terhadap bakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak metanol daun ungu adalah senyawa golongan flavonoid berbentuk serbuk berwarna putih. Hasil uji antibakteri menunjukkan ekstrak kasar, fraksi N, dan isolat murni dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

B. Saran

Adapun hal-hal yang disarankan terkait kelengkapan penelitian ini yaitu: Perlu dilakukan identifikasi dengan menggunakan spektrometer UV-Vis, GC-MS, NMR-¹H dan NMR-¹³C untuk memantapkan struktur isolat tersebut serta menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E.coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Kunika.
- Atun, S. 2010. Pemanfaatan Bahan Alam Bumi Indonesia Menuju Riset yang Berkualitas Internasional. *Seminar Nasional Kimia*. Yogyakarta: FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. Vol.8.No.2
- Da'i, M., Astrina D. R., dan Arifah S. H. 2012. Uji Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun *Elephantopus scaber* L., *Ocimum basilicum* L. *Forma Citratum* Back., *Graptophyllum pictum* Griff, dan *Gynura procumbens* Merr. Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikril Hidrazil) Serta Penetapan Kadar Fenolik Totalnya. *Journal Pharmacoon*. Vol.13, No.2.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi II. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Isnawati, A dan Iwang, S. 2003. Pemeriksaan Senyawa-Senyawa Turunan Fenol Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). *Jurnal Media litbag kesehatan*. Vol.13. No.1.

- Mohrig, J.R. 2010. *Techniques in Organic Chemistry*. New York : W.H Freeman and Company
- Proboseno, S. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Wungu (*graptophyllum pictum* (l) griff) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Sastrohamidjojo, H. 1992. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta: Liberty.
- Sukadana, I.M. 2009. Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid Dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn.L). *Jurnal Kimia*. Vol.3.No.2.
- Tukiran, Suyatno, dan Nurul, H. 2014. Skrining Fitokimia pada Beberapa Ekstrak dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* l.), dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* griff.). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. ISBN : 978-602-0951-00-3.