

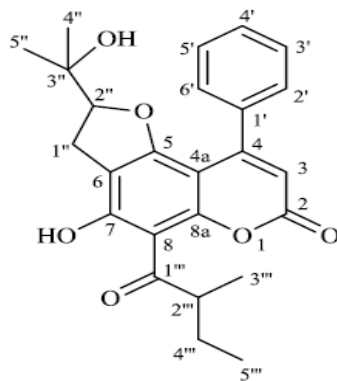
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Penelitian Terdahulu

Penelitian yang dilakukan oleh Ali *et al* (2004), kulit batang dan daun nagasari diekstraksi dengan *light petroleum ether*, kloroform, dan etanol pada suhu kamar sehingga menghasilkan *crude extracts* PE, kloroform, dan etanol, sedangkan *fluconal* ( $50 \mu\text{g disc}^{-1}$ ) digunakan sebagai pembanding. Metode uji antifungi yang digunakan adalah metode difusi, dan medium yang digunakan adalah *potato dextrose agar (PDA)*. Konsentrasi yang digunakan pada setiap ekstrak sebesar  $400 \mu\text{g disc}^{-1}$ . Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak daun dan kulit batang tanaman nagasari memiliki aktivitas sebagai antifungi pada beberapa fungi, yaitu *Penicillium notatum* (11 mm), *Aspergillus niger* (14 mm), *Trichoderma viride* (11 mm), *C. albicans* (10 mm), dan *Hensinela californicaa* (10 mm).

Penelitian yang dilakukan oleh Gonçalves *et al* (2013), daun *Calophyllum brasiliense* yang termasuk dalam famili Clusiaceae diekstraksi menggunakan pelarut *dichloromethane* dan heksan. Ekstrak kemudian diisolasi menggunakan metode kromatografi kolom dengan berbagai macam fase gerak yang digunakan, yang menghasilkan fraksi etanol-air, etil asetat, dan fraksi n-heksana. Fraksinasi etanol-air menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi, dengan panjang kolom 5 mm, 150 x 4,6 mm, dengan fase gerak yaitu asetonitril:air (5:95 % v/v), 55:45 % v/v, dan 80:20 % v/v. Senyawa yang telah berhasil diisolasi pada fraksi etanol-air yaitu cumarin jenis mammea type A/BB. Cumarin Type A/BB dibagi menjadi dua macam yaitu type A/BB *cyclo* D dan F. Cumarin jenis mammea A/BB dilaporkan memiliki aktivitas terhadap fungi. Struktur senyawa kumarins jenis mammea type A/BB *cyclo* F ditunjukkan pada Gambar 2.1. Profil analisis sidik jari FTIR terhadap kumarin jenis mammea pada type D dan F bisa dilihat pada Tabel 2.1.

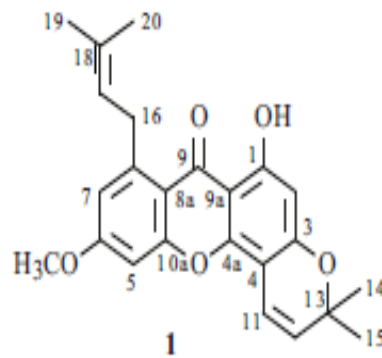


Gambar 2.1 Struktur cumarins mammae type A/BB cyclo F (Gonçalves *et al.*, 2013)

Tabel 2.1 Analisis sidik jari FTIR fraksi etanol-air (Gonçalves *et al.*, 2013)

Nama senyawa	Panjang serapan (cm <sup>-1</sup> )	Keterangan
Cumarins mammae A/BB cyclo D	1740	$\alpha$ - pyrone
	3461	Gugus O-H
Cumarins mammae A/BB cyclo F	3453	Gugus O-H
	1732	Gamma lakton
	1603	Grup acyl

Penelitian yang pernah dilakukan oleh Daud *et al* (2016) daun *Calophyllum buxifolium* yang berasal dari famili Clusiaceae, diekstraksi dengan etanol, dan difraksinasi dengan pelarut etil asetat. Hasil fraksi etil asetat kemudian diisolasi menggunakan kromatografi kolom dengan fase gerak metanol (10:0) dan metanol:chloroform (9,5:0,5) dan fase diam silika gel, dari hasil isolasi tersebut didapatkan senyawa berupa *Buxixanthone*. *Buxixanthone* merupakan golongan baru dari pyroxanthone yang dilaporkan memiliki aktifitas antibakteri dan antifungi. Struktur *Buxixanthone* di tunjukan pada Gambar 2.2. Profil analisis FTIR fraksi etil asetat ditunjukan pada Tabel 2.2.



Gambar 2.2 Struktur *Buxixanthone* (Daud *et al.*, 2016)

Tabel 2.2 Analisis sidik jari FTIR fraksi etilasetat (Daud *et al.*, 2016)

Nama senyawa murni	Panjang serapan (cm <sup>-1</sup> )	Gugus Fungsi
<i>Buxixanthone</i>	3410	Gugus hidroksil
	1710	Gugus karbonil
	1590	Cincin aromatik

## B. Landasan Teori

### 1. Infeksi

Penyakit Infeksi (*infectious disease*) merupakan invasi patogen atau mikroorganisme yang mampu menyebabkan sakit (Parry dan Potter, 2005). Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur dan parasit (Wells *et al.*, 2015). Contoh dari bakteri penyebab infeksi adalah *S. thypi* penyebab penyakit tyfus dan *S. pneumoniae* penyebab penyakit pneumonia, infeksi yang disebabkan virus contohnya varisela (cacar air) yang disebabkan oleh virus *Varisela zoster*, contoh jamur penyebab infeksi adalah *C. albicans* penyebab penyakit candidiasis dan *Malassazia furfur* penyebab penyakit panu, dan infeksi yang disebabkan parasit contohnya *Ascaris lumbricoides* penyebab penyakit ascariasis, dan *Plasmodium* penyebab penyakit malaria. Infeksi ditandai dengan meningkatnya jumlah sel darah putih (>4000 dan 10.000 cel/mm<sup>3</sup>, meningkatnya jumlah leukosit (>30.000 sampai 10.000 cell/mm<sup>3</sup>), nyeri dan inflamasi (panas, bengkak, kemerahan, dan kerusakan jaringan) (Wells *et al.*, 2015).

### 2. Antifungi

Antifungi adalah suatu senyawa yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh jamur atau fungi seperti sariawan, panu, kadas, kurap, kutu air dan lain sebagainya. Biasanya obat

jamur diberikan secara topikal meskipun ada kalanya diberikan secara oral ataupun infus. Uji aktivitas antifungi sama seperti uji antimikroba lainnya, dapat dilakukan dengan difusi agar ataupun dilusi cair. Namun ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, misalnya media yang digunakan dan saat pengamatan setelah proses inkubasi, karena jamur cenderung membentuk koloni sehingga berbeda dengan pengamatan pertumbuhan bakteri.

Menurut Tripathi (2001) obat-obat antifungi diklasifikasikan menjadi beberapa golongan, yaitu golongan antibiotik (contohnya amfotericin B, nystatin, dan griseofulvin), golongan antimetabolite (contohnya *flucytosine*), golongan azoles (contohnya clotrimazol, miconazol, ketokonazol, dan itrakonazol), golongan allylamine terbinafine, dan antijamur lainnya contohnya tolnaftate, asam benzoat, sodiuntiosulfat.

### 3. Deskripsi tanaman dan klasifikasi tanaman nagasari

Nagasari merupakan jenis pohon anggota suku manggis manggisian (Clusiaceae) yang kayunya bernilai ekonomi tinggi. Tanaman nagasari yang diperoleh dari Desa Notog, Kabupaten Banyumas dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Tanaman nagasari

Berdasarkan kedudukan dalam taksonomi tumbuhan, tanaman nagasari (*Mesua ferrera*.L) termasuk dalam:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida

Ordo	:	Malpighiales
Famili	:	Clusiaceae
Subfamili	:	Kielmeyeroideae
Bangsa	:	Calophylleae
Genus	:	Mesua
Spesies	:	<i>Mesua ferrea</i>

Pohon berukuran sedang dapat tumbuh sampai mencapai tinggi 30 m, batang lurus, diameter batang dapat mencapai 65 cm, batang tanpa cabang sampai sepanjang 20 m, memiliki akar berwarna merah kecoklatan sampai merah. Daun berbentuk jorong, berukuran 4,5-12,5 cm, berwarna putih pada bagian permukaan bawah, pertulangan daun tidak tampak jelas, panjang tangkai daun 4-8 mm (Nurwanto dan Widyani, 2002).

Nagasari merupakan jenis tumbuhan yang terdapat di negara Kamboja, India, Malaysia, Filipina, Singapura, Myanmar, Vietnam dan Indonesia. Pohon nagasari berukuran sedang, tinggi 36 m, batang lurus, berdiameter 95 m, permukaan batang beralur panjang, daun bersilangan, tunggal, tepi, daun rata, berbentuk lonjong, pangkal daun runcing, berwarna hijau kebiru-biruan (P, Nurwanto dan Widyani, 2002).

Nagasari memiliki aktivitas sebagai antiseptik, antiinflamasi, dan antialergi (Gomathi, 2015). Nagasari juga memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektif, diuretik, obat cacing, kardiotonik, ekspektoran, antioksidan, antipiretik, antimikroba, depressan, antispasmodik, dan analgesik (Keawsa-ard *et al.*, 2015). Daun nagasari memiliki aktivitas terhadap bakteri gram positif, negative, dan yeast (Chandra *et al.*, 2013).

Daun nagasari memiliki kandungan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, fitosterol, dan saponin (Beena *et al.*, 2014; Sharma and Sharma, 2017; Novanti, 2016). Metabolit sekunder bioaktif yang telah berhasil diisolasi dari nagasari antara lain fenilkumarin; ksanton; triterpenoid; gliserida dari asam linoleat, oleat,

sterat dan arakhidat; turunan 4-fenilkumarin (mesuol, mesuagin, mammeisin, mammeigin dan mesuone), turunan 4-alkilkumarin (feruol A dan B), triterpenoid guttiferol, *mesuaxanthon*es A dan B, *erraxanthone*, *1,7-dihydroxyxanthone*, *1,5 dihydroxy 3-methoxyxanthone*, *1,3,6-trihydroxyxanthone*, *1,5-dihydroxyxanthone*, *α-hydroxy 7-methoxyxanthone*, *β-sitosterol*, *α* dan *β-amyrin*, biflavonoid (*mesuaferone* A dan B), *mesuanic acid*, *1,5-dihydroxyxanthone*, *euxanthone 7-methyl ether*, *meauxanthone* A dan *memaxanthone* B, dan *mesuaferol* (Chahar *et al.*, 2012). Selain itu, *caloxanthone* C, *1,8 dihydro-3-methoxy-6-methylantraquinone*, friedelin, dan *betulinic acid* juga dilaporkan berhasil diisolasi dari nagasari (Teh *et al.*, 2013). Tujuh turunan kumarin, 5 diantaranya aktif 3 sebagai penghambat *NorA efflux pump* pada beberapa bakteri gram positif dan negatif juga telah didapatkan dari nagasari (Roy *et al.*, 2013). Nagasari memiliki kandungan kimia dari golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan fitosterol (Putra *et al.*, 2016; Sharma dan Sarma, 2016).

Secara empiris, nagasari adalah salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai tanaman obat seperti antiseptik, pencahar, pembersih darah, kontrol cacing, dan tonik (Yuniarti *et al.*, 2001). Di Thailand tumbuhan nagasari dimanfaatkan untuk mengobati demam, dingin, asma, ekspektoran, kardiotonik, diuretik dan agen antipiretik, sedangkan daunnya sering digunakan sebagai obat sengatan kalajengking dan gigitan ular (Putra *et al.*, 2016). Nagasari dilaporkan aktif aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif dan *yeast* (Ali *et al.*, 2004; Chanda *et al.*, 2013; Teh *et al.*, 2013; Ullah *et al.*, 2013).

#### 4. Metode Uji Antimikroba

Metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi aktivitas antimikroba dalam produk alam terbagi menjadi tiga kelompok, yaitu metode difusi, metode dilusi, dan metode bioautografi.

#### **a. Metode difusi**

Metode difusi dikenal sebagai teknik kualitatif karena metode ini hanya memberikan informasi mengenai ada atau tidaknya aktivitas antimikroba dalam suatu sampel. Metode ini sering digunakan untuk uji antimikroba yang rentan terhadap senyawa murni, senyawa polar, ataupun nonpolar (Pratiwi, 2008). Pada prosedur ini, kertas filter cakram (kira-kira berdiameter 6 mm), berisi senyawa uji yang ditempatkan pada permukaan yang sebelumnya telah diinokulum dengan mikroba uji. Cawan petri diinkubasi dan zona inhibisi diukur. Setelah diinkubasi, silinder, dipindahkan dan zona inhibisi yang terbentuk diukur (Pratiwi, 2008).

#### **b. Metode dilusi**

Metode dilusi merupakan teknik kuantitatif yang memiliki kemampuan untuk mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) (Pratiwi, 2008). Dua jenis metode dilusi adalah dilusi agar dan pengenceran tabung. Menurut Pratiwi (2008) metode dilusi menjadi dilusi dibedakan menjadi metode dilusi cair dan dilusi padat. Pada metode dilusi cair, dibuat seri pengenceran agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji. Metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair tapi menggunakan media padat.

#### **c. Metode bioautografi**

Sama halnya dengan metode difusi, metode ini juga merupakan teknik kualitatif dan prosedurnya hampir sama dengan metode difusi. Perbedaannya bahwa senyawa uji berdifusi ke medium agar dari kromatografi, yang mengandung adsorben atau kertas. Bioautografi adalah suatu teknik laboratorium untuk mendeteksi zat yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan organisme uji dalam campuran yang kompleks dan matriks (Choma, 2005). Metode bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antikapang. Metode ini menggabungkan penggunaan teknik kromatografi lapis

tipis dengan respon dari mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antiparasit, antiprotozoa (Choma, 2005).

## 5. Jamur Uji

### a. *Candida albicans*

Taksonomi *C. albicans* menurut Dumilah (1992) adalah sebagai berikut:

Divisio	: Eumycotina
Classis	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Familia	: Cryptococcaceae
Sub Familia	: Candidoidea
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

Jamur merupakan suatu mikroorganisme eukariotik yang memiliki ciri-ciri spesifik yaitu mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil, dapat berkembang biak secara seksual dan aseksual, dan beberapa jamur mempunyai bagian-bagian tubuh berbentuk filamen-filamen dan sebagian lagi membentuk uniseluler (Fardiaz, 1992). *C. albicans* merupakan suatu khamir yang termasuk kelas Ascomycetes dan merupakan anggota flora normal selaput lendir saluran pernafasan, pencernaan, dan genitalia wanita (Jawetz, 1986). Koloni *C. albicans* umumnya berbentuk seperti mentega dan berbau khas yang terdiri dari sel-sel berukuran kecil (2-4  $\mu\text{m}$ ). *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi (kandidiasis) yang serius baik pada hewan maupun manusia terutama mukosa membran seperti vagina, kulit, dan paru (Frobiser *et al.*, 1974).

### b. *Saccaromyces cereviceae*

Klasifikasinya yaitu:

Kingdom : Fungi

Filium : Ascomycota  
Kelas : Saccharomycetes  
Ordo : Saccharomycetales  
Famili : Saccharomycetaceae  
Genus : Saccharomyces (E.C. Hansen 1838) Mayen  
Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces merupakan genus khamir atau *yeast* yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> (Camaco *et al.*, 2003). Saccharomyces merupakan mikroorganisme bersel tunggal dan tidak berklorofil serta termasuk kelompok Eumycetes (Camaco *et al.*, 2003). Jenis fungi ini tumbuh baik pada suhu 30 °C dan pH 4,8 (Camaco *et al.*, 2003).

*S. cerevisiae* adalah khamir yang biasa digunakan dalam pembuatan roti dan bir, karena khamir ini bersifat fermentatif kuat (melakukan fermentasi, yaitu memecah glukosa menjadi CO<sub>2</sub> dan alkohol). Namun dengan adanya oksigen, Saccharomyces juga dapat melakukan respirasi yaitu mengoksidasi gula menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O (Arroyo *et al.*, 2009).

## 6. Metode pemisahan

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harbone, 1987). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987). Menurut Mukhriani (2014), terdapat beberapa jenis ekstraksi, yaitu:

**a. Maserasi**

Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling sederhana, dengan cara memasukan serbuk kedalam wadah yang bersifat *inert* dengan menggunakan pelarut yang cocok.

**b. Perkolasi**

Perkolasi adalah suatu metode pemisahan dengan menggunakan alat perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran bagian bawahnya).

**c. Soxhletasi**

Suatu metode dengan cara menetapkan sampel pada sarung selulosa dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

**d. Reflux dan destilasi uap**

*Reflux* adalah metode ekstraksi dengan cara memasukan sampel bersama dengan pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor, dan uap yang dihasilkan kembali lagi ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan digunakan untuk senyawa yang bersifat mudah menguap (volatil).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi yaitu faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi jenis ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu, sifat pelarut, polaritas, dan konsentrasi pelarut merupakan faktor yang mempengaruhi kuantitas dan komponen pengambilan senyawa yang didapat (Pandey *et al.*, 2014). Pemilihan pelarut merupakan faktor keberhasilan utama di dalam pengambilan senyawa (Pandey *et al.*, 2014). Pelarut yang baik memiliki sifat-sifat yaitu toksisitas yang rendah, mudah diuapkan pada suhu rendah, memiliki penyerapan fisiologis yang cepat dari ekstrak, dan sebagai pengawet (Pandey *et al.*, 2014). Faktor yang mempengaruhi pelarut yaitu jumlah fitokimia yang akan diekstraksi, tingkat ekstraksi, keanekaragaman senyawa yang akan diekstraksi, keragaman senyawa penghambat yang akan di ekstraksi, mudah dilakukan penanganan terhadap ekstrak. Prinsip dasar pelarut yaitu pelarut dapat

meningkatkan luas permukaan ekstraksi, sehingga dapat meningkatkan ekstraksi (Pandey *et al.*, 2014).

## 7. Fraksinasi

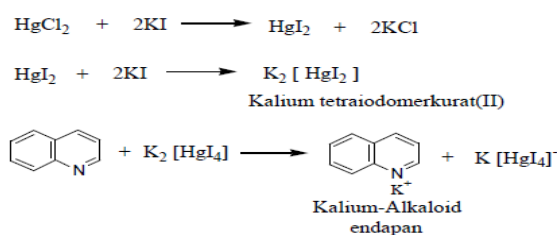
Fraksinasi merupakan metode pemisahan yang menggunakan polaritas dan ukuran molekul yang sama (Sudjadi, 2007). Hasil dari fraksinasi disebut fraksi. Fraksinasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair–cair (Sudjadi, 2007). Ekstraksi cair-cair merupakan metode yang sederhana, karena melibatkan pemilihan pelarut atau gabungan pelarut yang akan melarutkan secara sempurna senyawa yang akan dianalisis, dan melarutkan sedikit senyawa lain yang akan mengganggu proses analisis (Sudjadi, 2007; Mukhriani, 2014).

## 8. Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia atau skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa dari metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid yang terdapat pada sampel uji. Skrining fitokimia dimaksudkan sebagai data pendukung untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yang kemungkinan memberikan efek antifungi (Robinson, 1995).

### a. Identifikasi alkaloid

Menurut Setyowati *et al* (2014), identifikasi alkaloid bisa dilakukan menggunakan metode Mayer. Pada metode Mayer, hasil alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan electron bebas, sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Marliana dan Suryanti, 2005). Mekanisme reaksi pada identifikasi alkaloid bisa dilihat pada Gambar 2.4.

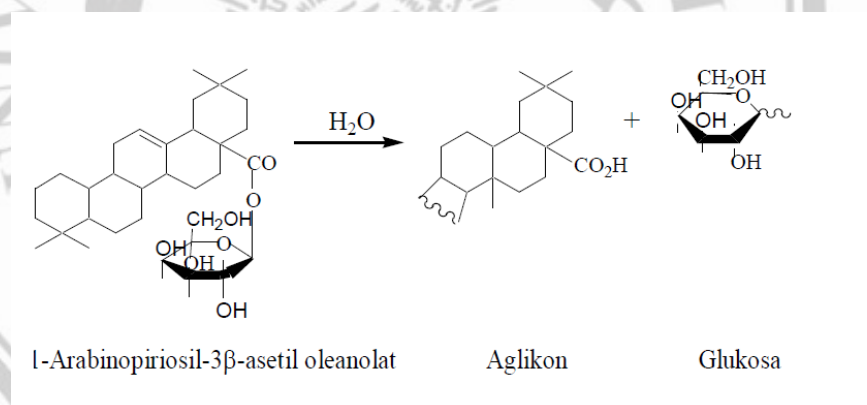


**Gambar 2.4. Reaksi alkaloid dengan pereaksi Mayer (Marliana dan Suryanti, 2005)**

b. Identifikasi saponin

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol, sebagai glikosida biasanya dihidrolisis oleh asam uron yang berikatan (Robnson, 1937). Berdasarkan struktur glikon saponin dibedakan menjadi saponin tipe steroid dan terpenoid. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Robnson, 1937).

Dalam larutan sangat encer saponin sangat beracun untuk ikan dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun imun selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba (Robnson, 1937). Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam air panas kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya buih. Mekanisme dari pembentukan buih bisa dilihat pada Gambar 2.5.

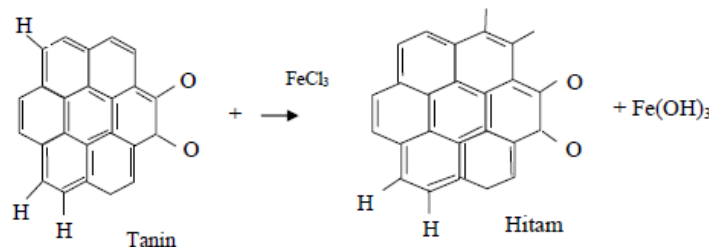


**Gambar 2.5. Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana and Suryanti, 2005)**

c. Identifikasi tanin dan fenolat

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam filtrate ditambah dengan FeCl<sub>3</sub> 1% (Setyowati *et al*, 2014). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan hijau, merah, ungu atau hitam yang pekat. Tanin akan bereaksi dengan ion Fe<sup>3+</sup> membentuk senyawa kompleks. Reaksi tanin dengan FeCl<sub>3</sub> ditunjukkan pada Gambar 2.6. angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu.

Menurut batasnya, tannin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air (Harbone, 1996). Identifikasi tanin dilakukan dengan melarutkan sampel kedalam akuades kemudian disaring dan



**Gambar 2.6. Mekanisme reaksi tanin dengan FeCl<sub>3</sub> (Setyowati *et al.*, 2014)**

d. Identifikasi flavonoid

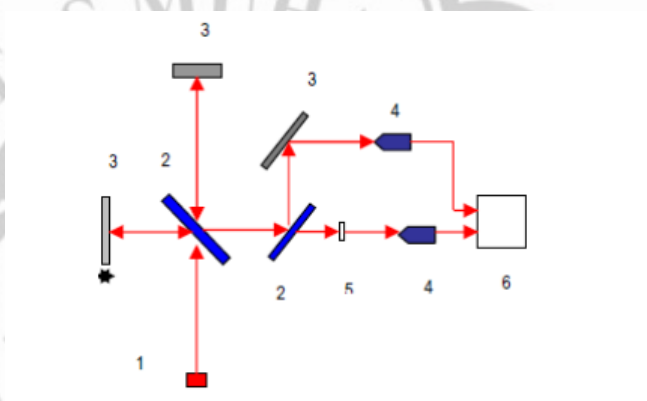
Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak pekat dalam methanol panas dan menambahkan serbuk Mg serta HCl pekat (Setyowati, 2014). Identifikasi flavonoid juga bisa dilakukan dengan menambahkan amonia encer dan asam sulfat pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning kemerahan (Rawat dan Upadhayaya, 2013)

e. Identifikasi terpenoid

Terpenoid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari molekul isoprene  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$  dan kerangka penyambungan dua atau lebih satuan C<sub>5</sub> (Harbone, 1996). Terpenoid terdiri dari berbagai macam senyawa, mulai dari komponen minyak atsiri, yaitu komponen monoterpena dan seskuiterpena yang mudah menguap (C<sub>10</sub> dan C<sub>15</sub>), diterpena yang lebih sukar menguap (C<sub>20</sub>), sampai ke senyawa yang sukar menguap yaitu triterpenoid dan sterol (C<sub>30</sub>) (Harbone, 1996). Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan (Harbone, 1996). Identifikasi terpenoid dilakukan dengan penambahan amonia encer dan asam sulfat pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya dua lapisan (Harbone, 1996).

## 9. Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan salah satu instrumen yang menggunakan prinsip spektroskopi. Spektroskopi inframerah dilengkapi dengan transformasi fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya (Anam, 2007). Spektroskopi inframerah berguna untuk identifikasi senyawa organik karena spektrumnya yang sangat kompleks yang terdiri dari banyak puncak-puncak (Chusnul, 2011). Selain itu, masing-masing kelompok fungsional menyerap sinar inframerah pada frekuensi yang unik. Skema dan alur alat Spektroskopi FT-IR dapat dilihat pada Gambar 2.7.



**Gambar 2.7.** Skema alat spektroskopi FTIR. (1) Sumber inframerah. (2) Pembagi berkas (*beam splitter*). (3) Kaca pemantul. (4) Sensor inframerah. (5) Sampel. (6) Display (Anam *et al.*, 2007; Silviah *et al.*, 2013)

Spektrum inframerah dihasilkan dari pentransmisian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Anam *et al.*, 2007). Dalam penelitian ini ekstrak dan fraksi-fraksi ekstrak daun nagasari akan diamati dengan menggunakan FTIR, dengan tujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi-fraksi ekstrak daun nagasari tersebut.

Menurut Rakesh *et al* (2014), terdapat beberapa teknik analisis dengan FTIR yaitu:

a. Teknik KBr

Sampel sebanyak 0,5 sampai 10 mg ditumbuk halus dan dicampur dengan campuran 100 mg bubuk kalium bromida kering atau alkali halida lainnya. Tekanan diatur dengan cukup, dan campuran ditekan kedalam campuran transparan. Spektrum IR dihasilkan oleh teknik pelet menunjukan pita  $3450\text{ cm}^{-1}$  dan  $1640\text{ cm}^{-1}$ .

b. Teknik ATR (*Attenuated Total Reflections*)

ATR adalah salah satu teknik penyiapan sampel dalam analisis FTIR. ATR dapat digunakan untuk bahan-bahan padat dan cairan padat yang sangat menyerap, seperti pelapis, bubuk, benang, perekat, polimer dan sampel yang berair. Sampel ditempatkan dalam kontak dekat dengan kristal indeks dengan densitas tinggi yang lebih padat seperti seng selenida, thallium bromide –thallium iodida (KRS-5) atau germanium. Keuntungan ATR yaitu memerlukan sedikit sampel, teknik pengambilan sampel yang serbaguna. Peralatan ATR bekerja dengan cara mengukur perubahan yang terjadi dalam proses pemantulan sinar inframerah ketika sinar datang menuju sampel. Sinar inframerah akan menuju sampel yang padat dengan indeks bias tinggi pada sudut tertentu. Refleksi interna ini akan menghasilkan gelombang *evanescent* yang terbentuk tipis dibawah permukaan Kristal menuju sampel yang berada dipermukaan Kristal.

c. *Specular Reflectance*

Teknik nondestruktif dengan menggunakan lapisan tipis yang selektif, dan tanpa dilakukan preparasi sampel. Metode ini seperti cermin yang mengalami refleksi.

d. *Reflectif membaur* (Spektra DRIFT)

Teknik yang digunakan untuk sampel bubuk dan memiliki permukaan kasar, seperti batu bara, kertas, dan kain. Teknik ini menggunakan pantulan untuk mengumpulkan dan memfokuskan kembali cahaya yang disebarkan dengan *diffusent* oleh cermin ellipsoidal besar, specular dihilangkan. Teknik ini dinamakan *Refracture Inframerah Fourier Transform Spectroscopy* (DRIFTS).

e. *Spektroskopi Photoacoustic* (PAS)

Metode ini digunakan untuk memeriksa sampel yang mudah menyerap dan sulit dianalisis dengan teknik IR konvensional. Keuntungan Spektrum PAS membutuhkan preparasi sampel yang mudah, tidak lama dan tanpa kristal tunggal, dan serat tunggal.

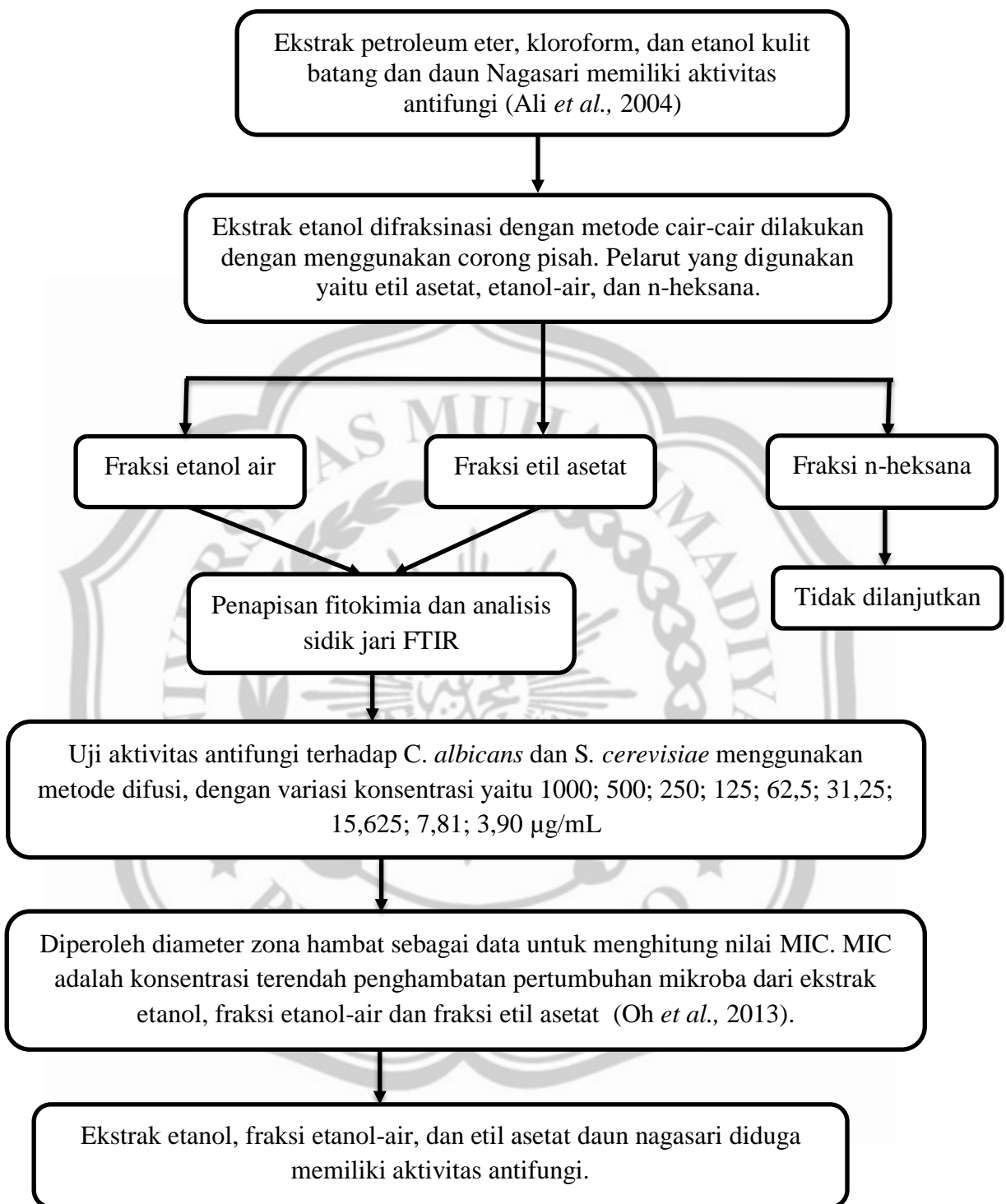
Menurut Anam *et al* (2007), Hasil analisis sidik jari FTIR menjelaskan bahwa setiap pita serapan dengan puncak absorbansi tertentu menunjukkan ciri khas gugus tertentu. bisa dilihat pada Tabel 2.3.

**Tabel 2.3** Macam-macam bilangan gelombang pada setiap gugus fungsi (Anam *et al.*, 2007)

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm <sup>-1</sup> )
Karbonil	1630-1850	Alkena	2000-3100
Aldehida	1706-1725	Alcohol	3200-3600
Ester	1741-1750	Alkane	3020-3000
Amida	1630-1690	Eter	1120-1140
<i>Acyl</i>	1602	Ester	1735-1750
Aromatik	1450-1650	Asam karboksilat	3200-3600

**C. Kerangka Konsep**

Kerangka konsep penelitian penapisan fitokimia, sidik jari FTIR, dan aktivitas antifungi daun nagasari (*Mesua ferrea* L.) dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Kerangka konsep penelitian

#### D. Hipotesis

Ekstrak etanol, fraksi etanol-air, dan etil asetat daun nagasari diduga memiliki aktivitas antifungi.