

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN DARI
EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, DAN FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN *Vitex trifolia* L. ASAL LOMBOK**

SKRIPSI

**Disusun untuk melengkapi syarat-syarat
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



Elsafira Ariavianti

3325111329

PROGRAM STUDI KIMIA

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA**

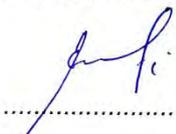
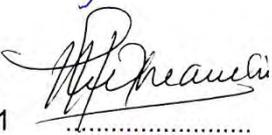
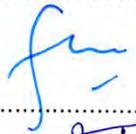
2016

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, DAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN *Vitex trifolia* L. ASAL LOMBOK

Nama : Elsafira Ariavianti

No. Registrasi : 3325111329

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Penanggung Jawab</u>			
Dekan	Prof. Dr. Suyono, M.Si NIP. 19671218 199303 1 005		12/2/2016
<u>Wakil Penanggung Jawab</u>			
Pembantu Dekan I	Dr. Muktiningsih N., M.Si NIP. 19640511 198903 2 001		12/2/2016
<u>Ketua</u>	Dr. Yusmaniar, M.Si NIP. 19620626 199602 2 001		3/2/2016
<u>Sekretaris</u>	Dr. Erdawati, M.Sc NIP. 19510912 198103 2 001		3/2/2016
<u>Anggota:</u>			
Penguji	Dra. Zulmanelis, M.Si NIP. 19560501 198803 2 001		1/2/2016
Pembimbing I	Dr. Fera Kurniadewi, M.Si NIP. 19761231 200112 2 002		4/2/2016
Pembimbing II	Irma Ratna Kartika, M.Sc, Tech NIP. 19721204 200501 2 001		4/2/2016

Dinyatakan lulus ujian skripsi tanggal : 18 Januari 2016



LEMBAR PERSEMBAHAN

Bacalah dengan menyebut nama Tuhanmu. Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmulah yang Maha Mulia. Yang mengajarkan manusia dengan pena. Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya (QS: Al-'Alaq : 1-5)

Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan?

(QS: Ar-Rahman : 13)

Niscaya Allah akan mengangkat derajat orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat (QS: Al-Mujadilah 11)

“Harta yang tak pernah habis adalah ILMU PENGETAHUAN dan ilmu yang tak ternilai adalah PENDIDIKAN”

“Orang yang pintar bukanlah orang yang merasa pintar, akan tetapi ia adalah orang yang merasa bodoh, dengan begitu ia tak akan pernah berhenti untuk terus belajar”

Bukanlah suatu aib jika kamu gagal dalam suatu usaha, yang merupakan aib adalah jika kamu tidak bangkit dari kegagalan itu (Ali bin Abu Thalib)

Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmu hendaknya kamu berharap (QS Al-Insyirah : 6-8)

Alhamdulillah. Puji syukur kehadiran ALLAH SWT, atas takdirmu telah kau jadikan aku manusia yang senantiasa berpikir, berilmu, beriman, dan bersabar dalam menjalani kehidupan ini. Aku bersyukur bisa diberikan kesempatan untuk merasakan dunia perkuliahan dan bisa menyelesaikan karya perjuanganku. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal bagiku untuk meraih cita-cita besarku ke depannya nanti. Aamiin...

Karya skripsi ini kupersembahkan untuk

Ayahanda SUMARYA dan Ibunda WIWIK SUMARTI

Ya allah, terima kasih engkau telah menempatkanku diantara kedua malaikatku ini yang setiap waktu ikhlas mendoakan, menjagaku, dan mendidikku hingga aku bisa sampai saat ini. Pa, ma, terimalah persembahan putri tercintamu ini sebagai tanda baktiku kepada kalian. Maafkan elsa sampai saat ini masih menyusahkan. Semoga kelak elsa bisa membanggakan dan memberikan yang terbaik untuk bapak dan mama.

Dosen Pembimbing (Bu Fera dan Bu Irma), Dosen Penguji (Bu Yus, Bu Erda, dan Bu Zul), Dosen Pengajar dan Staff Kimia UNJ

Terima kasih telah tulus dan ikhlas meluangkan waktu untuk menuntun dan mengarahkan saya, memberikan bimbingan dan pelajaran yang tidak ternilai agar saya menjadi lebih baik. Hanya ALLAH SWT yang bisa membalas kebaikan Bapak dan Ibu.

Adikku tercinta AVIESENA ARIA FIERERA dan Keluarga Besarku

Avi, terima kasih telah memberikan cerita, do'a, dan bantuan. Semua itu memberikan semangat sekali untuk kakakmu ini hingga bisa berhasil menyelesaikan skripsi. Keluarga besarku, terutama Alm. Mbah Suwanti. Masih teringat jelas mbah pergi di saat aku sedang mengurus surat masuk lab untuk penelitian. Walaupun mbah sudah tiada, kupersembahkan skripsi ini untuk mbah sbg wujud terima kasihku karena selama ini telah memberi nasihat dan selalu mendoakan cucumu ini ketika mbah msh hidup.

Teman-Teman Kimia Angkatan 2011

Teruntuk sahabat Kimia seperjuangan yang selalu membantu, berbagi keceriaan, dan melewati duka selama kuliah, organisasi hingga penelitian. Chandra, Richard, Riri, Evi, Tika, Ginar, Nurul, Aini, Ida, Ginas, Hanifah, Oni, Risa, Eka, Merry, Kokom, Esti, Mulya, teman kimia 2011 lainnya, pkr 2011, dan pknr 2011, terima kasih banyak. Tiada hari yang indah tanpa kalian semua.

Sahabat Terkece

Terima kasih juga kupersembahkan kepada para sahabatku Hani, Dewi, Memey, Nesia, Laily, Bernika, Nisa, Prita, Gusti, Tika, Ema, Farhan, Rifki, dan sahabatku lainnya yang senantiasa menjadi penyemangat. "Sahabat merupakan salah satu sumber kebahagiaan di kala kita merasa tidak bahagia".



ABSTRAK

ELSAFIRA ARIAVIANTI. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana, dan Fraksi Etil Asetat Daun *Vitex trifolia* L. Asal Lombok. Skripsi. Jakarta: Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, 2016.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia, aktivitas antibakteri, dan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun legundi (*Vitex trifolia* L.) asal Lombok. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dengan teknik cakram kertas (*disc diffusion method*) terhadap bakteri gram positif *S.aureus* dan bakteri gram negatif *E.coli*. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan *reducing power*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak metanol mengandung senyawa fenolik dan steroid. Hasil uji aktivitas menunjukkan fraksi *n*-heksana memiliki potensi antibakteri terbaik terhadap bakteri *S.aureus* dengan KHM sebesar 5.000 ppm, sedangkan fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 24,99 ppm pada metode DPPH dan ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 130,09 ppm pada metode *reducing power* memiliki potensi antioksidan paling baik.

Kata kunci: *Vitex trifolia* L., antibakteri, antioksidan, fitokimia.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana, dan Fraksi Etil Asetat Daun *Vitex trifolia* L. Asal Lombok”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi S1 Kimia Universitas Negeri Jakarta.

Terselesainya penulisan skripsi ini tidak terlepas atas dukungan dari semua pihak, untuk itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Fera Kurniadewi, M.Si dan Irma Ratna Kartika, M.Sc, Tech selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dan memberikan arahan kepada penulis.
2. Dr. Yusmaniar, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia atas dukungan yang diberikan.
3. Dosen-dosen Kimia UNJ atas ilmu yang diberikan.
4. Analis Q-lab Universitas Pancasila yang membantu dan mengarahkan selama penelitian.
5. Orang Tua penulis yang selalu memberikan dukungan dan doa.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak memiliki kekurangan baik dalam hal penyampaian informasi maupun dalam hal penulisan ilmiah. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan sumbangan ilmiah yang sebesar-besarnya bagi penulis dan pembaca.

Jakarta, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah	3
C. Pembatasan Masalah	4
D. Perumusan Masalah	4
E. Tujuan Penelitian	5
F. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tinjauan Tumbuhan <i>Vitex</i>	6
B. Radikal Bebas dan Antioksidan	14
C. Uji Aktivitas Antioksidan	19
D. Bakteri.....	23
E. Antibakteri	27
F. Uji Aktivitas Antibakteri	32
G. Metode Pemisahan dan Penentuan Jumlah Senyawa.....	33
BAB III METODE PENELITIAN	36

	Halaman
A. Tujuan Operasional Penelitian	36
B. Tempat dan Waktu Penelitian	36
C. Metode Penelitian	36
D. Sampel.....	37
E. Alat dan Bahan	37
F. Prosedur Penelitian.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	46
A. Ekstraksi dan Partisi Daun Legundi (<i>Vitex trifolia</i> L)	46
B. Hasil Skrining Fitokimia.....	49
C. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	51
D. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	69
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	75
A. Kesimpulan	75
B. Saran	76
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	84

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Legundi (<i>Vitex trifolia</i> L) asal Lombok	49
Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Legundi (<i>Vitex trifolia</i> L) asal India	51
Tabel 3. Data Absorbansi dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	55
Tabel 4. Nilai IC ₅₀ Standar, Ekstrak, dan Beberapa Fraksi Metode DPPH	59
Tabel 5. Data Absorbansi dan Aktivitas Antioksidan Metode <i>Reducing power</i>	63
Tabel 6. Nilai IC ₅₀ Standar, Ekstrak, dan Beberapa Fraksi Metode <i>Reducing power</i>	66
Tabel 7. Pengamatan Diameter Zona Bening dengan Variasi Konsentrasi	71

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Senyawa Golongan Flavonoid dari Tumbuhan Genus <i>Vitex</i>	7
Gambar 2. Senyawa Golongan Fenolik dari Tumbuhan Genus <i>Vitex</i>	8
Gambar 3. Senyawa Golongan Terpenoid dari Tumbuhan Genus <i>Vitex</i>	9
Gambar 4. Senyawa Golongan Steroid dari Tumbuhan Genus <i>Vitex</i>	10
Gambar 5. Senyawa Golongan Lignan dari Tumbuhan Genus <i>Vitex</i>	10
Gambar 6. Tumbuhan <i>Vitex trifolia</i>	12
Gambar 7. Struktur Senyawa dari <i>Vitex trifolia</i>	14
Gambar 8. Contoh Reaksi Peroksidasi Asam Oleat.....	16
Gambar 9. Contoh Antioksidan Alami dan Antioksidan Sintetik.....	18
Gambar 10. Mekanisme α -tokoferol Sebagai Antioksidan	19
Gambar 11. Resonansi Radikal Stabil DPPH.....	20
Gambar 12. Persamaan Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan	21
Gambar 13. Persamaan Reaksi Reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+}	23
Gambar 14. Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif	24
Gambar 15. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Gambar 16. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	26
Gambar 17. Struktur Kloramfenikol	31
Gambar 18. KLT Ekstrak Metanol dan Beberapa Fraksi	39
Gambar 19. Daun <i>Vitex trifolia</i>	46
Gambar 20. Uji KLT Ekstrak dan Fraksi <i>Vitex trifolia</i> Asal.....	48
Gambar 21. Mekanisme Reaksi Uji Fenolik	50
Gambar 22. Mekanisme Reaksi Uji Steroid.....	50

	Halaman
Gambar 23. Hasil Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Legundi.....	50
Gambar 24. Warna Larutan Uji Antioksidan BHT Dalam Metode DPPH.....	52
Gambar 25. Warna Larutan Uji Antioksidan Asam Askorbat Dalam Metode DPPH.	53
Gambar 26. Warna Larutan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Dalam Metode DPPH.	53
Gambar 27. Warna Larutan Uji Antioksidan Fraksi <i>n</i> -Heksana Dalam Metode DPPH.	53
Gambar 28. Warna Larutan Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dalam Metode DPPH.	54
Gambar 29. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada BHT	56
Gambar 30. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Asam Askorbat	56
Gambar 31. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Ekstrak Metanol.....	57
Gambar 32. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi <i>n</i> -Heksana	57
Gambar 33. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi Etil Asetat.....	58
Gambar 34. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan BHT Dalam Metode <i>Reducing power</i>	61
Gambar 35. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat Dalam Metode <i>Reducing power</i>	61
Gambar 36. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dalam Metode <i>Reducing power</i>	62
Gambar 37. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi <i>n</i> -Heksana Dalam Metode <i>Reducing power</i>	62

	Halaman
Gambar 38. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dalam Metode <i>Reducing power</i>	62
Gambar 39. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada BHT	64
Gambar 40. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Asam Askorbat	64
Gambar 41. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Ekstrak Metanol	65
Gambar 42. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi <i>n</i> -Heksana	65
Gambar 43. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi Etil Asetat.....	66
Gambar 44. Struktur Senyawa E/Z Asam Kafeat	69
Gambar 45. Media Pertumbuhan Bakteri yang Diberi <i>Disc</i> Berisi Ekstrak Metanol Daun <i>V.trifolia</i> L.	70
Gambar 46. Media Pertumbuhan Bakteri yang Diberi <i>Disc</i> Berisi Fraksi <i>n</i> -Heksana Daun <i>V.trifolia</i> L.	70
Gambar 47. Media Pertumbuhan Bakteri yang Diberi <i>Disc</i> Berisi Fraksi Etil Asetat Daun <i>V.trifolia</i> L.	71
Gambar 48. Struktur Senyawa β -sitosterol.....	74

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan Kerja	84
Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Sampel Antibakteri	92
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Antioksidan	93
Lampiran 4. Perhitungan Aktivitas Antioksidan.....	95
Lampiran 5. Perhitungan Nilai IC ₅₀	102
Lampiran 6. Pemilihan Eluen untuk Uji KLT	104

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Obat herbal digunakan untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai penyakit hampir di seluruh dunia. Berdasarkan data WHO 2014, lebih dari 80% populasi manusia di dunia bergantung pada obat herbal. Obat herbal digunakan sebagai alternatif pengobatan karena efek samping yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan obat-obatan sintesis. Salah satu bahan baku alami pembuatan obat herbal diantaranya yaitu tanaman.

Tanaman dapat berpotensi sebagai obat herbal jika mengandung senyawa bioaktif. Beberapa senyawa bioaktif di dalam tanaman sebagai obat herbal memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan dapat berpotensi sebagai sumber antioksidan alami (Shah *et al.*, 2013). Penyakit degeneratif akibat radikal bebas sudah meluas di kalangan masyarakat diantaranya kanker, katarak, aterosklerosis, diabetes mellitus, penyakit jantung koroner, dan gangguan imunodefisiensi. Selain itu, beberapa senyawa bioaktif dalam tanaman sebagai obat herbal juga dapat menghambat sifat patogen dari bakteri dan memiliki toksisitas terhadap sel inang sehingga dianggap dapat berpotensi sebagai obat antibakteri (Murugan *et al.*, 2012). Beberapa contoh bakteri patogen beserta penyakit infeksi yang sudah meluas di kalangan masyarakat diantaranya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat

menyebabkan infeksi kulit, hidung, paru-paru, dan saluran pencernaan manusia (Harris *et al.*, 2002), dan bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan infeksi urin dan usus (Hleba *et al.*, 2013).

Indonesia memiliki sumber daya alam hayati seperti tanaman yang jenis dan jumlahnya sangat beranekaragam sehingga penggunaan obat herbal dari tanaman telah menjadi salah satu identitas masyarakat Indonesia. Khasiat obat herbal dari tanaman umumnya dipercaya berdasarkan pengalaman para pendahulu. Namun, kebenaran ilmiahnya belum terbukti. Oleh karena itu beberapa tahun belakangan ini banyak dilakukan penelitian untuk menemukan antioksidan dan antibakteri alami yang bersumber dari tanaman, khususnya tanaman-tanaman asli Indonesia (Kresnawaty *et al.*, 2009).

Vitex adalah salah satu genus tanaman endemik Indonesia yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Beberapa penelitian sudah dilakukan terhadap tanaman *Vitex* yang menunjukkan potensinya sebagai antibakteri dan antioksidan. Ekstrak petroleum eter, kloroform, dan metanol daun *V.negundo* berperan sebagai antibakteri gram positif dan negatif (Chowdhury *et al.*, 2009), sementara ekstrak etil asetatnya berpotensi sebagai antioksidan (Shah *et al.*, 2013). Ekstrak etil asetat daun *V.pinnata* juga berpotensi sebagai antibakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Sitohang, 2012) dan antioksidan (Sentono, 2014). *V.rotundifolia* berperan sebagai antibakteri (Padmalatha *et al.*, 2009) dan ekstrak metanol daunnya berpotensi sebagai antioksidan (Choi *et al.*, 2010).

Salah satu spesies tanaman *Vitex* yang ada di Indonesia yaitu *Vitex trifolia*. Masih sedikit penelitian yang dilakukan terhadap *Vitex trifolia* asal Indonesia. Daun *Vitex trifolia* asal Makasar mengandung senyawa flavonoid yaitu viteksikarpin dan terpenoid yaitu viteosin-A. Kedua senyawa tersebut menunjukkan aktivitas trakeospasmodik (Alam *et al.*, 2002). Perbedaan daerah dari suatu tanaman yang mencakup kondisi lingkungan tempat tumbuh, suhu, sinar UV, hara, ketersediaan air, dan kadar CO₂ dalam atmosfer dapat mempengaruhi kandungan senyawa dan potensi aktivitas biologis yang ada dalam tanaman tersebut (Sejati *et al.*, 2012). Salah satu daerah yang banyak ditemukan tanaman *V.trifolia* L. adalah Lombok. Lombok adalah provinsi yang banyak terdapat pantai dan memiliki iklim tidak menentu setiap bulan sehingga kandungan senyawa dan aktivitas biologis dalam tanaman yang tumbuh di Lombok dapat berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia, aktivitas antibakteri, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *V.trifolia* L. asal Lombok. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram kertas (*disc diffusion method*) dan uji antioksidan menggunakan metode DPPH dan *reducing power*.

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan masalah yang telah diuraikan pada latar belakang, maka identifikasi masalahnya adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana profil fitokimia dari ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* Linn. asal Lombok?
2. Apakah ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* L. asal Lombok memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan?
3. Apa jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol dan beberapa fraksi daun *Vitex trifolia* L. asal Lombok yang berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan?

C. Pembatasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah, maka penelitian ini dibatasi pada profil fitokimia, uji aktivitas antibakteri dan antioksidan dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* Linn. asal Lombok. Pengujian untuk aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan uji penangkapan radikal DPPH dan *reducing power* dan untuk antibakteri dilakukan menggunakan metode cakram kertas (*disc diffusion method*).

D. Perumusan Masalah

Berdasarkan pembatasan masalah yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Bagaimana profil fitokimia, uji aktivitas antibakteri, dan antioksidan dari ekstrak metanol fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* L. asal Lombok?”

E. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah yang diuraikan, penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mendapatkan data mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* L. asal Lombok
2. Memperoleh data mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* L. asal Lombok.

F. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi baru mengenai profil fitokimia *Vitex trifolia* L. yang berasal dari Lombok sebagai tumbuhan endemik Indonesia dan potensinya sebagai antibakteri dan antioksidan serta melengkapi data bioaktivitas genus *Vitex*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

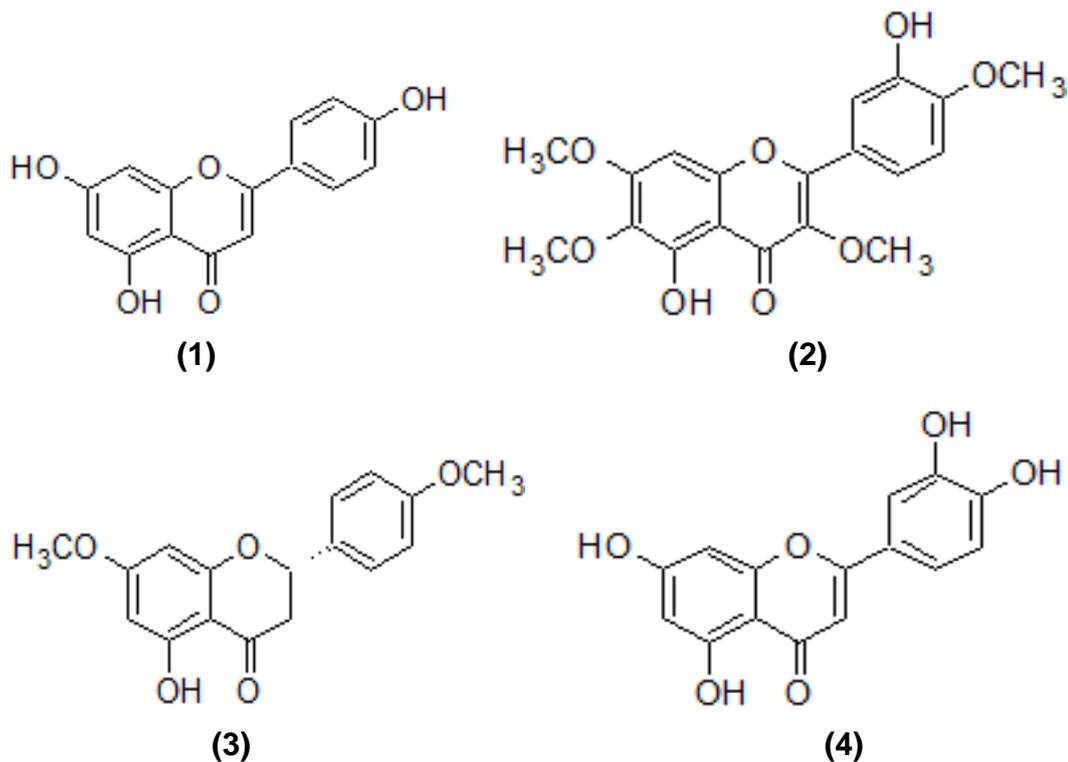
A. Tinjauan Tumbuhan *Vitex*

Tumbuhan dengan genus *Vitex* termasuk dalam famili Verbenaceae yang memiliki sekitar 270 spesies berupa pohon dan semak. Tumbuhan *Vitex* tersebar di seluruh dunia, terutama di daerah tropis, subtropis, dan ada beberapa spesies yang ditemukan di daerah beriklim sedang. Tumbuhan dari genus ini telah banyak digunakan sebagai obat tradisional (Meena *et al.*, 2011).

Beberapa spesies dari tumbuhan *Vitex* di beberapa negara sudah banyak digunakan sebagai obat tradisional diantaranya *V.agnus-castus* yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat sakit perut, pereda sakit pramenstruasi, dan penyakit yang berkaitan dengan pencernaan di beberapa daerah di Turki (Kuruuzum-Uz *et al.*, 2008). *V.negundo* digunakan sebagai obat demam, influenza, dan batuk di Cina (Vishwanathan dan Basavaraju, 2010). Beberapa penelitian telah membuktikan antara lain ekstrak metanol daun *V.negundo* berpotensi sebagai antibakteri dan antifungi. Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode lubang (*well diffusion method*) dan hasil menunjukkan nilai zona hambat terhadap bakteri *E.coli*, *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp., dan *Klebsiella* sp., berturut-turut sebesar 10 mm, 17 mm, 16 mm, 11 mm, dan 10 mm. Ekstrak metanol daun *V.negundo* tidak menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *Citrobacter* sp.,

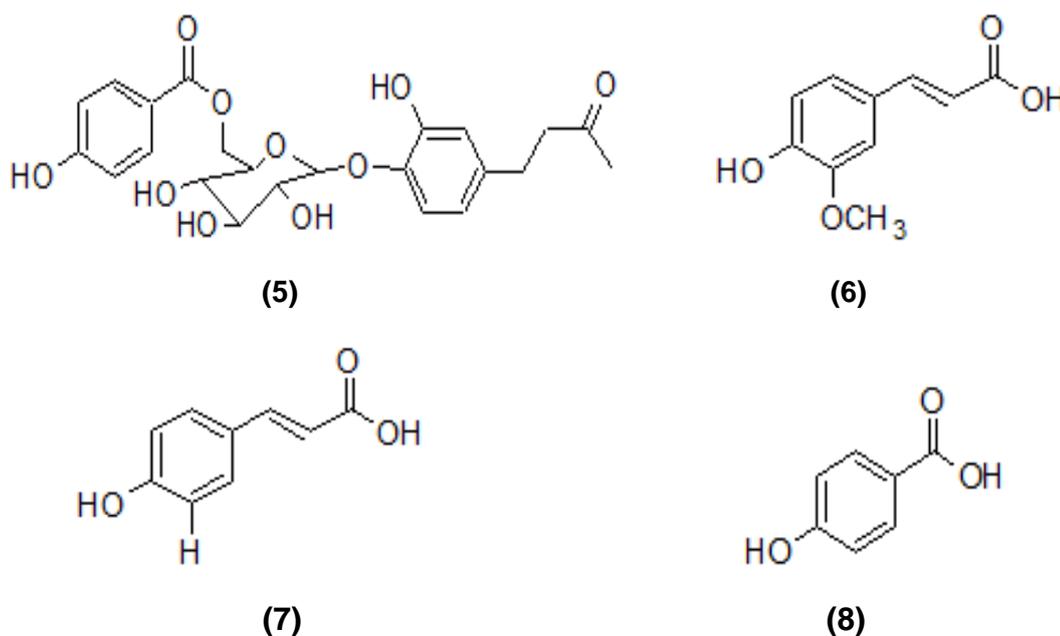
Streptococcus sp., dan *Enterobacter* sp. Uji antifungi dilakukan terhadap jamur *Candida albicans* dan *Candida glabrata* dan menunjukkan nilai zona hambat sebesar 17 mm dan 15 mm (Lakshmanan *et al.*, 2012). Ekstrak metanol bunga *V.agnus-castus* terbukti efektif sebagai antimikroba, antifungi (Kuuruzum-uz *et al.*, 2003) dan antioksidan (Kuuruzum-uz *et al.*, 2008). Ekstrak air dari buah *V.agnus-castus* juga terbukti efektif sebagai antioksidan (Sarikurkcu *et al.*, 2009). Ekstrak metanol daun *V.rotundifolia* terbukti efektif sebagai antioksidan.

Golongan senyawa dari beberapa spesies tumbuhan genus *Vitex* yang sudah diidentifikasi diantaranya flavonoid, fenolik, terpenoid, steroid, dan lignan.



Gambar 1. Senyawa Golongan Flavonoid dari Tumbuhan Genus *Vitex* (Chen *et al.*, 2011 ; Deng *et al.*, 2011; Meena *et al.*, 2011)

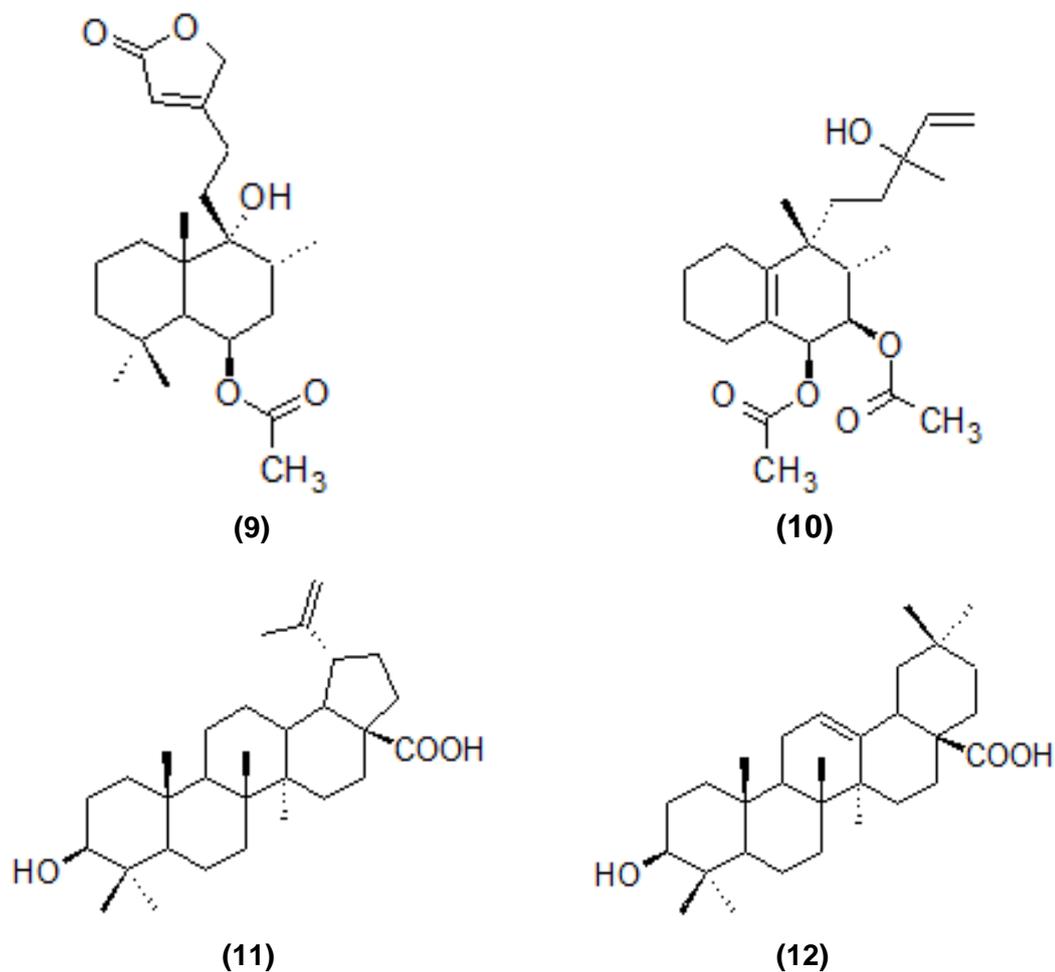
Senyawa flavonoid dari genus *Vitex* yaitu apigenin **(1)**, casticin **(2)** dari buah *V.agnus-castus* (Chen *et al.*, 2011), (S)-5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavanon **(3)** dari daun *V.quinata* (Deng *et al.*, 2011), dan luteolin **(4)** dari bunga *V.pinnata* (Meena *et al.*, 2011). Aktivitas antioksidan yang tinggi ditunjukkan pada campuran senyawa luteolin **(4)** dan senyawa chrysoeriol dari daun *V.pinnata* (Sentono, 2014). Senyawa (S)-5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavanon **(3)** memiliki kemampuan sitotoksik terhadap tiga sel kanker pada nilai ED₅₀ yaitu 6,7 ; 4,7 ; dan 1,1 μ M (Deng *et al.*, 2011).



Gambar 2. Senyawa Golongan Fenolik dari Tumbuhan Genus *Vitex* (Ling *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011)

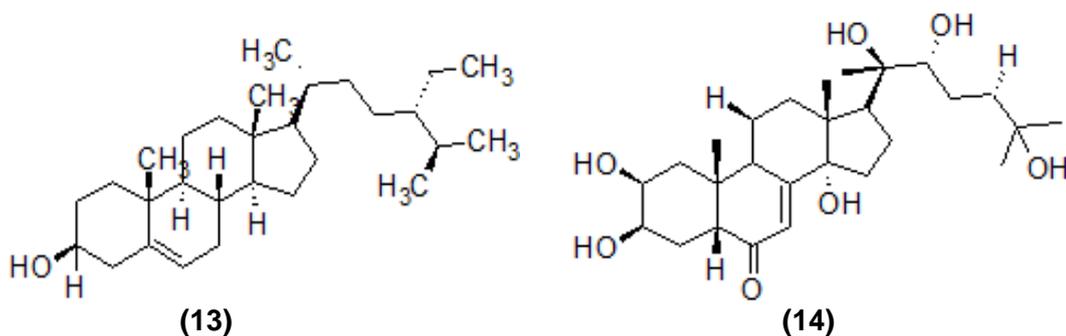
Senyawa golongan fenolik yang sudah diidentifikasi dari tumbuhan genus *Vitex* yaitu salviaplebeiaside **(5)** dari akar *V.negundo* (Ling *et al.*, 2010), asam ferulat **(6)**, asam kumarat **(7)**, dan asam 4-hidroksibenzoat **(8)** dari buah *V.agnus-castus* (Chen *et al.*, 2011). Senyawa salviaplebeiaside **(5)** memiliki kemampuan antibakteri terhadap *E.coli*,

B.subtilis , *Micrococcus tetragenus*, dan *Pseudomonas fluorescens* (Ling *et al.*, 2010).



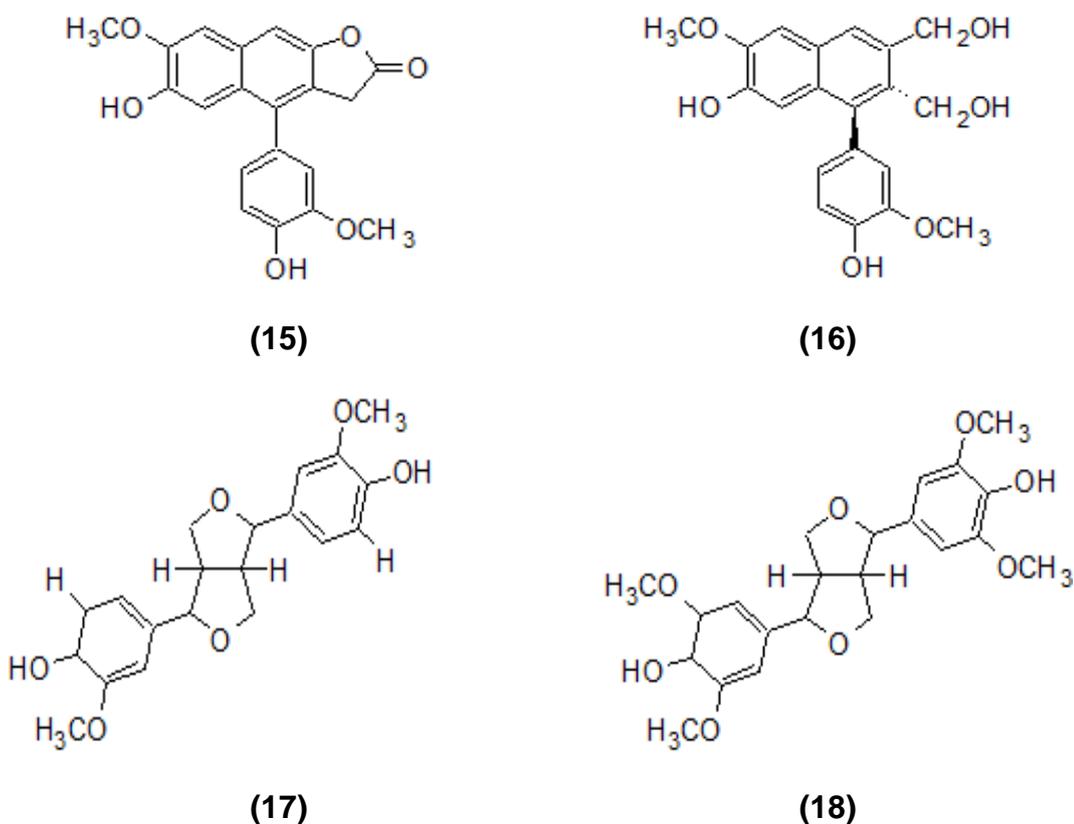
Gambar 3. Senyawa Golongan Terpenoid dari Tumbuhan Genus *Vitex* (Kim *et al.*, 2013 ; Zheng *et al.*, 2010)

Senyawa golongan terpenoid yang sudah diidentifikasi dari tumbuhan genus *Vitex* yaitu viteksilakton **(9)**, vitetrifolin D **(10)** dari *V.rotundifolia* (Kim *et al.*, 2013), asam betulitik **(11)**, dan asam oleanolik **(12)** dari biji *V.negundo* (Zheng *et al.*, 2010). Senyawa asam betulitik **(11)** telah diuji memiliki aktivitas sebagai inhibitor virus HIV-1, antibakteri, antioksidan, dan antimalaria (Ahmed *et al.*, 2013).



Gambar 4. Senyawa Golongan Steroid dari Tumbuhan Genus *Vitex* (Meena *et al.*, 2010; Suksamrarn dan sommechai, 1993)

Senyawa golongan steroid yang diidentifikasi dari tumbuhan genus *Vitex* yaitu β -sitosterol **(13)** dari daun *V.negundo* (Meena *et al.*, 2010) dan 20-hidroksiekdison **(14)** dari kulit pohon *V.pinnata* (Suksamrarn dan sommechai, 1993).



Gambar 5. Senyawa Golongan Lignan dari Tumbuhan Genus *Vitex* (Azhar-ul-Haq *et al.*, 2006)

Senyawa golongan lignan yang diidentifikasi dari tumbuhan genus *Vitex* yaitu negundin A **(15)**, negundin B **(16)**, pinoresinol **(17)**, dan diasyringaresinol **(18)** dari akar *V.negundo* (Azhar-ul-Haq *et al.*, 2006).

Salah satu spesies tumbuhan *Vitex* yang terdapat di Indonesia yaitu *Vitex trifolia* L. (legundi). *V.trifolia* tersebar luas di negara Asia-Pasifik seperti India, Sri Lanka, Cina, Filipina, Indonesia, Australia Utara, Kaledonia Baru, dan Polinesia. Tumbuhan ini biasanya dikenal dengan *chaste tree* (Inggris), nirnochi (Tamil), dan jalanirgundi (sanskerta) (Thenmozi *et al.*, 2013). Beberapa daerah di Indonesia mengenal tumbuhan *V.trifolia* dengan nama seperti gendasari (Melayu), legundi, lilogundi (Palembang), langgundi (Minang), lagundi (Sunda), lengghundi (Madura), galumi (Sumbawa), sangari (Bima), danuko (Kalimantan), lanra (Makassar), lawasani, pala (Bugis), dan ai tuban (Ambon) (Ikawati, 2012).

V.trifolia merupakan salah tumbuhan yang memiliki tinggi 6 m, cabang berupa segiempat dan dapat terlihat di sekitaran air seperti kolam dan sungai. Daun *V.trifolia* berbentuk oval dengan panjang 3-12 cm, memiliki tangkai daun panjang, dan letak daunnya saling berseberangan pada cabang. Bunganya berwarna lavender hingga kebiruan dan memiliki 5 mahkota dengan 4 benang sari. Buahnya berbentuk bulat dengan diameter 5-6 mm berwarna hitam atau hitam kebiruan ketika matang (Kannathasan *et al.*, 2011).

Taksonomi dari tumbuhan Legundi (*Vitex trifolia* L.) adalah sebagai berikut (NRCS, 2014) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Verbenaceae
Genus	: <i>Vitex</i>
Spesies	: <i>Vitex trifolia</i> L.



(a)



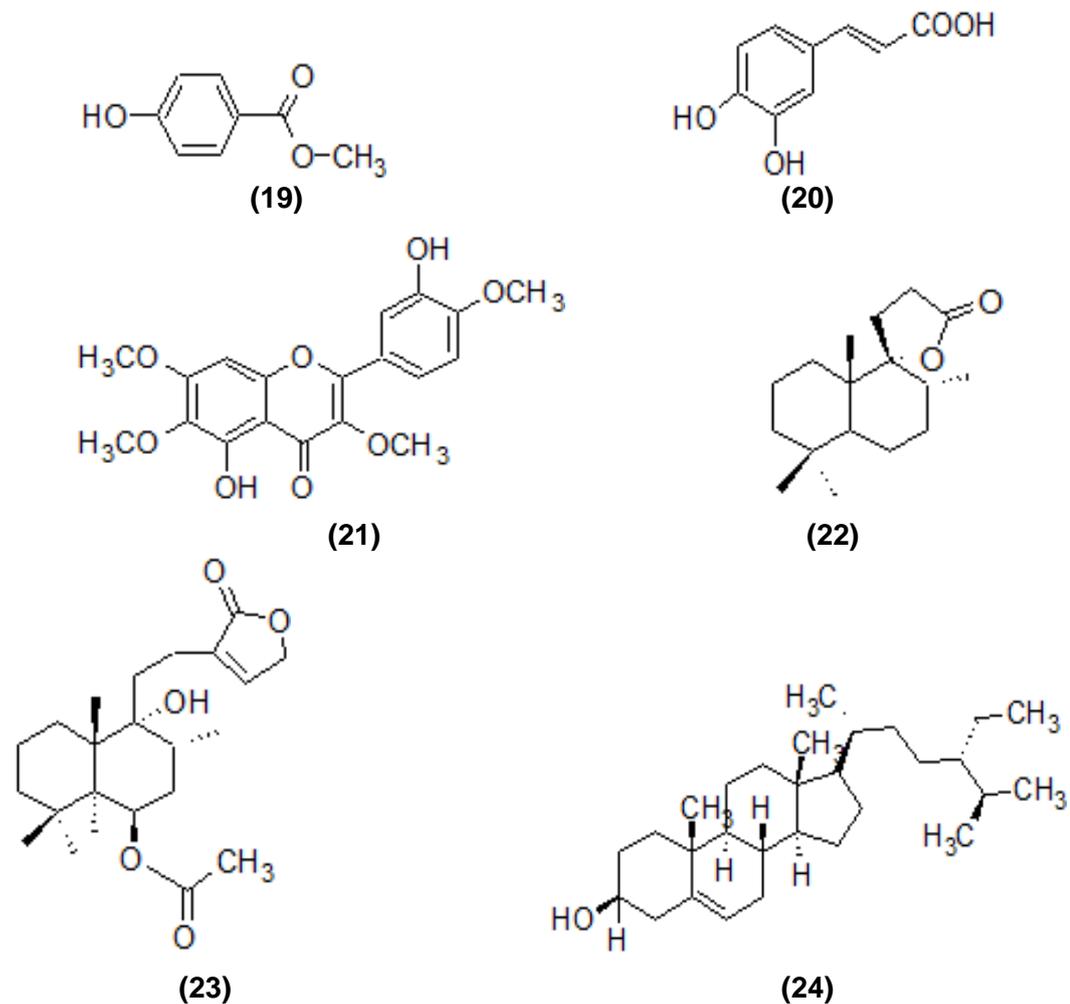
(b)

Gambar 6. Tumbuhan *Vitex trifolia*. (a) Daun *V.trifolia* Tampak Depan, (b) Daun *V.trifolia* Tampak Belakang (The Plant Observatory, 2015)

Tumbuhan *V.trifolia* digunakan secara tradisional sebagai obat demam dan batuk (Thenmozhi *et al.*, 2013). Penggunaan *V.trifolia* seringkali dicampur dengan rimpang kencur dan rimpang kunyit. Daun *V.trifolia* sering digunakan sebagai obat penenang, rematik, dan analgesik. Akarnya digunakan untuk mengobati antimetik, ekspektoran,

dan tonik. Buahnya digunakan untuk *cephalic* dan peluruh haid.

Tumbuhan *V.trifolia* dengan asal negara yang berbeda menunjukkan golongan senyawa dan aktivitas biologis yang dimiliki berbeda-beda diantaranya golongan fenolik yaitu metil-*p*-hidroksibenzoat **(19)** (Kannathasan *et al.*, 2011) dan asam *E/Z*-kafeat **(20)** (Mohamed *et al.*, 2012) dari daun *V.trifolia* asal India dan Mesir. Senyawa metil-*p*-hidroksibenzoat **(19)** dapat mengontrol pertumbuhan larva nyamuk sehingga mengurangi populasi nyamuk yang berbahaya seperti *Culex quinquefasciatus* dan *Aedes aegypti* sedangkan senyawa asam *E/Z*-kafeat **(20)** menunjukkan aktivitas antioksidan. Bagian daun *V.trifolia* asal Indonesia telah diidentifikasi senyawa golongan flavonoid yaitu viteksikarpin atau 3',5 dihidroksi-3,4',6,7-tetrametoksiflavon **(21)** (Alam *et al.*, 2002). Bagian daun juga berhasil diidentifikasi golongan terpenoid asal Indonesia dan India secara berturut-turut yaitu isoambreinolide **(22)** (Tiwari *et al.*, 2013), dan viteosin-A **(23)** (Alam *et al.*, 2002). Senyawa isoambreinolide **(22)** menunjukkan aktivitas antitubercular terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv pada konsentrasi 25 µg/mL. Senyawa viteksikarpin **(21)** dan viteosin-A **(23)** juga menunjukkan aktivitas trakeospasmolitik. Senyawa ini dapat menghambat kontraksi trakea marmut yang disebabkan oleh spasmogen histamin (Alam *et al.*, 2002). Golongan steroid juga telah diidentifikasi dari batang *V.trifolia* asal Indonesia yaitu β-sitosterol **(24)** (Mustarichie *et al.*, 2013).



Gambar 7. Struktur Senyawa dari *Vitex trifolia* (Kannathasan *et al.*, 2011; Mohamed *et al.*, 2012; Alam *et al.*, 2002; Tiwari *et al.*, 2013; Mustarichie *et al.*, 2013)

B. Radikal Bebas dan Antioksidan

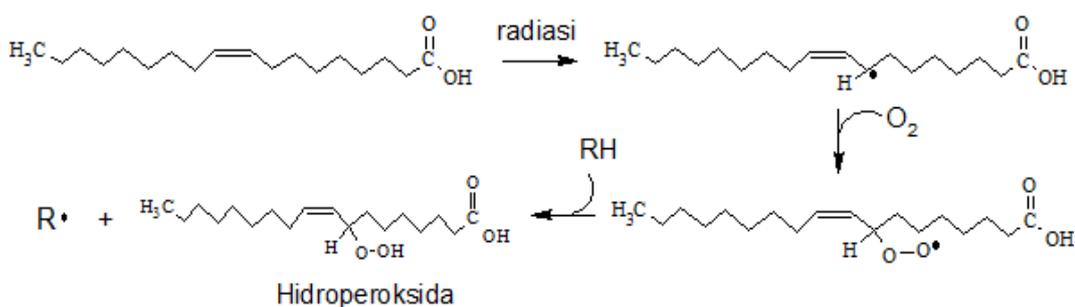
Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga orbital terluar dari atom atau molekul dapat stabil. Reaksi radikal bebas ini akan berlangsung terus menerus dan jika berlebihan

dan tidak dihentikan dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak, bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit kanker, jantung, katarak, penuaan diri, dan penyakit degeneratif lainnya.

Beberapa contoh dari radikal bebas adalah radikal ion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil (OH^{\bullet}), radikal thiol (RS^{\bullet}), triklorometil, (CCl_3^{\bullet}), dan radikal nitrit oksida (NO^{\bullet}). Radikal bebas dengan spesies oksigen yang reaktif diantaranya seperti superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil (OH^{\bullet}), peroksil (ROO^{\bullet}) dan oksigen singlet (1O_2) sedangkan radikal yang stabil adalah hidrogen peroksida (H_2O_2), hidroperoksida ($ROOH$) yang bereaksi dengan ion logam transisi menghasilkan spesies reaktif. Secara umum, radikal bebas yang ada di dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, dan transfer elektron di mitokondria. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar tubuh misalnya kondisi lingkungan (radiasi, polusi, asap rokok, dan pestisida), obat-obatan, makanan, dan minuman. Adanya antioksidan atau inhibitor radikal bebas, maka spesi radikal bebas reaktif akan terperangkap dengan cara bereaksi antioksidan membentuk radikal bebas tak reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1986). Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk memelihara fungsi fisiologis tubuh.

Salah satu mekanisme kerja antioksidan dalam tubuh yaitu terjadi pada proses peroksidasi lipid. Reaksi oksidasi antara asam lemak tidak

jenuh dengan senyawa oksigen disebut juga dengan reaksi peroksidasi lipid. Contoh asam lemak tak jenuh yaitu asam oleat dimana reaksi oksidasi terjadi pada C alil yang akan menghasilkan hidroperoksida. Hidroperoksida merupakan radikal stabil yang bereaksi dengan logam transisi menjadi spesi yang reaktif. Logam yang masuk ke dalam tubuh dapat diperoleh dari kondisi lingkungan (polusi, radiasi, dll) dan makanan. Senyawa antioksidan akan bekerja dengan mengkelat logam transisi atau memberikan elektron kepada radikal hidroperoksida. Contoh reaksi peroksidasi pada asam oleat dapat dilihat pada gambar 8. Peroksidasi pada lipid di membran sel mengakibatkan kerusakan sel dengan mengganggu fluiditas dan permeabilitas dan memberikan efek buruk pada fungsi membran yang terikat pada protein seperti enzim dan reseptor (Sarma *et al.*, 2010).



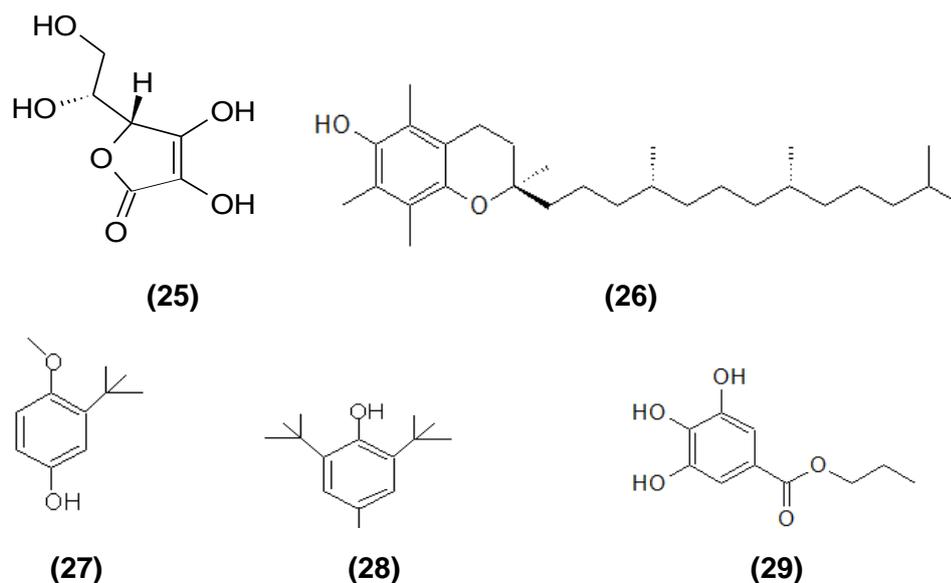
Gambar 8. Contoh Reaksi Peroksidasi Asam Oleat

Antioksidan berdasarkan fungsinya terdapat 3 jenis yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Kumalaningsih, 2006). Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatik. Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan memberikan atom hidrogen atau elektron kepada radikal bebas sehingga terbentuk senyawa yang stabil.

Antioksidan ini bekerja sebelum radikal bebas bereaksi dengan sel lain sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai pembentukan radikal bebas. Senyawa yang termasuk ke dalam jenis antioksidan primer diantaranya adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat (PG), tersier butil hidroksi quinon (TBHQ), enzim superoksida dismutase, dan α -tokoferol. Antioksidan sekunder merupakan antioksidan yang bekerja dengan mengkelat ion logam, sebagai penangkal oksigen, mengubah hidropersida menjadi molekul non-radikal, menyerap radiasi UV, dan menginaktifkan oksigen singlet. Senyawa yang termasuk ke dalam antioksidan sekunder diantaranya yaitu vitamin E, vitamin C, dan β -karoten yang diperoleh dari buah-buahan. Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Contoh dari antioksidan tersier yaitu enzim metionin sulfoksida reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel.

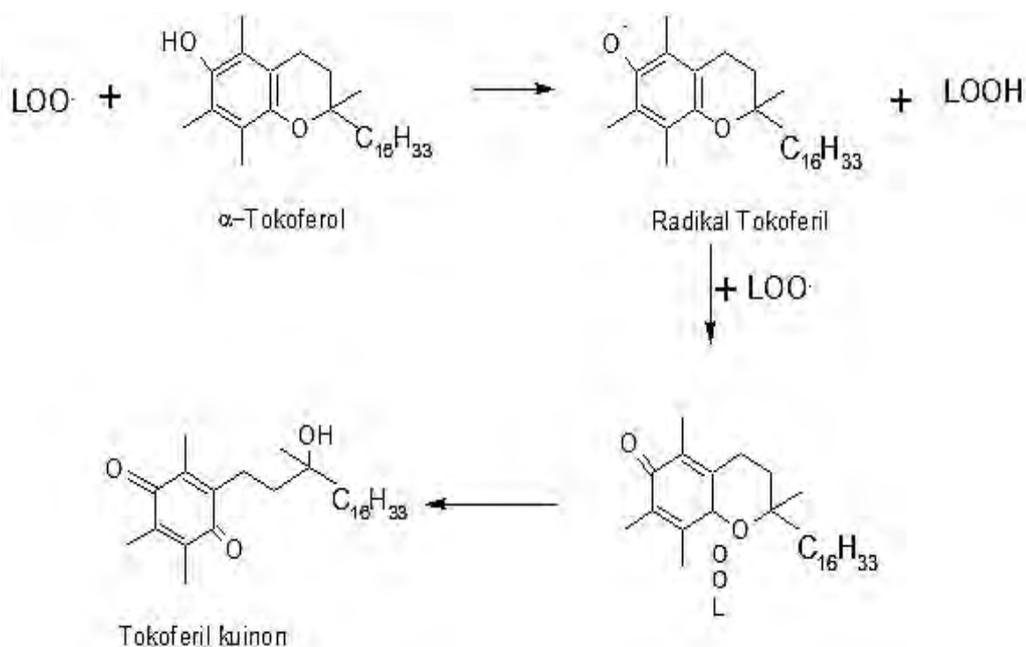
Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang secara alamiah sudah ada di dalam tubuh seperti enzim superoksida dismutase. Antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang dibutuhkan sebagai asupan dari luar tubuh. Antioksidan eksogen dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami adalah antioksidan yang dapat diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alam seperti tumbuhan dan makanan. Senyawa antioksidan alami yang

terdapat dalam tumbuhan merupakan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa golongan fenolik, flavonoid, terpenoid, dan steroid. Antioksidan alami yang umumnya terdapat dalam makanan adalah asam askorbat **(25)** dan α -tokoferol **(26)**. Antioksidan alami digunakan secara luas karena dianggap lebih aman bagi tubuh dan menyebabkan sedikit reaksi samping walaupun aktivitas antioksidannya lebih rendah daripada antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Antioksidan sintetik biasanya ditambahkan ke dalam bahan pangan yang mengandung lemak untuk mencegah terjadinya reaksi autooksidasi. Contoh senyawa antioksidan sintetik antara lain butil hidroksi anisol (BHA) **(27)**, butil hidroksi toluen (BHT) **(28)**, dan propil galat (PG) **(29)**. Antioksidan sintetik telah sepenuhnya diuji reaksi toksisitasnya, tetapi beberapa menjadi toksik setelah penggunaan dalam waktu yang lama.



Gambar 9. Contoh Antioksidan Alami dan Antioksidan Sintetik (Brewer, 2011)

Struktur senyawa yang memiliki gugus OH yang terikat pada karbon aromatik umumnya dapat berpotensi sebagai antioksidan, seperti yang ditunjukkan pada gambar 9. Salah satu struktur senyawa antioksidan yang memiliki gugus OH yang terikat pada karbon aromatik yaitu α -tokoferol. Gugus OH pada α -tokoferol yang terikat karbon aromatik akan memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas dan terstabilkan membentuk tokoferil kuinon karena adanya resonansi pada karbon aromatik.

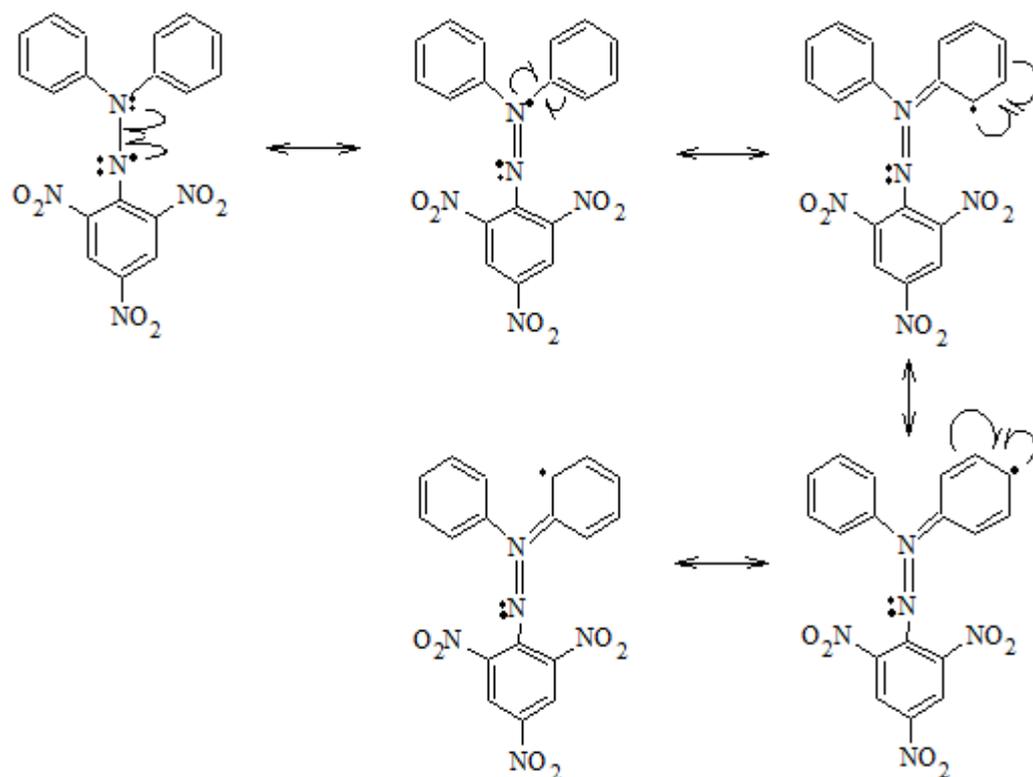


Gambar 10. Mekanisme α -tokoferol Sebagai Antioksidan (Shalaby *et al.*, 2013)

C. Uji Aktivitas Antioksidan

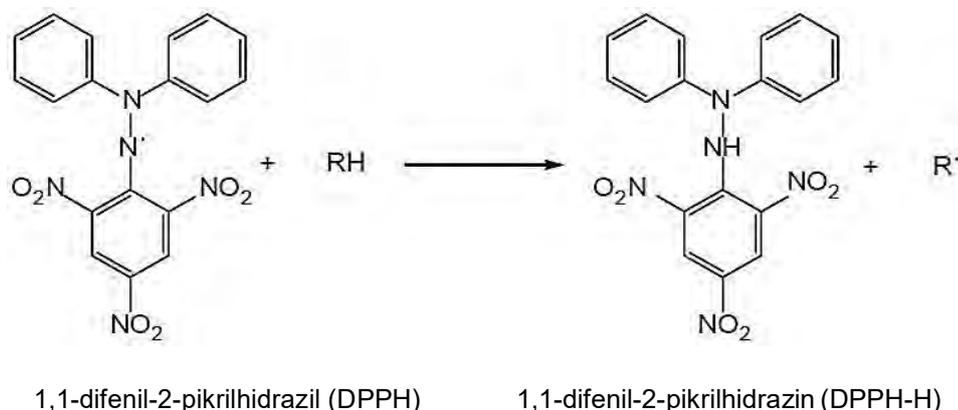
Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode diantaranya adalah metode DPPH dan metode *reducing power*. Metode radikal bebas DPPH adalah uji antioksidan berdasarkan transfer elektron (Garcia *et al.*, 2012).

Kelebihan dari metode DPPH antara lain sederhana, mudah, cepat, peka, dan memerlukan sedikit sampel. DPPH bersifat stabil, radikal sintetik yang tidak larut dalam air, metanol, dan etanol. Kestabilan radikal DPPH terjadi karena adanya resonansi dari ketiga karbon aromatik yang dimiliki struktur DPPH. Resonansi yang terjadi pada salah satu karbon aromatik radikal DPPH ditunjukkan pada gambar 11.



Gambar 11. Resonansi Radikal Stabil DPPH

Radikal bebas ini stabil pada suhu kamar, namun dapat bereaksi dengan senyawa antioksidan menghasilkan larutan berwarna (Garcia *et al.*, 2012). Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan tergantung kemampuan senyawa mendonorkan hidrogen (Aksoy *et al.*, 2013).



Gambar 12. Persamaan Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Schaich, 2015)

Prinsip metode uji antioksidan DPPH didasarkan pada reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal yang menghasilkan penangkapan atom hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan. Radikal DPPH dalam etanol diubah menjadi molekul DPPH-H yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Chang *et al.*, 2002). Reaksi yang terjadi antara DPPH dengan senyawa antioksidan ditunjukkan dalam persamaan reaksi pada gambar 12. Penyerapan maksimum radikal stabil DPPH dalam etanol adalah pada panjang gelombang 517 nm. Metode ini akan memberikan hasil yang baik dengan menggunakan pelarut metanol atau etanol karena kedua pelarut ini tidak mempengaruhi reaksi antara sampel uji sebagai antioksidan dengan DPPH sebagai radikal bebas (Molyneux, 2004). Selain digunakan untuk menguji kemampuan senyawa untuk menangkal radikal bebas, DPPH juga digunakan untuk mengukur kuantitas antioksidan dalam sistem kompleks biologis dan aktivitas antioksidan pada makanan (Shalaby, 2013).

Parameter yang digunakan untuk mengetahui hasil aktivitas antioksidan dari senyawa adalah IC_{50} (*Inhibition concentration 50%*). Nilai ini menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel/senyawa uji (simbol x) dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata dengan simbol y dari seri replikasi pengukuran. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka senyawa uji tersebut mempunyai keefektifan sebagai penangkap radikal yang lebih baik (Cholisoh dan Utami, 2008).

Metode lain yang digunakan selain metode DPPH yaitu metode *reducing power*. Metode *reducing power* diperkenalkan oleh Oyaizu pada tahun 1986. Metode ini dipilih karena mudah, cepat, dan reagen yang digunakan sederhana. Senyawa antioksidan dapat menyumbangkan elektron kepada radikal bebas yang reaktif, sehingga mereduksinya menjadi spesies yang lebih stabil pada metode *reducing power*. Senyawa antioksidan menyebabkan reduksi dari ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Reduktor (antioksidan) dalam sampel akan mereduksi Fe^{3+} dalam bentuk kompleks kalium ferisianida $[K_3Fe(CN)_6]$ berwarna kuning menjadi Fe^{2+} dalam bentuk kompleks $K_4[Fe(CN)_6]$ berwarna biru Perl Prussian. Reaksi ini terjadi pada kondisi pH 6,6 (Jayanthi dan Lalitha, 2011). Kekuatan pereduksi dapat ditentukan dengan mengukur pembentukan kompleks biru Perl Prussian yang secara spektrofotometer diukur pada panjang

gelombang 700 nm. Peningkatan absorbansi suatu campuran reaksi menunjukkan peningkatan kemampuan mereduksi dan pembentukan kompleks (Gulcin, 2010).



Gambar 13. Persamaan Reaksi Reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} (Jayanthi dan Lalitha, 2011)

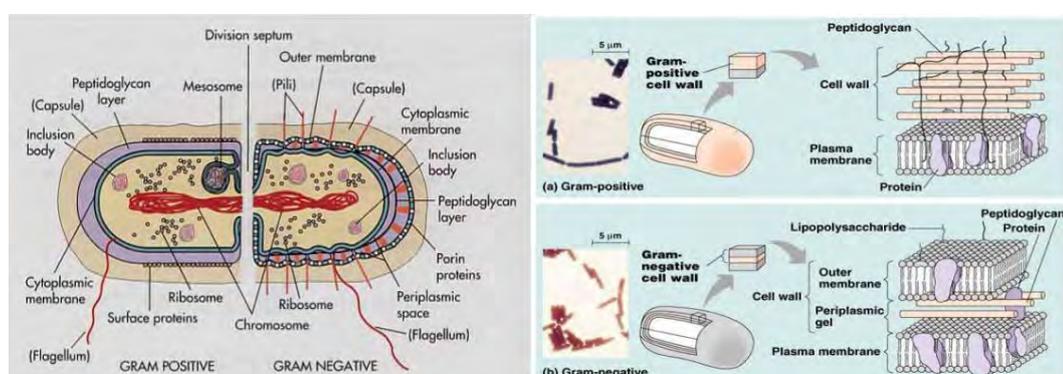
D. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler dan prokariot yang berukuran mikrometer (μm) dan terdiri atas sitoplasma yang dikelilingi oleh sebuah dinding sel yang kaku terbuat dari suatu zat khusus yang disebut peptidoglikan. Materi genetik, baik DNA maupun RNA, dan struktur intrasel yang diperlukan untuk metabolisme energi terdapat dalam sitoplasma. Bakteri bereproduksi secara aseksual melalui replikasi DNA dan pembelahan sel sederhana. Sebagian bakteri membentuk kapsul yang mengelilingi dinding sel sehingga bakteri tersebut lebih tahan terhadap serangan sistem imun inangnya.

Bakteri hidup dalam jumlah besar di hampir setiap lingkungan di permukaan bumi, dari dasar laut sampai ke saluran pencernaan manusia. Bakteri terdapat pada manusia dan hewan secara alamiah yang disebut flora normal. Flora normal tidak menyebabkan infeksi atau penyakit. Namun ada beberapa bakteri yang termasuk dalam flora normal yang juga bersifat patogen seperti *Streptococcus pneumoniae* dan

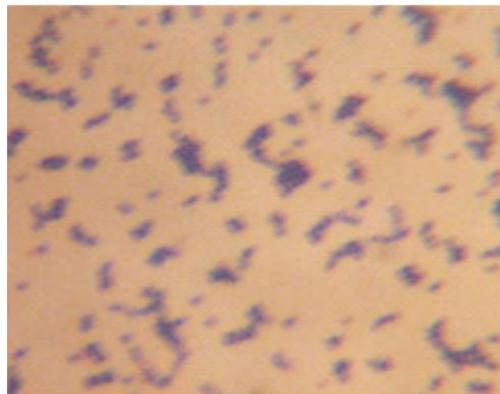
Staphylococcus aureus. Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit (Jawetz *et al.*, 2005).

Berdasarkan struktur dan dinding sel, bakteri dibedakan menjadi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. Tebalnya peptidoglikan ini menyebabkan bakteri tahan terhadap sifat osmosis yang dapat memecah sel bakteri itu. Lapisan peptidoglikan pada bakteri gram negatif lebih tipis tetapi memiliki membran luar yang tebal sehingga bersama-sama dengan peptidoglikan membentuk mantel pelindung yang kuat untuk sel. Bakteri gram positif dan gram negatif dapat dibedakan dengan pewarnaan gram. Bakteri gram positif dapat menahan zat warna ungu (metilviolet, kristalviolet, gentianviolet) dalam tubuhnya meskipun telah didekolorisasi dengan alkohol atau aseton. Sebaliknya, bakteri gram negatif tidak dapat menahan zat warna. Setelah dekolorisasi dengan alkohol maka akan kembali menjadi tidak berwarna. Bila diberikan pengecatan dengan zat warna kontras akan berwarna sesuai dengan zat warna tersebut (Hogg, 2005).



Gambar 14. Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif (Murray *et al.*, 2009)

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan infeksi kulit, hidung, uretra, vagina, dan usus pada manusia. Bakteri ini berbentuk kokus, berdiameter 0,8-1,0 m, dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C, tetapi paling baik pada suhu kamar (20°C) dengan pH optimum 7,0-7,5. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, bakteri ini resistan terhadap antibiotik seperti *penicillin*, *methicillin*, dan *vancomycin* (Harris *et al.*, 2002). Genus *Staphylococcus* tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap.



Gambar 15. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Dewi, 2013)

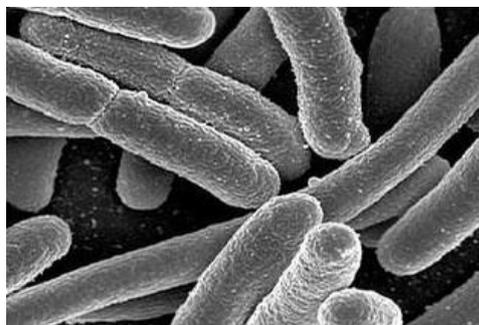
Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut

(UniProt, 2014) :

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, bersifat fakultatif anaerob, termasuk golongan Enterobacteriaceae, dapat tumbuh optimum pada pH 7-7.5, suhu optimum 37°C, memiliki panjang dengan ukuran 1–2 µm, dan diameter 0.25 µm. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, bakteri ini resistan terhadap antibiotik seperti *tetracycline*, *trimethoprim*, *ciprofloxacin*, *penicillin G*, *amphicillin*, *streptomycin*, dan *chloramphenicol* (Naine S *et al.*, 2012). Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi sistem urin dan infeksi usus (Hleba *et al.*, 2013).



Gambar 16. Bakteri *Escherichia coli* (Aristatek, 2008)

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (UniProt, 2014) :

Kingdom : Bacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

E. Antibakteri

Antibiotik merupakan senyawa sederhana yang dihasilkan oleh mikroorganisme dengan konsentrasi kecil yang bersifat menghambat atau membunuh mikroorganisme lain, sedangkan antibakteri adalah senyawa yang bersifat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Semua antibiotik adalah antibakteri, tetapi tidak semua antibakteri adalah antibiotik. Antibakteri dapat digunakan jika memiliki sifat toksik selektif yaitu dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi penderitanya. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri dibandingkan gram negatif. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel gram positif yang lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam peptidoglikan (Pelczar dan Chan, 1988).

Antibakteri dapat dibedakan beberapa jenis berdasarkan pada spektrum aktivitasnya, pengaruh toksisitas selektifnya, dan mekanisme kerjanya (AMRLS, 2014). Berdasarkan spektrum aktivitasnya, antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu *broad spectrum antibacterials* dan *narrow*

spectrum antibacterials. *Broad spectrum antibacterials* adalah antibakteri yang dapat berkerja baik pada bakteri gram positif maupun gram negatif seperti *tetracyclines*, *phenicols*, *chloramphenicol*, *carbapenems*, *trimethoprim*, dan *fluoroquinolones*, sedangkan *narrow spectrum antibacterials* adalah antibakteri yang memiliki aktivitas terbatas dan hanya dapat bekerja pada bakteri tertentu seperti *glycopeptides*, *penicillin*, *bacitracin*, *lincosamides*, *streptogramins* untuk bakteri gram positif, *polymixins* untuk bakteri gram negatif, *aminoglycosides* dan *sulfonamides* untuk bakteri aerob, dan *nitroimidazoles* untuk bakteri anaerob.

Berdasarkan pengaruh toksisitas selektifnya, antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu antibakteri bakterisidal dan bakteristatik. Bakterisidal adalah antibakteri yang bersifat membunuh bakteri seperti *aminoglycosides*, *beta-lactam*, *vancomycin*, *polymixins*, *metronidazole*, *cephalosporins*, dan *quinolones*, sedangkan bakteristatik adalah antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *tetracyclines*, *sulfonamides*, *macrolides*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *clindamycin*, dan *trimethoprim*. Beberapa antibiotik dapat bersifat bakterisidal dan bakteristatik tergantung pada dosis yang digunakan, durasi, dan laju penyerangan bakteri.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi lima yaitu:

1. Merusak dinding sel. Umumnya bakteri memiliki lapisan luar yang kaku disebut dinding sel atau peptidoglikan. Sintesis dinding sel

melibatkan sejumlah langkah enzimatik yang banyak diantaranya dihalangi oleh antibakteri. Rusaknya dinding sel bakteri misalnya ketika pemberian enzim lisosom yang pembentukannya terhambat oleh antibakteri sehingga membuat bakteri menjadi lisis. Contoh antibakteri yang bekerja merusak dinding sel yaitu *penicillin*, *cephalosporins*, *bacitracin*, dan *vancomycin*.

2. Mengubah permeabilitas membran sel. Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif. Membran sel adalah sistem pertahanan yang penting karena berfungsi memisahkan dan mengatur jalannya senyawa di dalam maupun di luar sel. Adanya antibakteri yang menghambat fungsi membran sel, maka sifat selektivitas membran sel menjadi berkurang sehingga senyawa toksik dapat masuk dan merusak sel inang. Contoh dari antibakteri ini adalah *polymixin B* dan *colistin*.
3. Menghambat sintesis protein. Sintesis protein merupakan proses penting yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup semua sel bakteri. Sasaran antibakteri untuk menghambat sintesis protein adalah dengan mengikat subunit 30S atau 50S pada ribosom. Aktivitas ini kemudian mengganggu metabolisme sel normal dari bakteri sehingga efeknya dapat membunuh bakteri atau menghambat pertumbuhannya. Contoh dari antibakteri ini adalah

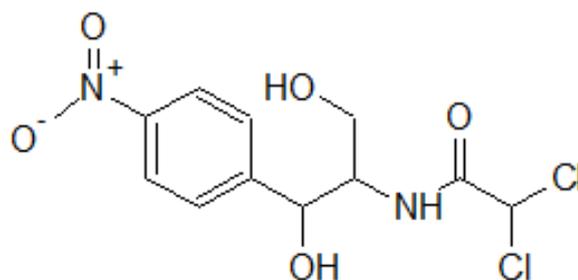
aminoglycosides, macrolides, lincosamides, chloramphenicol, dan tetracyclines.

4. Menghambat sintesis asam nukleat. DNA dan RNA adalah bagian vital dalam perkembangbiakan sel, termasuk bakteri. Beberapa antibakteri bekerja dengan mengikat komponen yang terlibat dalam proses sintesis DNA atau RNA sehingga berpengaruh terhadap proses pembentukan sel normal dan kelangsungan hidup bakteri akan terancam. Contoh dari antibakteri ini adalah *quinolones* dan *metronidazole*.
5. Menghambat kerja enzim. Kerja antibiotik lainnya yaitu menghambat proses penting untuk kehidupan bakteri patogen. Contoh dari antibakteri ini adalah *sulfonamides* dan *trimethoprim* yang mengganggu jalannya pembentukan asam folat, prekursor penting untuk sintesis DNA. Target *sulfonamides* mengikat dihidropteroate sintase, *trimethoprim* menghambat dihidrofolat reduktase, kedua enzim tersebut merupakan faktor penting dalam pembentukan asam folat.

Kloramfenikol atau kloramisetin merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang memiliki efek bakteristatik terhadap berbagai jenis bakteri gram positif dan gram negatif. Antibiotik ini pertama kali ditemukan oleh David Gottlieb (1911-1982) yang mengisolasi kloramfenikol dari jamur *Streptomyces venezuelae* (Joseph *et al.*, 2014). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa antibiotik ini juga dapat diisolasi dari

Streptomyces sp. 10CM9 dan diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi cakram. Kloramfenikol yang diisolasi dari *Streptomyces* sp. 10CM9 menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* berturut-turut sebesar 21 mm dan 30 mm (Ozcan, 2015).

Kloramfenikol memiliki rumus molekul $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ dan berat molekul sebesar 323,1322 g/mol. Kloramfenikol dalam keadaan murni berupa kristal berbentuk jarum atau lempeng memanjang, berwarna putih keabu-abuan, tidak berbau, dan rasanya pahit. Antibiotik ini dapat diberikan secara oral dan dalam bentuk salep. Efek samping penggunaan antibiotik kloramfenikol yang terlalu lama dan dengan dosis berlebihan adalah anemia (Sumardjo, 2009). Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat sintesis protein dengan mengikat sisi aktif subunit 50S ribosom sehingga menghambat fungsi enzim peptidil transferase untuk membentuk ikatan peptida pada bakteri. Bakteri menjadi resisten terhadap kloramfenikol dengan menghasilkan enzim *chloramphenicol acetyltransferase* yang dapat menonaktifkan kloramfenikol (Joseph *et al.*, 2014).



Gambar 17. Struktur Kloramfenikol (Ozcan *et al.*, 2015)

F. Uji Aktivitas Antibakteri

Metode penyebaran (*diffusion method*) dan metode pengenceran (*dilution method*) merupakan dua metode yang dapat dilakukan untuk uji antibakteri. Metode penyebaran terdiri dari tiga macam yaitu metode cakram kertas (*disc diffusion method*), metode cairan dalam cincin (*ring diffusion method*), dan metode lubang (*well diffusion method*). Sedangkan untuk metode pengenceran terdiri dari dua macam metode yaitu metode pengenceran dalam agar (*agar dilution method*) dan metode pengenceran dalam tabung (*tube dilution method*) (Kristanti *et al.*, 2008). Metode yang umumnya sering digunakan yaitu metode cakram kertas. Kelebihan metode cakram kertas adalah cepat, mudah, dan sederhana dalam pengerjaannya (Nuria *et al.*, 2009).

Prinsip dari metode difusi agar ini adalah cakram kertas dengan diameter tertentu dijenuhkan atau dibasahi dengan larutan uji pada konsentrasi tertentu (larutan yang dibuat dari senyawa yang akan diuji antibakterinya). Selanjutnya, cakram kertas ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Ukuran standar inokulum bakteri yang umum digunakan yaitu 1×10^8 CFU/mL atau sama dengan standar kekeruhan Mc. Farland 0,5. Cara lain yang dapat dilakukan adalah cakram kertas ditempatkan pada media padat yang sudah diinokulasi bakteri terlebih dahulu kemudian baru ditetesi oleh larutan uji pada konsentrasi tertentu (Das *et al.*, 2010). Kemudian media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Adanya

daerah jernih di sekeliling cakram kertas setelah inkubasi menunjukkan larutan uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Luas daerah jernih sekeliling cakram atau diameter zona hambat yang diperoleh dipergunakan untuk mengukur kekuatan daya kerja larutan dengan aktivitas antibakteri. Diameter hambat dapat diamati dan dihitung menggunakan penggaris atau jangka sorong.

Faktor yang mempengaruhi metode difusi agar yaitu komposisi media. Perubahan komposisi media agar dapat mengubah sifat media dalam hal aktivitas beberapa bakteri, kecepatan difusi antibakteri, dan kecepatan pertumbuhan antibakteri sehingga berdampak pada ukuran diameter hambat. Perubahan komposisi media tersebut salah satunya yaitu perbedaan pH media (Pelczar dan Chan, 1988).

G. Metode Pemisahan dan Penentuan Jumlah Senyawa

Metode pemisahan yang dilakukan untuk memisahkan senyawa dari campurannya adalah dengan metode ekstraksi. Metode kromatografi lapis tipis digunakan untuk menentukan jumlah senyawa yang terdapat pada ekstrak dan fraksi dari sampel.

1. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode penarikan suatu senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi dilakukan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan ke dalam pelarut yang dipakai pada proses ekstraksi

tersebut (Kristanti *et al.*, 2008). Pemilihan metode ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu sifat jaringan tanaman yang diekstraksi dan sifat kandungan zat aktif dalam tanaman yang akan diisolasi.

Maserasi merupakan proses peredaman sampel berbentuk padat dengan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam proses isolasi senyawa bahan alam karena akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat peredaman tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Metode maserasi dapat digunakan untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa akibat pemanasan. Ekstraksi senyawa dengan metode maserasi akan sempurna tergantung dari pemilihan pelarut yang sesuai dan waktu perendaman. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses senyawa bahan alam karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000).

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar dan polar. Senyawa yang terkandung nantinya akan terpisah sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Senyawa akan tertarik oleh pelarut yang tingkat kepolarannya sama dengan senyawa tersebut.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan metode analisis pemisahan

senyawa yang sederhana, mudah, cepat, dan memerlukan bahan yang sedikit. Prinsip kerja KLT adalah adsorpsi. Adsorben dilapiskan pada lempeng yang bertindak sebagai penunjang fase diam. Fase gerak akan merayap sepanjang fase diam dan akan terbentuk kromatogram (Khopkar, 2010). Setelah sampel ditotolkan pada fase diam, senyawa-senyawa dalam sampel akan terelusi dengan kecepatan yang bergantung pada sifat kepolaran senyawa tersebut pada fasa diam dan fasa gerak yang digunakan. Senyawa yang memiliki polaritas hampir sama dengan fase geraknya akan terelusi terlebih dahulu dibandingkan senyawa dengan sifat polaritas yang berbeda dengan fase geraknya. Secara umum senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran rendah akan terelusi lebih cepat daripada senyawa-senyawa polar karena senyawa polar terikat lebih kuat pada bahan silika yang mengandung silanol (SiOH_2) yang memiliki afinitas lebih kuat terhadap senyawa polar (Kristanti dkk, 2008).

Pemilihan eluen yang tepat adalah salah satu keberhasilan KLT. Kepolaran senyawa-senyawa dalam sampel berpengaruh terhadap pemilihan eluen. Eluen yang digunakan harus mempunyai kemurnian tinggi. Eluen dapat berupa pelarut tunggal dan campuran dengan susunan tertentu. Identifikasi senyawa hasil pemisahan pada kromatogram dilakukan dengan melihat noda di bawah sinar UV. KLT dilakukan untuk menampakkan jumlah senyawa-senyawa yang ada dalam campuran (menurut noda yang muncul) sehingga mempermudah dalam menganalisis pemisahan senyawa pada ekstrak dan fraksi yang diperoleh.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tujuan Operasional Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* asal Lombok; mendapatkan fraksi-fraksinya yang terlarut dalam pelarut *n*-heksana dan etil asetat; mengidentifikasi profil fitokimia daun *Vitex trifolia* asal Lombok; mengukur aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi menggunakan metode cakram kertas (*disc diffusion method*); dan mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi dengan metode DPPH dan *reducing power*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Kimia FMIPA UNJ Jakarta Timur, dari bulan Februari 2015 hingga Desember 2015.

C. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang meliputi maserasi dan partisi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Pengujian kandungan senyawa yang ada di tiap ekstrak metanol dan beberapa fraksi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis, uji fitokimia, dan uji aktivitas ekstrak metanol dan beberapa fraksi yang didapat. Uji aktivitas ekstrak dan fraksi yang didapat meliputi uji aktivitas antibakteri dengan metode

cakram kertas (*disc diffusion method*) dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan *reducing power*.

D. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Vitex trifolia* yang diperoleh dari Lombok, Nusa Tenggara Barat dan telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriensis LIPI Cibinong.

E. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, blender, pipet gondok, buret, corong gelas, corong pisah, alat penguap vakum putar/*rotary evaporator* (EYELA USA N-1001-S-WD, Cat Num 216959), *magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS 7), lampu UV, peralatan kromatografi lapis tipis, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Biospec 1601), dan alat-alat gelas yang umum digunakan. Uji antibakteri menggunakan jarum ose, *petri dish*, inkubator, *laminar air flow*, dan mikro pipet.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, berbagai pelarut dengan kualifikasi teknis yang telah didestilasi (metanol, *n*-heksana, dan etil asetat), dan silika gel (Merck Cat. Num 105553) sebagai fasa diam dalam kromatografi, 1,1-difenil-pikrilhidrazil digunakan sebagai reagen pada uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, *potassium ferricyanide* ($K_3Fe(CN)_6$), $FeCl_3$, *trichloroacetic acid*

(TCA) (Merck), dan buffer fosfat (200 mM, pH 6,6) yang digunakan sebagai reagen pada uji aktivitas antioksidan dengan metode *reducing power*, asam askorbat (Merck milipore Cat. Num 1531) dan BHT (Brataco Chem) yang digunakan sebagai standar dalam uji antioksidan. Uji antibakteri menggunakan media *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan antibiotik standar berupa kloramfenikol.

F. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Daun kering *Vitex trifolia* diperoleh dari Lombok, Nusa Tenggara Barat dan spesimennya sudah diidentifikasi di Herbarium Bogoriense LIPI Cibinong. Daun kering *Vitex trifolia* dihaluskan menggunakan blender sampai berbentuk serbuk. Serbuk daun ditimbang dan diperoleh berat sebesar 1,10 kg.

2. Maserasi dan Partisi Cair-Cair Daun *Vitex trifolia*

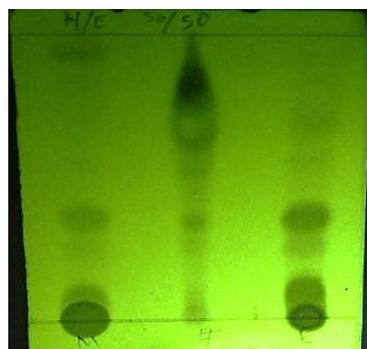
Serbuk daun *Vitex trifolia* asal Lombok dimaserasi menggunakan pelarut metanol teknis yang telah didistilasi. Maserasi dilakukan selama 5x24 jam dengan penggantian metanol baru. Pengambilan ekstrak dilakukan setiap 1x24 jam. Hasil maserasi digabungkan dan disaring hingga diperoleh ekstrak metanol.

Ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* yang diperoleh dipartisi cair-

cair menggunakan dua pelarut secara berturut-turut yaitu *n*-heksana, dan etil asetat. Ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat yang didapat dikeringkan dengan *rotary evaporator* dan ditimbang. Ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat yang diperoleh secara berturut-turut sebesar 65,32 gram; 9,51 gram; dan 20,69 gram.

3. Kromatografi Lapis Tipis

Fasa diam yang digunakan yaitu silika. Plat silika dipotong berukuran 5X5 cm dan dibuat garis atas dan garis bawah masing-masing sebesar 0,5 cm. Sebelum menotolkan sampel pada plat, dilakukan pemilihan eluen. Pemilihan eluen dilakukan dengan menggunakan pelarut tunggal terlebih dahulu, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan kombinasi antara dua pelarut dengan perbandingan yang berbeda. Eluen dibiarkan memenuhi ruang *chamber* selama beberapa menit. Eluen yang dipilih pada penelitian ini yaitu *n*-heksana:etil asetat (1:1).



Gambar 18. KLT Ekstrak Metanol dan Beberapa Fraksi

Sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler dengan diameter $\pm 0,5\text{mm}-1\text{mm}$. Selanjutnya plat KLT dimasukkan dalam *chamber* dengan tinggi pelarut tidak melewati batas bawah pada plat KLT dan dibiarkan beberapa saat sebagai waktu pengelusan. Setelah mencapai batas atas, plat KLT diambil dan dikeringkan. Hasil plat KLT tersebut dilihat di bawah lampu UV.

4. Uji Fitokimia

a) Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan kloroform:amonia (9:1) ke dalam 2 mL ekstrak metanol daun *Vitex trifolia*. Campuran tersebut ditambah 20 tetes asam sulfat 1 M dan dikocok. Lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan asam pada bagian atas dan lapisan kloroform pada bagian bawah. Lapisan asam (lapisan atas) dipipet dan dimasukkan ke dalam dua buah tabung reaksi. Tabung reaksi yang pertama ditambahkan dua tetes pereaksi Meyer dan tabung reaksi kedua ditambahkan dua tetes pereaksi Dragendorf. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi yang pertama dan timbulnya endapan berwarna jingga atau coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua.

b) Uji Flavonoid dan Fenolik

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan 2 mL ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* dalam air panas yang dididihkan selama 5

menit. Kemudian campuran tersebut dibagi ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambah sedikit serbuk Mg, 1 mL HCl pekat, dan 1 mL amil alkohol. Tabung kedua ditambah larutan FeCl_3 1%. Adanya flavonoid pada tabung reaksi pertama ditandai dengan warna merah, jingga, atau kuning pada lapisan amil alkohol tergantung pada struktur flavonoid yang terkandung dalam sampel tersebut. Adanya fenolik pada tabung kedua ditandai dengan warna biru atau biru-ungu.

c) Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan 2 mL ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* ke dalam air panas yang dididihkan selama 5 menit. Kemudian diambil 10 mL larutan tersebut ke tabung reaksi dalam keadaan panas. Kocok kuat secara vertikal larutan tersebut selama 10 detik. Bila terbentuk busa selama 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida pekat menunjukkan adanya saponin.

d) Uji Steroid dan Terpenoid

Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan meneteskan 2-3 tetes ekstrak metanol daun *Vitex trifolia* ke dalam plat tetes. Ekstrak yang sudah diteteskan dalam plat tetes didiamkan hingga kering. Selanjutnya ke dalam plat tetes ditambahkan 2-3 tetes anhidrida asetat dan diaduk, lalu ditambahkan 1-2 tetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya

warna hijau sampai biru. Adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-ungu. Bila terdapat steroid dan terpenoid secara bersamaan akan terbentuk bulatan berwarna hijau sampai biru di bagian tengah dan cincin merah sampai ungu di bagian pinggir lubang plat tetes.

5. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Senyawa hasil ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* asal Lombok dilarutkan dalam pelarut metanol kemudian dibuat dengan konsentrasi bervariasi yaitu 12.5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing 1 mL larutan uji ditambahkan 3 mL larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol. Setiap campuran dikocok lalu diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi masing-masing sampel diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 2 kali pengulangan. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap asam askorbat dan BHT sebagai standar, metanol dan DPPH tanpa sampel sebagai kontrol, dan metanol sebagai blangko.

Absorbansi kontrol merupakan nilai absorbansi DPPH tanpa sampel dan absorbansi sampel merupakan nilai absorbansi DPPH yang ditambah sampel. Data aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Aktivitas antioksidan terhadap DPPH (%) =

$$\frac{(Absorbansi_{kontrol} - Absorbansi_{sampel})}{Absorbansi_{kontrol}} \times 100\%$$

6. Uji Aktivitas Antioksidan dengan *Reducing power*

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *reducing power*. Senyawa hasil ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat daun *Vitex trifolia* asal Lombok dilarutkan dengan pelarut metanol. Kemudian dibuat dengan konsentrasi bervariasi yaitu 12.5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan sampel ditambahkan larutan buffer fosfat (200 mM; pH 6,6) dan larutan $K_3Fe(CN)_6$ 1% masing-masing sebanyak 2,5 mL. Setiap campuran dikocok lalu diinkubasi pada suhu 50°C selama 20 menit. Setelah itu, dilanjutkan dengan penambahan *trichloroacetic acid* (TCA) 1% sebanyak 2,5 mL dan disentrifuge selama 10 menit. Sebanyak 2,5 mL filtrat dari campuran ditambahkan 2,5 mL akuades dan dilanjutkan dengan penambahan 0,5 mL $FeCl_3$ 0,1%.

Absorbansi masing-masing sampel diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 700 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan 2 kali pengulangan. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap BHT dan asam askorbat sebagai standar, campuran reagen tanpa sampel sebagai kontrol, dan campuran metanol dan akuades sebagai blangko. Absorbansi

kontrol merupakan nilai absorbansi campuran reagen tanpa sampel dan absorbansi sampel merupakan nilai absorbansi campuran reagen yang ditambah sampel.

Data aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

Aktivitas antioksidan terhadap *reducing power* (%) =

$$\frac{(Absorbansi_{sampel} - Absorbansi_{kontrol})}{Absorbansi_{sampel}} \times 100\%$$

7. Penentuan Nilai IC₅₀

Setelah persen aktivitas antioksidannya diperoleh, selanjutnya ditentukan nilai IC₅₀ pada semua sistem. Nilai IC₅₀ dapat diketahui dengan membuat grafik hubungan antara konsentrasi dengan persen aktivitas antioksidan. Konsentrasi (ppm) sebagai sumbu x dan persen aktivitas antioksidan (%) sebagai sumbu y.

Berdasarkan grafik dapat ditentukan IC₅₀nya yaitu konsentrasi dimana aktivitas antioksidannya bernilai 50% dengan menggunakan program *Interactive Chart Design Data VBA* (Add-In Software For Microsoft Excel 2007-2010).

8. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada sampel. Uji antibakteri menggunakan antibiotik standar kloramfenikol dalam bentuk *paper disc*. Pengujian diawali dengan membuat suspensi bakteri *S.aureus* dan *E.coli* sesuai dengan standar Mc. Farland yaitu 10⁸ CFU/mL. Bakteri dikulturkan

dalam media *Nutrient Agar* (NA) dengan metode agar miring untuk memperbanyak jumlah bakteri sebagai stok bakteri. Kemudian bakteri diambil dari stok sebanyak 1 ose untuk dikulturkan dalam media *Tryptic Soy Broth* (TSB). Selanjutnya, kultur bakteri diinkubasi pada suhu ruang dengan menggunakan *shaker* pada kecepatan 150 rpm supaya pertumbuhan bakteri lebih cepat dan merata. Jumlah koloni bakteri disesuaikan dengan standar Mc. Farland yaitu 10^8 CFU/mL. Setelah jumlah koloni bakteri sudah sesuai, dimasukkan 0,5 mL suspensi *S.aureus* dan 1 mL suspensi *E.coli* ke dalam masing-masing cawan petri. Media yang digunakan untuk uji adalah TSA. Sebanyak 15-20 mL media TSA dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri yang sudah berisi suspensi bakteri tersebut hingga rata. Media yang sudah rata kemudian didiamkan hingga memadat. *Blank disc* yang telah berisi ekstrak dan fraksi-fraksi *Vitex trifolia* diletakkan di atas media TSA berisi bakteri yang telah disediakan dan diamkan selama 1 jam. Diameter *blank disc* yang digunakan sebesar 6 mm. *Blank disc* ekstrak dan fraksi-fraksi dibuat dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 5.000 ppm, 10.000 ppm, 20.000 ppm, dan 40.000 ppm. Selanjutnya, *blank disc* yang berisi sampel, antibiotik (kontrol positif), dan pelarut (kontrol negatif) dalam TSA diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona bening yang dihasilkan dari *paper disc* diamati dan ditentukan konsentrasi hambat minimum.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi dan Partisi Daun Legundi (*Vitex trifolia* L.)

Serbuk halus daun *V.trifolia* asal Lombok berwarna hijau sebanyak 1,10 kg diekstraksi dengan 2 liter metanol dan didapatkan ekstrak metanol berwarna hijau kehitaman sebesar 65,32 gram dengan rendemen 5,94%. Ekstraksi daun *V.trifolia* dilakukan dengan metode maserasi karena efektif, mudah, dan dapat menghindari rusaknya senyawa yang ada di dalam sampel akibat pemanasan. Masing-masing ekstrak metanol sebanyak 1 gram digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dan antioksidan.



(a)



(b)

Gambar 19. Daun *Vitex trifolia*. (a) Daun kering *V.trifolia* (b) Serbuk halus daun *V.trifolia*

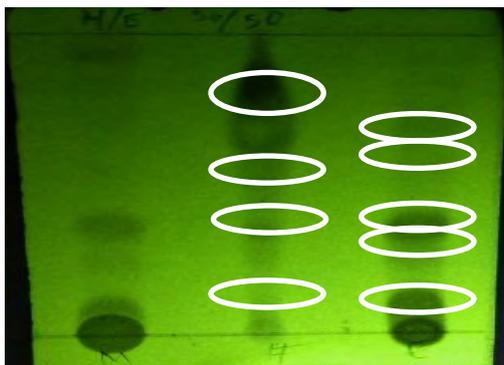
Ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya dipartisi menggunakan dua pelarut secara berturut-turut, yaitu *n*-heksana dan etil asetat. Partisi ekstrak metanol daun *V.trifolia* dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terlarut dalam ekstrak metanol berdasarkan perbedaan kepolarannya. Proses ini dilakukan secara berkesinambungan dimulai dari pelarut non-polar yaitu *n*-heksana hingga

selanjutnya dengan pelarut polar yaitu etil asetat. Partisi diawali dengan menambahkan pelarut *n*-heksana ke dalam ekstrak metanol kemudian dikocok menggunakan *magnetic stirrer* dan didiamkan dalam corong pisah.

Partisi yang dilakukan dengan pelarut *n*-heksana menghasilkan dua lapisan pada corong pisah dimana lapisan atas merupakan fraksi yang terlarut dalam *n*-heksana sedangkan lapisan bawah merupakan fraksi yang terlarut dalam metanol. Fraksi yang terlarut dalam pelarut *n*-heksana diambil dan fraksi yang terlarut dalam metanol dipartisi lagi dengan *n*-heksana sampai tiga kali. Fraksi *n*-heksana dari ketiganya digabungkan dan diuapkan dengan *rotatory evaporator* sehingga didapat fraksi *n*-heksana sebanyak 9,51 gram.

Ekstrak metanol dipartisi lebih lanjut dengan pelarut etil asetat sampai tiga kali. Proses partisi dengan pelarut etil asetat ini perlu ditambahkan H₂O untuk memperlebar kepolaran antara fraksi etil asetat dengan fraksi metanol sehingga memudahkan terjadinya pemisahan. Sifat H₂O yang polar akan terlarut ke dalam metanol yang juga bersifat polar. Setelah dikocok dengan *magnetic stirrer* dan didiamkan dalam corong pisah, diperoleh dua lapisan pada larutan dimana lapisan atas merupakan fraksi yang terlarut dalam etil asetat sedangkan lapisan bawah merupakan fraksi yang terlarut dalam metanol-H₂O. Fraksi yang terlarut dalam etil asetat digabungkan dan diuapkan dengan *rotatory evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat sebanyak 20,69 gram.

Setelah didapatkan ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat yang bebas dari pelarut dilakukan analisis dengan KLT untuk mengetahui jumlah senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol dan beberapa fraksi hasil partisi daun legundi berdasarkan kepolarannya. Fasa diam pada KLT yang digunakan yaitu silika dan fasa gerak (eluen) yaitu campuran pelarut *n*-heksana dan etil asetat (50:50). Eluen ini dipilih berdasarkan uji pemilihan pelarut yang paling sesuai (Lampiran 6). Campuran pelarut *n*-heksana dan etil asetat (50:50) menghasilkan pemisahan paling jelas dibandingkan dengan pelarut yang lain.



Gambar 20. Uji KLT Ekstrak dan Fraksi *Vitex trifolia* Asal Lombok dengan Pelarut *n*-heksana dan Etil Aetat (50:50)

Hasil uji KLT dapat dilihat adanya senyawa-senyawa yang berpendar di bawah lampu UV. Hasil kromatogram pada fraksi *n*-heksana terdapat empat komponen yang berpendar dalam lampu UV, komponen-komponen yang tampak ini memungkinkan adanya senyawa nonpolar yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Golongan senyawa yang diperkirakan terdapat dalam fraksi *n*-heksana adalah golongan terpenoid dan steroid. Hasil kromatogram pada fraksi etil asetat terdapat lima

komponen yang berpendar di bawah lampu UV, komponen-komponen yang tampak ini memungkinkan adanya senyawa polar dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang terlarut dalam fraksi etil asetat. Golongan senyawa yang diperkirakan terdapat dalam fraksi etil asetat adalah fenolik dan flavonoid.

B. Hasil Skrining Fitokimia

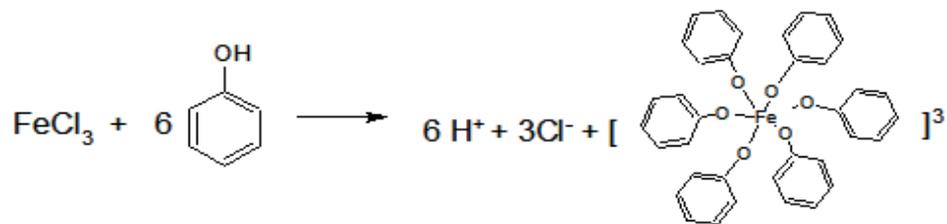
Skrining fitokimia dilakukan untuk memprediksi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun *V.trifolia* L. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun *V.trifolia* asal Lombok ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1 . Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Legundi (*Vitex trifolia* L) asal Lombok

Uji Golongan	Kandungan
Alkaloid	-
Flavonoid	-
Fenolik	+
Saponin	-
Terpenoid	
Steroid	+

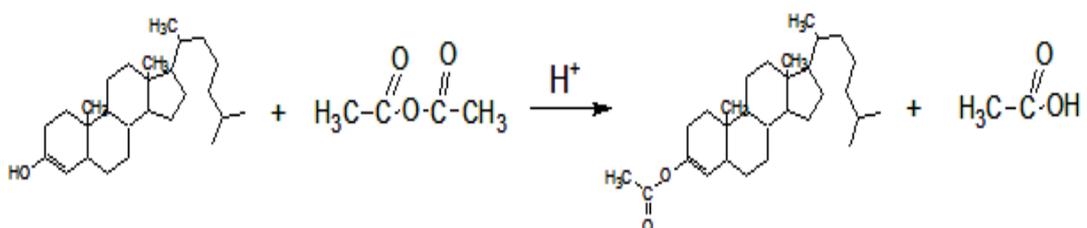
Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada tabel 1, diperkirakan ekstrak metanol daun *V.trifolia* asal Lombok mengandung senyawa fenolik dan steroid. Hasil positif senyawa golongan fenolik ditandai dengan terbentuknya warna biru atau biru-ungu setelah penambahan FeCl_3 . Perubahan warna terjadi karena terbentuknya ikatan kovalen koordinasi antara ion besi (III) dengan gugus OH fenolik. Dilihat dari warna biru yang dihasilkan pada larutan tidak pekat, maka diperkirakan tidak banyak

senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak metanol daun *V.trifolia* asal Lombok.

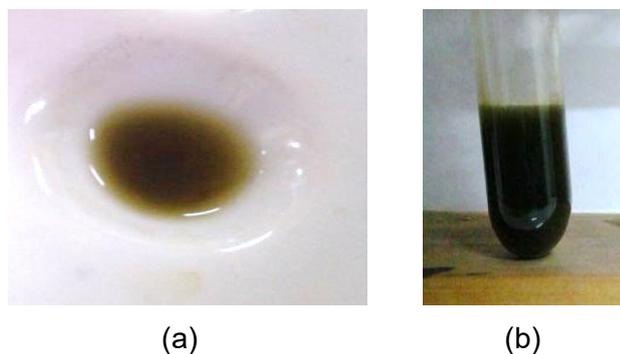


Gambar 21. Mekanisme Reaksi Uji Fenolik

Sedangkan hasil positif senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau setelah penambahan anhidrida asetat dan H_2SO_4 . Uji fitokimia senyawa golongan steroid menghasilkan warna hijau yang lebih pekat, maka diperkirakan banyak senyawa steroid yang terkandung pada ekstrak metanol daun *V.trifolia* asal Lombok.



Gambar 22. Mekanisme Reaksi Uji Steroid



Gambar 23. Hasil Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Legundi. (a) Hasil Uji Fitokimia Steroid (b) Hasil Uji Fitokimia Fenolik

Penelitian skrining fitokimia terhadap *V.trifolia* telah dilakukan sebelumnya. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol dari daun *V.trifolia* asal

India ditunjukkan pada tabel 2 (Mary *et al.*, 2014).

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Legundi (*Vitex trifolia*) asal India

Uji Golongan	Kandungan
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Fenolik	+
Saponin	+
Terpenoid	+
Steroid	-

Perbedaan kandungan flavonoid dalam tanaman dapat disebabkan karena perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh, suhu, sinar UV, hara, ketersediaan air, dan kadar CO₂ dalam atmosfer (Sejati *et al.*, 2012). Mengacu pada penelitian tersebut, perbedaan kandungan flavonoid antara *Vitex trifolia* asal Lombok dan India kemungkinan dapat disebabkan karena semua faktor tersebut.

C. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

1. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

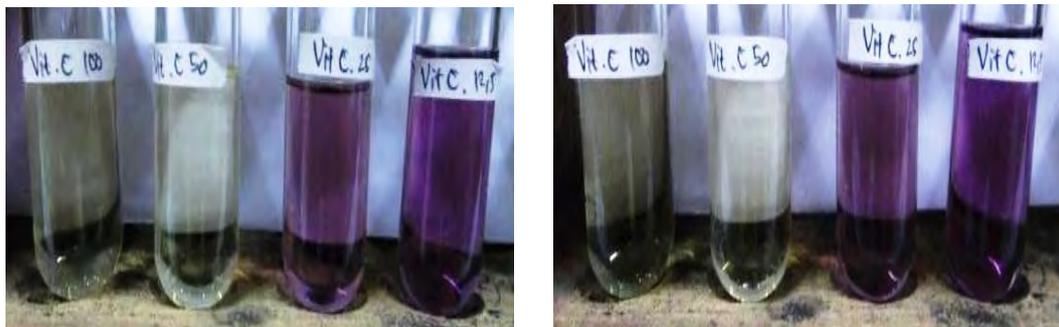
Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan untuk melakukan uji aktivitas antioksidan karena sederhana, mudah, cepat, sensitif, dan hanya membutuhkan sedikit sampel. Mekanisme pada metode penangkapan radikal DPPH adalah dengan menyumbangkan elektron yang tak berpasangan pada radikal DPPH dengan cara mereduksi DPPH menjadi DPPH-H. DPPH merupakan senyawa radikal sintesis yang stabil dan tidak larut dalam air sehingga

digunakan pelarut metanol. Larutan DPPH dalam metanol akan menghasilkan warna ungu tua. Penggunaan metanol sebagai pelarut pada DPPH tidak mempengaruhi reaksi antara sampel uji dengan DPPH sebagai radikal bebas (Schaich *et al.*, 2015).

Pengamatan yang dapat dilihat dalam metode DPPH yaitu terjadi perubahan warna pada larutan dari ungu sebelum inkubasi menjadi kuning setelah inkubasi karena radikal DPPH bereaksi dengan senyawa yang ada di dalam ekstrak dan beberapa fraksi tersebut. Senyawa yang ada dalam larutan standar dan sampel berperan sebagai antioksidan akan mendonasikan elektronnya kepada radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang berwarna ungu sehingga radikal tersebut menjadi senyawa dalam bentuk stabil yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) yang berwarna kuning. Semakin banyak elektron dari senyawa yang berikatan dengan DPPH, maka intensitas warna akan semakin menurun (semakin kuning terang) dan semakin tinggi pula aktivitas antioksidan larutan standar dan sampel tersebut.



Gambar 24. Warna Larutan Uji Antioksidan BHT Dalam Metode DPPH.
(a) Larutan DPPH + BHT sebelum inkubasi
(b) Larutan DPPH + BHT setelah inkubasi



(a)

(b)

Gambar 25. Warna Larutan Uji Antioksidan Asam Askorbat Dalam Metode DPPH.

(a) Larutan DPPH + Asam Askorbat sebelum inkubasi

(b) Larutan DPPH + Asam Askorbat setelah inkubasi



(a)

(b)

Gambar 26. Warna Larutan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Dalam Metode DPPH.

(a) Larutan DPPH + ekstrak metanol sebelum inkubasi

(b) Larutan DPPH + ekstrak metanol setelah inkubasi



(a)

(b)

Gambar 27. Warna Larutan Uji Antioksidan Fraksi *n*-Heksana Dalam Metode DPPH.

(a) Larutan DPPH + fraksi *n*-heksana sebelum inkubasi

(b) Larutan DPPH + fraksi *n*-heksana setelah inkubasi



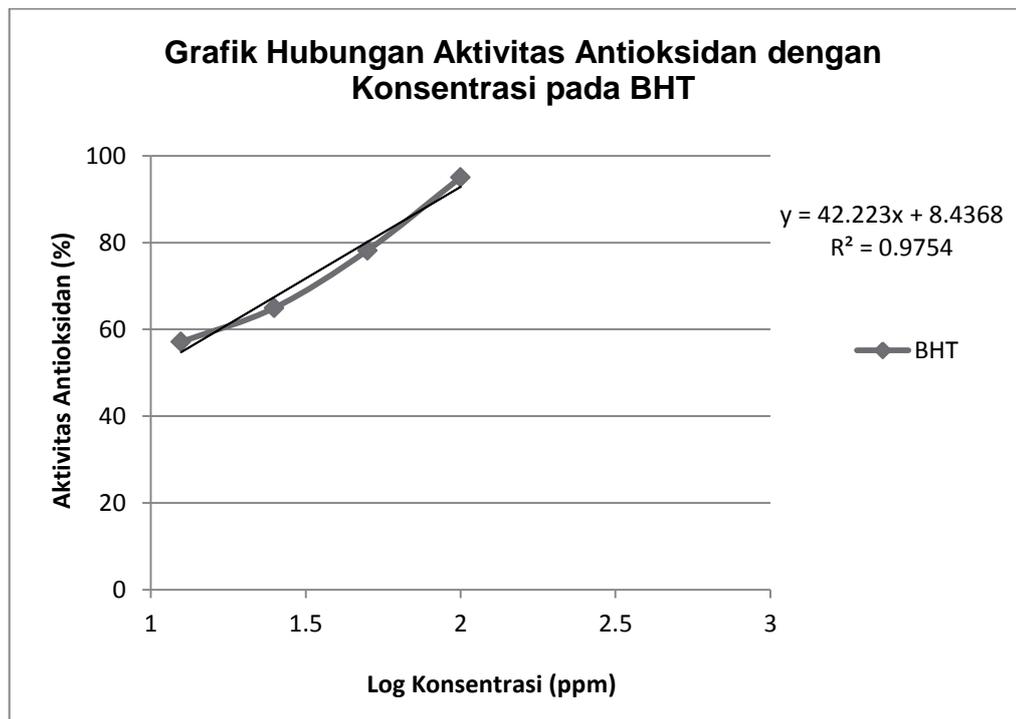
Gambar 28. Warna Larutan Uji Antioksidan Fraksi EtOAc Dalam Metode DPPH.
 (a) Larutan DPPH + fraksi etil asetat sebelum inkubasi
 (b) Larutan DPPH + fraksi etil asetat setelah inkubasi

Perubahan warna yang signifikan dari larutan ungu menjadi warna kuning terlihat pada gambar 24 dan 25 yang terjadi pada larutan standar BHT dan asam askorbat. Perubahan warna ini terjadi karena elektron dari larutan standar BHT dan asam askorbat berikatan dengan radikal DPPH. Sampel uji yang bereaksi dengan DPPH tidak terjadi perubahan warna yang signifikan pada gambar 26 dan 27, sedangkan pada gambar 28 terjadi sedikit perubahan warna yang signifikan. Tinggi rendahnya perubahan warna yang signifikan ini disebabkan oleh banyak atau sedikitnya elektron dari sampel yang berikatan dengan radikal DPPH. Hal ini menunjukkan bahwa standar BHT dan asam askorbat yang digunakan memiliki kemampuan mendonorkan elektron lebih baik dibandingkan sampel uji yaitu ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat menunjukkan kemampuan mendonorkan elektron lebih baik dibanding ekstrak metanol dan fraksi *n*-heksana. Perubahan warna yang terjadi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm dan didapatkan data pada tabel 3.

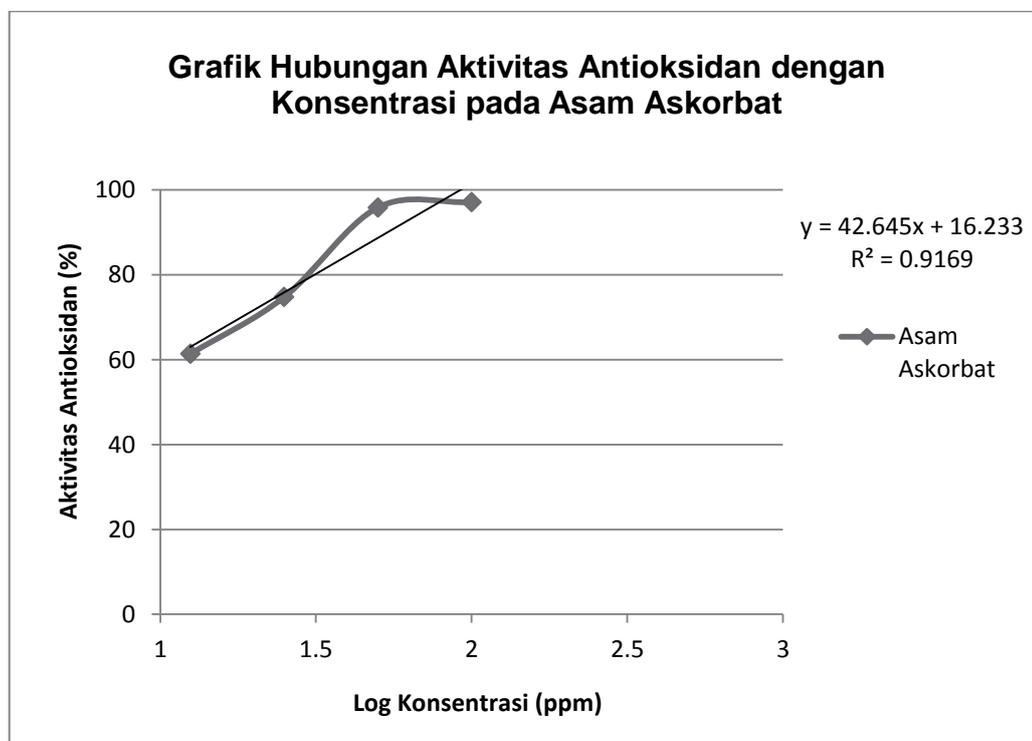
Tabel 3. Data Absorbansi dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Larutan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Absorbansi Rata-rata	Aktivitas Antioksidan (%)
		A1	A2		
Kontrol				0.867	
Ekstrak MeOH	12.5	0.648	0.648	0.648	25.26
	25	0.618	0.617	0.6175	28.78
	50	0.544	0.544	0.544	37.25
	100	0.439	0.440	0.4395	49.31
Fraksi Heksana	12.5	0.774	0.773	0.7735	10.78
	25	0.668	0.668	0.668	22.95
	50	0.576	0.575	0.5755	33.62
	100	0.564	0.564	0.564	34.95
Fraksi Etil Asetat	12.5	0.570	0.571	0.5705	34.19
	25	0.473	0.474	0.4735	45.39
	50	0.292	0.293	0.2925	66.26
	100	0.047	0.048	0.0475	94.52
BHT	12.5	0.372	0.372	0.372	57.09
	25	0.304	0.304	0.304	64.94
	50	0.189	0.189	0.189	78.20
	100	0.043	0.043	0.043	95.04
Asam Askorbat	12.5	0.335	0.335	0.335	61.36
	25	0.219	0.219	0.219	74.74
	50	0.036	0.036	0.036	95.85
	100	0.025	0.025	0.025	97.12

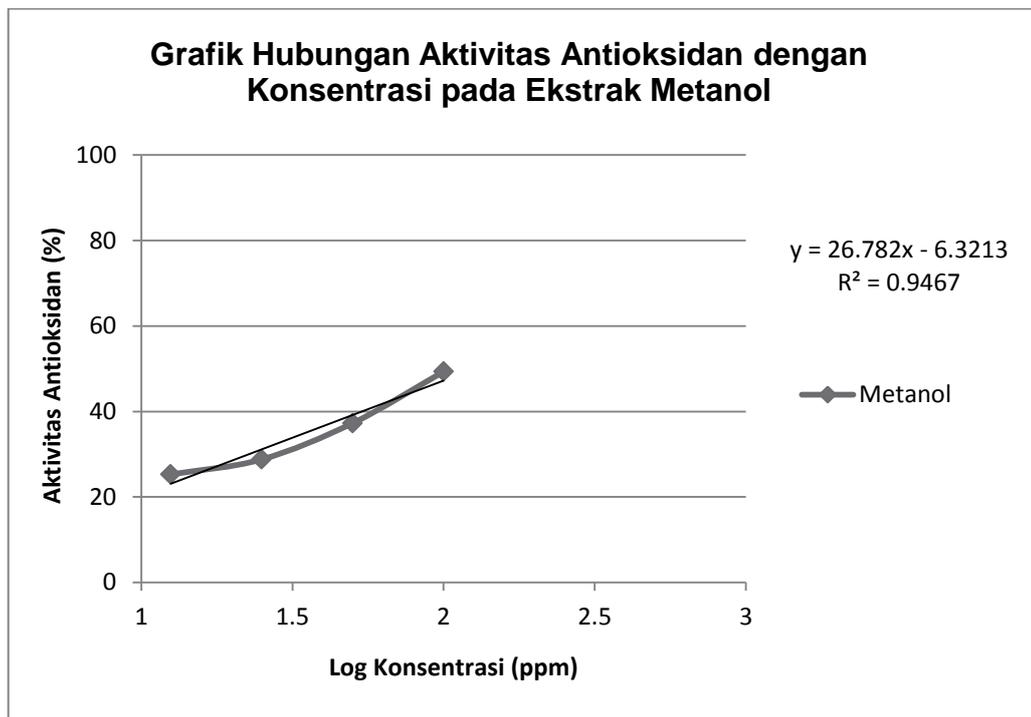
Berdasarkan data pada tabel 3, dapat dilihat bahwa terjadi penurunan nilai absorbansi pada sampel seiring dengan konsentrasi yang semakin besar. Penurunan nilai absorbansi ini diakibatkan karena bereaksinya radikal DPPH dengan jumlah elektron yang terkandung dalam larutan standar dan sampel sehingga DPPH menjadi senyawa non radikal.



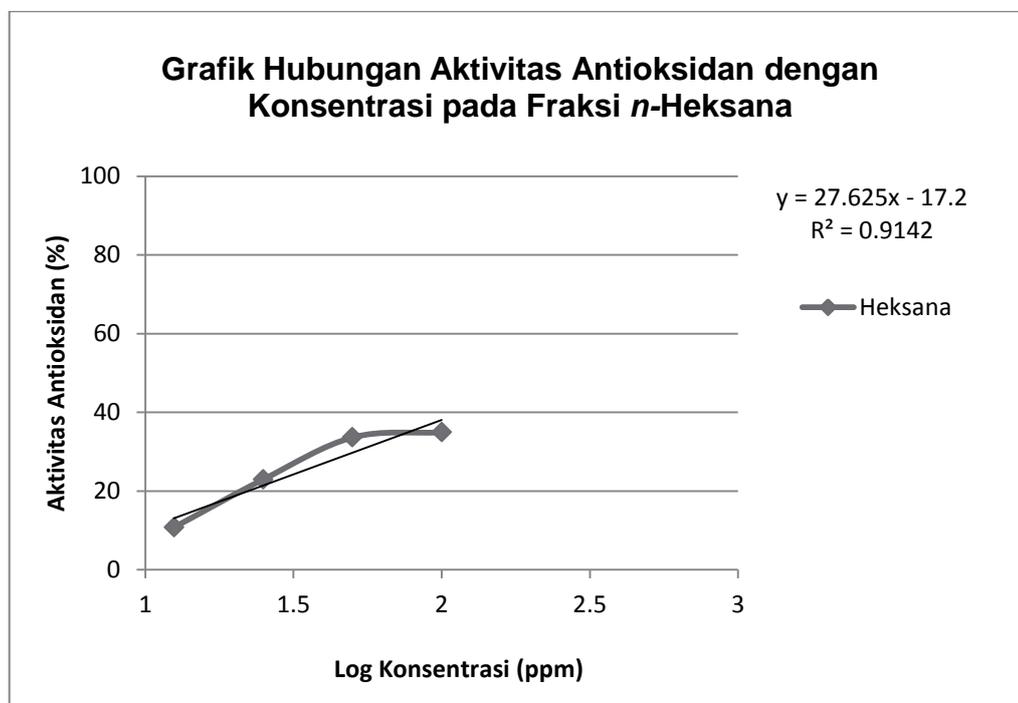
Gambar 29. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada BHT



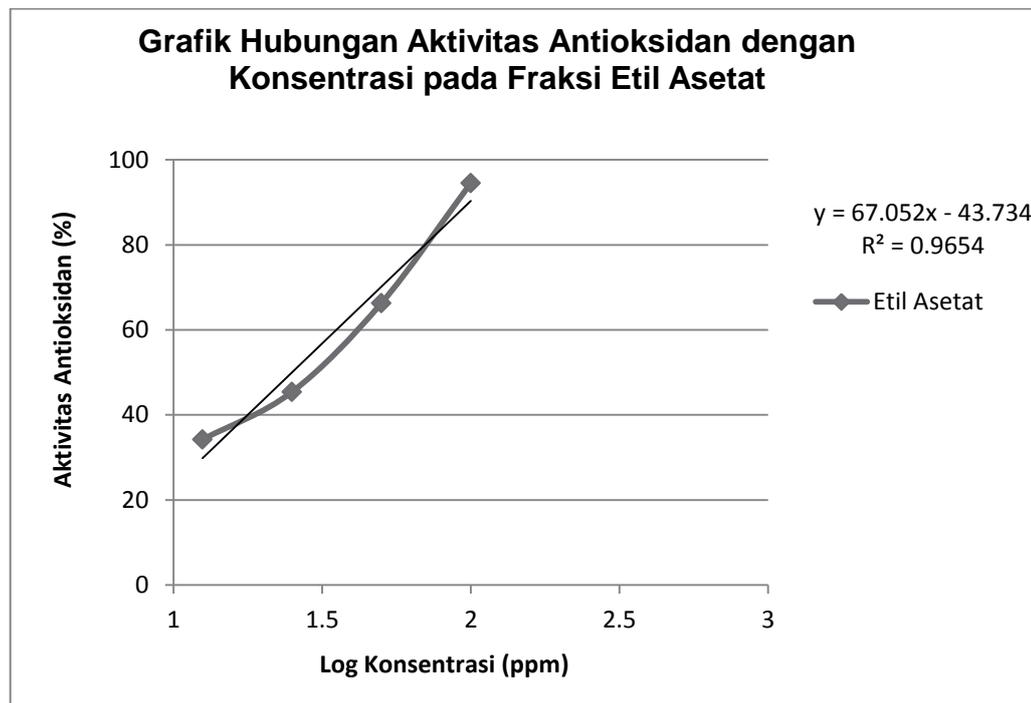
Gambar 30. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Asam Askorbat



Gambar 31. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Ekstrak Metanol



Gambar 32. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi *n*-Heksana



Gambar 33. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi Etil Asetat

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan presentase penghambatan 50% radikal. Nilai IC_{50} dapat digunakan untuk melihat potensi sampel sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Zat yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai nilai IC_{50} yang rendah. Penentuan nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan grafik 29-33 yaitu hubungan antara log konsentrasi larutan standar dan sampel sebagai sumbu X dan persen aktivitas antioksidan terhadap DPPH sebagai sumbu Y. Nilai IC_{50} dapat dilihat pada grafik yang menunjukkan konsentrasi dimana larutan standar dan sampel memiliki persen aktivitas

antioksidan sebesar 50%. Berdasarkan persamaan regresi yang didapat dari grafik 29-33, maka dapat diketahui nilai IC_{50} dari setiap larutan standar dan sampel yaitu sebagai berikut :

Tabel 4. Nilai IC_{50} Standar, Ekstrak, dan Beberapa Fraksi Metode DPPH

Sampel	Nilai IC_{50}	Potensi Antioksidan
BHT	9.63	Sangat Kuat
Asam Askorbat	6.19	Sangat Kuat
Ekstrak Metanol	126.75	Sedang
Fraksi <i>n</i> -Heksana	270.76	Tidak Berpotensi
Fraksi Etil Asetat	24.99	Sangat Kuat

Nilai kisaran terkait kuat atau lemahnya potensi antioksidan suatu senyawa berdasarkan nilai IC_{50} diantaranya yaitu jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm maka senyawa berpotensi sebagai antioksidan yang sangat kuat, jika nilai IC_{50} 50-100 ppm maka senyawa berpotensi sebagai antioksidan kuat, jika nilai IC_{50} 100-150 ppm maka senyawa berpotensi sebagai antioksidan sedang, jika nilai IC_{50} 150-200 ppm maka senyawa berpotensi sebagai antioksidan lemah dan jika nilai $IC_{50} > 200$ ppm maka senyawa tidak berpotensi sebagai antioksidan (Simirgiotis, 2013). Berdasarkan literatur tersebut, data yang diperoleh pada tabel 4 dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat ($IC_{50} = 24.999$ ppm) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm) dan ekstrak metanol ($IC_{50} = 126.765$ ppm) memiliki aktivitas antioksidan sedang (IC_{50} 100-150 ppm). Sedangkan fraksi *n*-heksana ($IC_{50} = 270.756$ ppm) tidak memiliki aktivitas antioksidan ($IC_{50} > 200$ ppm). Kedua standar yang digunakan

yaitu BHT dan asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Urutan kekuatan aktivitas antioksidan sampel yang diujikan pada metode DPPH adalah sebagai berikut:

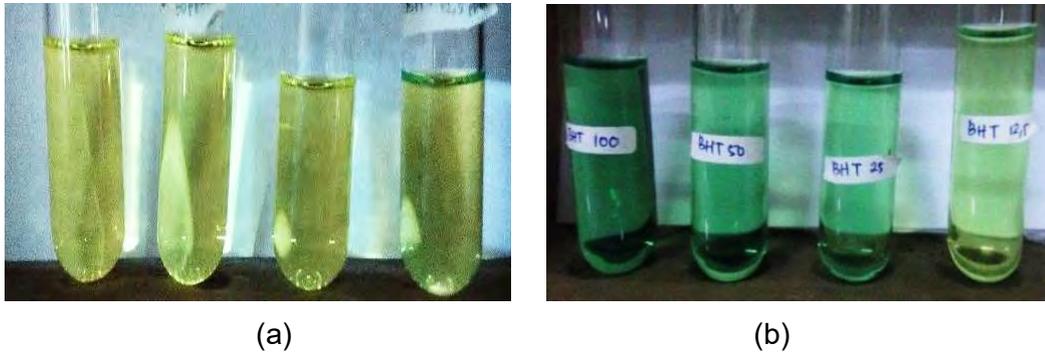
Fraksi Etil Asetat > Ekstrak Metanol > Fraksi *n*-Heksana

2. Uji Aktivitas Antioksidan Metode *Reducing power*

Kekuatan pereduksi dari senyawa yang ada dalam ekstrak dan beberapa fraksi pada metode *reducing power* dapat digunakan sebagai indikator potensi aktivitas antioksidan (Gulcin *et al.*, 2003). Metode ini dilakukan berdasarkan kemampuan senyawa yang terdapat dalam sampel untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 700 nm. Uji *reducing power* dilakukan untuk mengetahui kemampuan larutan standar dan sampel sebagai antioksidan sekunder. Pengamatan yang dapat dilihat adalah adanya perubahan warna larutan sampel yang berubah dari kuning menjadi hijau hingga biru *Prussian* setelah ditambahkan FeCl_3 . Semakin pekat warna hijau-biru yang terbentuk maka semakin banyak jumlah Fe^{3+} yang tereduksi menjadi Fe^{2+} dan semakin kuat aktivitas antioksidan yang terkandung dalam sampel.

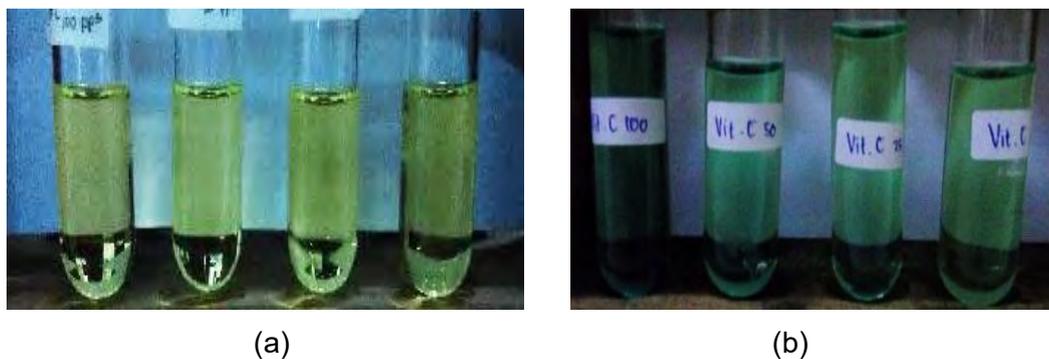
Perubahan warna yang signifikan dari larutan berwarna kuning sebelum penambahan FeCl_3 menjadi warna hijau-biru setelah penambahan FeCl_3 terlihat pada gambar 34 dan 35 yang terjadi pada larutan standar BHT dan asam askorbat. Perubahan warna ini terjadi karena senyawa pada larutan BHT dan asam askorbat mampu mereduksi

Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} .



Gambar 34. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan BHT Dalam Metode *Reducing power*.

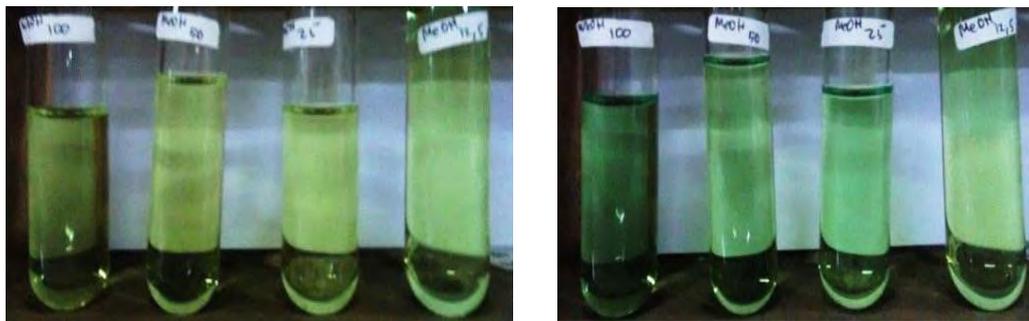
- (a) Larutan BHT sebelum penambahan FeCl_3
 (b) Larutan BHT setelah penambahan FeCl_3



Gambar 35. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat Dalam Metode *Reducing power*.

- (a) Larutan Asam askorbat sebelum penambahan FeCl_3
 (b) Larutan Asam askorbat setelah penambahan FeCl_3

Sampel pada gambar 36 dan 38 terjadi perubahan warna yang signifikan sebelum penambahan FeCl_3 dan setelah penambahan FeCl_3 , sedangkan pada gambar 37 tidak terjadi perubahan yang signifikan. Tinggi rendahnya perubahan warna yang signifikan ini disebabkan oleh banyak atau sedikitnya senyawa yang mampu mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Hal ini menunjukkan bahwa standar BHT dan asam askorbat, diikuti sampel uji yaitu ekstrak metanol dan fraksi etil asetat memiliki kemampuan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dibandingkan fraksi *n*-heksana.

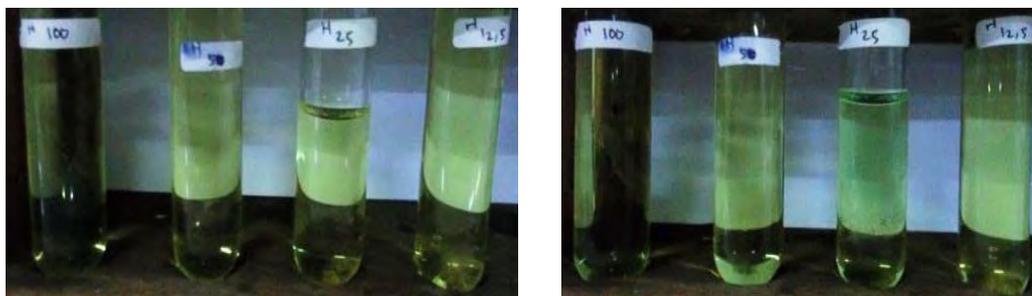


(a)

(b)

Gambar 36. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dalam Metode *Reducing power*.

- (a) Larutan ekstrak metanol sebelum penambahan FeCl_3
 (b) Larutan ekstrak metanol setelah penambahan FeCl_3

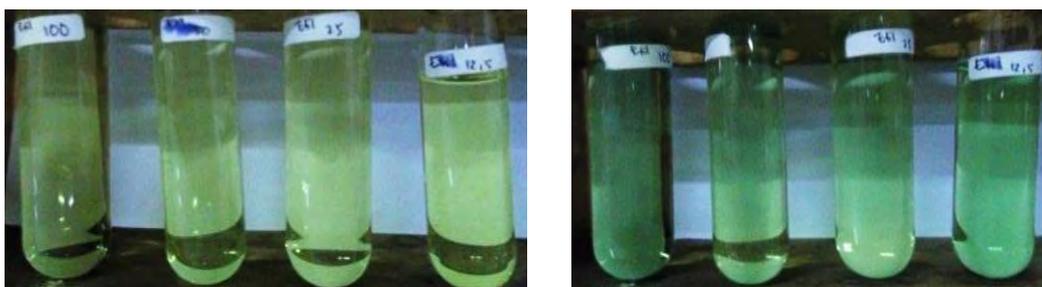


(a)

(b)

Gambar 37. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi *n*-Heksana Dalam Metode *Reducing power*.

- (a) Larutan fraksi *n*-heksana sebelum penambahan FeCl_3
 (b) Larutan fraksi *n*-heksana setelah penambahan FeCl_3



(a)

(b)

Gambar 38. Warna Larutan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Dalam Metode *Reducing power*.

- (a) Larutan fraksi etil asetat sebelum penambahan FeCl_3
 (b) Larutan fraksi etil asetat setelah penambahan FeCl_3

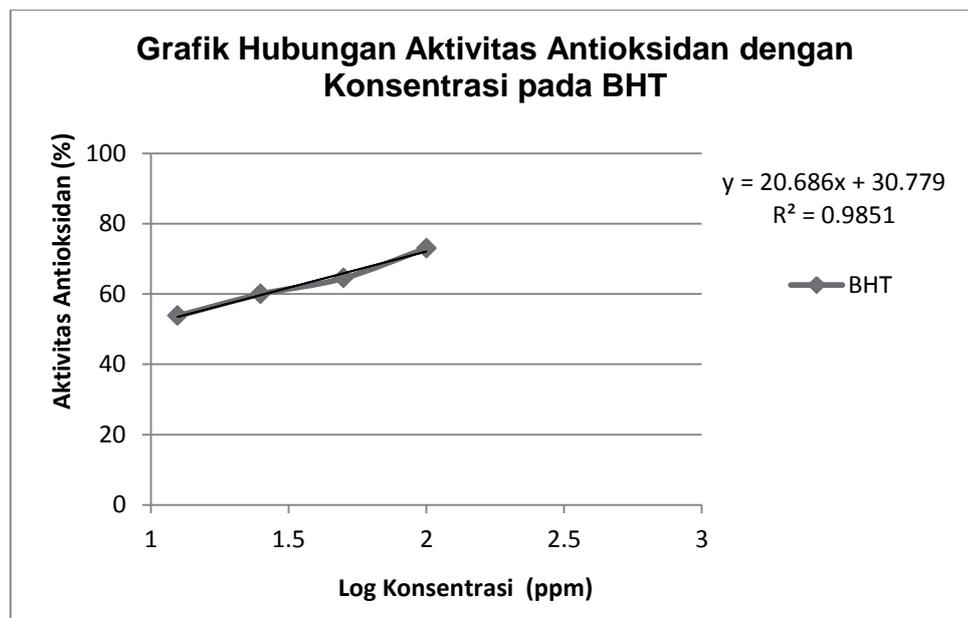
Perubahan warna yang terjadi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm dan didapatkan data pada tabel 5.

Tabel 5. Data Absorbansi dan Aktivitas Antioksidan Metode *Reducing power*

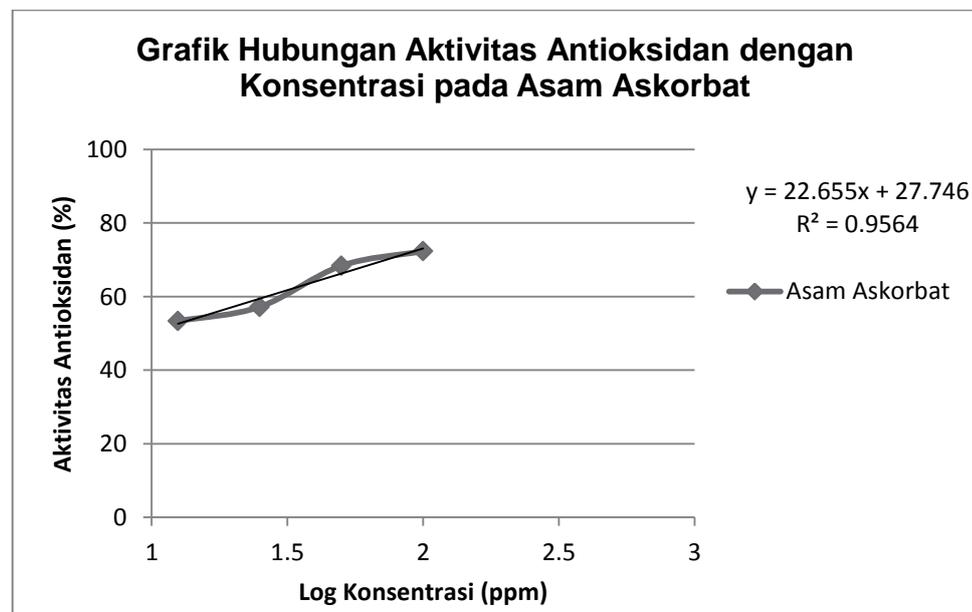
Larutan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Abs. Rata-rata	Aktivitas Antioksidan (%)
		A1	A2		
Kontrol				0,153	
Ekstrak MeOH	12,5	0,169	0,170	0,1695	9,73
	25	0,202	0,202	0,202	24,26
	50	0,221	0,221	0,221	30,77
	100	0,288	0,287	0,2875	46,78
Fraksi Heksana	12,5	0,151	0,150	0,1505	-1,66
	25	0,156	0,156	0,156	1,92
	50	0,170	0,169	0,1695	9,73
	100	0,183	0,183	0,183	16,39
Fraksi Etil Asetat	12,5	0,157	0,158	0,1575	2,86
	25	0,164	0,164	0,164	6,71
	50	0,187	0,186	0,1865	17,96
	100	0,208	0,209	0,2085	26,62
BHT	12,5	0,331	0,331	0,331	53,77
	25	0,382	0,382	0,382	59,95
	50	0,431	0,431	0,431	64,50
	100	0,567	0,567	0,567	73,02
Asam Askorbat	12,5	0,328	0,328	0,328	53,35
	25	0,357	0,358	0,3575	57,20
	50	0,484	0,484	0,484	68,39
	100	0,553	0,554	0,5535	72,36

Data pada tabel 5 menunjukkan bahwa terjadi kenaikan nilai absorbansi pada sampel seiring dengan konsentrasi yang semakin besar. Kenaikan nilai absorbansi ini diakibatkan semakin tinggi kemampuan senyawa dalam ekstrak, fraksi, BHT dan asam askorbat dalam mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan grafik 39-43 yaitu hubungan antara log konsentrasi sampel sebagai sumbu X dan presentase aktivitas antioksidan sebagai sumbu Y. Nilai IC_{50} pada grafik menunjukkan

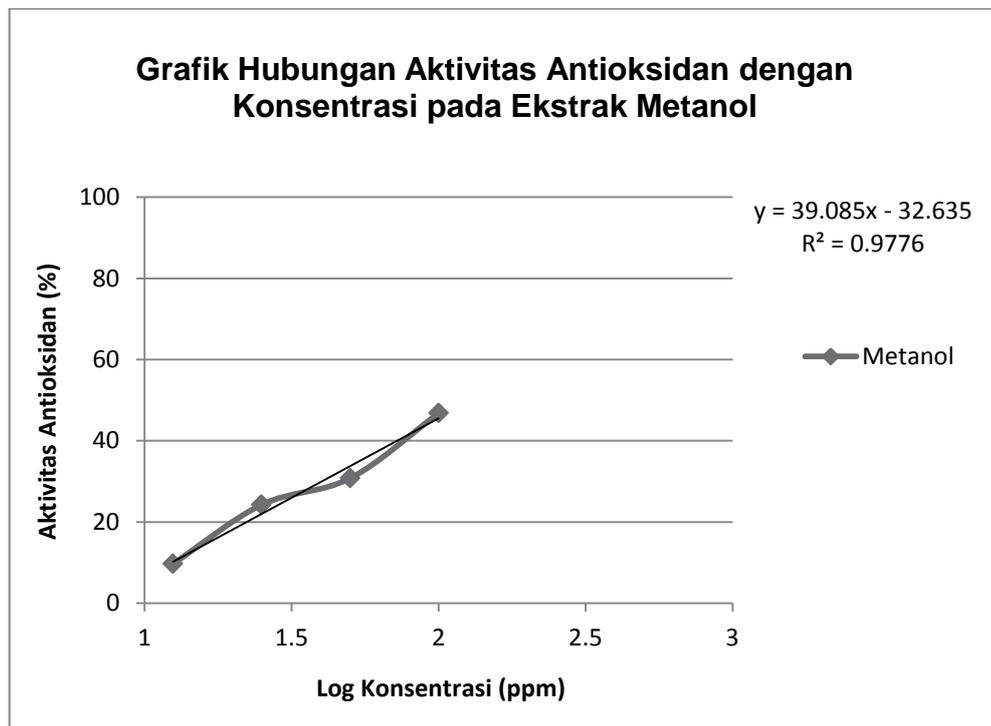
konsentrasi dimana sampel memiliki penyerapan absorbansi sebesar 0,5. Penyerapan sebesar 0,5 menunjukkan bahwa senyawa tersebut mampu mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sebesar 50%.



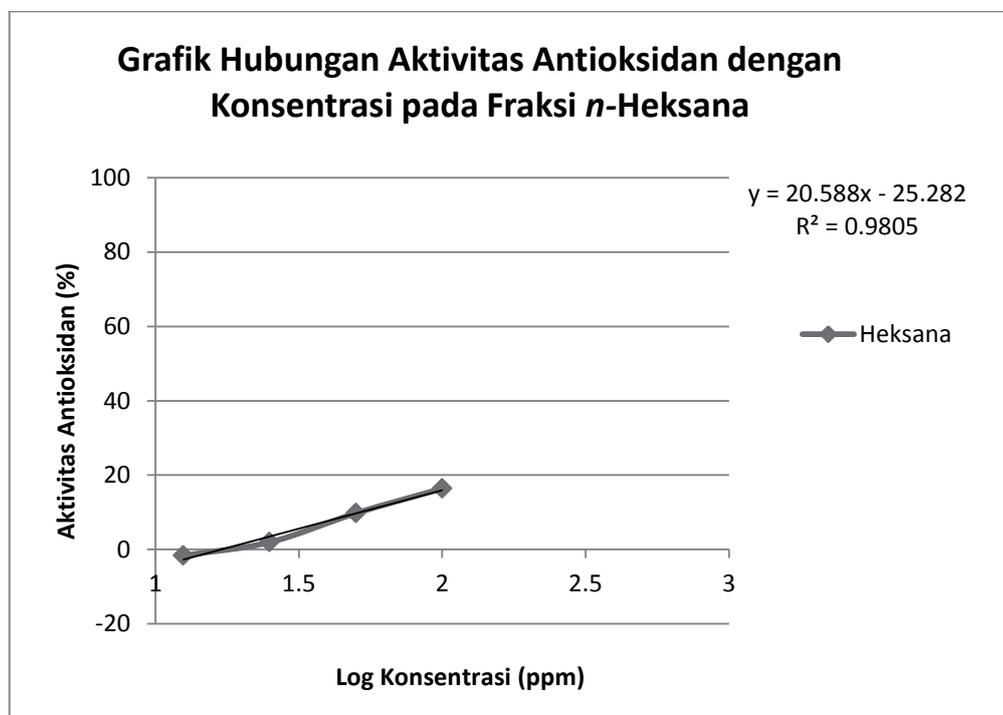
Gambar 39. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada BHT



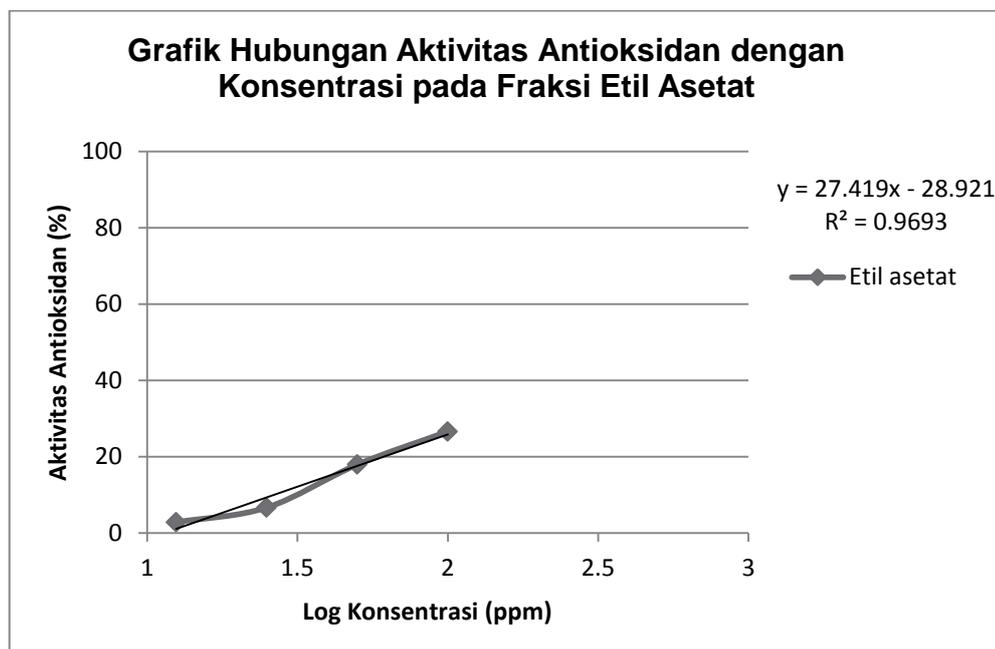
Gambar 40. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Asam Askorbat



Gambar 41. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Ekstrak Metanol



Gambar 42. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi *n*-Heksana



Gambar 43. Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dengan Konsentrasi pada Fraksi Etil Asetat

Berdasarkan persamaan regresi yang didapat dari grafik 39-43, maka dapat diketahui nilai IC_{50} dari setiap larutan standar dan sampel yaitu sebagai berikut :

Tabel 6. Nilai IC_{50} Standar, Ekstrak, dan Beberapa Fraksi Metode *Reducing power*

Sampel	Nilai IC_{50}	Potensi Antioksidan
BHT	8,49	Sangat Kuat
Asam Askorbat	9,60	Sangat Kuat
Ekstrak Metanol	130.09	Sedang
Fraksi Heksana	4535.19	Tidak Berpotensi
Fraksi Etil Asetat	755.67	Tidak Berpotensi

Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam sampel tersebut dan semakin kecil pula konsentrasi yang diperlukan untuk mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Menurut literatur kisaran potensi antioksidan (Simirgiotis, 2013), data pada tabel 6 dapat

diketahui bahwa ekstrak metanol ($IC_{50} = 130.088$ ppm) memiliki aktivitas antioksidan sedang (IC_{50} 100-150 ppm) sedangkan fraksi etil asetat ($IC_{50} = 755.671$ ppm) dan fraksi *n*-heksana ($IC_{50} = 4535.196$ ppm) tidak memiliki aktivitas antioksidan ($IC_{50} > 200$ ppm). Kedua standar yang digunakan yaitu BHT dan asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Urutan kekuatan aktivitas antioksidan sampel yang diujikan adalah sebagai berikut

Ekstrak Metanol > Fraksi Etil Asetat > Fraksi *n*-heksana

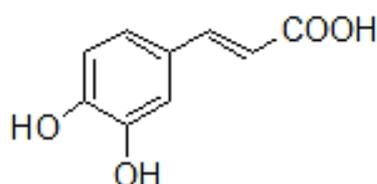
Berbeda dengan metode DPPH dimana fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} paling rendah, pada metode *reducing power* ini ekstrak metanol yang memiliki nilai IC_{50} terendah. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol terdapat senyawa dengan potensi pereduksi lebih signifikan dibandingkan fraksi etil asetat.

Fraksi etil asetat pada DPPH dan ekstrak metanol pada *reducing power* yang memiliki nilai IC_{50} paling rendah dapat melarutkan senyawa polar. Kemungkinan senyawa yang dapat larut dalam fraksi etil asetat dan ekstrak metanol adalah senyawa fenolik. Hal ini didukung dari hasil skrining fitokimia pada tabel 1 yang telah dilakukan yaitu terdapat senyawa fenolik pada ekstrak metanol daun *V.trifolia* asal Lombok. Senyawa fenolik dapat berkontribusi secara langsung pada aktivitas antioksidatif. Senyawa fenolik adalah senyawa dengan suatu gugus OH yang terikat pada karbon cincin aromatik dimana radikal bebas senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan tidak reaktif dibandingkan dengan

kebanyakan radikal bebas senyawa lain sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan yang efektif (Fessenden dan Fessenden, 1986). Semakin banyak jumlah senyawa fenolik yang terkandung pada sampel maka semakin tinggi juga kemampuannya sebagai antioksidan.

Melalui penelusuran literatur, fraksi etil asetat dari daun *V.trifolia* asal Mesir sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan fraksi *n*-butanol (Mohamed *et al.*, 2012). Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat yang didapat sebesar 34,69 ppm. Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat dari daun *V.trifolia* asal Lombok (Indonesia) sebesar 24,99 ppm lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC₅₀ fraksi EtOAc dari daun *V.trifolia* asal Mesir. Semakin rendah nilai IC₅₀ suatu sampel, maka semakin baik potensinya sebagai antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *V.trifolia* asal Lombok (Indonesia) memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibandingkan *V.trifolia* asal Mesir. Perbedaan potensi aktivitas antioksidan dari kedua negara ini dapat disebabkan karena perbedaan kadar senyawa fenolik yang terkandung di dalam daun *V.trifolia*. Secara umum, perbedaan kandungan fenolik dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jenis tanaman, metode penanaman, bagian tanaman, musim tumbuh, kondisi lingkungan, asal geografi, penyimpanan pasca panen, dan prosedur pemrosesan (Sejati *et al.*, 2012). Mengacu pada penelitian tersebut, perbedaan kandungan fenolik *V.trifolia* asal Lombok dan Mesir dapat disebabkan karena asal geografi dari *V.trifolia* sehingga mengakibatkan perbedaan potensi kekuatan antioksidan.

Senyawa flavonoid dan fenolik dari fraksi etil asetat daun *V.trifolia* asal Mesir yang sudah berhasil diisolasi yaitu E/Z asam kafeat, 3,4'-dimetoksi quercetin 7-O-glukopiranosida, dan quercetin 7-O-neohespridosida (Mohamed *et al.*, 2012). Senyawa fenolik E/Z asam kafeat menunjukkan aktivitas antioksidan paling baik diantara senyawa lainnya dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,72 ppm. Uji aktivitas dilakukan dengan metode DPPH.



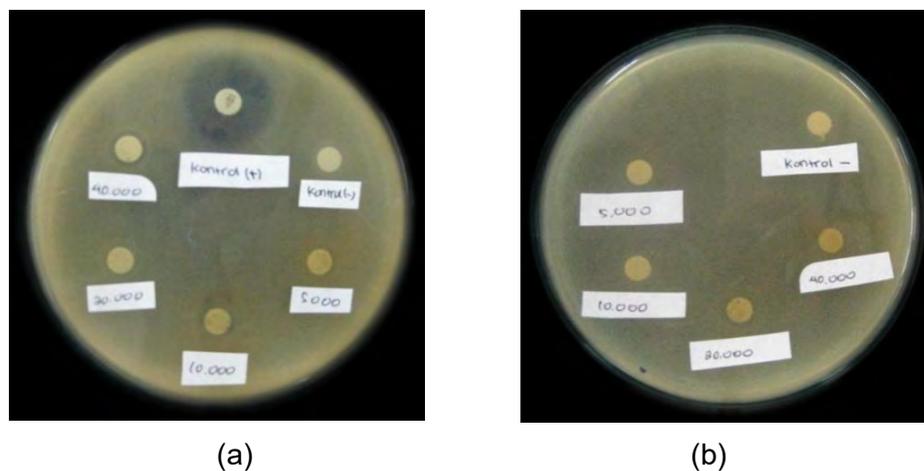
Gambar 44. Struktur Senyawa E/Z Asam Kafeat

D. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

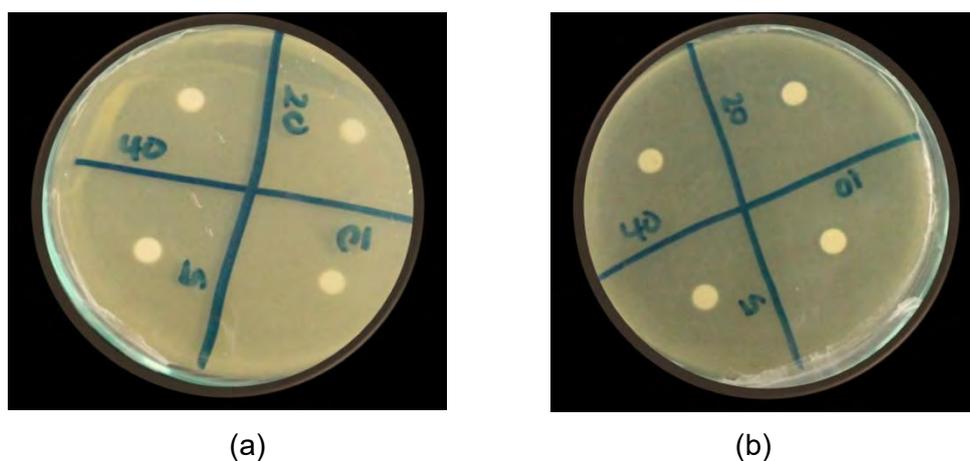
Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak metanol daun *V. trifolia* dan beberapa fraksi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dengan teknik cakram kertas (*disc diffusion method*). Metode ini dipilih karena cepat, mudah, dan sederhana dalam pengerjaannya (Nuria *et al.*, 2009).

Pengamatan yang dapat dilihat pada uji aktivitas antibakteri dengan metode ini yaitu adanya diameter zona hambat di sekitar *disc* yang masing-masing berisi antibiotik, pelarut, ekstrak dan beberapa fraksi seperti terlihat pada gambar 45-47. Antibiotik dan pelarut pada pengujian ini digunakan masing-masing sebagai kontrol positif dan kontrol negatif.

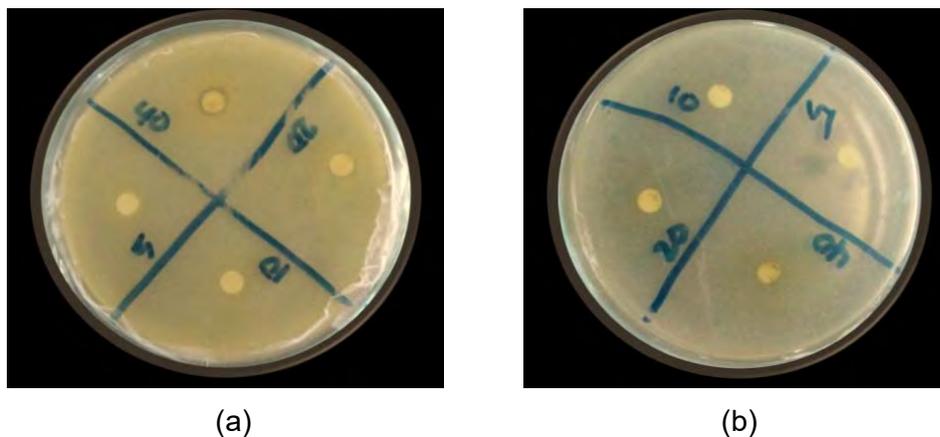
Antibiotik yang digunakan yaitu kloramfenikol 30 μg dan pelarut yang digunakan yaitu DMSO 20%. Pemilihan antibiotik kloramfenikol didasarkan pada spektrum aktivitas yang luas dan bersifat bakteriostatik dengan menghambat sintesis protein. Pelarut DMSO 20% digunakan karena pelarut pada konsentrasi tersebut tidak menunjukkan aktivitas antibakteri sehingga keberadaannya sebagai pelarut tidak berpengaruh pada besarnya penghambatan sampel terhadap bakteri uji.



Gambar 45. Media Pertumbuhan Bakteri yang Diberi *Disc* Berisi Ekstrak Metanol Daun *V.trifolia* L. (a) Bakteri *S.aureus* (b) Bakteri *E.coli*



Gambar 46. Media Pertumbuhan Bakteri yang Diberi *Disc* Berisi Fraksi *n*-Heksana Daun *V.trifolia* L. (a) Bakteri *S.aureus* (b) Bakteri *E.coli*



Gambar 47. Media Pertumbuhan Bakteri yang Diberi *Disc* Berisi Fraksi Etil Asetat Daun *V.trifolia* L. (a) Bakteri *S.aureus* (b) Bakteri *E.coli*

Adanya diameter zona hambat di sekeliling cakram kertas setelah inkubasi menunjukkan larutan uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Luas daerah jernih sekeliling cakram atau diameter zona hambat yang diperoleh dipergunakan untuk mengukur kekuatan daya kerja larutan dengan aktivitas antibakteri. Hasil pengamatan diameter zona hambat di sekitar disc ditunjukkan pada tabel 7.

Tabel 7. Pengamatan Diameter Zona Bening dengan Variasi Konsentrasi

Ekstrak/Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Diameter zona bening (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Ekstrak MeOH	40.000	8.08	-
	20.000	6.14	-
	10.000	-	-
	5.000	-	-
Fraksi Heksana	40.000	9.15	-
	20.000	8.50	-
	10.000	7.30	-
	5.000	6.80	-
Fraksi EtOAc	40.000	8.75	-
	20.000	6.25	-
	10.000	-	-
	5.000	-	-
Kontrol DMSO (Kontrol negatif)		-	-
Kloramfenikol (Kontrol positif)	30	21.10	15.20

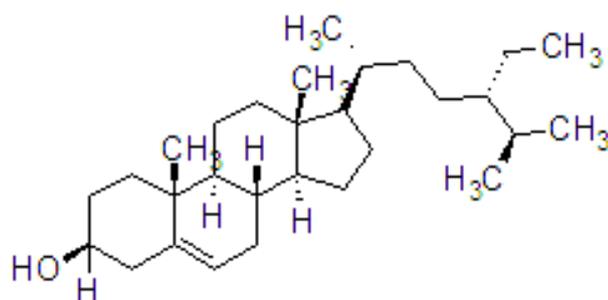
Nilai diameter zona bening dari masing-masing konsentrasi sampel yang diujikan pada tabel 7 belum mencapai setengah dari nilai diameter zona bening kontrol positif kloramfenikol. Hal ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi sampel yang diuji belum berpotensi sebagai obat antibakteri standar seperti kloramfenikol. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil suatu sampel yang masih menghambat pertumbuhan bakteri. KHM sangat penting untuk menentukan dosis efektif terkecil dari obat dan memberikan indeks perbandingan dengan obat lain. Semakin kecil nilai KHM suatu sampel, maka semakin berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Data pada tabel 7 menunjukkan ekstrak metanol dan fraksi etil asetat memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* pada KHM 20.000 ppm sedangkan fraksi *n*-heksana memiliki potensi antibakteri terhadap *S.aureus* pada KHM 5.000 ppm. Jika nilai KHM antar sampel dibandingkan, maka fraksi *n*-heksana memiliki nilai KHM terkecil sehingga memiliki potensi antibakteri terhadap *S.aureus* lebih baik dibandingkan ekstrak metanol dan fraksi etil asetat. Ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat tidak memiliki potensi antibakteri terhadap *E.coli*.

Fraksi *n*-heksana yang berpotensi sebagai antibakteri lebih baik dibandingkan dengan sampel lain dapat melarutkan golongan senyawa non-polar seperti terpenoid dan steroid. Senyawa yang mungkin terkandung dalam fraksi *n*-heksana daun *V. trifolia* asal Lombok yaitu senyawa steroid. Metabolisme steroid sebagai antibakteri berhubungan

dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al.*, 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi sel berubah menjadi rapuh dan lisis (Ahmed, 2007).

Melalui penelusuran literatur, senyawa steroid yaitu β -sitosterol telah diisolasi dari batang *V.trifolia* yang berasal dari daerah pantai Karawang, Jawa Barat (Mustarichie *et al.*, 2013). Penelitian tersebut memiliki persamaan kondisi lingkungan *V.trifolia* dengan penelitian yang dilakukan yaitu pantai. Kondisi lingkungan adalah salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan senyawa yang ada di dalam tanaman, sehingga kemungkinan senyawa steroid dapat ditemukan di dalam tanaman yang tumbuh di kondisi lingkungan pantai. Selain itu, bagian tanaman yang diuji adalah salah satu faktor yang mempengaruhi perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu tanaman sehingga akan berdampak pula pada aktivitas biologis dari tanaman tersebut. Isolasi senyawa steroid dari daun *V.trifolia* belum ditemukan. Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada daun *V.trifolia* asal Lombok positif mengandung senyawa steroid. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa steroid kemungkinan juga dapat diisolasi pada bagian daun dari tanaman *V.trifolia* dan diuji aktivitas biologisnya. Uji antibakteri senyawa β -sitosterol sudah dilakukan

menggunakan metode difusi dengan teknik cakram kertas (*disc diffusion method*). Hasil diameter hambat senyawa terhadap bakteri *E.coli* sebesar 14 mm dan terhadap bakteri *S.aureus* sebesar 13 mm. Konsentrasi senyawa β -sitosterol yang digunakan untuk uji yaitu 20 $\mu\text{g/mL}$ dan konsentrasi tersebut sudah digunakan sebagai obat antibakteri sesuai standar (Sen *et al.*, 2012).



Gambar 48. Struktur Senyawa β -sitosterol

Variasi konsentrasi sampel yang diuji pada tabel 7 menunjukkan nilai diameter zona bening hanya terdapat pada bakteri gram positif *S.aureus*. Hal ini menunjukkan sampel yang diuji memiliki potensi antibakteri lebih mudah menghambat bakteri gram positif *S.aureus* dibandingkan bakteri gram negatif *E.coli* akibat perbedaan komposisi dan struktur dinding sel pada bakteri gram positif dan gram negatif. Struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah (1-4 %), sedangkan struktur dinding sel gram negatif lebih kompleks yaitu berlapis tiga terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan dengan kandungan lipid tertinggi (11-12 %) (Pelczar dan Chan, 1988).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa profil fitokimia ekstrak metanol daun *V.trifolia* L. asal Lombok mengandung dua golongan metabolit sekunder yaitu fenolik dan steroid. Profil fitokimia ini mendukung data uji antibakteri yakni adanya golongan steroid yang larut dalam fraksi *n*-heksana terbukti menghambat bakteri gram positif. Sedangkan senyawa fenolik yang larut dalam ekstrak metanol dan fraksi etil asetat terbukti dapat berpotensi sebagai antioksidan.

Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *V.trifolia* dan fraksi-fraksinya memiliki potensi dalam menghambat bakteri *S.aureus* dan tidak menghambat bakteri *E.coli*. Di antara sampel yang diuji, fraksi *n*-heksana memiliki potensi antibakteri paling baik dengan nilai KHM terkecil sebesar 5.000 ppm terhadap bakteri *S.aureus* pada metode difusi dengan teknik cakram kertas (*disc diffusion method*). Variasi konsentrasi sampel yang diuji belum berpotensi sebagai obat antibakteri standar seperti kloramfenikol karena nilai diameter zona bening sampel yang dihasilkan belum mencapai setengah dari nilai diameter zona bening kontrol positif kloramfenikol. Sedangkan fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 24,99 ppm pada uji DPPH dan ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} 130,09 ppm memiliki potensi antioksidan secara berturut-turut yaitu kuat dan sedang.

B. Saran

Berdasarkan kesimpulan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Isolasi dan identifikasi struktur senyawa murni yang terkandung dalam ekstrak metanol daun legundi (*V.trifolia*) asal Lombok beserta fraksi-fraksinya
2. Aktivitas antioksidan senyawa murni yang telah diidentifikasi dengan metode yang sama atau metode aktivitas antioksidan lainnya.
3. Aktivitas antibakteri senyawa murni yang telah diidentifikasi menggunakan metode difusi agar dengan teknik cakram kertas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, B. 2007. *Chemistry of Natural Products*. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard.
- Ahmed, M., Rizwani, G. H., Mohammed, F. V., Mahmood, I., Ahmed, V., & Mahmud, S. 2013. A Triterpenoid Antioxidant Agents found in *Holoptelea Integrifolia* (Roxb) Planch. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences*, **3** (1), 63-67.
- Aksoy, L., Kolay, E., Agilonu, Y., Aslan, Z., & Kargioglu, M. 2013. Free Radical Scavenging Activity, Total Phenolic Content, Total Antioxidant Status, and Total Oxidant Status of Endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **20**, 235-239.
- Alam, G., Wahyuono, S., Ganjar, I. G., Hakim, L., Timmerman, H., & Verpoorte, R. 2002. Tracheopasmolytic Activity of Viteosin-A and Vitexicarpin Isolated from *V.trifolia*. *Planta Med*, **68** (11), 1047-1049.
- AMRLS. 2014. *Antimicrobials : An Introduction*. <http://amrls.cvm.msu.edu/pharmacology/antimicrobials/antimicrobial-s-an-introduction>, diakses tanggal 7 November 2014, pukul 17.00 WIB.
- Aristatek. 2008. *The First Responder, Escherichia coli*. <http://www.aristatek.com/Newsletter/JULY08/JULY08ts.aspx>, diakses tanggal 3 Desember 2015, pukul 08.00 WIB
- Azhar-ul-Haq, A. M., Khan, M., Anwar-ul-Haq, Khan, S. B. 2006. Tyrosinase Inhibitory Lignans from the Methanol Extracts of the Roots of *Vitex negundo* Linn. and Their Structure Activity Relationship. *Phytomedicine*, **13**, 255-260.
- Brewer, M. S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compound, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **10**. 221-247
- Chang, L. W., Yen, W. J., Huang, S. C., Duh, P. D. 2002. Antioxidant Activity of Sesame Coat. *Food Chemistry*, **78**, 347-354.
- Chen, S. N., Friesen, J. B., Webster, D., Nikolic, D., Breemen, R. B., Wang, Z. J., et al. 2011. Phytoconstituents from *Vitex agnus-castus* Fruits. *Fitoterapia*, **82**, 528-533.
- Choi, J. K., Cha, D. S., Lee, Y. J., Ko, S. H., Park, H. J., Lee, S. Y. 2010. Effects of *Vitex rotundifolia* on Radical Scavenging and Nitric Oxide

- Production. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, **10** (2), 51-58.
- Cholisoh, Z., Utami, W. 2008. Antiradical Activity of Ethanolic (70%) Stinky Bean (*Archidendron jiringa*) Extract. *Pharmacon*, **9** (1), 33-40.
- Chowdhury, J., Islam, S., Asifuzzaman, S., Islam, K. 2009. Antibacterial and Cytotoxic Activity Screening of Leaf Extracts of *Vitex negundo* (Fam: Verbenaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **1** (4), 103-108.
- Darwis, D. 2000. *Kandungan Fitokimia Metabolit Sekunder: Metode Lapangan dan Laboratorium. Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. Padang: Ditjen DIKTI DEPDIKNAS.
- Das, K., Tiwari, R., Shrivastava, D. 2010. Techniques for Evaluation of Medicinal Plant Products as Antimicrobial Agent: Current Methods and Future Trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4** (2), 104-111.
- Deng, Y., Chin, Y. W., Chai, H. B., Blanco, E. C., Kardono, L. B., Riswan, S. 2011. Phytochemical and Bioactivity Studies on Constituents of the Leaves of *Vitex quinata*. *Phytochemistry Letters*, **4**, 213-217.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, **31** (2), 138-150.
- Fessenden, R. J., & Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- _____. 1986. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 2*. Jakarta: Erlangga.
- Garcia, E., Oldoni, T., Alencar, S., Reis, A., Loguercio, A., Grande, R. 2012. Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solution to be Applied on Bleached Teeth. *Braz Dent J*, **23** (1), 22-27.
- Gulcin, I. 2010. Antioxidant Properties of Resveratrol: A Structure-Activity Insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**, 210-218.
- Gulcin, I., Buyukokuroglu, M. E., Oktay, M., & Kufevioglu, O. I. 2003. Antioxidant and Analgesic Activities of Turpentine of *Pinus nigra Arn.subsp.pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *Journal of Ethnopharmacology*, **86**, 51-58.

- Harris, L., Foster, S., Richards, R. 2002. An Introduction to *Staphylococcus aureus*, and Techniques for Identifying and Quantifying *S.aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review. *European Cells and Materials*, **4**, 36-60.
- Hleba, L., Majercikova, K., Felsociova, S., Andreji, J., Fik, M., Pavelkova, A . 2013. Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Intestinal Tract of *Cyprinus carpio*. *Animal Science and Biotechnologies*, **46** (1), 133-139.
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. Chichester: John Wiley and Sons.
- Ikawati, P. 2012. *Mengenal Legundi, Herbal Anti Alergi*. <http://farmasi.ugm.ac.id/mipto/review-penelitian-154-mengenal-legundi-herbal-anti-alergi.html>, diakses tanggal 8 November 2014 pukul 08.00 WIB
- Jawetz, M. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Kedokteran ECG.
- Jayanthi, P., Lalitha, P. 2011. *Reducing power of the Solvent Extracts of Eichhornia Crassipes (Mart.) SOLMS*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3** (3), 126-128.
- Joseph, M., Al-Hakami, A., Assiry, M., Jamil, A., Shaker, M., Hamid, M. 2014. In Vitro Anti-Yeast Activity of *Chloramphenicol*: A Preliminary Report. *Journal de Mycologie Medicale*, **6**, 1-6.
- Kannathasan, K., Senthilkumar, A., Venkatesalu, V. 2011. Mosquito Larvicidal Activity of Methyl-p-hydroxybenzoate Isolated from the Leaves of *Vitex trifolia* Linn. *Acta Tropica*, **120**, 115-118.
- Khopkar, S. M. 2010. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kim, Y. A., Kim, D. S., Oh, K., Seo, Y. 2013. Isolation of a New Labdane-type Diterpene from *Vitex rotundifolia*. *Bull.Korean Chem. Soc*, **34** (12), 3840-3842.
- Kresnawaty, I., & Zainuddin, A. 2009. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Derivat Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir (*Uncaria gambir*). *Littri*, **15** (4), 145-151.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami*. Surabaya: Trubus Agrisarana.p.1-5.

- Kuruuzum-Uz, A., Stroch, K., Demirezer, L., Zeeck, A. 2003. Glucosides from *Vitex agnus-castus*. *Phytochemistry*, **63** (8), 959-964.
-
- _____. 2008. Antioxidant Potency of Flavonoids from *Vitex agnus castus* L. Growing in Turkey. *Journal of Pharmaceutical Science*, **33**, 11-16.
- Lakshmanan, K., Mahalakshmi Priya, A., Mani, R. 2012. Phytochemical Screening and In Vitro Antimicrobial Activity of *Vitex negundo* L var. *purpurascens* Sivar. and Mold. against Pathogenic Microorganisms. *Drug Invention Today*, **4** (12), 667-670.
- Ling, T. J., Wei Wei, L., Chen, Y. J., Wan, X. C., Xia, T., Xian, F. D. 2010. Antiseptic Activity and Phenolic Constituents of the Aerial Parts of *Vitex negundo* var. *Cannabifolia*. *Molecules*, **15**, 8469-8477.
- Madduluri, S., Rao, K. B., Sitaram, B. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extracts Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **5** (4), 679-684.
- Mary, R. I., Meenashree, B., Vasanthi, V. J. 2014. Screening of Antibacterial Activity and Qualitative and Quantitative Analysis of Phytochemicals in *Vitex trifolia*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **3** (5), 425-431.
- Meena, A. K., Niranjana, U. S., Rao, M., Padhi, M., Babu, R. 2011. A Review of the Important Chemical Constituents and Medical Uses of *Vitex* Genus. *Asian Journal of Traditional Medicines*, **6** (2), 54-60.
- Meena, A. K., Singh, U., Yadav, A. K., Singh, B., Rao, B. B. 2010. Pharmacological and Phytochemical Evidences for the Extracts from Plants of the Genus *Vitex* -A Review. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **2**, 1-9.
- Mohamed, M. A., Abdou, A. M., Hamed, M. M., Saad, A. M. 2012. Characterization of Bioactive Phytochemical from the Leaves of *Vitex trifolia*. *International Journal of Pharmaceutical Applications*, **3** (4), 419-428.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol*, **26** (2), 211-219.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A. 2009. *Medical Microbiology 6th Edition*. US: Elsevier.

- Murugan M, Mohan V.R. 2012. Efficacy of Different Solvent Extracts of *Vitex trifolia* L and *Aristolochia indi* L. for Potential Antibacterial Activity. *Science Research Reporter*, **2** (1), 110-114.
- Mustarichie, R., Ramdhani, D., Saptarini, N. M., Supriyatna, Subarnas, A. 2013. Determination of the Active Chemical Compounds in the Stem Bark of *Vitex trifolia* L. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, **2** (2), 36-40.
- Naine S, J., Vaishnavi, B., Vijayalakshmi, S., Mohanasrinivasan, V., Devi, C. 2012. Screening of Multi Drug Resistant *Escherichia coli* from Urinary Tract Infected Patients. *International Research Journal of Pharmacy*, **3** (2), 163-165.
- NRCS. 2014. *Klasifikasi Vitex trifolia L.* <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=vitr7>, diakses tanggal 31 Oktober 2014, pukul 21.00 WIB.
- Nuria, M., Faizatun, A., Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu Pertanian*, **5** (2), 26-37.
- Ozcan, K., Uzel, A., Bedir, E. 2015. Anti-Microbial Activity of *Chloramphenicol* from *Streptomyces* sp.10CM9. *Procedia*, **195**, 1736-1739.
- Padmalatha, K., Jayaram, K., Raju, N., Prasad, M., Arora, R. 2009. Ethnopharmacological and Biotechnological Significance of *Vitex. Bioremediation, Biodiversity, and Bioavailability*, **3** (1), 6-14.
- Pelczar, M., E.C.S, C. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Sarikurkcü, C., Arisoy, K., Tepe, B., Cakir, A., Abali, G., Mete, E. 2009. Studies on the Antioxidant Activity of Essential Oil and Different Solvent Extracts of *Vitex agnus-castus* L.Fruits from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, **47** (10), 2479-2483.
- Sarma, A., Mallick, A., Ghosh, A. 2010. Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, **1** (3), 185-192.
- Schaich, K. M., Tian, X., Xie, J. 2015. Hurdles and Pitfalls in Measuring Antioxidant Efficacy: A Critical Evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC Assays. *Journal of Functional Foods*, **14**, 111-125.

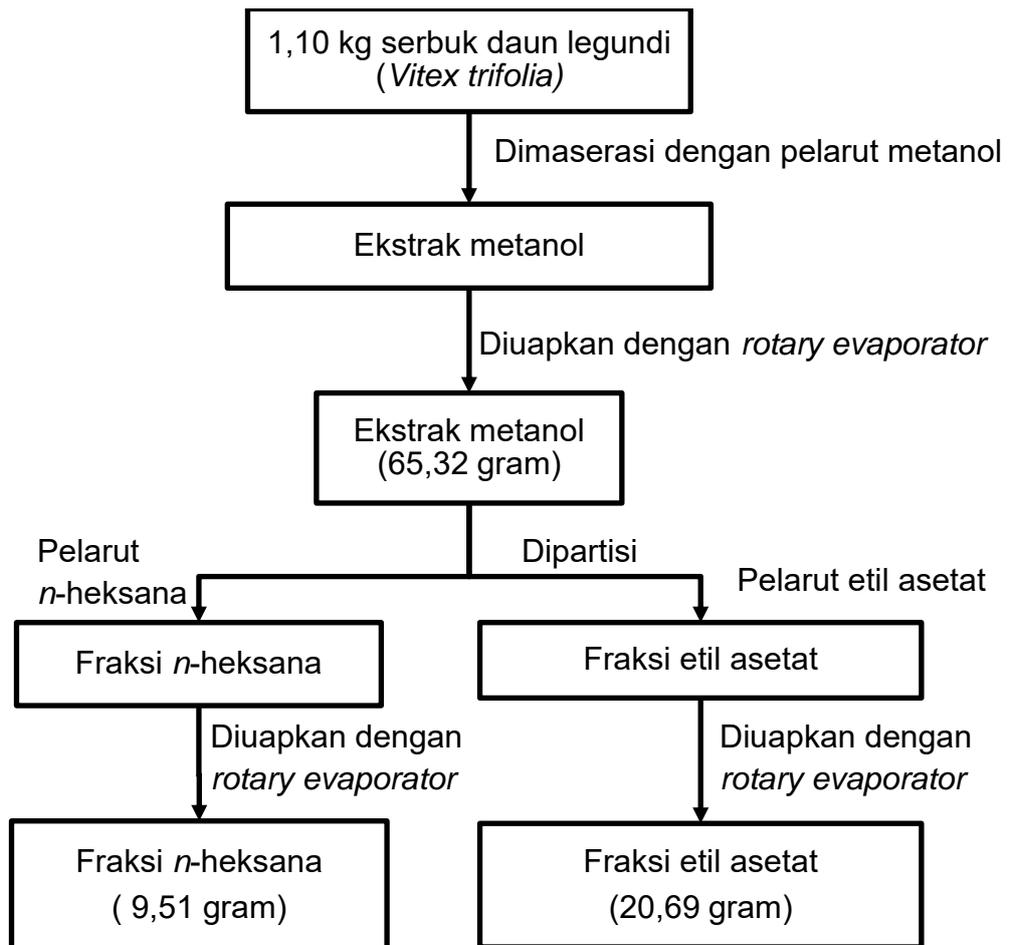
- Sejati, A. 2012. *Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Air Jinten Hitam (Nigella sativa L) dan Uji Sitotoksik pada Sel Kanker Payudara MCF-7 dari Tiga Daerah: Habasyah, India, dan Indonesia*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sen, A., Poonam, D., Shukla, K. K., Singh, S., Tejavathi, G. 2012. Analysis of IR, NMR, and Antimicrobial Activity of β -sitosterol Isolated from *Momordica charantia*. *Science Secure Journal of Biotechnology*, **1**(1), 9-13.
- Sentono, C. 2014. *Penentuan Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Daun Laban (Vitex pinnata)*. Jakarta: Universitas Negeri Jakarta.
- Shah, S., Dhanani, T., Kumar, S. 2013. Comparative Evaluation of Antioxidant Potential of Extracts of *Vitex negundo*, *Vitex trifolia*, *Terminalia bellerica*, *Terminalia chebula*, *Embelica officinalis* and *Asparagus racemosus*. *Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy*, **1** (1), 44-53.
- Shalaby, E. A., Shanab, S. M. 2013. Antioxidant Compounds, Assays of Determination and Mode of Action. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **7** (10), 528-539.
- Simirgiotis, M. J. 2013. Antioxidant Capacity and HPLC-DAD-MS Profiling of Chilean Peumo (*Cryptocarya alba*) Fruits and Comparison with German Peumo (*Crataegus monogyna*) from Southern Chile. *Molecules*, **18**, 2061-2080.
- Sitohang, I. A. 2012. *Skrinning Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Laban (Vitex pinnata L.) dan fraksi-fraksinya*. Jakarta: Universitas Negeri Jakarta.
- Suksamrarn, A., Sommechai, C., Charulpong, P., Chitkul, B. 1993. Ecdysteroids from *Vitex canescens*. *Phytochemistry*, **32**(2), 303-306.
- Sumardjo, D. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program S1 Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.
- The Plant Observatory. 2014. *Vitex trifolia*. <http://www.natureloveyou.sg/Vitex%20trifolia/Main.html>, diakses tanggal 4 Desember 2015, pukul 21.00 WIB
- Thenmozhi, S., Vibha, K., Dhanalakshmi, M., Manjuladevi, K., Diwedi, S., Subasini, U. 2013. Evaluation of Anthelmintic Activity of *Vitex trifolia*

- Linn. Leaves against *Pheretima posthuma*. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, **4** (5), 878-880.
- Tiwari, N., Thakur, J., Saikia, D., Gupta, M. M. 2013. Antitubercular Diterpenoids from *Vitex trifolia*. *Phytomedicine*, **20**, 605-610.
- UniProt. 2014. *Klasifikasi Bakteri*. <http://www.uniprot.org/taxonomy/>, diakses tanggal 7 November 2014, pukul 22.00 WIB
- Vishwanathan, R. Basavaraju. 2010. A Review on *Vitex negundo* L.-A Medicinally Important Plant. *Electronic Journal of Biological Sciences*, **3** (1), 30-42.
- WHO. 2014. *Improving Access to Health Care*. <http://www.who.int/en/>, diakses tanggal 10 November 2014, pukul 08.00 WIB.
- Zheng, C. J., Huang, B. K., Wu, Y. B., Han, T., Zhang, Q. Y., Zhang, H. 2010. Terpenoids from *Vitex negundo* Seeds. *Biochemical Systematics and Ecology*, **38**, 247-249.

LAMPIRAN

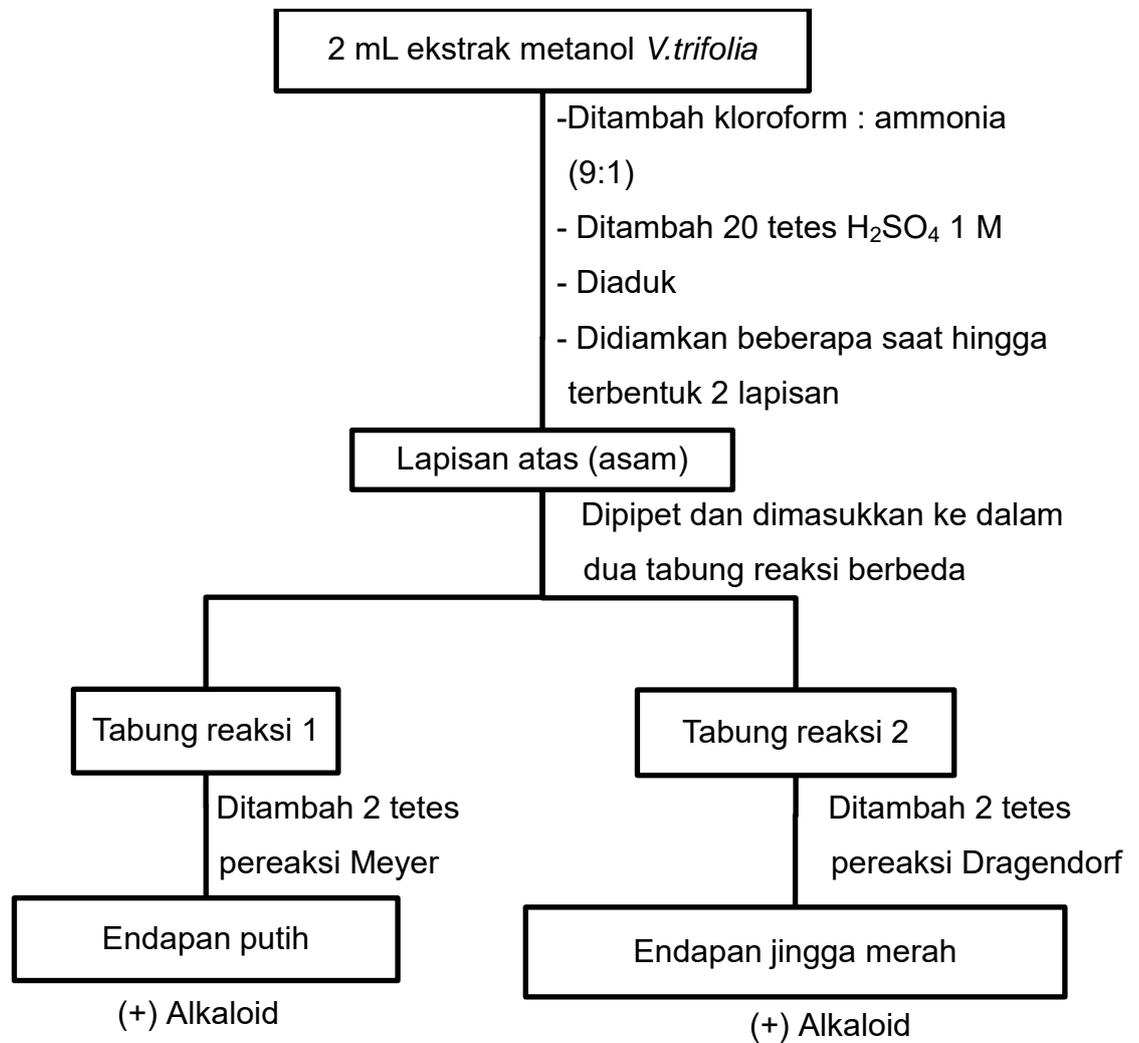
Lampiran 1. Bagan Kerja

A. Ekstraksi dan Preparasi Sampel

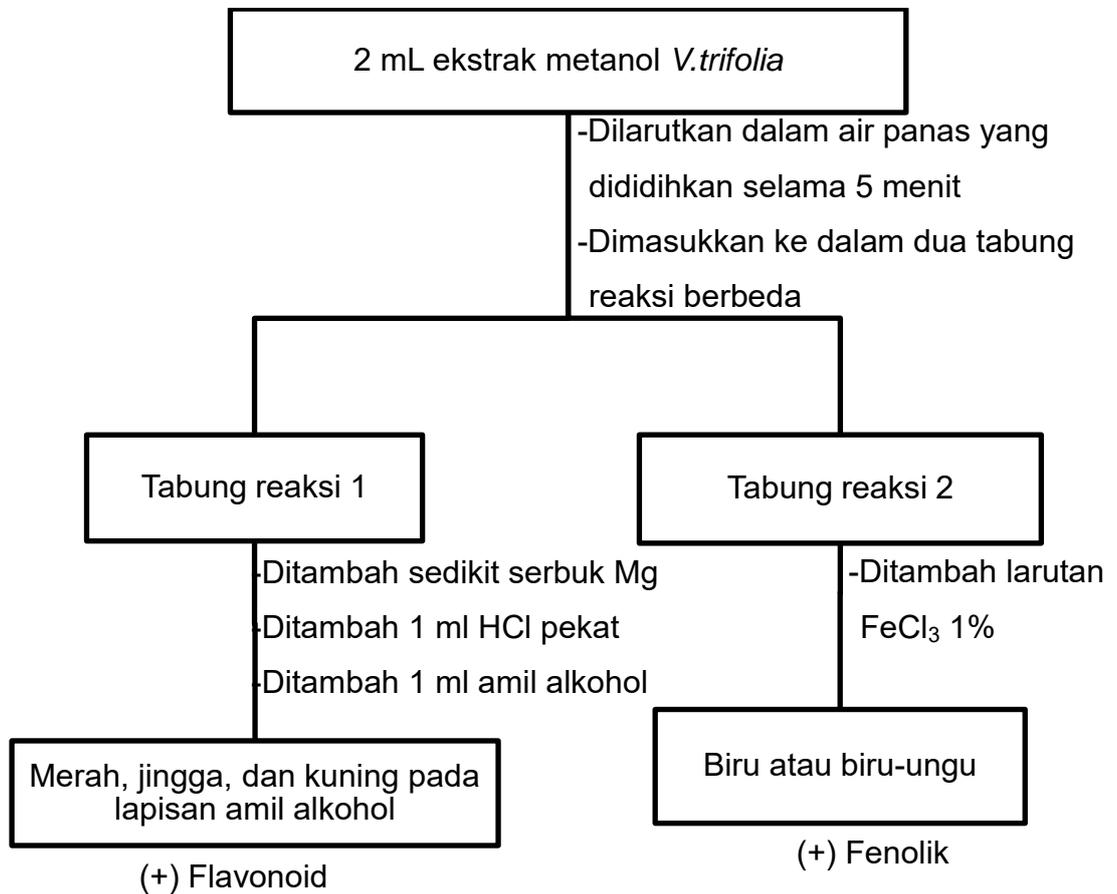


B. Uji Fitokimia

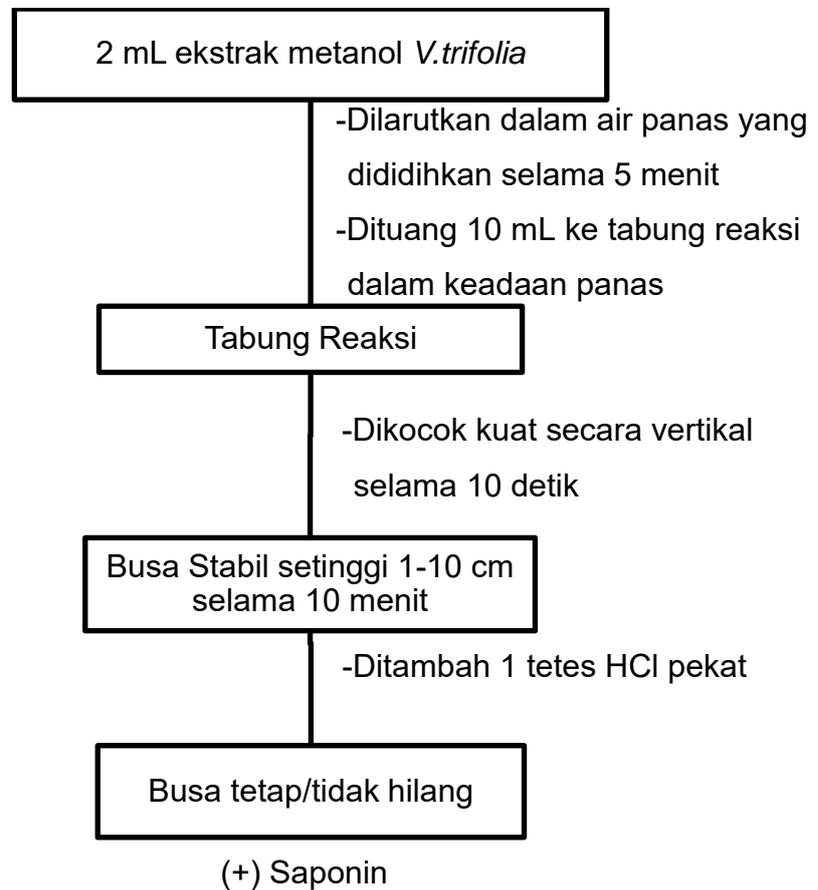
1. Uji Alkaloid



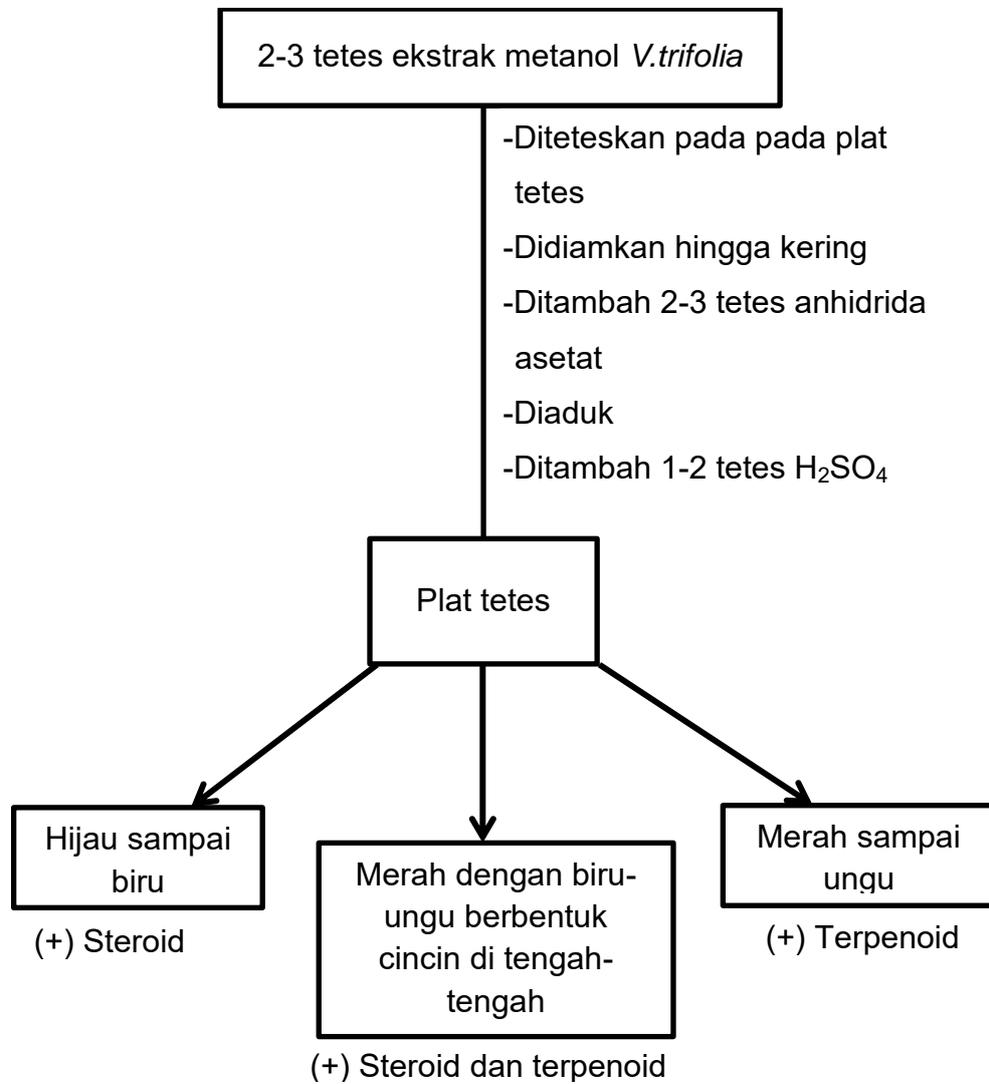
2. Uji Fenolik dan Flavonoid



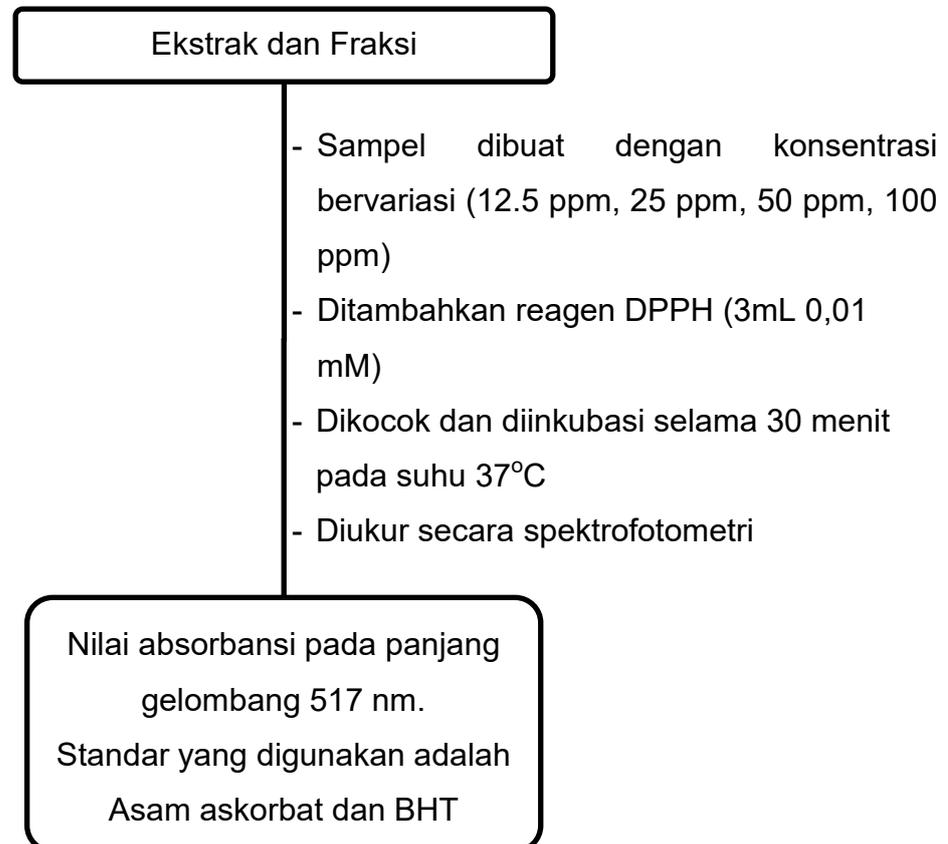
3. Uji Saponin

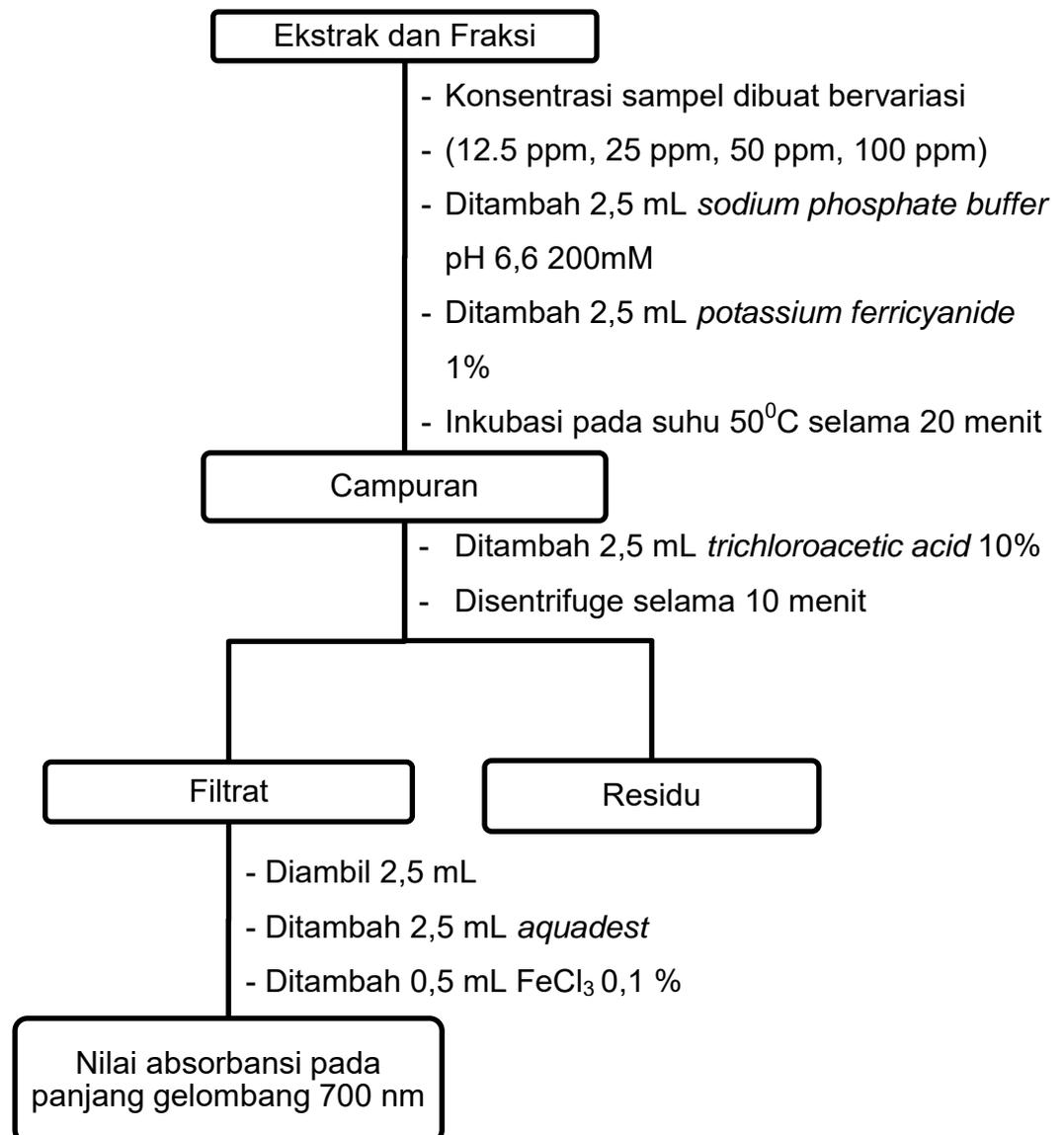


4. Uji Terpenoid dan Steroid

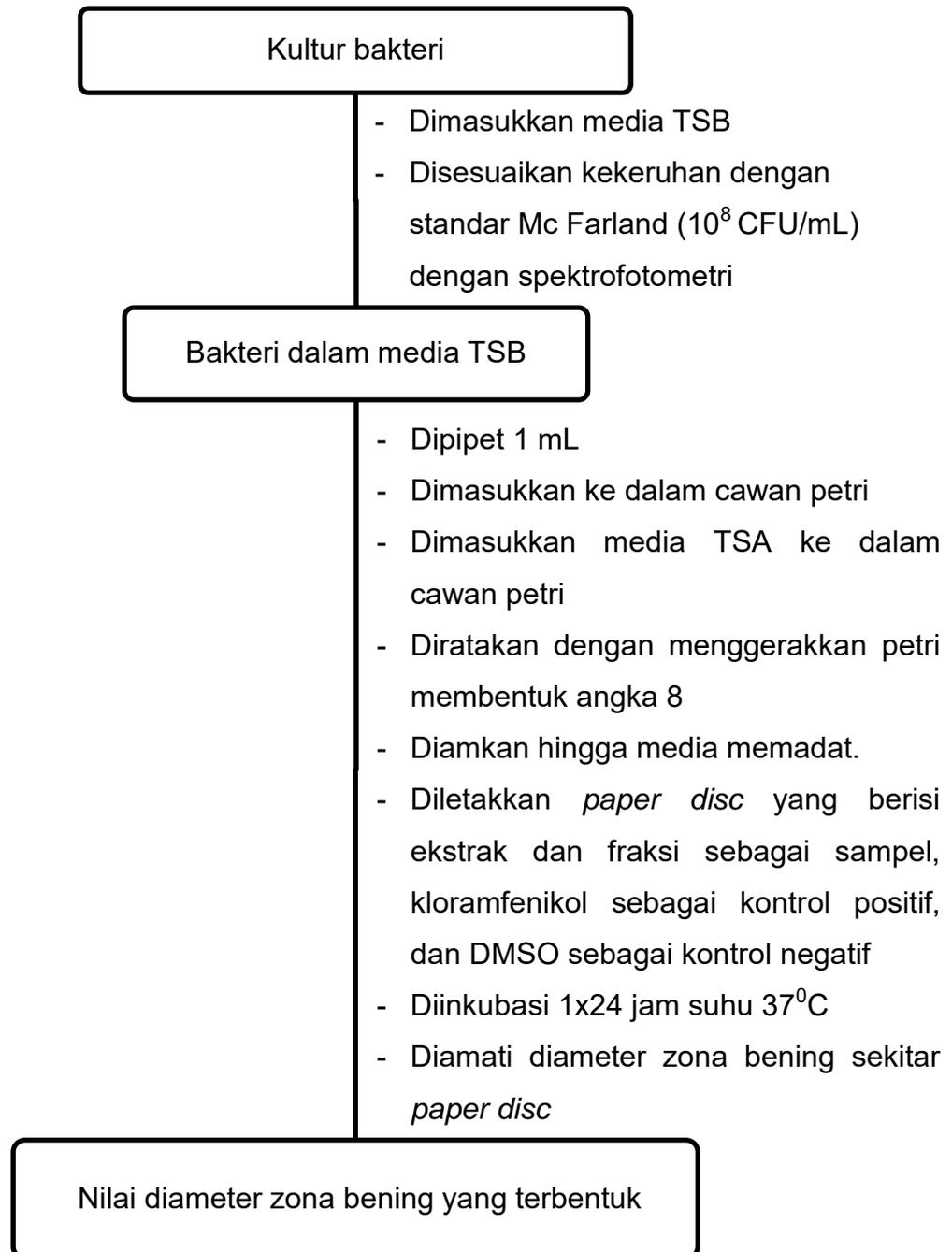


C. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH



D. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Reducing power*

D. Uji Aktivitas Antibakteri



Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Sampel Antibakteri

- A. Pembuatan Larutan Induk Sampel (Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana, dan Fraksi Etil Asetat) 40.000 ppm

$$40.000 \text{ ppm} = \frac{400 \text{ mg Sampel Daun Legundi}}{10 \text{ mL Pelarut DMSO}}$$

1. Pengenceran Larutan Sampel menjadi 20.000 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \quad \times \quad V_1 &= M_2 \quad \times \quad V_2 \\ 40.000 \text{ ppm} \times V_1 &= 20.000 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

2. Pengenceran Larutan Sampel menjadi 10.000 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \quad \times \quad V_1 &= M_2 \quad \times \quad V_2 \\ 20.000 \text{ ppm} \times V_1 &= 10.000 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

3. Pengenceran Larutan Sampel menjadi 5000 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \quad \times \quad V_1 &= M_2 \quad \times \quad V_2 \\ 10.000 \text{ ppm} \times V_1 &= 5000 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Antioksidan

- B. Pembuatan Larutan Induk Sampel (Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana, dan Fraksi Etil Asetat), dan Standar (Asam Askorbat dan BHT) 200 ppm

$$\text{ppm} = \frac{\text{Massa zat (mg)}}{\text{Massa pelarut (kg)}}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{\text{Massa zat (mg)}}{\text{Massa jenis metanol} \times V \text{ (L)}}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{1,6 \text{ mg}}{0,0008 \frac{\text{kg}}{\text{L}} \times V}$$

$$V = 0,01 \text{ L} = 10 \text{ mL}$$

- 1,6 mg ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, asam askorbat, dan BHT dilarutkan dalam 10 mL metanol

1. Pengenceran Larutan Induk 200 ppm menjadi 100 ppm

M_1	\times	V_1	$=$	M_2	\times	V_2
200 ppm	\times	V_1	$=$	100 ppm	\times	10 mL
		V_1	$=$	5 mL		
2. Pengenceran Larutan 100 ppm menjadi 50 ppm

M_1	\times	V_1	$=$	M_2	\times	V_2
100 ppm	\times	V_1	$=$	50 ppm	\times	10 mL
		V_1	$=$	5 mL		
3. Pengenceran Larutan 50 ppm menjadi 25 ppm

M_1	\times	V_1	$=$	M_2	\times	V_2
50 ppm	\times	V_1	$=$	25 ppm	\times	10 mL
		V_1	$=$	5 mL		
4. Pengenceran Larutan 25 ppm menjadi 12,5 ppm

M_1	\times	V_1	$=$	M_2	\times	V_2
25 ppm	\times	V_1	$=$	12,5 ppm	\times	10 mL
		V_1	$=$	5 mL		

B. Pembuatan Reagen untuk Uji Antioksidan

1. Pembuatan larutan buffer fosfat 200 mM pH 6,6

- Pembuatan Larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M

$$[\text{Larutan Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}] = \frac{\text{Massa Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}{\text{Mr Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} \times \frac{1000}{V \text{ pelarut (mL)}}$$

$$0,2 \text{ mol/L} = \frac{\text{Massa Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}{\frac{268,03 \text{ gram}}{\text{mol}}} \times \frac{1000}{50 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 2,6803 \text{ gram}$$

- Pembuatan Larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,2 M

$$[\text{Larutan NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}] = \frac{\text{Massa NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}}{\text{Mr NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}} \times \frac{1000}{V \text{ pelarut (mL)}}$$

$$\text{Massa NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 2,7598 \text{ gram}$$

- Perbandingan Komposisi $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} : \text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

$$= 37,5 \% : 62,5 \%$$

$$= 37,5 \text{ mL Larutan Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \text{ ditambah } 62,5 \text{ mL}$$

larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dalam labu ukur 100 mL

- Penyesuaian pH dengan pH meter

2. Pembuatan Larutan *Potassium Ferricyanide* 1%

$$= 1 \text{ gram Potassium Ferricyanide dalam } 100 \text{ mL akuades}$$

3. Pembuatan Larutan TCA 10%

$$= 10 \text{ gram TCA dalam } 100 \text{ mL akuades}$$

4. Pembuatan Larutan FeCl_3 0,1 %

$$= 0,1 \text{ gram FeCl}_3 \text{ dalam } 100 \text{ mL akuades}$$

5. Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

$$[\text{Larutan DPPH}] = \frac{\text{Massa DPPH}}{\text{Mr DPPH}} \times \frac{1000}{V \text{ pelarut (mL)}}$$

$$0,0001 \text{ mol/L} = \frac{\text{Massa DPPH}}{\frac{394,32 \text{ gram}}{\text{mol}}} \times \frac{1000}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa DPPH} = 3,9432 \text{ mg.}$$

Lampiran 4. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

- Metode DPPH

- a. BHT

- ✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.372}{0.867} \times 100\% \\ &= 57.09 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.304}{0.867} \times 100\% \\ &= 64.94 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.189}{0.867} \times 100\% \\ &= 78.20 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.043}{0.867} \times 100\% \\ &= 95.04 \end{aligned}$$

- b. Asam Askorbat

- ✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.335}{0.867} \times 100\% \\ &= 61.36 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.219}{0.867} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= 74.74$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.867 - 0.036}{0.867} \times 100 \%$$

$$= 95.85$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.867 - 0.025}{0.867} \times 100 \%$$

$$= 97.12$$

c. Ekstrak Metanol

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.867 - 0.648}{0.867} \times 100 \%$$

$$= 25.26$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.867 - 0.6175}{0.867} \times 100 \%$$

$$= 28.78$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.867 - 0.544}{0.867} \times 100 \%$$

$$= 37.25$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.867 - 0.4395}{0.867} \times 100 \%$$

$$= 49.31$$

d. Fraksi *n*-heksana

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.7735}{0.867} \times 100 \% \\ &= 10.78 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.668}{0.867} \times 100 \% \\ &= 22.95 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.5755}{0.867} \times 100 \% \\ &= 33.62 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.564}{0.867} \times 100 \% \\ &= 34.95 \end{aligned}$$

e. Fraksi Etil Asetat

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.5705}{0.867} \times 100 \% \\ &= 34.19 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.4735}{0.867} \times 100 \% \\ &= 45.39 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.2925}{0.867} \times 100\% \\ &= 66.26 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.867 - 0.0475}{0.867} \times 100\% \\ &= 94.52 \end{aligned}$$

- Metode *Reducing power*

- a. BHT

- ✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.331 - 0.153}{0.331} \times 100\% \\ &= 53.77 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

%

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.382 - 0.153}{0.382} \times 100\% \\ &= 59.95 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.431 - 0.153}{0.431} \times 100\% \\ &= 64.50 \end{aligned}$$

- ✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.567 - 0.153}{0.567} \times 100\% \\ &= 73.02 \end{aligned}$$

b. Asam Askorbat

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.328 - 0.153}{0.328} \times 100\% \\ &= 53.35 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.3575 - 0.153}{0.3575} \times 100\% \\ &= 57.20 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.484 - 0.153}{0.484} \times 100\% \\ &= 68.39 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.5535 - 0.153}{0.5535} \times 100\% \\ &= 72.36 \end{aligned}$$

c. Ekstrak Metanol

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.1695 - 0.153}{0.1695} \times 100\% \\ &= 9.73 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.202 - 0.153}{0.202} \times 100\% \\ &= 24.26 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.221 - 0.153}{0.221} \times 100 \% \\ &= 30.77 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.2875 - 0.153}{0.2875} \times 100 \% \\ &= 46.78 \end{aligned}$$

d. Fraksi *n*-heksana

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.1505 - 0.153}{0.1505} \times 100 \% \\ &= -1.66 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.156 - 0.153}{0.156} \times 100 \% \\ &= 1.92 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.1695 - 0.153}{0.1695} \times 100 \% \\ &= 9.73 \end{aligned}$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{0.183 - 0.153}{0.183} \times 100 \% \end{aligned}$$

$$= 16.39$$

e. Fraksi Etil Asetat

✓ Konsentrasi 12,5 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.1575 - 0.153}{0.1575} \times 100 \%$$

$$= 2.86$$

✓ Konsentrasi 25 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.164 - 0.153}{0.164} \times 100 \%$$

$$= 6.71$$

✓ Konsentrasi 50 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.1865 - 0.153}{0.1865} \times 100 \%$$

$$= 17.96$$

✓ Konsentrasi 100 ppm

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi kontrol}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{0.2085 - 0.153}{0.2085} \times 100 \%$$

$$= 26.62$$

Lampiran 5. Perhitungan Nilai IC₅₀

- Metode DPPH

1. BHT

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 42.223x + 8.4368$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 41.5632/42.223 \\ &= 0.984\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 0.984 \quad \mathbf{x = 9.638}$$

2. Asam Askorbat

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 42.645x + 16.233$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 33.767/42.645 \\ &= 0.792\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 0.792 \quad \mathbf{x = 6.194}$$

3. Ekstrak Metanol

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 26.782x - 6.3213$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 56.3213/26.782 \\ &= 2.103\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 2.103 \quad \mathbf{x = 126.765}$$

4. Fraksi *n*-Heksana

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 27.625 - 17.2$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 67.2/27.625 \\ &= 2.433\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 2.433 \quad \mathbf{x = 270.756}$$

5. Fraksi Etil Asetat

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 67.052x - 43.734$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 93.734/67.052 \\ &= 1.397\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 1.397 \quad \mathbf{x = 24.999}$$

- Metode *Reducing power*

1. BHT

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 20.686x + 30.779$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 19.221/20.686 \\ &= 0.929\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 0.929 \quad \mathbf{x = 8.495}$$

2. Asam Askorbat

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 22.655x + 27.746$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 22.254/22.655 \\ &= 0.982\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 0.982 \quad \mathbf{x = 9.601}$$

3. Ekstrak Metanol

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 39.085x - 32.635$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 82.635/39.085 \\ &= 2.114\end{aligned}$$

$$\text{Anti log } x = 2.114 \quad \mathbf{x = 130.088}$$

4. Fraksi *n*-Heksana

Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 20.588x - 25.282$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 75.282/20.588 \\ &= 3.656\end{aligned}$$

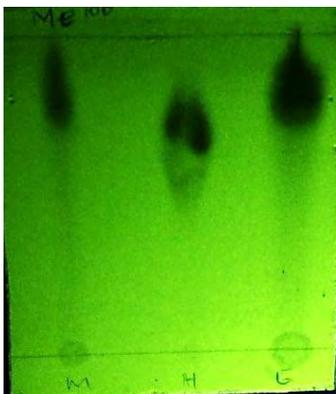
$$\text{Anti log } x = 3.656 \quad \mathbf{x = 4535.196}$$

5. Fraksi Etil Asetat

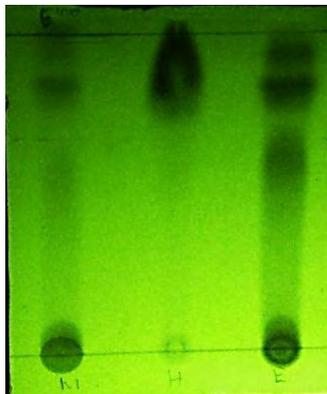
Persamaan regresi linear pada grafik : $y = 27.419x - 28.921$

$$\begin{aligned}\text{Log } x &= 78.921/27.419 \\ &= 2.878\end{aligned}$$

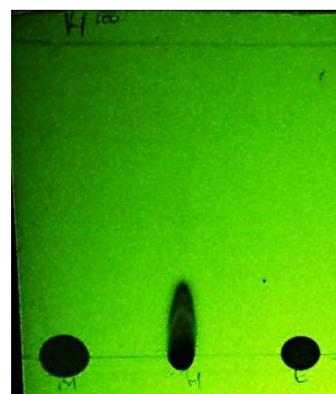
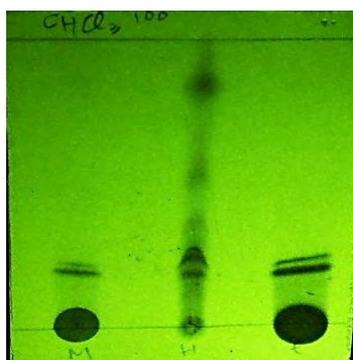
$$\text{Anti log } x = 2.878 \quad \mathbf{x = 755.671}$$

Lampiran 6. Pemilihan Eluen untuk Uji KLT**Pelarut Tunggal**

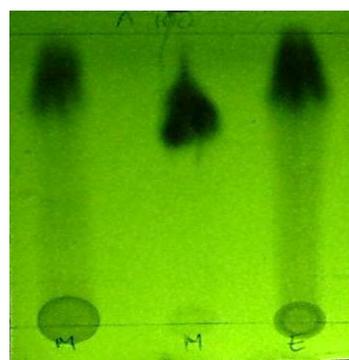
Pelarut metanol (100)



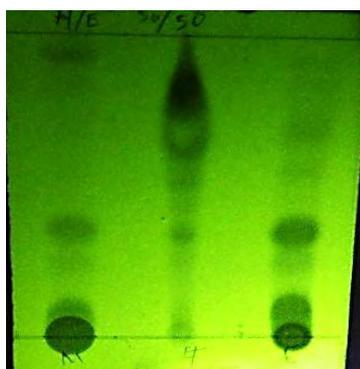
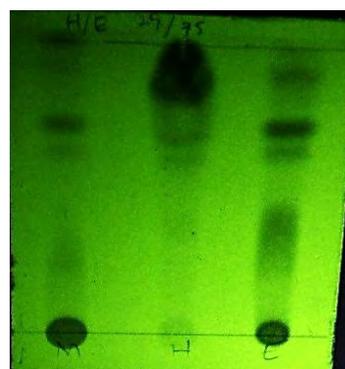
Pelarut etil asetat (100)

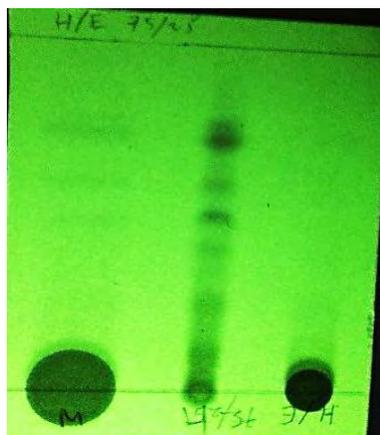
Pelarut *n*-heksana (100)

Pelarut kloroform (100)

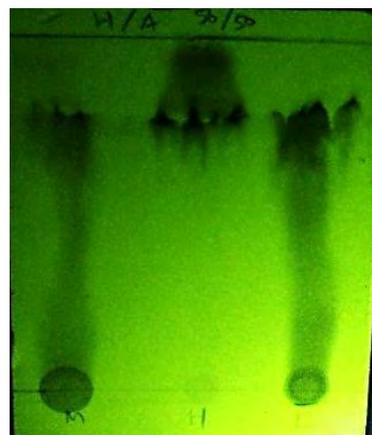


Pelarut aseton (100)

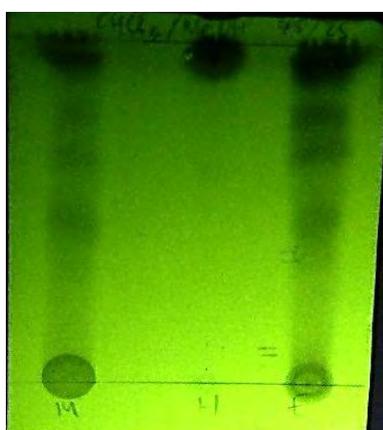
Pelarut CampuranPelarut *n*-heksana : etil asetat (50:50)Pelarut *n*-heksana : etil asetat (25:75)



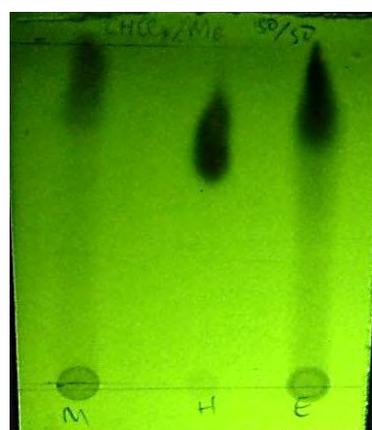
Pelarut *n*-heksana : etil asetat (75:25)



Pelarut *n*-heksana : aseton (50:50)



Pelarut kloroform : metanol (75:25)



Pelarut kloroform : metanol (50:50)



Pelarut kloroform : metanol (25:75)

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya yang bertanda tangan di bawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta :

Nama : Elsafira Ariavianti

No. Registrasi : 3325111329

Program Studi : Kimia

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul "**Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan dari Ekstrak Metanol, Fraksi *n*-Heksana, dan Fraksi Etil Asetat Daun *Vitex trifolia* L. Asal Lombok**" adalah

1. Dibuat dan dilaksanakan oleh saya sendiri berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian.
2. Bukan merupakan duplikasi skripsi yang telah dibuat oleh orang lain atau menjiplak karya tulis orang lain dan bukan terjemahan karya tulis orang lain.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan saya bersedia menanggung segala akibat yang timbul bila pernyataan saya ini tidak benar.

Jakarta, Januari 2016

Yang Membuat Pernyataan



Elsafira Ariavianti
(3325111329)

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



ELSAFIRA ARIAVIANTI. Dilahirkan di Jakarta pada tanggal 13 Agustus 1993. Anak ke 1 dari 2 bersaudara dari pasangan Bapak Drs. Sumarya dan Ibu Wiwik Sumarti. Bertempat tinggal di Pondok Ungu Permai Blok AI 8 No. 24, Bekasi Utara.

Pendidikan formal yang pernah ditempuh adalah: SD Kaliabang Tengah VII dan lulus pada tahun 2005, kemudian melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 5 Bekasi dan lulus pada tahun 2008, selanjutnya menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 4 Bekasi dan lulus pada tahun 2011, berikutnya melanjutkan pendidikan di perguruan tinggi Universitas Negeri Jakarta, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Program Studi Kimia.

Pengalaman Kunjungan Kerja Lapangan dan Kunjungan Industri yang pernah diikuti adalah kunjungan ke PT. Amerta Indah Otsuka di Sukabumi dan Malang, PT. Krakatau Steel dan PT. Indonesia Power di Cilegon, PT. Niramas Utama dan PT. Nippon Indosari Corpindo di Bekasi, PT. Yakult Indonesia Persada di Sukabumi, dan PT. Sinar Sosro di Jakarta.

Organisasi yang pernah diikuti selama kuliah adalah menjadi staff departemen Rohani Islam Mahasiswa Kimia (ROSMIK) periode 2012-2014 dan staff departemen INFOKOM BEM FMIPA periode 2014-2015.

Selama kuliah pernah menjadi Asisten Dosen untuk mata kuliah Praktikum Kimia Dasar I dan Praktikum Kimia Analitik Kualitatif dan Kuantitatif.