



Identifikasi Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Antimikroba Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Eka Vany Anggraeni^a, Khairul Anam^{a*}

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: k_anam@undip.ac.id

Article Info

Keywords:

Durio zibethinus Murr., active fraction, isolate, ferulic acid, ferulic acid

Kata Kunci:

Durio zibethinus Murr., Fraksi aktif, isolat, asam ferulat, asam ferulat

Abstract

Extraction, fractionation, antimicrobial activity test by agar diffusion method and identification of chemical content of active fraction of durian skin (*Durio zibethinus* Murr.) Have been performed. From the maceration of durian skin (*Durio zibethinus* Murr) conducted using 96% ethanol solvent, it was obtained the durian ethanol extract durian skin. Then followed by fractionation with n-hexane solvent, chloroform, ethyl acetate, and methanol to obtain the respective fractions of n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and methanol. From the extract and fraction of durian skin, then the antimicrobial activity was tested, until the most active fraction was fraction of ethyl acetate. The identification of chemical content in the active fraction of durian ethyl acetate skin was carried out by the preparative thin layer chromatography method. While the purity test of isolates was analyzed using Thin Layer Chromatography method and obtained isolate E.2.2.2. Isolate in the form of white powder and characterization using UV-Vis spectrophotometer showed maximum wavelength of 205 nm, 236 nm, and 270-300 nm. Analysis with FTIR spectrophotometer showed the presence of O-H, = C-H aromatic, C = C aromatic, aromatic substitution, C = O carboxylic acid, C = C alkenes and C-O ether. While Thin Layer Chromatography Analysis with comparator of phenolic acid standard compound, it is suspected that isolate E.2.2.2 is ferulic acid.

Abstrak

Ekstraksi, fraksinasi, uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi agar serta identifikasi kandungan kimia dari fraksi aktif dari kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) telah dilakukan. Dari maserasi dari kulit durian (*Durio zibethinus* Murr) yang dilakukan menggunakan pelarut etanol 96%, diperoleh ekstrak etanol kulit durian. Kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi dengan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol sehingga diperoleh masing-masing fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol. Dari ekstrak dan fraksi kulit durian, kemudian dilakukan uji aktivitas antimikroba, hingga diperoleh fraksi teraktif adalah fraksi etil asetat. Identifikasi kandungan kimia dalam fraksi aktif etil asetat kulit durian dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis preparatif. Sedangkan uji kemurnian isolat dianalisis menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dan didapatkan isolat E.2.2.2. Isolat berbentuk serbuk putih dan karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum 205 nm, 236 nm, dan 270-300 nm. Analisis dengan spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya gugus O-H, =C-H aromatik, C=C aromatik, substitusi aromatik, C=O asam karboksilat, C=C alkena dan C-O eter. Sedangkan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dengan pembanding senyawa standar asam ferulat, diduga bahwa isolat E.2.2.2 adalah asam ferulat.

1. Pendahuluan

Tanaman durian (*Durio zibethinus Murr.*) merupakan salah satu jenis buah-buahan yang produksinya melimpah. Bagian buah durian yang dapat dimakan (presentase bobot daging buah) tergolong rendah (20,52%). Sisanya 79,48% merupakan bagian yang tidak termanfaatkan untuk dikonsumsi, seperti kulit dan biji durian [1]. Kulit durian merupakan limbah rumah tangga yang dibuang sebagai sampah dan tidak memiliki nilai ekonomi. Sesungguhnya, kulit durian memiliki manfaat yang belum banyak ditelaah yaitu air rendamannya dapat menghilangkan aroma durian pada tangan dan mulut setelah mengkonsumsi buah ini. Sampai saat ini belum pernah dilaporkan apakah air rendamannya memiliki sifat antimikroba atau dalam aplikasinya sebagai sanitiser.

Penelitian sebelumnya, diketahui bahwa gel polisakarida ekstrak kulit durian mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, dan *Staphylococcus cerevisiae* [2]. Ekstrak metanol buah dan kulit durian mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, kemudian Sivananthan dan Elamaram [3] melaporkan bahwa ekstrak kloroform kulit durian mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, namun belum diketahui kandungan kimia kulit durian yang dapat menghambat aktivitas mikroba. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan identifikasi kandungan kimia kulit durian yang dapat menghambat aktivitas antimikroba yaitu terhadap bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dan jamur *Candida albicans*.

2. Metode Penelitian

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit *Durio zibethinus Murr.*, etanol 96% teknis, aquades, asam klorida, anhidrida asam asetat, asam sulfat, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Liebermann-Burchard, serbuk Mg, amil alkohol, eter, amonia, larutan feri klorida, etanol p.a dan teknis, *n*-heksana p.a dan teknis, kloroform p.a dan teknis, etil asetat p.a dan teknis metanol p.a dan teknis, silika gel 60 GF₂₅₄, KLT aluminium 20x20 cm, KLT preparatif (5x20 cm dan 20x20 cm), kertas saring, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*, jamur *Candida albicans*, media NA (Nutrien Agar), media PDA (Potato Dextrose Agar), larutan NaCl 0,9 %, kertas cakram, tetrasiklin, ketokonazol, DMSO. Sedangkan alat-alat yang digunakan adalah alat gelas standar penelitian, mortar porselin, pipet mikro, cawan porselin, chamber KLT, botol vial, rotary evaporator, neraca analitis, erlenmeyer, kurs porselin, vakum, kolom, tabung reaksi, cawan penguap, jarum ose, inkubator, autoklaf, spreader, cawan petri, spektrofotometer UV dan spektrofotometer FTIR.

Preparasi sampel

Kulit durian diperoleh pada bulan Oktober 2014 dari daerah Gunung Pati Semarang Jawa Tengah. Preparasi

sampel dilakukan dengan pengambilan kulit durian bagian dalam, dicuci, dikeringkan, dipotong dengan ukuran yang lebih kecil dan dihaluskan sehingga diperoleh serbuk kulit durian 2,01 kg.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Kulit *Durio zibethinus* dimaserasi dengan pelarut etanol sampai bening dengan penggantian pelarut selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol yang diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi berturut-turut dengan pelarut *n*-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol dengan menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase diam silika gel. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing pelarut kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan fraksi kental *n*-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol.

Penapisan Fitokimia

Untuk mengetahui golongan kimia dari ekstrak etanol dan fraksi-fraksi kulit durian, dilakukan uji penapisan fitokimia yang meliputi uji saponin, uji tanin, uji alkaloid, uji flavonoid, uji streoid/triterpenoid, dan uji kuinon [4].

Uji Saponin

Sebanyak 2,5 gram sampel dididihkan dalam 50 mL aquades selama 5 menit, kemudian disaring dalam keadaan panas. Selanjutnya 5 mL larutan tersebut dikocok kuat-kuat secara vertikal selama 10 detik. Setelah kurang lebih 10 menit, hasilnya ditetesi dengan asam klorida 2 N.

Uji Tanin

Sebanyak 5 gram sampel dididihkan dalam 5 mL aquades selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 3, filtrat pertama ditambahkan FeCl₃ 1%. Filtrat kedua diberi larutan gelatin, kemudian dibubuhi pereaksi Steasny untuk membuktikan keberadaan tanin katekat. Endapan disaring, filtratnya dibubuhi natrium asetat hingga jenuh, kemudian ditetesi larutan FeCl₃ 1% untuk menunjukkan keberadaan tanin galat.

Uji Alkaloid

Sebanyak 2,5 gram sampel dilembabkan dengan 5 mL amonia 25%, lalu digerus dalam kurs porselin. Setelah itu, hasil gerusan dituangi 20 mL kloroform digerus kuat-kuat dan disaring. Untuk pemeriksaan alkaloid, 10 mL larutan organik diekstraksi 2 kali dengan HCl (1:10). Sebanyak 5 mL larutan masing-masing dituangkan ke dalam 2 tabung reaksi. Keberadaan alkaloid diuji dengan pereaksi Dragendorff dan Mayer.

Uji Flavonoid

Sebanyak 2,5 gram sampel dididihkan dalam 50 mL aquades selama 5 menit, kemudian disaring dalam keadaan panas, 5 mL filtrat ditambah dengan serbuk Mg,

1 mL HCl dan 2 mL amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan.

Uji Steroid/Triterpenoid.

Sebanyak 2,5 gram sampel dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, kemudian disaring. Selanjutnya 5 mL filtrat yang diperoleh diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Ke dalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat.

Uji Kuinon

Sebanyak 1 gram sampel dididihkan dalam 10 mL aquades selama 5 menit, kemudian didinginkan dan disaring, 5 mL filtrat ditambahkan NaOH 1 N.

Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi kulit durian. Metode yang digunakan yaitu metode difusi cakram [5]. Bakteri uji digunakan bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) sedangkan jamur uji digunakan jamur *Candida albicans*. Larutan uji digunakan ekstrak dan fraksi kulit durian menggunakan konsentrasi 1%.

Pembuatan Media

Nutrien Agar (NA). Sebanyak 2,5 gram medium disuspensikan ke dalam 100 mL aquades. Medium dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna. Kemudian didiamkan dan disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1-2 atm [5].

Media Potato Dextrose Liquid (PDA)

Sebanyak 3 gram medium disuspensikan ke dalam 100 mL aquades. Medium dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna. Kemudian didiamkan dan disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1-2 atm [5].

Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Tabung reaksi, gelas ukur dan erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas. Cawan petri dibungkus dengan kertas. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara memijarkan pada api bunsen [5].

Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diinokulasi dalam media pertumbuhan NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian bakteri dibuat suspensi ke dalam larutan NaCl dan diukur kekeruhannya dengan spektrofotometer pada $\lambda=580$ nm dan transmisinya ditepatkan pada T=25% dengan larutan NaCl sebagai blanko.

Penyiapan Jamur Uji

Jamur uji *Candida albicans* diinokulasi dalam media pertumbuhan PDA dan diinkubasi pada suhu 24°C selama 48 jam. Kemudian jamur dibuat suspensi ke dalam larutan NaCl dan diukur kekeruhannya dengan spektrofotometer pada $\lambda=530$ nm dan transmisinya

ditepatkan pada T=25% dengan larutan NaCl sebagai blanko.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Sebanyak 1,5 mL bakteri dicampur dengan 15 mL Nutrien Agar pada petridish. Setelah menjadi padat, kertas cakram diletakkan di atas media kemudian ditetesi larutan uji sebanyak 10 μ L. Prainkubasi selama 30 menit pada suhu kamar kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam diukur zona bening yang berada di sekitar cakram sebagai diameter hambatnya. Pembanding yang digunakan tetrasiklin sebagai kontrol positif dan pelarut DMSO sebagai kontrol negatif.

Uji Aktivitas Antijamur

Pengujian antijamur ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Sebanyak 50 μ L jamur dicampur dengan 10 mL NA pada petridish. Setelah menjadi padat, kertas cakram diletakkan di atas media kemudian ditetesi dengan larutan uji sebanyak 10 μ L. Prainkubasi selama 30 menit pada suhu kamar kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 24°C. Setelah 48 jam diukur zona bening yang berada di sekitar cakram sebagai diameter hambatnya. Pembanding yang digunakan ketokonazol sebagai kontrol positif dan pelarut DMSO sebagai kontrol negatif.

Pemisahan Senyawa Fraksi Aktif

Fraksi aktif yang didapatkan dari uji aktivitas antimikroba dilakukan telaah kandungan senyawa kimia. Pemisahan fraksi aktif dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan eluen yang tepat kemudian menggunakan KLT preparatif dan dikerok. Noda utama akan dilakukan identifikasi menggunakan penampak bercak Dragendroff (alkaloid), Lieberman-Burchard (steroid/ triterpenoid), $FeCl_3$ (tanin) dan NH_3 (asam fenolat).

Uji Kemurnian Isolat

Isolat yang didapat pada KLT preparatif kemudian dilakukan uji kemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis dengan berbagai eluen.

Karakterisasi Isolat Murni

Isolat murni akan dilakukan karakterisasi menggunakan UV-Vis dan FTIR.

3. Hasil dan Pembahasan

Preparasi Sampel

Kulit durian bagian dalam diambil dari bagian luar, kemudian dibersihkan dan dicuci, kemudian dikeringkan pada suhu kamar. Pemotongan menjadi ukuran lebih kecil dikarenakan untuk memperluas permukaan sehingga membantu pelarut untuk mengekstraksi secara maksimal senyawa-senyawa yang terdapat dalam kulit durian. Pengeringan tidak di bawah matahari langsung dikarenakan dapat mempengaruhi kandungan senyawa-senyawa dalam kulit durian.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Kulit durian dimaserasi dengan pelarut etanol sampai bening dengan penggantian pelarut selama 24 jam. Etanol yang dibutuhkan untuk maserasi sebanyak 21 liter. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental etanol kulit durian. Ekstrak yang diperoleh sebesar 187,89 gram sehingga rendemen 9,392%. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi berturut-turut dengan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol dengan menggunakan kromatografi cair vakum dengan fase diam silika gel GF₂₅₄. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing pelarut kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan fraksi kental n-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol.

Penapisan Fitokimia

Pendekatan secara penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan dalam tumbuhan terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, tanin dan kuinon [6].

Hasil dari penapisan fitokimia menunjukkan bahwa serbuk kulit durian mengandung saponin, flavonoid, tanin, kuinon, dan steroid/triterpenoid sedangkan ekstrak etanol kulit durian mengandung saponin, flavonoid, tanin, kuinon, steroid/triterpenoid, dan alkaloid. Hasil penapisan fitokimia ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1: Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Etanol Kulit Durian

No.	Uji Fitokimia	Hasil (+)/(-)	
		Serbuk	Ekstrak
1	Kuinon	(+)	(+)
2	Flavonoid	(+)	(+)
3	Saponin	(+)	(+)
4	Triterpenoid/steroid	(+)	(+)
5	Tanin	(+)	(+)
6	Alkaloid	(-)	(+)

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan hasil yang sama seperti kandungan ekstrak etanol kulit kapuk yaitu mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, dan triterpenoid dimana kapuk memiliki family yang sama dengan durian yaitu family *Bombacaceae* [7].

Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya menggunakan metode difusi agar, daerah bening di sekeliling cakram menandakan tidak adanya bakteri yang tumbuh menunjukkan bahwa sampel mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan mikroba dengan konsentrasi 1% pada masing-masing sampel. Uji aktivitas antimikroba dilakukan terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, gram negatif *Escherichia coli*, dan jamur *Candida albicans*. Hasil uji aktivitas antimikroba ditunjukkan pada tabel 2, 3 dan 4.

Tabel 2: Diameter hambat ekstrak dan fraksi kulit *Durio zibethinus* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel	Diameter hambat (mm)
1	Ekstrak etanol	8,80 ± 0,14
2	Fraksi n-heksana	9,375 ± 0,025
3	Fraksi Kloroform	9,175 ± 0,035
4	Fraksi Etil asetat	10,65 ± 0,14
5	Fraksi Metanol	8,30 ± 0,14

Tabel 3: Diameter hambat ekstrak dan fraksi kulit *Durio zibethinus* terhadap Bakteri *Escherichia coli*

No.	Sampel	Diameter hambat (mm)
1	Ekstrak etanol	9,425 ± 0,24
2	Fraksi n-heksana	9,20 ± 0,07
3	Fraksi Kloroform	9,25 ± 0,07
4	Fraksi Etil asetat	10,35 ± 0,07
5	Fraksi Metanol	-

Tabel 4. Diameter hambat ekstrak dan fraksi kulit *Durio zibethinus* terhadap Jamur *Candida albicans*

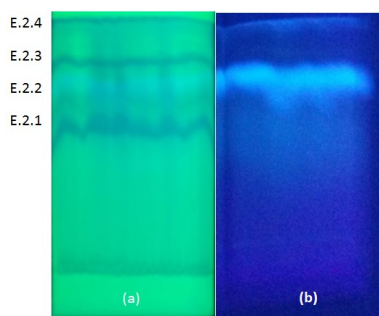
No	Sampel	Diameter hambat (mm)
1	Ekstrak etanol	6,45 ± 0,11
2	Fraksi n-heksana	8,25 ± 0,11
3	Fraksi Kloroform	8,25 ± 0,27
4	Fraksi Etil asetat	8,53 ± 0,19
5	Fraksi Metanol	7,53 ± 0,24

Pada tabel 2, 3 dan 4 menunjukkan hasil uji aktivitas antimikroba sampel kulit *Durio zibethinus* pada konsentrasi 1%, fraksi paling aktif ditunjukkan pada fraksi etil asetat yang mempunyai diameter hambat paling besar daripada fraksi yang lain dalam uji penghambatan bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dan jamur *Candida albicans*. Perbedaan kemampuan daya hambat dikarenakan perbedaan pelarut dengan perbedaan kandungan senyawa kimia. Setelah diketahui fraksi paling aktif yaitu fraksi etil asetat kulit durian maka selanjutnya dilakukan identifikasi kandungan senyawa di dalam fraksi tersebut.

Pemisahan Senyawa dalam Fraksi Aktif

Pemisahan senyawa dalam fraksi aktif etil asetat kulit durian menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT). Penggunaan KLT disertai dengan penampak bercak spesifik untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder. Penampak bercak yang digunakan meliputi pereaksi Dragendrof, FeCl₃, amonia, dan pereaksi Liebermann-Burchard. Hasil yang diperoleh dari penyemprotan penampak bercak bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa asam fenolat, alkaloid, tanin dan triterpenoid.

Pemisahan komponen senyawa dalam fraksi etil asetat (fraksi E) dilakukan perlakuan pendahuluan menggunakan KCV dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (7:3). Setelah diperoleh beberapa fraksi yaitu fraksi E.1, E.2, E.3, E.4 dan E.5, diambil fraksi yang mempunyai noda yang sama yang paling dominan yaitu fraksi E.2 untuk mempermudah proses isolasi senyawa, isolasi menggunakan KLT preparatif dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4). Hasil KLT preparatif ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Profil KLT preparative fraksi E.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu (a) UV₂₅₄, (b) UV₃₆₅

Berdasarkan hasil KLT preparatif di atas, terdapat 4 pita pada fraksi E.2 diamati dalam lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₅, Rf dan warna pita ditunjukkan pada tabel 5

Tabel 5: Hasil KLT preparatif fraksi E.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6 : 4)

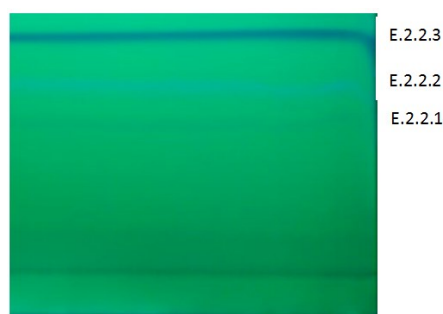
Pita	Rf	Warna Pita pada UV ₂₅₄
E.2.1	0,5	Biru tua
E.2.2	0,75	Biru muda
E.2.3	0,85	Biru tua
E.2.4	0,975	Biru tua

Hasil KLT preparatif dilakukan uji kemurnian terhadap 4 pita pada fraksi E.2 tersebut dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu UV₃₆₅ ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Profil KLT uji kemurnian fraksi E.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu UV₃₆₅ (a) E.2.1 (b)E.2.2 (c) E.2.3 (d) E.2.4

Hasil uji kemurnian fraksi E.2 menunjukkan adanya noda yang dominan yaitu noda dengan warna biru muda diamati dalam UV₂₅₄ yang terdapat pada pita E.2.2 tetapi pita tersebut belum murni sehingga dilakukan isolasi menggunakan KLT preparatif. Hasil KLT preparatif ditunjukkan pada gambar 3.

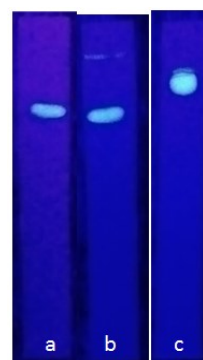


Gambar 3. Profil KLT preparatif pita E.2.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu UV₂₅₄.

Hasil KLT preparatif pada gambar 3, pita yang akan diuji kemurnian lebih lanjut yaitu pita E.2.2.2 dikarenakan pita E.2.2.2 menunjukkan pita yang dominan dalam fraksi aktif etil asetat.

Uji Kemurnian Isolat E.2.2.2

Isolat E.2.2.2 yang diperoleh dari hasil KLT preparatif dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan KLT dengan beberapa perbandingan eluen. Hasil uji kemurnian ditunjukkan pada gambar 4

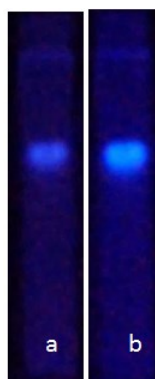


Gambar 4. Uji kemurnian isolat E.2.2.2 dengan metode KLT menggunakan berbagai eluen, (a) etil asetat:n-heksana (6:4) Rf 0,76 (b) etil asetat:kloroform (6:4) Rf 0,75 (c) metanol:kloroform (9:1) Rf 0,86

Berdasarkan hasil uji kemurnian pada pengamatan lampu UV₃₆₅ menunjukkan adanya 1 noda sehingga disimpulkan bahwa isolat E.2.2.2 telah murni. Isolat E.2.2.2 dalam pelarut etil asetat kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarut kemudian dihasilkan serbuk isolat E.2.2.2 berwarna putih yang selanjutnya dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

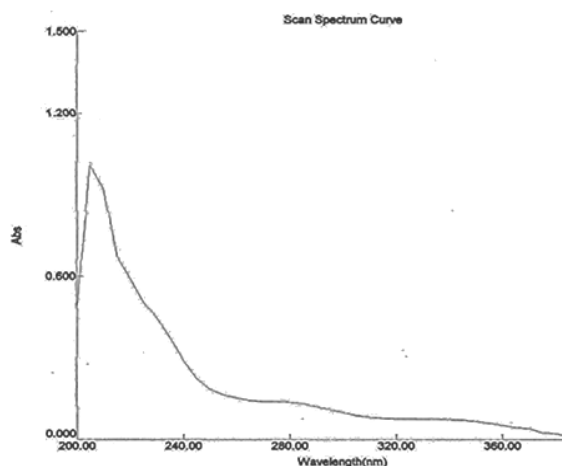
Karakterisasi Isolat E.2.2.2

Isolat E.2.2.2 dianalisis terlebih dahulu dengan penampak bercak spesifik untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder. Penampak bercak yang digunakan meliputi pereaksi Dragendrof, FeCl₃, uap amonia, dan pereaksi Liebermann-Burchard. Isolat E.2.2.2 berwarna biru pada UV₃₆₅ dan setelah pengamatan dengan penampak bercak uap amonia menjadi warna biru terang, diduga dalam golongan senyawa asam fenolat yaitu asam ferulat [6]. Hasil penampak bercak isolat E.2.2.2 ditunjukkan pada gambar 5.



Gambar 5. Profil KLT isolat E.2.2.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu UV₃₆₅ (a) isolat E.2.2.2 sebelum diuapi amonia (b) isolat E.2.2.2 setelah diuapi amonia

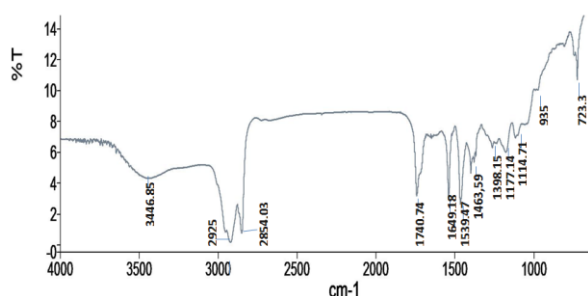
Isolat E.2.2.2 dilakukan analisis dengan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dari isolat E.2.2.2 dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Spektra UV-Vis isolat E.2.2.2

Berdasarkan gambar 6, hasil spektra UV-Vis isolat E.2.2.2 diketahui pada panjang gelombang 205 nm dan 236 nm menunjukkan transisi π ke π^* yang merupakan serapan kuat dari cincin benzena dan 270-300 nm menunjukkan transisi dari elektron n ke π^* yang merupakan serapan lemah dari C=O [8].

Isolat E.2.2.2 dilakukan analisis dengan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui adanya gugus fungsi. Hasil spektrum dari FTIR dapat dilihat pada gambar 7 berikut.



Gambar 7. Spektrum FTIR isolat E.2.2.2

Hasil spektrum FTIR isolat E.2.2.2 menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3446,85 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur OH diperkuat dengan serapan 1398,15 cm^{-1} yang merupakan OH tekuk. Adanya serapan pada bilangan gelombang 2925 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur CH alifatik (asimetri) dan bilangan gelombang 2854,03 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi ulur CH alifatik (simetri) dan 1398,15 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk CH₃. Keberadaan gugus asam karboksilat ditunjukkan serapan pada bilangan gelombang 1740,74 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur C=O dan serapan pada 1114,71 cm^{-1} yang merupakan C-O asam karboksilat.

Adanya gugus aromatik ditunjukkan serapan pada bilangan gelombang 900 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk keluar bidang =C-H, diperkuat dengan serapan pada 1463,59 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur C=C dan serapan pada 835 cm^{-1} dan 723,3 cm^{-1} yang merupakan substitusi aromatik. Gugus alkena ditunjukkan serapan pada bilangan gelombang 1649,18 cm^{-1} . Keberadaan gugus eter ditunjukkan serapan pada panjang gelombang 1177,14 cm^{-1} yang merupakan C-O eter. Pola serapan FTIR ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6: Pola serapan FTIR isolat E.2.2.2

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Jenis Vibrasi
3446,85	Vibrasi ulur OH
2925	Vibrasi ulur C-H alifatik asimetri
2854,03	Vibrasi ulur C-H alifatik simetri
1740,74	Vibrasi ulur C=O asam karboksilat
1649,18	Vibrasi ulur C=C alkena
1463,59	Vibrasi ulur C=C aromatik
1398,15	Vibrasi tekuk C-H alifatik
1177,14	Vibrasi ulur C-O eter
1114,71	Vibrasi ulur C-O asam karboksilat
900	Vibrasi tekuk keluar bidang =C-H
835	Substitusi aromatik
723,3	Substitusi aromatik

Hasil analisis FTIR isolat E.2.2.2 menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C-H alifatik, C=O asam karboksilat, C=C aromatik, substitusi aromatik, dan C-O eter.

Berdasarkan hasil KLT dengan penampak bercak, analisis UV-Vis dan analisis FTIR, isolat E.2.2.2 diprediksi merupakan asam fenolat sehingga dilakukan analisis KLT dengan pembandingan senyawa-senyawa asam fenolat standar yaitu asam ferulat, asam kafeat, dan asam galat yang ditunjukkan pada gambar 8.



Gambar 8. Profil KLT isolat E.2.2.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu UV₃₆₅ (a) isolat E.2.2.2 (b) asam ferulat (c) asam kafeat (d) asam galat

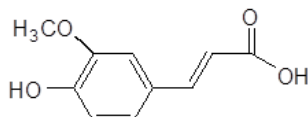
Berdasarkan gambar 8 menunjukkan bahwa isolat E.2.2.2 merupakan golongan asam fenolat yaitu asam ferulat karena isolat E.2.2.2 mempunyai R_f yang sama dengan asam ferulat standar yaitu 0,76, kemudian untuk

memperkuat bahwa senyawa tersebut merupakan asam ferulat maka dilakukan ko-kromatografi yaitu menambahkan larutan standar pada sampel ditunjukkan pada gambar 9.



Gambar 9. Profil KLT isolat E.2.2.2 dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : n-heksana (6:4) diamati dalam lampu UV₃₆₅ (a) isolat E.2.2.2 (b) isolat+asam ferulat (c) asam ferulat

Hasil ko-kromatografi menunjukkan R_f yang sama yaitu 0,76 maka diprediksi bahwa isolat E.2.2.2 merupakan asam ferulat. Struktur asam ferulat ditunjukkan pada gambar 10.



Gambar 10. Struktur asam ferulat

4. Kesimpulan

Fraksi paling aktif kulit durian yang berpotensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan jamur *Candida albicans* yaitu fraksi etil asetat. Analisis isolat E.2.2.2 dari fraksi etil asetat kulit durian dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan panjang gelombang 205 nm, 236 nm dan 270-300 nm, analisis spektrofotometer FTIR menunjukkan adanya gugus O-H, =C-H aromatik, C=C aromatik, substitusi aromatik, C=O asam karboksilat, C=C alkena dan C-O eter dan KLT dengan standar asam ferulat diprediksi bahwa isolat E.2.2.2 merupakan golongan senyawa asam ferulat yaitu asam ferulat.

5. Daftar Pustaka

- [1] Moh Djaeni, AP Aji Prasetyaningrum, Kelayakan biji durian sebagai bahan pangan alternatif: Aspek nutrisi dan tekno ekonomi, *Riptek*, 4, 11, (2010) 37-45
- [2] Vimolmas Lipipun, Nantawan Nantawanit, Sunanta Pongsamart, Antimicrobial activity (in vitro) of polysaccharide gel from durian fruit-hulls, *Songklanakar J Sci Technol*, 24, 1, (2002) 31-38
- [3] Manoharan Sivananthan, Manoharan Elamaran, In vitro evaluation of antibacterial activity of chloroform extract *Andrographis paniculata* leaves and roots, *Duriozibethinus* wood bark and *Psidiumguajava* leaves against selected bacterial strains, *Int J Biomol Biomed*, 3, 1, (2013) 12-19
- [4] Norman R. Farnsworth, Biological and phytochemical screening of plants, *Journal of*

Pharmaceutical Sciences, 55, 3, (1966) 225-276
<http://dx.doi.org/10.1002/jps.2600550302>

- [5] Nur Atikah, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*, Farmasi UIN Jakarta, Jakarta
- [6] Jeffrey Barry Harborne, Metode fitokimia, Padmawinata K, S. I, Institut Teknologi Bandung, Bandung, 1987.
- [7] CA Anosike, OB Ogili, ON Nwankwo, EA Eze, Phytochemical screening and antimicrobial activity of the petroleum ether, methanol and ethanol extracts of *Ceiba pentandra* stem bark, *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 46, (2012) 5743-5747
<http://dx.doi.org/10.5897/JMPR12.978>
- [8] Hardjono Sastrohamidjojo, Spektroskopi, Yogyakarta: Liberty, (1991)