

Hadi Kuncoro

**SENYAWA FENOLIK
DARI TUMBUHAN KEROKOT**
(Lygodium microphyllum)

**Sanksi Pelanggaran Pasal 113 Undang-Undang
Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta**

1. Hak Cipta adalah hak eksklusif pencipta yang timbul secara otomatis berdasarkan prinsip deklaratif setelah suatu ciptaan diwujudkan dalam bentuk nyata tanpa mengurangi pembatasan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan. (Pasal 1 ayat [1]).
2. Pencipta atau Pemegang Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 8 memiliki hak ekonomi untuk melakukan: a. Penerbitan ciptaan; b. Penggandaan ciptaan dalam segala bentuknya; c. Penerjemahan ciptaan; d. Pengadaptasian, pengaransemenan, atau pentransformasian ciptaan; e. pendistribusian ciptaan atau salinannya; f. Pertunjukan Ciptaan; g. Pengumuman ciptaan; h. Komunikasi ciptaan; dan i. Penyewaan ciptaan. (Pasal 9 ayat [1]).
3. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah). (Pasal 113 ayat [3]).
4. Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah). (Pasal 113 ayat [4]).

Hadi Kuncoro

**SENYAWA FENOLIK
DARI TUMBUHAN KEROKOT**
(Lygodium microphyllum)



**SENYAWA FENOLIK
DARI TUMBUHAN KEROKOT**

(Lygodium microphyllum)

Penulis: Hadi Kuncoro
Desain Kover: El-Fahmi
Layout: Joko Riyanto

Diterbitkan oleh
Titah Surga
Suryodiningratan MJ II-874
Yogyakarta 55141
www.titahsurga.com

Cetakan I, Juni 2018
xxx + 124 hlm; 140 x 200 mm.

ISBN: 978-602-6981-----

ABSTRAK

Tumbuhan Kerokot (*Lygodium microphyllum*) merupakan salah satu tumbuhan dari divisi pteridophyta (tumbuhan paku) yang termasuk tumbuhan invasif yang merugikan atau dianggap sebagai tumbuhan pengganggu atau gulma. Penelitian tentang tumbuhan *L. microphyllum* hingga saat ini terkait kandungan kimiawi dan aktivitas farmakologinya sangat terbatas. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Tahap isolasi dilakukan dengan ekstraksi terhadap tumbuhan *L. microphyllum* menggunakan pelarut metanol hingga diperoleh ekstrak pekat metanol dan dilanjutkan partisi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol hingga diperoleh ekstrak pekatnya,

hasil fraksionasi kemudian dipisahkan dan dimurnikan dengan berbagai teknik kromatografi hingga diperoleh senyawa 1-8. Senyawa 1-8 diidentifikasi dan ditetapkan struktur kimianya menggunakan metode spektroskopi dan perbandingan data NMR dari penelitian sebelumnya dan ditetapkan sebagai satu senyawa baru 9-hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on (1), dan senyawa yang telah dikenal, kaempferol (2), quercetin (3), quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (4), akasentin (5), kaempferol-3-O- β -D-glukopiranosida (7), isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida (8) dan 6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (6). Senyawa 1-8 dievaluasi sifat antijamurnya terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* dengan metode mikrodilusi. Senyawa (4) menunjukkan aktivitas antijamur tertinggi dengan nilai KHM terhadap *C. albicans* dan *A. niger* yakni 15,00 ppm dan 15,64 ppm., sedangkan nilai KHM senyawa 1-3 dan 5-8 adalah >50 ppm terhadap jamur *C. albicans* dan *A. niger* (lemah). Aktivitas antijamur dari senyawa fenolik dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksi dan gula yang dapat meningkatkan aktivitas antijamur, sedangkan adanya gugus metoksi justru menurunkan aktifitas atijamur.

Kata Kunci : *Lygodium microphyllum*, antijamur, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*

ABSTRACT

Kerokot (L. microphyllum) is one of the pteridophyta plant (fern) division which includes invasive plant disadvantage or is considered a weed plant. Research on L. microphyllum plants related to chemical content and pharmacological activity is limited. The purpose of this study was to isolate phenolic compounds that have antifungal activity against Candida albicans and Aspergillus niger. The isolation step is carried out by extraction of L. microphyllum plant using methanol solvent until obtained by concentrated methanol extract and followed by partition of methanol extract with n-hexane, ethyl acetate and n-buthanol solvent until obtained by concentrated extract, fractionation then separated and purified by various techniques Chromatography to obtain compounds 1-8. Compounds 1-8 identified and defined their chemical structure using spectro-

scopic method and comparison from previous research data and designated as a new compound, 9-hydroxy-5-methoxy-3-methylnaphtho (2,3c) furan-1 (3H) -on (7), and the other seven are known compounds, kaempferol (2), quercetin (3) quercetin 3-O- β -D-glucopyranoside (4), acacetin (5), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside (7), isorhamnetin 3-O- β -D-glucopyranoside (8) and 6-hydroxy-2-isopropyl-7-methyl-1,4-naphthoquinone (6). Compounds 1-8 were evaluated in their antifungal properties using *Candida albicans* and *Aspergillus niger* by the microdillution method. Compound (4) showed the highest antifungal activity with MIC values against *C. albicans* and *A. niger* were 15.00 ppm and 15.64 ppm and MIC, MIC values of compounds 1-3 and 5-8 are >50 ppm against *C. albicans* and *A. niger* (weak). The antifungal activity of the phenolic compound is affected by the amount of hydroxy group and the bonded sugar can increase the antifungal activity, whereas the methoxy group actually reduces the antifungal activity.

Key words : *Lygodium microphyllum*, antifungi, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT serta Rasullullah Muhammad SAW karena berkat rahmat dan hidayat-Nya, penulis dapat menyelesaikan Buku ini. Hal ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Unang Supratman, MS, Dr. Laode Rijai, M.Si. dan Dr. Euis Juliaha, M.Si. selaku tim promotor atas bimbingan, perhatian, waktu dan tenaga yang tidak sedikit serta meluangkan waktu disela kesibukan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan Program Doktor Ilmu Kimia di FMIPA Universitas Padjadjaran. Ucapan terima-kasih juga disampaikan kepada :

1. Bapak Rektor Universitas Padjadjaran Prof. Dr. Med.

Tri Hanggono Achmad, dr., Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Prof. Dr. Sudradjat, MS, Ketua Program Studi Doktor Prof. Dr. Ukun MS Soedjanaatmadja, MS, Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Padjadjaran Prof. Dr. Hendarman, Ir., M.Sc. yang telah memberikan izin untuk mengikuti Pendidikan program Doktor dalam bidang Ilmu Kimia.

2. Bapak Rektor Universitas Mulawarman Prof. Dr. Masjaya, M.Si, Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Dr. Laode Rijai, M.Si. yang telah memberikan izin mengikuti pendidikan Doktor dalam bidang Ilmu Kimia di Universitas Padjadjaran.
3. Bapak Gubernur Provinsi Kalimantan Timur Dr. H. Awang Farouk Ishak yang telah memberikan bantuan Biaya Pendidikan melalui Beasiswa Kaltim Cemerlang Program 100 Doktor Universitas Mulawarman.
4. Kemristekdikti Republik Indonesia yang telah memberikan Beasiswa PKPI (Peningkatan Kualitas Publikasi Internasional) tahun 2015 dan Hibah bersaing tahun anggaran 2016.
5. Prof. Dr. Yoshihito Shiono dari *Laboratory Of Natural Products, Departement Of Bioresources Engineering, Faculty Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka, Yamagata Prefecture, Japan* yang telah memberikan fasilitas penelitian pengujian NMR selama mengikuti program beasiswa PKPI 2015.
6. Penelaah Naskah, Prof. Dr. Wawan Hermawan, MS.,

Prof. Dr. Ukun MS Soedjanaatmadja, MS, Dr. As'ari Nawawi, MS., Apt., Dr. Sri Adi Sumiwi, MS., Apt., dan Prof. Dr. Toto Subroto atas saran dan masukannya untuk perbaikan dan kesempurnaan Naskah Disertasi ini.

7. Teman teman seperjuangan dari Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman para kandidat doktor: Herman, Yurika Sastyarina, dan Angga Cipta Narsa.
8. Rekan-rekan Program Studi Doktor Ilmu Kimia: Dr. Harizon, Dr. Yum Eryanti, Dr. Yasmiwar S, Apt, Dr. Yenny Yun F, Dr. Nurlaelasari, Dr. Lilis Siti Aisyah, Dr. drg, Risyandi Anwar Sp.KGA, Dr Dewa Gede Katja, Ibu Murtihapsari, Bpk Hadi Supriadi, M.Si., Apt, Ibu Nunung, M.Si., serta rekan-rekan program doktor Ilmu kimia lainnya yang tidak saya sebutkan namanya, terima kasih atas saran dan bantuannya selama menempuh Program Doktor Ilmu kimia.
9. Rekan-rekan Laboratorium Kimia organik Bahan Alam FMIPA dan Laboratorium Sentral Universitas Padjadajaran Jatinangor Kindi Farabi, Fajar Fauzi Abdillah, Supriyatno, Nayla Haraswati, M. Fajar, Hersa Milawati, Bpk Ramdan, Ibu Risma, dan rekan rekan yang tidak saya sebutkan namanya, terima kasih atas bantuannya selama penulis melakukan penelitian disertasi.
10. Rekan-rekan PPI Yamagata yang telah banyak memberikan bantuan selama penulis berada di Jepang.
11. Pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak memberikan bantuan se-

lama menempuh Program Doktor Ilmu Kimia.

Semoga Allah SWT membelas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis sehingga buku ini bisa bermanfaat bagi perkembangan ilmu kimia organik bahan alam dan Ilmu Farmasi terutama dalam pengembangan pencarian bahan baku yang berbasis kepada produk bahan alam.

Samarinda, Mei 2018

Penulis

*Halaman ini kupersembahkan untuk Istri tercinta
Farissa Lianda dan Ananda Dzaky Batara
Kamajaya.*

*Kedua Orangtuaku Ayahanda H. Noto Haryono
dan Ibunda Hj. Sri Rochani, M.Pd, serta adik-
adikku Ratih Dewanti Haryono S.Si., dan Noredyo
Mulyaningrum , M.Pd.*


Mertuaku Ibu Linda

*Terima kasih atas Pengertian dan kesabarannya
selama Penulis menempuh Pendidikan Doktor Ilmu
Kimia di FMIPA Universitas Padjadjaran*

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR.....	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR TABEL.....	xxv
DAFTAR LAMPIRAN	xxvii
DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xxix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	6
1.3 Maksud dan Tujuan	7

1.4 Manfaat Penelitian.....	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA	
PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	9
2.1 Kajian Pustaka.....	9
2.1.1 Tinjauan umum tumbuhan <i>Lygodium microphyllum</i>	9
2.1.2 Klasifikasi tumbuhan <i>Lygodium</i> <i>microphyllum</i>	11
2.1.3 Kandungan kimia genus <i>Lygodium</i> ..	14
2.1.4 Bioaktivitas genus <i>Lygodium</i>	23
2.1.5 Uji bioaktivitas.....	24
2.1.6 Senyawa fenolik sebagai antijamur	25
2.1.7 <i>Candida albicans</i> dan <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	26
2.1.8 Penyakit yang disebabkan oleh jamur dan pengobatannya.....	29
2.2 Kerangka pemikiran.....	33
2.3 Hipotesis	35
 BAB III BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	
3.1 Bahan penelitian	37
3.2 Desain penelitian	39
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	
4.1 Hasil.....	51
4.2 Penentuan Struktur Kimia Senyawa 1-8	54

4.2.1	Penentuan struktur kimia senyawa 1	54
4.2.2	Penentuan struktur kimia senyawa 2	62
4.2.3	Penentuan struktur kimia senyawa 3	68
4.2.4	Penentuan struktur kimia senyawa 4	63
4.2.5	Penentuan struktur kimia senyawa 5	76
4.2.6	Penentuan struktur kimia senyawa 6	78
4.2.7	Penentuan struktur kimia senyawa 7	80
4.2.8	Penentuan struktur kimia senyawa 8	87
4.3	Profil kimia tumbuhan <i>L. microphyllum</i>	89
4.4	Hasil uji aktivitas antijamur terhadap <i>C. albicans</i> dan <i>A. niger</i>	91
4.5	Hubungan struktur kimia dan aktivitas antijamur.....	93
4.6	Usulan biogenesis senyawa baru 9-hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c) furan-1(3H)-on	95
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN 	99
5.1	Kesimpulan.....	99
5.2	Saran.....	100

DAFTAR PUSTAKA	101
LAMPIRAN.....	113
DALIL-DALIL	117
RIWAYAT HIDUP.....	119



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun fertil dan steril pada tumbuhan <i>L. microphyllum</i>	12
Gambar 2.2	Tumbuhan <i>Lygodium microphyllum</i>	14
Gambar 2.3	Struktur kimia kelompok diterpenoid, gibberelin A9 metilester (9), gibberelin A73 metilester (10), gibberelin A20 metilester (11), gibberelin A12 metilester (12), 12 α -hidroksi gibberelin A9 metilester (13), dan 12- β -hidroksi gibberelin A9 metil ester (14) (Takeno <i>et al.</i> , 1989).....	16
Gambar 2.4	Struktur kimia senyawa kelompok triterpenoid yakni friedelin (15), asam	

	2 α -hidroksiursolat (16) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012; Zhu <i>et al.</i> , 2009).....	16
Gambar 2.5	Struktur kimia senyawa kelompok steroid dari ekidisterosida capitasteron-3-O- β -D-glukopiranosida (17), lygodiumsterosida A (18), lygodiumsterosida B (19), makisteron C (20) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012; Zhu <i>et al.</i> , 2009).....	17
Gambar 2.6	Struktur kimia kelompok fitosterol 22-hidroksiopan (21), β -fitosterol (22), daucosterol (23) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012).....	18
Gambar 2.7	Struktur kimia kelompok flavonoid: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopirosida-7-O- α -L-ramnopirosida (24), kaempferol 3-O-rutinosida (25) tilianin (26), akacentin (27), kaempferol (28), kaempferol 3-O- β -D-glukopiranosida (29), kaempferol 7-O- α -L-ramnopirosida (30) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012; Zhang <i>et al.</i> , 2006; Ye <i>et al.</i> , 2007).....	19
Gambar 2.8	Struktur kimia senyawa fenilpropa- noid: asam kafeat (31), asam <i>p</i> -kumarin (32), 6-O-kumaril-D-glukopiranosida (33), 6-O-caffeoil-D-glukopiranosida (34) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012).....	20

Gambar 2.9	Struktur kimia senyawa asam-asam organik: asam suksinat (35), asam metilmalat (36) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012).....	20
Gambar 2.10	Struktur kimia senyawa naftokuinon 2-isopropil-7-metil-6-hidroksi- α -(1,4) naftokuinon (37) (Chen <i>et al.</i> , 2010).....	21
Gambar 2.11	Struktur kimia asam-asam fenolik: 3,4-asam dihidrobenzoat 4-O-(4'-O-metil)- β -D-glukopiranosida (38) (Ye <i>et al.</i> , 2007), asam vanilat (39) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012).....	21
Gambar 2.12	Struktur kimia asam heksadekanoat (40), asam heksakosanoat (41), 1-hentriakontanol (42), asam pentakosanoat (43), asam palmitat (44), asam linoleat (45) (Guo-gang <i>et al.</i> , 2012).....	23
Gambar 2.13	<i>Candida albicans</i> dengan perbesaran 24.000x.....	27
Gambar 2.14	<i>Aspergillus niger</i> dengan perbesaran 500x.....	29
Gambar 2.15	Beberapa mekanisme aksi antijamur dari golongan fenolik.....	32
Gambar 3.1	Prosedur ekstraksi dan fraksinasi herbatumbuhan <i>L. microphyllum</i>	41
Gambar 3.2	Prosedur isolasi ekstrak <i>n</i> -heksana.....	43

Gambar 3.3	Prosedur isolasi ekstrak etilasetat.....	45
Gambar 3.4	Prosedur isolasi ekstrak <i>n</i> -butanol.....	47
Gambar 4.1	Spektrum inframerah senyawa 1 (KBr).	54
Gambar 4.2	Spektrum H-NMR senyawa 1 (500 MHz, aseton- <i>d</i> ₆).....	55
Gambar 4.3	Spektrum ¹ H-NMR senyawa 1 (500 MHz, aseton- <i>d</i> ₆).....	55
Gambar 4.4	Spektra ¹³ C-NMR dan DEPT 135° senyawa 1 (aseton- <i>d</i> ₆ , 125 MHz).....	56
Gambar 4.5	Korelasi terpilih HMBC senyawa 1	58
Gambar 4.6	Korelasi terpilih HMBC posisi -OCH ₃ senyawa 1	58
Gambar 4.7	Korelasi terpilih HMBC H-3 dan C-11 senyawa 1	59
Gambar 4.8	Korelasi terpilih HMBC metil sekun- der senyawa 1	59
Gambar 4.9	Korelasi ¹ H- ¹ H COSY senyawa 1	60
Gambar 4.10	Korelasi HMBC dan ¹ H- ¹ H COSY ter- pilih senyawa 1	60
Gambar 4.11	Struktur kimia senyawa 9 hidroksi- 5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan- 1(3H)-on (1).....	61
Gambar 4. 12	Spektrum UV senyawa 2 , MeOH (A), penambahan natrium hidroksida (B), penambahan AlCl ₃ (C).....	63

Gambar 4. 13	Senyawa kompleks yang menjelaskan terjadinya pergeseran dalam spektrum pada penambahan AlCl_3/HCl	64
Gambar 4. 14	Spektrum IR (KBr) senyawa 2	64
Gambar 4. 15	Spektrum ^1H -NMR senyawa 2 (CD_3OD , 500 MHz).....	65
Gambar 4. 16	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 2 (CD_3OD , 125 MHz).....	66
Gambar 4. 17	Struktur kimia kaempferol atau 3,5,7,4'-tetrahidroksi-flavonol (2).....	68
Gambar 4. 18	Spektrum UV (MeOH) senyawa 3	69
Gambar 4. 19	Spektrum IR (KBr) senyawa 3	69
Gambar 4. 20	Spektrum ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) senyawa 3	70
Gambar 4. 21	Spektrum ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) senyawa 3	71
Gambar 4. 22	Struktur kimia quersetin (3).....	73
Gambar 4. 23	Struktur kimia quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (4).....	75
Gambar 4. 24	Struktur kimia akacetin (5).....	77
Gambar 4. 25	Struktur kimia 6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (6).....	80
Gambar 4. 26	Spektrum UV senyawa 7	81
Gambar 4. 27	Spektrum IR (KBr) senyawa 7	82

Gambar 4. 28	Spektrum $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz) senyawa 7	83
Gambar 4. 29	Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dan DEPT 135° dalam $\text{DMSO-}d_6$, 125MHz.....	84
Gambar 4. 30	Struktur dan stereokimia gula senyawa 7	85
Gambar 4. 31	Struktur kimia kaempferol-3- O - β - D -glukopiranosida (7).....	87
Gambar 4. 32	Struktur kimia Isorhamnetin- O - β - D -glukopiranosida (8).....	88
Gambar 4. 33	Struktur kimia senyawa 1-8	91
Gambar 4. 34	Aktivitas antijamur terhadap <i>C. albicans</i> dan <i>A. niger</i> senyawa 1-8	95
Gambar 4. 35	Usulan biogenesis senyawa 1	98
Gambar L.1	Spektrum HR-TOF MS senyawa 1	105
Gambar L.2	Spektrum H-NMR senyawa 5	107
Gambar L.3	Spektrum C-NMR senyawa 5	108
Gambar L.4	Spektrum EI-MS senyawa 5	108

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Bioaktivitas dari genus <i>Lygodium</i>	23
Tabel 4.1	Data NMR antara senyawa 1 dan eleuthe rol.....	61
Tabel 4.2	Data ¹ H-NMR (CD ₃ OD, 500 MHz) dan ¹³ C-NMR (CD ₃ OD, 125 MHz) senyawa 2	67
Tabel 4.3	Data NMR senyawa 3 dan quersetin (Mouffok <i>et al.</i> , 2013).....	72
Tabel 4.4	Data NMR quersetin 3-O-β-D-gluko- piranosida (Islam <i>et al.</i> , 2012) dan Senyawa 4	74
Tabel 4.5	Data NMR akacetin (Gomes <i>et al.</i> , 2011) dan senyawa 5	77

Tabel 4.6	Data NMR senyawa 6 dan 6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (Chen <i>et al.</i> , 2010).....	79
Tabel 4.7	Data ¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) dan ¹³ C-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆ , 125 MHz) senyawa 7	86
Tabel 4.8	Data NMR Senyawa 8 dan isorhamnetin 3- <i>O</i> -β-D-glukopiranosida.....	89
Tabel 4.9	Hasil pengujian aktivitas antijamur terhadap <i>C. albicans</i> dan <i>A. niger</i> senyawa 1-8	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Spektrum HR-TOF-MS Senyawa 1.....	113
Lampiran 2	Surat keterangan identifikasi tumbuhan.....	114
Lampiran 3	Spektrum ^1H -NMR Senyawa 5.....	115
Lampiran 4	Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa 5.....	116
Lampiran 5	Spektrum EI-MS Senyawa 5.....	116

DAFTAR ISTILAH, SINGKATAN DAN LAMBANG

<i>Lead compound</i>	: Senyawa induk/model dengan aktivitas tertentu
dpl	: Diatas permukaan laut
ODS	: <i>Octadecylsilane</i>
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
UV-Vis	: <i>Ultra Violet - Visible</i>
IR	: Infra merah
NMR	: Resonansi Magnet Inti
MS	: Spektra massa
G ₆₀	: <i>Gyps 60</i>
DMSO	: Dimetilsulfoksida

SDS	: Sodium Dodesil Sulfat
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
IC ₅₀	<i>Inhibit Concentration 50%</i>
1D-NMR	: <i>One Dimension Nuclear Magnetic Resonance</i>
2D-NMR	: <i>Two Dimension Nuclear Magnetic Resonance meliputi ¹H-¹H-COSY, HMBC, HMQC, HSQC</i>
DEPT 135°	: <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer 135°</i>
¹ H-NMR	: <i>Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance</i>
¹³ C-NMR	: <i>Carbon Nuclear Magnetic Resonance</i>
HMBC	: <i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HMQC	: <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
¹ H- ¹ H COSY	: <i>Correlation spectroscopy ¹H-¹H</i>
TMS	: <i>Tetrametil silan</i>
KHM	: Kadar hambat minimum
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
NF-kB	: Faktor transkripsi yang mengontrol sejumlah gen penting
δ _c	: Geseran kimia karbon
δ _H	: Geseran kimia proton

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara dengan luas area 1.904.570 km² dan luas hutan mencapai 88.495.000 km² (FAO, 2005). Indonesia dikenal kaya akan keanekaragaman hayati terutama tumbuhan, tercatat 38.000 jenis tumbuhan dan 10.000 jenis diantaranya adalah divisi pteridophyta atau tumbuhan paku (Kementrian Kehutanan RI, 2010; Tjitrosoepomo, 2009).

Pteridophyta atau tumbuhan paku merupakan jenis tumbuhan yang telah membentuk koloni selama jutaan tahun yang lalu serta masih bertahan hingga saat ini. Penggunaan pteridophyta sebagai sumber obat alami tidak sebanyak tumbuhan berbunga atau tumbuhan tingkat tinggi. Penelitian aktivitas farmakologi dan fitokimia ter-

hadap kelompok pteridophyta jika dibandingkan dengan kelompok angiospermae jauh lebih sedikit, hal ini disebabkan biodiversitas dan distribusi dari angiospermae yang lebih luas dibandingkan pteridophyta (Cao *et al.*, 2017). Pteridophyta mampu memproduksi kelompok senyawa metabolit sekunder spesifik untuk lingkungan dengan tujuan pertahanan diri terutama perlindungan dari serangan parasit dan herbivora (Morais-braga *et al.*, 2012). Penelitian terhadap aktivitas farmakologi dari pteridophyta masih terbatas pada aktivitas antimikroba, infeksi pada ginjal, diuretika, antiinflamasi, penghilang nyeri, dan aktivitas antikanker (Wills & Asha, 2009; Karthik *et al.*, 2011; Tomšik, 2014; Cao *et al.*, 2017).

Pteridophyta terdiri atas beberapa famili salah satunya adalah famili *Lygodiaceae* yang hanya memiliki satu genus yakni Genus *Lygodium* terdiri atas 45 spesies dan tersebar di seluruh dunia. Genus ini tumbuh menjalar dan selalu merambat pada tumbuhan lain dan sangat berbeda dari jenis paku lainnya karena mempunyai akar rimpang yang menjalar di tanah dan berdaging, paku jenis ini hanya dapat hidup di tempat yang terbuka karena menyukai sinar matahari (LIPI, 1980). Genus *Lygodium* memiliki beberapa karakter morfologi yang unik oleh karena itu digolongkan dalam famili *Lygodiaceae* (Ferriter, 2001) dan termasuk dalam divisi pteridophyta atau tumbuhan paku. Genus *Lygodium* dilaporkan memiliki beberapa aktivitas farmakologi, seperti: antibakteri, antivirus, resisten pada hormon pria dan penumbuh rambut, normalisasi kerja

kantung empedu, penghancur batu ginjal, hepatoprotektor, mengatasi infeksi saluran kemih, nefritis edema, flu dengan demam, volume urin sedikit, kardial, dan diare enteritis (Guo-gang *et al.*, 2012; Cao *et al.*, 2017). Aktivitas antioksidan dan antimikroorganisme secara *in vitro* dari polisakarida murni telah dilaporkan dari *L. japonicum* (Li *et al.*, 2006) we extracted polysaccharides from fern *Lygodium japonicum* and obtained purification polysaccharides by a DEAE-52 cellulose column (1.6 × 30 cm. Ekstrak *n*-heksana dari spesies *L. flexuosum* diketahui memiliki aktivitas hepatoprotektor terhadap tikus yang dilukai pada bagian livernya menggunakan bahan penginduksi berupa D-galaktosamin (Wills & Asha, 2006a), dan tikus yang diinduksi oleh karbon tetraklorida (Wills & Asha, 2006b).

Ekstrak *L. flexuosum* diketahui memiliki aktivitas sebagai antiproliferatif dan apoptosis pada sel kanker *human hepatoma* (PLC/PRF/5 dan *Hep 3B cells lines*) serta berperan dalam menghambat induksi TNF- α melalui aktivasi NF- κ B dalam sel PLC/PRF/5, hal ini menegaskan potensi dari ekstrak *n*-heksana *L. flexuosum* sebagai agen kemopreventif (Wills & Asha, 2009). Aktivitas farmakologi terkait potensi sitotoksik terhadap bentuk sel dalam tahap promastigote dan epimastigote dari *L. brasiliensis* and *T. cruzi* menegaskan bahwa genus *Lygodium* memiliki potensi sitotoksik terhadap sel. Aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *C. albicans*, *C. krusei* and *C. tropicalis* dilaporkan

dari ekstrak etanol daun tumbuhan *L. venustum* dengan menggunakan metode mikrodilusi (Morais-braga *et al.*, 2013).

Kandungan utama metabolit sekunder dari genus ini adalah kelompok steroid yang terdiri dari ekidisterosida (kapitasteron-3-*O*- β -*D*-glukopiranosida, lygodiumsterosida A, lygodiumsterosida B, makisteron C), fitosterol berupa β -fitosterol, dan daukosterol, kelompok terpenoid yang terdiri dari triterpenoid (friedelin, 2 α -asam hidroksiursolat), dan kelompok senyawa fenolik (Zhu *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010; Guo-gang *et al.*, 2012).

Kelompok senyawa fenolik cukup banyak dilaporkan dari genus *Lygodium* antara lain, kelompok flavanoid (Zhang *et al.*, 2006), flavanoid glikosida (Ye *et al.*, 2007), dan kelompok naftokuinon (Chen *et al.*, 2010). Kelompok senyawa fenolik diketahui banyak memiliki aktivitas farmakologisalahsatunya adalah antijamur, beberapa contoh senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antijamur adalah 3-hidroksi-4-geranil-5-metoksibifenil, 4-hidroksifenil-6-*O*-[(3*R*)-3,4-dihidroksi-2-metilenbutanoil-*D*-glukopiranosida, eriosemaones A-D, amentoflavon, eupomatenoid-3 dan 5, konokarpan, orientin, isopiscerithron, allolikoisoflavon A, piscisoflavon A dan B, quercetin-3,7-dimethyl ether, quercetin-3,7-*O*- α -*L*-diramnosida, angelicin, kaempferol-3,7-*O*- α -*L*-diramnosida, klausenidin, dan 1,3-dihidroksi-2-metil-5,6-dimetoksiantrakuinon (Arif *et al.*, 2009).

Salah satu spesies invasif dari genus *Lygodium* adalah *L. microphyllum* (Cav.) R. Br. berupa tumbuhan paku yang tumbuh liar dan merambat. Tumbuhan *L. microphyllum* tersebar dari Afrika, Asia Tenggara termasuk Indonesia, Australia dan beberapa pulau di Pasifik Selatan. Penyebarannya sangat cepat, dan dapat tumbuh menutupi vegetasi hingga ketinggian 30 m. Tumbuhan ini merupakan salah satu tumbuhan invasif dan telah menyebar hingga Florida Selatan, Amerika Serikat. Tumbuhan *L. microphyllum* dapat mengganggu ekosistem dan ekologi sekitarnya (Ferriter, 2001; Langeland & Hutchinson, 2001).

Tumbuhan *L. microphyllum* belum banyak dieksplorasi karena tumbuhan ini lebih dikenal sebagai tumbuhan invasif yang dapat mengganggu keseimbangan ekologi lingkungan. Minyak atsiri *L. microphyllum* dilaporkan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherchia coli* dan *Piricularia oryzae* Cav. pada konsentrasi 12,5 µg/mL. Aktivitas alelopati juga dimiliki oleh *L. microphyllum* terhadap beberapa tanaman uji, hasil pengujian ini menjelaskan sifat invasif dari *L. microphyllum* (Wang *et al.*, 2014).

Kemampuan tumbuhan tersebut untuk berkembang biak merupakan keunggulan tersendiri bagi *L. microphyllum* apabila nantinya memiliki kemanfaatan dalam bidang kesehatan maupun bidang pertanian.

Berdasarkan penelusuran literatur hingga saat ini, laporan terbaru dari kandungan metabolit sekunder dari

tumbuhan *L. microphyllum* asal Indonesia masih sangat minim, sehingga dapat membuka peluang untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder baru. Metabolit sekunder yang sering dilaporkan dari genus *Lygodium* adalah kelompok flavonoid, glikosida flavanoid dan nattoquinon yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas farmakologi yang menarik salah satunya adalah antijamur. Dengan demikian studi fitokimia tentang senyawa fenolik berpeluang untuk memperoleh senyawa baru dari golongan fenolik yang memiliki aktivitas antijamur.

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan penentuan struktur kimia senyawa fenolik dari herba tumbuhan *L. microphyllum* dan pengujian aktivitas antijamurnya terhadap jamur *C. albicans* dan *A. niger*. Isolasi senyawa dilakukan melalui pemisahan dan pemurnian menggunakan berbagai teknik kromatografi. Isolat ditentukan struktur kimianya melalui metode spektroskopi ultraviolet, inframerah, resonansi magnet inti dan massa dan dilakukan pengujian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger*.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah, dapat diidentifikasi masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Bagaimana struktur kimia senyawa fenolik hasil isolasi dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*).

2. Bagaimana aktivitas antijamur senyawa fenolik hasil isolasi dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) terhadap jamur *Candida albicans* dan *Aspregillus niger*.
3. Gugus fungsi mana yang berperan terhadap aktivitas antijamur.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan senyawa fenolik dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) yang dapat dijadikan sebagai *lead compound* untuk pengembangan bahan obat.

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Memperoleh struktur kimia senyawa fenolik hasil isolasi dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*).
2. Menentukan aktivitas antijamur senyawa fenolik hasil isolasi dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) terhadap jamur *Candida albicans* dan *Aspregillus niger*.
3. Menentukan gugus fungsi yang berperan terhadap aktifitas antijamur

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini akan berguna baik dari segi teoritis maupun aplikatif, diantaranya memberikan tambahan ilmu dalam:

1. Mengungkap kemotaksonomi senyawa fenolik dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*).
2. Mengungkap hubungan struktur kimia dan aktivitas antijamur senyawa fenolik dari tumbuhan kerokot (*L.*

microphyllum)

3. Meningkatkan kemanfaatan dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) sebagai bahan baku obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS

2.1 Kajian Pustaka

2.1.1 Tinjauan umum tumbuhan *Lygodium microphyllum*

Tumbuhan ini menyebar dengan sangat cepat dan membentuk koloni besar sehingga akan mendominasi suatu kawasan. Tumbuhan ini tumbuh menjalar dan akan menutupi vegetasi lain sehingga menjadi tidak terlihat dan menyebabkan terganggunya ekosistem karena menyebabkan kematian pada flora asli daerah tersebut (Ferriter, 2001)

Secara umum *Lygodium* mempunyai akar yang merayap, berambut tapi tidak bersisik, daun-daunnya monostika, melilit, dan pertumbuhannya tidak tentu. Rantingnya biasanya tidak panjang, ranting primernya pendek, ujungnya terhenti dan ditutupi oleh rambut dan setiap

ujungnya terdapat sepasang ranting sekunder. Ranting sekunder mengandung daun dengan bentuk menyirip dan cabang dikotom mengandung daun yang becuping. Terdapat pula daun yang steril berbentuk gerigi maupun berlobus, sedangkan daun yang fertil berjumbai sepanjang tepinya dengan cuping sempit yang pendek dan setiap cuping mengandung dua baris sporangia yang ditutupi dengan indusium kecil. *Lygodium* mempunyai rhizoma horizontal di bawah tanah dengan terbagi dalam dua cabang. Daun seringkali amat panjang, dengan taju daun-daun yang tersusun menyirip. Sporangium terdapat pada bagian-bagian daun dan yang tersendiri atau seringkali hanya taju-tajunya saja yang bersifat fertil, misalnya *L. circinnatum*. Genus ini sangat berbeda dengan jenis paku lainnya karena mempunyai akar rimpang yang menjalar di tanah dan berdaging. Daunnya membelit tumbuhan lain yang ada di dekatnya. Hanya dapat hidup di tempat yang terbuka karena paku jenis ini menyukai sinar matahari (Bower, 2010).

L. microphyllum sering disebut sebagai paku tali karena batangnya yang dapat mencapai ukuran panjang dan liat dapat dibuat tali. Sebelumnya jenis ini mempunyai nama ilmiah *Lygodium scandens* Swartz. Daun sterilnya berbentuk segitiga atau seperti jantung dan bagian tepi bergerigi, sedang daun fertilnya berujung bulat dan lebih kecil dari daun steril. Di alam paku tali banyak dijumpai di tempat terbuka sampai 1.500 m di atas permukaan laut. Jenis yang tersebar di Afrika Tropis, sepanjang Asia

Tenggara, Bangladesh, Hongkong, Australia dan Malesia. Tumbuhan ini sudah banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari antara lain bagian batangnya digunakan untuk membuat tali dan keranjang. Selain itu juga tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat sariawan usus, disentri, demam, penyakit kulit, cacar air, dan pembengkakan. Bagian daun mudanya dapat dijadikan sayur (Hartini, 2007). Penggunaan umumnya di masyarakat adalah sebagai adstringen, lotion, mengatasi penyakit kulit, cacar air, antiinflamasi, dan kontrasepsi. Spora digunakan untuk gangguan saluran kemih dan bagian daun yang dihancurkan dapat digunakan untuk mengatasi tersedak (Benjamin & Manickam, 2007). Di Amerika Serikat, *L. microphyllum* telah menjadi tumbuhan invasif yang sulit dikendalikan (Ferriter, 2001).

2.1.2 Klasifikasi tumbuhan *Lygodium microphyllum*

Tumbuhan *L. microphyllum* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta,
Divisi	Pteridophyta (paku-pakuan),
Kelas	Pteridopsida,
Sub Kelas	Schizaeatae,
Ordo	Schizaeales,
Famili	Lygodiaceae,
Genus	<i>Lygodium</i> ,

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

Spesies *Lygodium microphyllum* Cav. R.Br.
(Ferriter, 2001).



Gambar 2.1 Daun fertil dan steril pada tumbuhan *L. microphyllum*
(Sumber : <http://florabase.dec.wa.gov.au/browse/profile/21>)

Nama lain atau sinonim untuk *L. microphyllum* adalah *Lygodium scandens* (L.) Swartz, dan *Ugena microphylla* Cav. R. Br. Di Indonesia lenih dikenal dengan nama paku kawat, paku tali, hata kecil (Sunda), akar kawek, kerokot (Dayak) sedangkan di Inggris : *old world climbing fern*, *small leaf climbing fern*.

Tanaman ini menggunakan suatu pola reproduksi yang khas yang dimiliki oleh paku, yaitu bergantian antara fase vegetatif dan reproduksi seksual pada tiap generasi. Seperti tumbuhan paku lain, spora membutuhkan lingku-

ngan yang lembab untuk berkecambah dan tumbuh (Lott *et al.*, 2003).

Sporangia sepanjang tepi dari daun reproduktif memproduksi spora vegetatif yang menyebar dan memberikan generasi gametofit yang haploid (satu set kromosom). Reproduksi seksual gametofit tergolong kecil dan tersamarkan mirip lumut hati. Tanaman ini berumah satu, memiliki organ reproduksi dari kedua jenis kelamin pada tanaman yang sama. Gamet jantan dan betina sering melakukan pembuahan sendiri untuk menghasilkan embrio bentuk sporofit diploid yang umum terdapat dalam tumbuhan paku. Produksi pinnules dan sporangia terjadi sepanjang tahun (Langeland & Burks, 1998).

Lott *et al* (2003) melaporkan bahwa *intragamethophytic selfing* (penyatuan sel telur dan sperma yang berasal dari gametofit yang sama) merupakan strategi reproduksi yang umum dari *L. microphyllum* dan *L. japonicum* di Florida. Sehingga dapat diperkirakan bahwa *intragamethophytic selfing* memegang peranan penting untuk mempercepat penyebaran tanaman invasif ini diseluruh negara bagian.

Spora biasanya berkecambah dalam waktu tujuh hari. Mereka dapat bertahan hidup dalam jangka waktu yang sangat lama (setidaknya dua tahun). Telah dilaporkan bahwa tingkat perkecambahan spora *L. microphyllum* sebesar 80 % untuk spora yang berusia 5 bulan dan spora ini dapat bertahan hidup setidaknya selama 2 tahun. Spora ini dapat menyebar melalui berbagai cara dan cara yang

paling sering terjadi adalah melalui perantara air dan angin. Melalui angin, penyebaran spora ini berlangsung dengan cepat dan luas (Brown, 1984). Pemberton & Ferriter (1998) melaporkan bahwa setidaknya terdapat sekitar 800 spora/meter kubik/jam yang ditangkap ketika penyebaran spora *L. microphyllum*.



Gambar 2.2 Tumbuhan *Lygodium microphyllum*

2.1.3 Kandungan kimia genus *Lygodium*

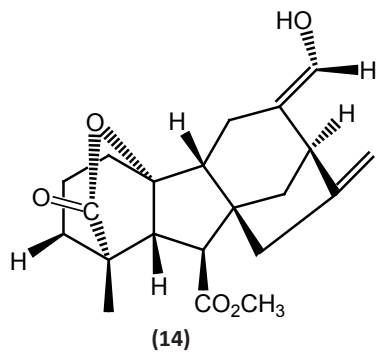
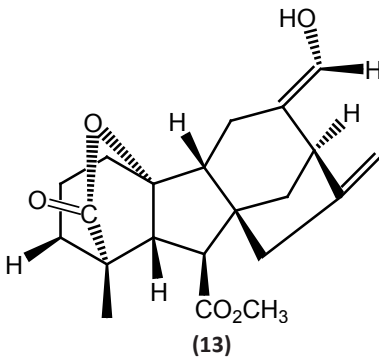
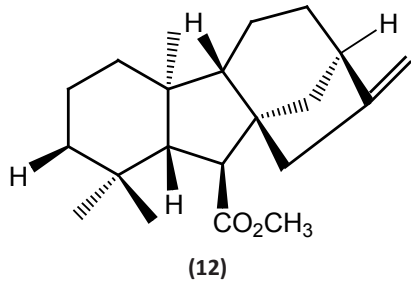
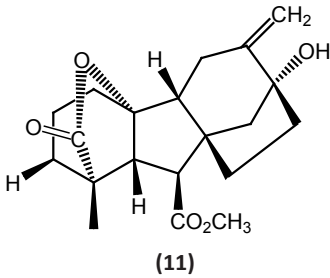
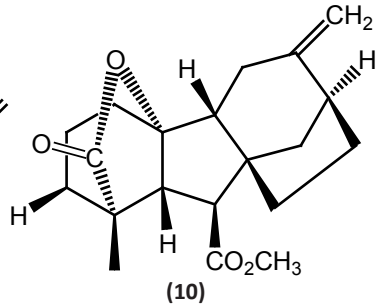
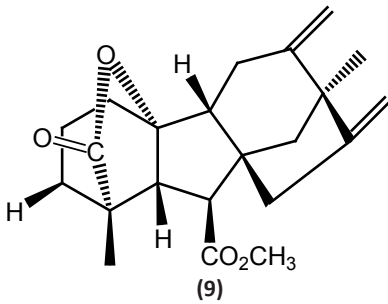
Kandungan utama metabolit sekunder dari genus ini adalah:

1. Terpenoid

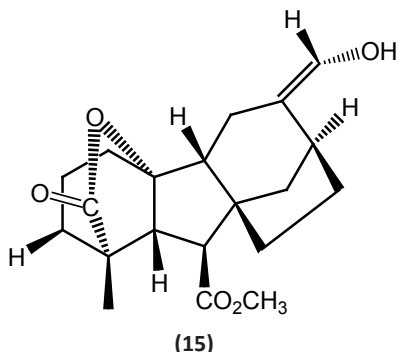
Kelompok diterpenoid berupa fitohormon yakni gibberelin A₉ metilester (**9**), gibberelin A₇₃ metilester (**10**), gibberelin A₁₂ metilester (**11**), gibberelin A₂₀ metilester (**12**), 12 α -hidroksi gibberelin A₉ metilester (**13**), dan

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

12- β -hidroksi gibberelin A₉ metil ester (**14**) diisolasi dari tumbuhan *L. japonicum* (Takeno *et al.*, 1989).

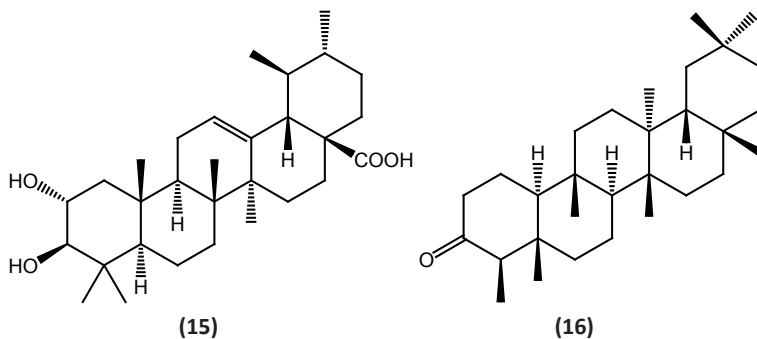


Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 2.3 Struktur kimia kelompok diterpenoid, gibberelin A9 metilester (9), gibberelin A73 metilester (10), gibberelin A20 metilester (11), gibberelin A12 metilester (12), 12 α -hidroksi gibberelin A9 metilester (13), dan 12- β -hidroksi gibberelin A9 metil ester (14) (Takeno *et al.*, 1989).

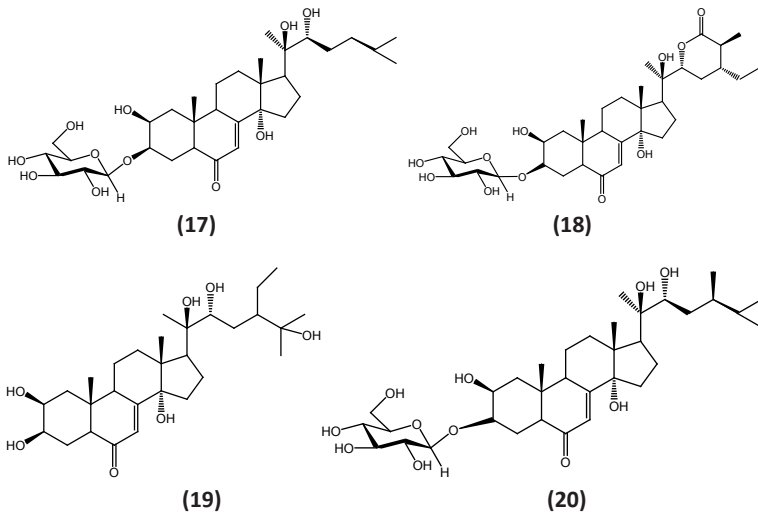
Kelompok triterpenoid yakni friedelin (15) dan 2 α -asam hidroksiursolat (16) diisolasi dari fraksi *n*-butanol dari tumbuhan *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012; Zhu, Zhang, Chen, *et al.*, 2009).



Gambar 2.4 Struktur kimia senyawa kelompok triterpenoid yakni friedelin (15), asam 2 α -hidroksiursolat (16) (Guo-gang *et al.*, 2012; Zhu, Zhang, Chen, *et al.*, 2009)

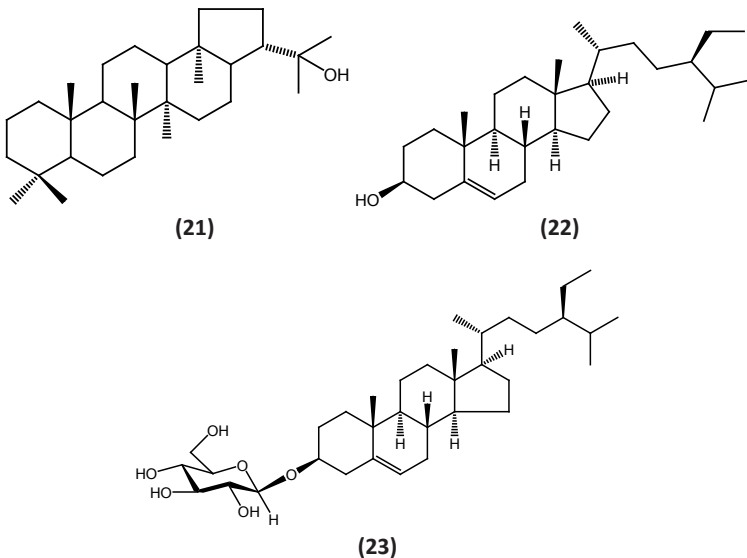
2. Steroid

Ekidisterosida yakni capitasteron-3-*O*- β -D-glukopiranosida (17), lygodiumsterosida A (18), lygodiumsterosida B (19), dan makisteron C (20) yang di isolasi dari tumbuhan *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012; Zhu, Zhang, Chen, *et al.*, 2009).



Gambar 2.5 Struktur kimia senyawa kelompok steroid dari ekidisterosida capitasteron-3-*O*- β -D-glukopiranosida (17), lygodiumsterosida A (18), lygodiumsterosida B (19), makisteron C (20) (Guo-gang *et al.*, 2012; Zhu, Zhang, Chen, *et al.*, 2009).

Kelompok fitosterol yakni 22-hidroksiopan (21), β -fitosterol (22), daucosterol (23) yang berhasil diisolasi dari akar tumbuhan *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012).



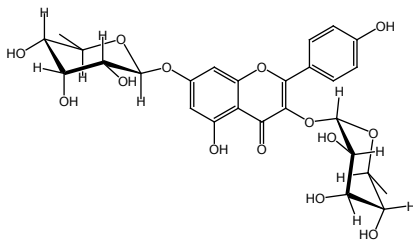
Gambar 2.6 Struktur kimia kelompok fitosterol 22-hidroksiopan (21), β -fitosterol (22), daucosterol (23) (Guo-gang *et al.*, 2012).

3. Flavonoid

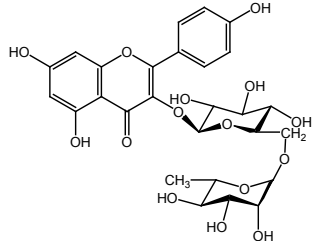
Kelompok flavonoid terdiri dari kaempferol-3-O- α -L-ramnapirosida-7-O- α -L-ramnapirosida (24), kaempferol 3-O-rutinosida (25), tilianin, (26) yang diisolasi dari tumbuhan *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012). Zhang pada tahun 2006 melaporkan adanya kelompok flavonoid dari *L. japonicum* yakni kaempferol (27), kaempferol 3-O- β -D-glukopiranosida (28), kaempferol 7-O- α -L-

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

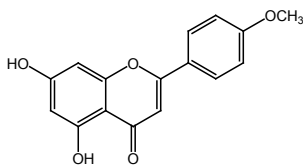
ramnopirosida (**29**), akacetin (**30**), akacetin 7-O- β -D-glukopiranosida, akacetin 7-O- α -L-ramnopiranosil, akacetin 7-O-(6''-O- α -L-ramnopiranosil)- β -soporosida, (Zhang *et al.*, 2006; Ye *et al.*, 2007).



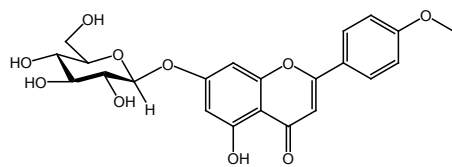
(24)



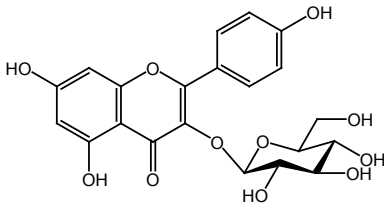
(25)



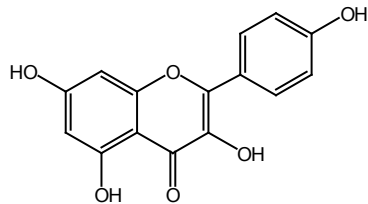
(26)



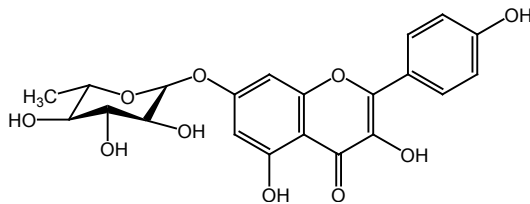
(27)



(28)



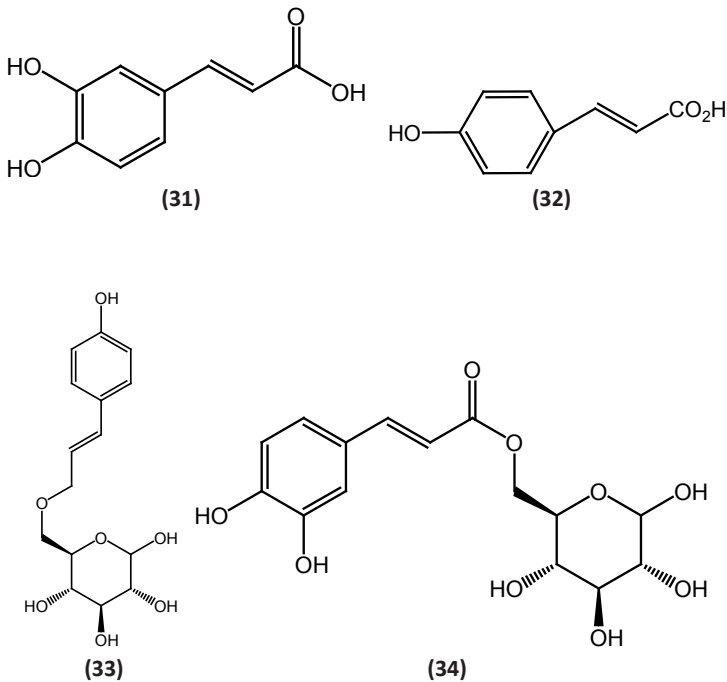
(29)



(30)

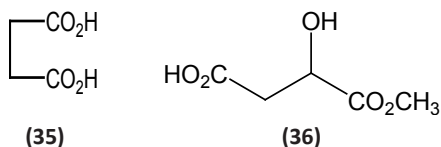
Gambar 2.7 Struktur kimia kelompok flavonoid: Kaempferol-3-O- α -L-ramnopirosida-7-O- α -L-ramnopirosida (24), kaempferol 3-O-rutinosida (25) tilianin (26), akacetin (27), kaempferol (28), kaempferol 3-O- β -D-glukopiranosida (29), kaempferol 7-O- α -L-ramnopirosida (30) (Guo-gang *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2006; Ye *et al.*, 2007).

4. Kelompok fenilpropanoid yakni asam kafeat (31), asam *p*-kumarin (32), 6-O-kumaril-D-glukopiranososa (33), 6-O-caffeoil-D-glukopiranososa (34) diisolasi dari tumbuhan *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012).



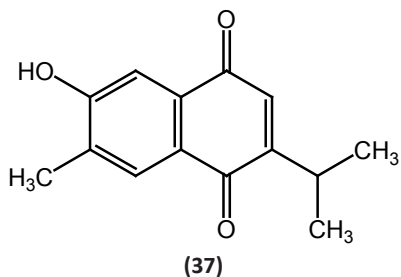
Gambar 2.8 Struktur kimia senyawa fenilpropanoid: asam kafeat (**31**), asam *P*-kumarin (**32**), 6-*O*-kumaril-D-glukopiranososa (**33**), 6-*O*-caffeoil-D-glukopiranososa (**34**) (Guo-gang *et al.*, 2012)

5. Kelompok asam-asam organik yakni asam suksinat (**35**), asam metilmalat (**36**) yang di isolasi dari *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012)



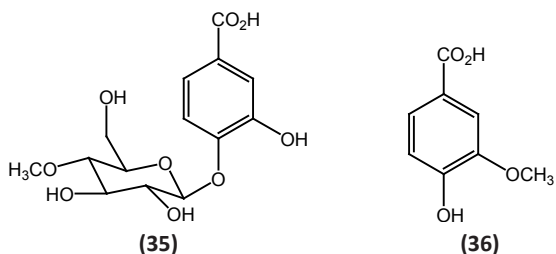
Gambar 2.9 Struktur kimia senyawa asam-asam organik: asam suksinat (**35**), asam metilmalat (**36**) (Guo-gang *et al.*, 2012)

6. Kelompok naftokuinon yakni 2-isopropil-7-metil-6-hidroksi- α -(1,4) naftokuinon (**37**) dari akar tumbuhan *L. japonicum* (Chen *et al.*, 2010).



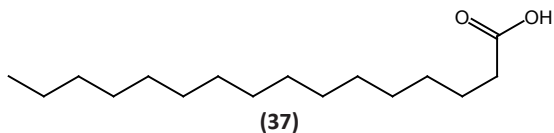
Gambar 2.10 Struktur kimia senyawa naftokuinon yakni 2-isopropil-7-metil-6-hidroksi- α -(1,4) naftokuinon (37) (Chen *et al.*, 2010).

7. Kelompok asam fenolik, fenolik glikosida dari akar *L. japonicum* yakni 3,4-asam dihidroksibenzoat 4-O-(4'-O-metil)- β -D-glukopiranosida (38) (Ye *et al.*, 2007), dan satu asam fenolik yakni asam vanilat (39) (Guo-gang *et al.*, 2012)

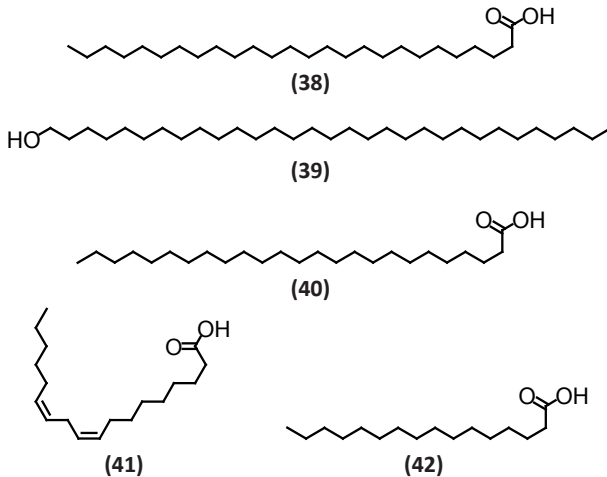


Gambar 2.11 Struktur kimia asam-asam fenolik: 3,4-asam dihidrobenzoat 4-O-(4'-O-metil)- β -D-glukopiranosida (38) (Ye *et al.*, 2007), asam vanilat (39) (Guo-gang *et al.*, 2012)

8. Kelompok senyawa asam lemak
Asam heksadekanoat (40), asam heksakosanoat (41), 1-hentriakontanol (42), asam pentakosanoat (43), asam palmitat (44), asam linoleat (45), (6S, 9R)-6-hidroksi-3-ke-ton-violet alkohol-D- β -9-O-glukosida dari tumbuhan *L. japonicum* (Guo-gang *et al.*, 2012)



Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 2.12 Struktur kimia kelompok asam lemak: asam heksadekanoat (40), asam heksakosanoat (41), 1-hentriakontanol (42), asam pentakosanoat (43), asam palmitat (44), asam linoleat (45) (Guo-gang *et al.*, 2012)

2.1.4 Bioaktivitas genus *Lygodium*

Tabel 2.1. Bioaktivitas genus *Lygodium*

No	Bioaktivitas	Referensi
1	Aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur)	(Morais-braga <i>et al.</i> , 2012; Wang <i>et al.</i> , 2014)
2	Antivirus, normalisasi kerja kantung empedu, penghancur batu ginjal, pelindung pada liver, mengatasi infeksi pada saluran kandung kemih, nefritis edema, flu dengan demam, diuretika, kardial, serta diare enteritis	(Guo-gang <i>et al.</i> , 2012)

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

- | | | |
|---|--|--|
| 3 | Antioksidan dan anti-mikroorganisme secara <i>in vitro</i> polisakarida murni | (Li <i>et al.</i> , 2006) |
| 4 | Aktivitas hepatoprotektor | (Wills & Asha, 2006a)
(Wills & Asha, 2006b) |
| 5 | Aktivitas sebagai antiproliferatif dan apoptosis pada sel kanker berupa <i>cells line Human Hepatoma PLC/PRF/5</i> dan <i>Hep 3B cells</i> serta berperan dalam menghambat induksi TNF- α melalui aktivasi NF-kB dalam sel PLC/PRF/5. | (Wills & Asha, 2009) |
| 6 | Aktivitas antiandrogenik dan penumbuh rambut dengan menghambat enzim testosteron 5 α -reduktase | (Matsuda <i>et al.</i> , 2002) |
| 7 | Aktivitas sitotoksik antikinoplastida terhadap bentuk dari sel promastigote and epimastigote dari <i>L. brasiliensis</i> and <i>T. cruzi</i> | (Morais-Braga <i>et al.</i> , 2013). |
-

2.1.5 Uji bioaktivitas

Tujuan utama dari studi fitokimia adalah mengisolasi dan menentukan struktur kimia metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi untuk diaplikasikan dalam dunia kesehatan atau pertanian. Uji bioaktivitas atau uji aktivitas biologi harus dilakukan untuk mengidentifikasi potensi ekstrak tanaman dengan memandu proses pemisahan dan isolasi, serta mengevaluasi *lead compound* (Cseke *et al.*, 2006). Uji bioaktivitas (*bioassay*) pada senyawa bahan alam bertujuan untuk mengetahui bioaktivitas senyawa tersebut. Uji bioaktivitas dibagi menjadi dua yaitu *bioassay* primer dan *bioassay* sekunder. *Bioassay* primer atau *primary screen* digunakan untuk menguji sampel dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan hasil yang rinci, *primary screen* terdiri dari sistem *in vitro* dan *in vivo*. *Bioassay* sekunder atau *secondary testing* adalah prosedur

pengujian yang lebih detail untuk senyawa *lead compound* pada beberapa sistem model untuk pengujian klinis dan umumnya jumlah sampel yang digunakan jauh lebih besar, pengujian lebih rinci dan biaya yang mahal (Attur-Rahman *et al.*, 2005).

2.1.6 Senyawa fenolik sebagai antijamur

Senyawa fenolik yang berasal dari alam adalah komponen organik yang umumnya memiliki bobot molekul rendah yang mengandung satu atau lebih gugus fenolik diproduksi oleh tumbuhan atau mikroorganisme. Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang disintesis oleh tumbuhan pada pertumbuhan normal atau disebabkan oleh kondisi stress seperti perlukaan, infeksi atau terpapar oleh radiasi UV. Asam fenolat, flavanoid, tanin, stilben, kurkuminoid, kumarin, lignan, quinon, dan lain-lain, adalah beberapa contoh senyawa fenolik yang diekstraksi dari berbagai tumbuhan baik sebagai obat maupun makanan. Fenol alami memegang peranan penting dalam kesehatan manusia seperti antijamur, antioksidan dan aktivitas anti kanker. Hingga saat ini laporan terkait aktivitas dan kemanfaatan senyawa fenolik cukup banyak dan akan terus bertambah (Ansari *et al.*, 2013).

Aktivitas antijamur dari kelompok senyawa fenolik meningkat dalam beberapa tahun ini, jumlah dari gugus hidroksil diketahui mempengaruhi toksisitas relatifnya, dimana meningkatnya jumlah hidroksilasi akan meningkatkan toksisitasnya. Senyawa fenolik dilaporkan memiliki

aktivitas antijamur yang baik antara lain, eriosemaones A-D dari *Monodora angolensis* and *Isolona cauliflor* dengan nilai KHM 20 µg/mL, amentoflavin dari *Selaginella tamariscina* dengan nilai KHM 18,3 µg/mL, eupomatenoïd, konokarpan, dan orientin dengan nilai KHM 2,0-60 µg/mL. quercetin-3,7-O-α-L-diramnosida, dan kaempferol-3,7-O-α-L-diramnosida menunjukkan aktivitas antijamur pada *Candida* spp yang sangat baik yakni 1,0 µg/mL (Arif *et al.*, 2009).

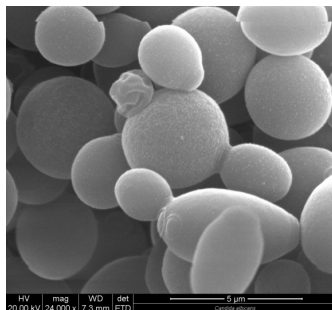
2.1.7 *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*

Mikroorganisme patogen yang hidup disekitar kita cukup banyak, diantaranya adalah jamur yang merupakan patogen yang dapat menyebabkan berbagai penyakit dan infeksi yang dikenal dengan istilah *mycosis*.

Candida albicans adalah suatu jamur uniseluler yang merupakan flora normal rongga mulut, usus besar dan vagina. *C. albicans* dalam kondisi tertentu dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya tertekan. *C. albicans* dapat menyebabkan keputihan, sariawan, infeksi kulit, infeksi kuku, infeksi paru-paru dan organ lain serta kandidiasis mukokutan menahun. (Jawetz *et al.*, 1996; Tortora, 2004).

C. albicans dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Pada kondisi anaerob, *C. albicans* mempunyai waktu generasi yang lebih panjang yaitu

248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Walaupun *C. albicans* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan pertumbuhan lebih tinggi pada media cair dengan digoyang pada suhu 37°C. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas & Chaffin, 2005). Pada media *Sabaroud dextrose agar* atau *glucose-yeast extract- peptone water* *C. albicans* berbentuk bulat atau oval yang biasa disebut dengan bentuk khamir dengan ukuran (3,5-6) x (6-10) µm. Koloni berwarna krem, agak mengkilat dan halus. Pada media *cornmeal agar* dapat membentuk *clamydospora* dan lebih mudah dibedakan melalui bentuk *pseudomycelium* (bentuk filamen). Pada *pseudomycelium* terdapat kumpulan blastospora yang bisa terdapat pada bagian terminal atau *intercalary* (Lodder, 1970). Kemampuan *C. albicans* untuk tumbuh baik pada suhu 37°C memungkinkannya untuk tumbuh pada sel hewan dan manusia. Sedangkan bentuknya yang dapat berubah, bentuk khamir dan filamen, sangat berperan dalam proses infeksi ke tubuh inang (Lodder, 1970).



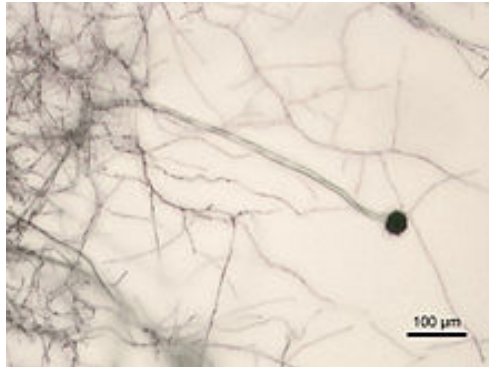
Gambar 2. 13 *Candida albicans* dengan perbesaran 24.000x (Tortora, 2004)

Berikut adalah klasifikasi dari *C. albicans*:

Kingdom	Fungi
Divisi	Ascomycota
Class	Saccharomycetes
Orde	Saccharomycetales
Famili	Saccharomycetaceae
Genus	Candida
Spesies	<i>C. albicans</i> (Tortora, 2004)

Aspergillus Niger merupakan salah satu spesies umum dari kelompok *Aspergillus* yang dapat menyebabkan penyakit *black mould* pada beberapa sayur mayur dan buah-buahan, umum ditemukan sebagai kontaminan pada bahan makanan. Beberapa strain dari *A. niger* dilaporkan memproduksi mikotoksin poten yakni *ochratoxins*. (Samson *et al.*, 2001; Abarca *et al.*, 1994). Infeksi umum yang disebabkan oleh *A. niger* pada manusia adalah otomikosis (infeksi pada telinga), infeksi ini dapat menyebabkan hilangnya kemampuan mendengar, rasa sakit, dan pada beberapa kasus dapat menyebabkan rusaknya kanal telinga dan membran *tympanic*. Selain itu *A. niger* dapat menyebabkan Aspergillosis yakni berbagai jenis penyakit yang disebabkan oleh jamur dari genus *Aspergillus*. Bentuk yang paling umum adalah *broncho pulmonary* aspergillosis, *pulmonary* aspergilloma dan serbuan dari aspergillosis. Kebanyakan manusia menghirup spora *Aspergillus* setiap hari, namun aspergillosis umumnya hanya berkembang pada individu yang *immunocompromised* (mempunyai

sistem imun rendah) (Handwerk & Brian, 2005).



Gambar 2.14 *Aspergillus niger* dengan perbesaran 500x (Klich, 2002)

Berikut adalah klasifikasi dari *A. niger*:

Kingdom	Fungi
Divisi	Ascomycota
Class	Eurotiomycetes
Orde	Eurotiales
Famili	Trichocomaceae
Genus	<i>Aspergillus</i>
Spesies	<i>A. niger</i> (Klich, 2002)

2.1.8 Penyakit yang disebabkan oleh jamur dan pengobatannya

Infeksi yang diakibatkan oleh jamur banyak terjadi pada jaringan yang memiliki sedikit vaskularisasi atau pada struktur avaskular seperti pada permukaan kulit, kuku dan kulit. Jamur tumbuh dengan lambat sehingga

lebih sulit dibunuh dibandingkan dengan bakteri (Stringer, 2006). Mikosis dapat terjadi pada hewan termasuk manusia, secara umum perkembangan infeksi oleh jamur dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan psikologis. Menghirup spora dari jamur atau koloni yang terlokalisasi dapat menginisiasi infeksi persisten, mikosis umumnya menyebar dari paru-paru atau kulit. Infeksi oleh jamur pada tahun 2010 menjadi penyakit ke -4 yang paling umum terjadi dan menginfeksi lebih dari 984 juta orang (Hay *et al.*, 2013).

Individual yang sedang menggunakan antibiotik menjadi lebih rentan terserang infeksi jamur, individual dengan sistem imun lemah juga beresiko terpapar infeksi jamur, seperti pada pasien penderita HIV/ AIDS, individu dengan pengobatan menggunakan steroid, penderita diabetes dan individu yang sedang menjalani kemoterapi (Malcolm & Warnock, 2012).

Mikosis dibagi menjadi beberapa tingkatan berdasarkan lapisannya:

1. Mikosis superfisial
2. Mikosis bagian kutan
3. Mikosis bagian subkutan
4. Mikosis sistemik berdasarkan patogen utama
5. Mikosis sistemik berdasarkan patogen oportunistik.

Pengobatan mikosis umumnya menggunakan obat-obat golongan antijamur bergantung jenis infeksi yang terjadi, bisa berupa obat topikal atau sistemik. Beberapa

contoh obat antijamur adalah flukonazol, amfoterisin B, dan golongan azol (Ketokonazol, itrakonazol, terbinafin) (Malcolm & Warnock, 2012). Selain itu strategi pengembangan obat antijamur yang berasal dari bahan alam sangat diperlukan, dimana kelompok fenolik dilaporkan banyak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida* spp dan *Aspegillus* spp (Cavaleiro *et al.*, 2006; Arif *et al.*, 2009; Saad *et al.*, 2010).

Berikut adalah beberapa mekanisme kerja antijamur dari senyawa fenolik :

1. Timol

Bekerja dengan berinteraksi dengan ergosterol dan fluiditas dari membran sel dan pengeluaran Ca^+ ke dalam sel.

2. Kurkumin

Meningkatkan jumlah ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan bekerja pada gen CaM_{Ca_1} yakni gen yang bertanggung jawab terhadap proses apoptosis sel.

3. Bisbenzil

Bekerja dengan *Upregulation* gen DPP3 dan meningkatkan produksi farnesol yang mempengaruhi perubahan morfologi dan meningkatkan ROS (*Reactive Oxygen Species*)

4. Polifenol

Bekerja dengan menghambat transport protein ABC.

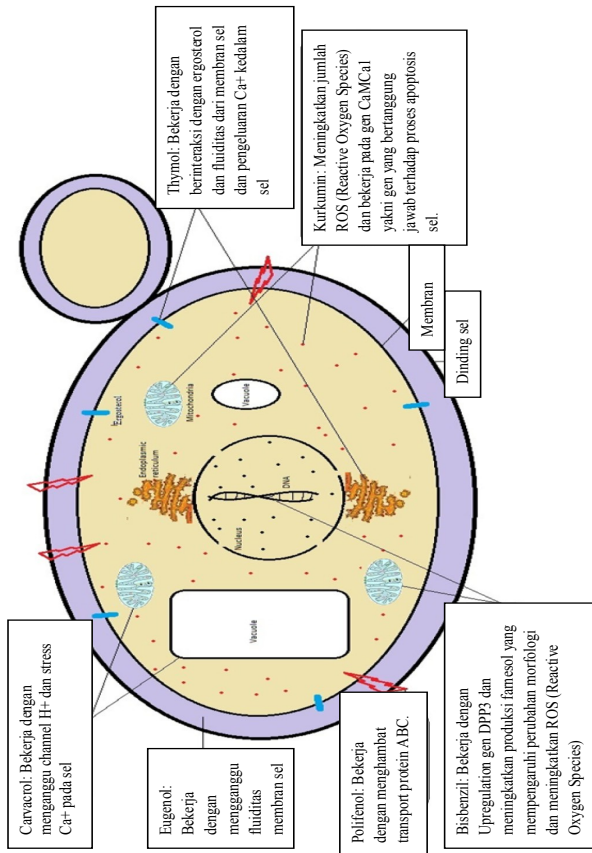
5. Eugenol

Bekerja dengan mengganggu fluiditas membran sel

6. Karvakrol

Bekerja dengan mengganggu channel H^+ dan stress Ca^{+} pada sel.

Mekanisme kerja pada sel jamur dari Tymol, kurkumin, bisbenzil, polifenol, eugenol dan carvacrol ditunjukkan pada Gambar 2.15.



Gambar 2.15 Beberapa mekanisme aksi antijamur dari golongan fenolik (Ansari *et al.*, 2013).

2.2 Kerangka pemikiran

Pteridophyta atau tumbuhan paku merupakan jenis tumbuhan yang telah membentuk koloni selama jutaan tahun yang lalu serta masih bertahan hingga saat ini. Pteridophyta memegang peranan cukup penting dalam biodiversitas di bumi. Penggunaan pteridophyta sebagai sumber obat alami tidak sebanyak tumbuhan berbunga atau tumbuhan tingkat tinggi. Penelitian aktivitas farmakologi dan fitokimia terhadap kelompok pteridophyta jika dibandingkan terhadap angiospermae jauh lebih sedikit, hal ini disebabkan biodiversitas dan distribusi dari angiospermae yang lebih luas dibandingkan pteridophyta (Cao *et al.*, 2017).

Lygodium merupakan bagian dari divisi pteridophyta (paku-pakuan), beberapa aktivitas farmakologi telah dilaporkan antara lain sebagai antibakteri, antivirus, resisten pada hormon pria dan efek pada pertumbuhan rambut, normalisasi kerja kantung empedu, menghancurkan batu ginjal, hepatoprotektor, mengatasi infeksi saluran kemih, nefritis edema, flu dengan demam, diuretika, kardial, dan diare enteritis (Matsuda *et al.*, 2002; Guo-Gang *et al.*, 2012; Morais-Braga *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014).

Kandungan utama metabolit sekunder dari genus ini adalah golongan terpenoid, steroid, senyawa fenolik, dan glikosida (Linxia *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2006; Ye *et al.*, 2007). Kelompok senyawa fenolik cukup banyak dilaporkan dari genus *Lygodium* antara lain, kelompok flavanoid (Zhang *et al.*, 2006), flavanoid glikosida (Ye *et al.*, 2007), dan

kelompok naftokuinon (Chen *et al.*, 2010).

Senyawa fenolik dilaporkan memiliki aktivitas anti-jamur yang baik antara lain, eriosemaones A-D dari *Mono-dora angolensis* dan *Isolona cauliflor* dengan nilai KHM 20 µg/mL, amentoflavon dari *Selaginella tamariscina* dengan nilai KHM 18,3 µg/mL, eupomatenoid, konokarpan, dan orientin dengan nilai KHM 2,0-60 µg/mL. quercetin-3,7-O-α-L-diramnosida, dan kaempferol-3,7-O-α-L-diramnosida menunjukkan aktivitas antijamur pada *Candida* spp yang sangat baik yakni 1,0 µg/mL (Arif *et al.*, 2009).

L. microphyllum termasuk dalam 45 spesies yang merupakan genus *Lygodium* dan merupakan salah satu spesies paling invasif. Tumbuhan yang memiliki hubungan taksonomi yang dekat, seperti satu genus atau satu famili, akan memiliki kandungan metabolit sekunder yang hampir sama (Manitto, 1980; Dewick, 2009). Berdasarkan kedekatan kemotaksonomi tersebut, maka perlu dilakukan penelitian terhadap kerokot (*L. microphyllum*) yang merupakan satu genus dengan *L. flexuosum*, *L. venustum*, dan *L. japonicum* yang mempunyai persamaan kandungan kimia terutama dari golongan fenolik. Senyawa fenolik sendiri telah dilaporkan memiliki aktivitas antijamur yang sangat baik. Hal inilah yang menjadi dasar perlu dilakukannya penelitian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger* terhadap senyawa fenolik yang akan diisolasi dari tumbuhan *L. microphyllum*.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas maka peluang untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder dari golongan fenolik yang beraktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger* dari *L. microphyllum* adalah sangat besar.

2.3 Hipotesis

Berdasarkan kajian pustaka dan kerangka pemikiran, maka hipotesis yang kami ajukan adalah:

1. Struktur kimia senyawa fenolik hasil isolasi dari tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) merupakan golongan flavonoid dan naftokuinon.
2. Senyawa fenolik hasil isolasi tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger*.
3. Gugus fungsi pada senyawa fenolik pada tumbuhan kerokot (*L. microphyllum*) berperan penting terhadap aktivitas antijamur.

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan penelitian

3.1.1 Bahan tumbuhan

Jaringan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah keseluruhan bagian tumbuhan atau herba *L. microphyllum* yang dikumpulkan dari Desa Lempake, Kelurahan Temindung Permai, Kecamatan Samarinda utara, Kotamadya Samarinda, Provinsi Kalimantan Timur. Bahan tumbuhan dideterminasi dan sampelnya telah didepositkan di Laboratorium Dendrologi Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman Samarinda. Sampel dikeringkan untuk mencegah tumbuhnya jamur dan kemudian dihaluskan.

3.1.2 Bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah bahan kimia yang biasa digunakan dalam ekstraksi dan fraksinasi meliputi metanol, aseton, etil asetat, kloroform, diklorometan, *n*-heksan, dan *n*-butanol. Disamping itu digunakan juga bahan kimia pendukung lainnya meliputi silika gel dengan berbagai ukuran, okta desil silan (ODS) Fuji Sylisia, Sephadex LH-20 (Merck), Plat KLT (Merck), dan natrium sulfat. Pereaksi penampak noda asam sulfat 10% dalam etanol dan Aluminium klorida

3.1.3 Peralatan

Alat yang digunakan berupa alat gelas yang umum digunakan dalam teknik isolasi, destilasi, *rotary evaporator* tipe R-144 Buchi yang dilengkapi dengan B 169 sistem vakum Buchi, kolom kromatografi berbagai ukuran panjang dan diameternya, *Preparative* MPLC menggunakan Buchi *Pump Controller* C-610, Buchi *Pump Modules* C-605 dengan FLH-R10030B *SiliCycle column*-ISO04 SiliasepTM. Lampu UV λ_{maks} 254 nm dan 365 nm untuk pemantauan senyawa target, untuk karakterisasi isolat digunakan metode spektroskopi UV tipe Hp 8452 A Shimadzu, IR tipe Shimadzu 8400, NMR tipe JOEL JNMECA 500 MHz (^1H -NMR) dan 125 MHz (^{13}C -NMR), NMR tipe JEOL 600 MHz ECZR (^1H -NMR) dan 150 MHz (^{13}C -NMR), dan digunakan standar internal TMS, dan MS tipe HR-TOFMS, sedangkan untuk uji aktivitas antijamur terhadap

C. Albicans dan *A. niger* menggunakan alat gelas umum dalam pengujian antijamur, *microplate* 550 nm, inkubator CO₂, perangkat sumur kultur, mikropipet, dan *microplate reader*.

3.1.4 Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Departemen Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran Jatinangor Sumedang, Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran Jatinangor Sumedang. Ujiaktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger* dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran Jatinangor Sumedang. Pengukuran IR dilakukan di Laboratorium Analisis Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor Sumedang. Pengukuran spektroskopi NMR, MS dan penggunaan MPLC dilakukan di Laboratorium Kimia LIPI Puspitex Serpong dan *Laboratory of Natural Product Department of Bioresource Engineering, Faculty of Agriculture, Yamagata University, Japan*.

3.2 Desain penelitian

Pendekatan dan metode percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini mengikuti kaidah yang lazim digunakan dalam penelitian kimia organik bahan alam untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Penyiapan bahan tumbuhan.
2. Ekstraksi, serbuk herba tumbuhan dimaserasi dengan

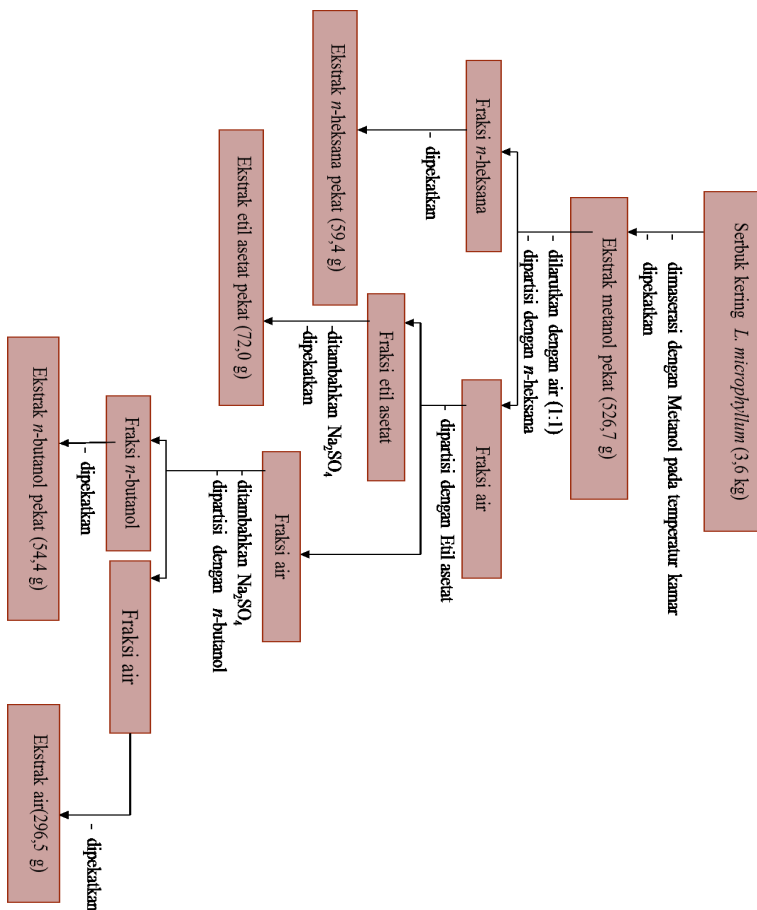
metanol, kemudian ekstrak pekat metanol yang diperoleh dipartisi dengan *n*-heksan, etil asetat, dan *n*-butanol.

3. Isolat diuji aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger*.
4. Penentuan struktur kimia isolat secara spektroskopi dan perbandingan dengan data literatur dari penelitian sebelumnya.

3.2.1 Ekstraksi herba tumbuhan *L. microphyllum*

Serbuk kering herba *L. microphyllum* (3,54 kg) dimaserasi dengan metanol pada suhu kamar. Ekstrak diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* di bawah tekanan rendah pada suhu kurang dari 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat sebanyak 526,7 g. Ekstrak metanol pekat kemudian difraksionasi berdasarkan tingkat kepolaran pelarut, ekstrak metanol pekat dilarutkan dalam air 1:1 dan dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksan, etil asetat dan *n*-butanol. Ekstrak hasil fraksionasi selanjutnya diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* menggunakan *rotary evaporator* bawah tekanan rendah pada suhu kurang dari 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksan (59,41 g), etil asetat (72 g) dan *n*-butanol (54,3 g) dan fraksi air (296,5 g). Skema kerja ekstraksi ditunjukkan pada Gambar 3.1.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 3.1 Prosedur ekstraksi dan fraksinasi tumbuhan *L. microphyllum*

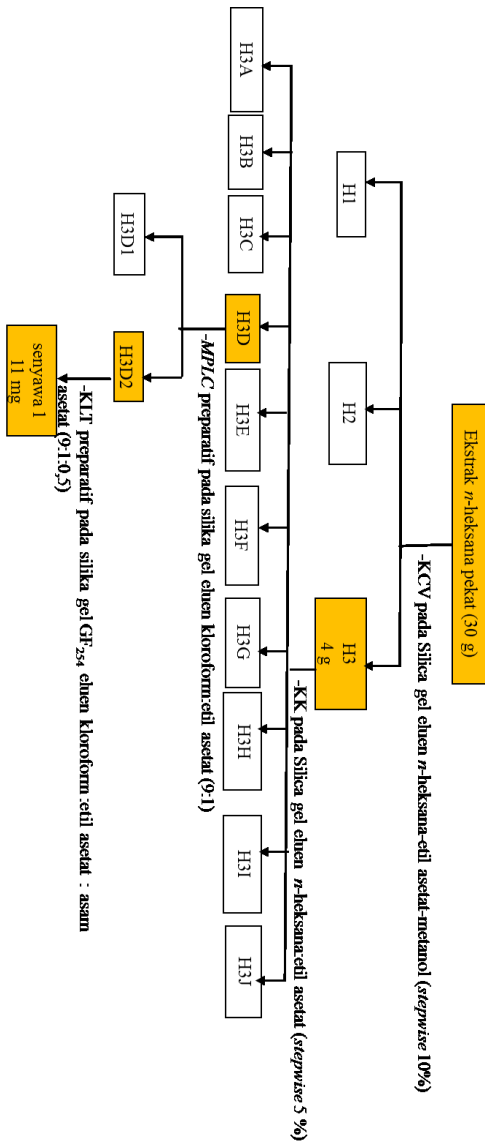
3.2.2 Isolasi senyawa fenolik dari tumbuhan *L. microphyllum*

Isolasi senyawa dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi meliputi, kromatografi kolom pada fasa diam silika gel, ODS, Sephadex LH-20, preparatif

kromatografi lapis tipis, *Medium Preparatif Liquid Chromatography* (MPLC) dan dipandu dengan penampak noda Asam sulfat 10 % dan Aluminium klorida untuk mendeteksi senyawa golongan fenolik.

Ekstrak *n*-heksana sebanyak 30 g dipisahkan dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) pada fasa diam Silika gel G₆₀, dengan sistem pelarut *n*-heksana-etil asetat-metanol bergradien 10%, dihasilkan 3 fraksi gabungan (H1-H3). Fraksi H3 sebanyak 4 g dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom terbuka pada fasa diam silika gel G₆₀, sistem pelarut *n*-heksana - etil asetat bergradien 10%, dihasilkan 10 fraksi gabungan (H3A-H3J). Fraksi H3D dipisahkan dengan menggunakan MPLC pada silika gel dengan sistem pelarut kloroform-etil asetat (9:1) secara isokratik, dihasilkan 2 fraksi gabungan (H3D1 dan H3D2). Fraksi H3D2 dipisahkan dengan KLT preparatif, sistem pelarut kloroform: Etil asetat: asam asetat glasial (9:1:0,5), dihasilkan senyawa **1** berupa kristal berwarna coklat (11 mg). Prosedur isolasi ekstrak *n*-heksana ditunjukkan pada Gambar 3.2.

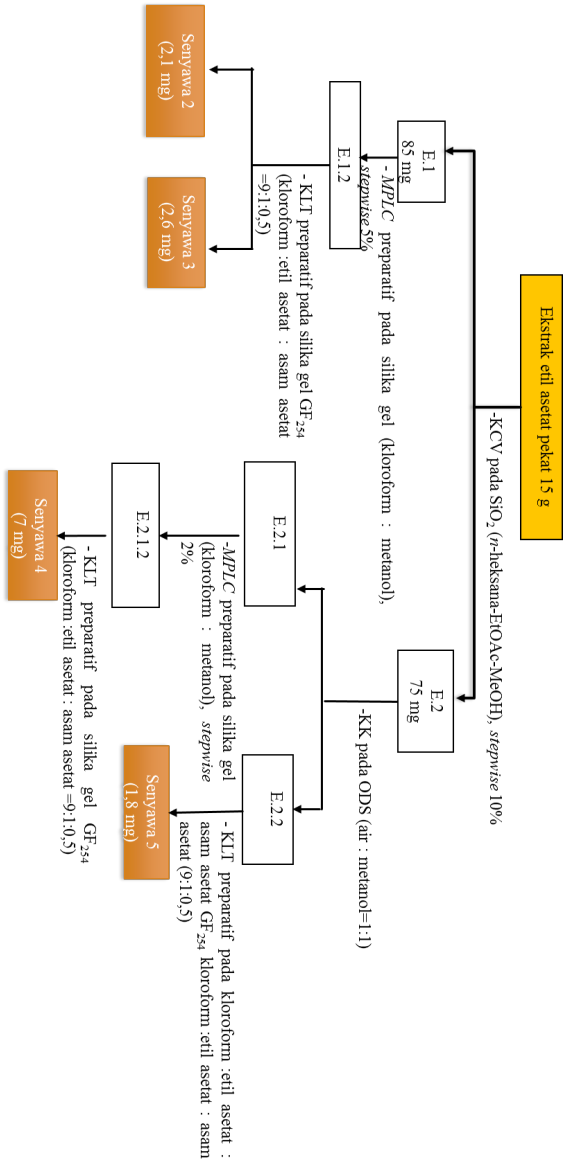
Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 3.2 Prosedur isolasi dari ekstrak *n*-heksana

Ekstrak etil asetat sebanyak 15 g dipisahkan dengan kromatografi cair vakum pada fasa diam silika gel G₆₀ dengan sistem pelarut *n*-heksana-etil asetat-metanol bergradien 10%, dihasilkan delapan fraksi gabungan (E.1-E.8). Fraksi E.1 sebanyak 85 mg dipisahkan lebih lanjut dengan MPLC preparatif pada silika gel dengan sistem pelarut kloroform-metanol bergradien 5%, dihasilkan tujuh fraksi gabungan (E1.1-E1.7). Fraksi E.1.2 dipisahkan dengan KLT preparatif pada silika gel GF_{254'} sistem pelarut kloroform:etil asetat:asam asetat glasial (9:1:0,5), dihasilkan dua senyawa, senyawa **2** berupa padatan berwarna kuning (2,1 mg) dan senyawa **3** berupa padatan berwarna kuning (2,6 mg). Fraksi E.2 sebanyak 75 mg dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom terbuka pada fase diam ODS, sistem pelarut air:metanol (1:1), dihasilkan lima fraksi gabungan (E.2.1-E.2.5). Fraksi E.2.1 dipisahkan lebih lanjut menggunakan MPLC preparatif pada silika gel, sistem pelarut kloroform-metanol bergradien 2%, dihasilkan lima fraksi gabungan (E.2.1.1-E.2.1.5). Fraksi E.2.1.2 dipisahkan menggunakan KLT preparatif pada silika gel GF_{254'} sistem pelarut kloroform:etil asetat:asam asetat glasial (9:1:0,5), dihasilkan senyawa **4** (4 mg) berupa serbuk berwarna kuning. Fraksi E.2.2 dipisahkan lebih lanjut dengan KLT preparatif pada silika gel GF_{254'} sistem pelarut kloroform:etil asetat:asam asetat glasial (9:1:0,5), dihasilkan senyawa **5** (1,8 mg) berupa kristal jarum berwarna kuning. Prosedur isolasi ekstrak etil asetat ditunjukkan pada Gambar 3.3.

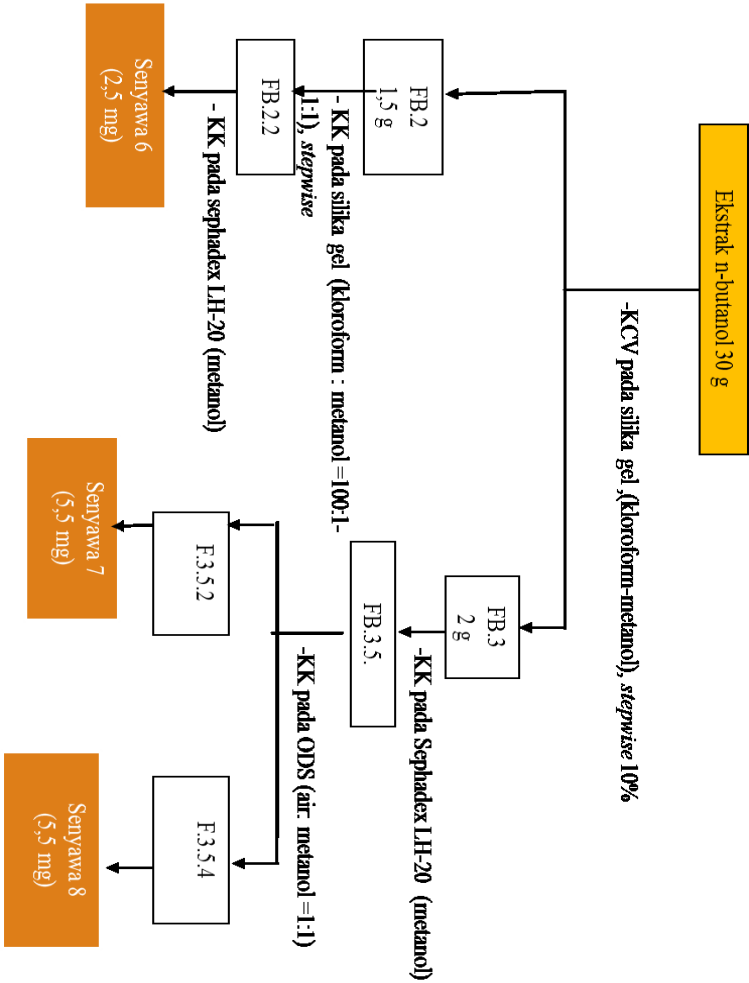
Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 3.3 Prosedur isolasi dari ekstrak etil asetat

Ekstrak *n*-butanol sebanyak 30 g dipisahkan dengan kromatografi cair vakum pada fasa diam silika gel G₆₀, sistem pelarut kloroform- metanol bergradien 10%, dihasilkan enam fraksi gabungan (B.1-B.6). Fraksi B.2 sebanyak 1,5 g dipisahkan lebih lanjut menggunakan Kromatografi kolom pada fasa diam silika gel G₆₀, sistem pelarut kloroform:metanol (100:1 - 1:1) bergradien, dihasilkan 10 fraksi gabungan (B.2.1-B.2.10). Fraksi B.2.2 dimurnikan dengan kromatografi kolom pada fasa diam Sephadex LH-20, sistem pelarut metanol, dihasilkan senyawa **6** (2,5 mg) berupa padatan amorf berwarna kuning. Fraksi B.3 sebanyak 2 g dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom terbuka pada fasa diam sephadex LH-20, sistem pelarut metanol, dihasilkan lima fraksi gabungan (B.3.1-B.3.5). Fraksi B.3.5 dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom pada fasa diam ODS, sistem pelarut air:metanol (1:1), dihasilkan empat fraksi gabungan (B.3.5.1-B.3.5.4). Fraksi B.3.5.2 merupakan senyawa **7** (5,5 mg) berupa padatan kuning dan fraksi B.3.5.4 adalah senyawa **8** (5,5 mg) berupa serbuk amorf berwarna kuning. Prosedur isolasi ekstrak *n*-butanol ditunjukkan pada Gambar 3.4.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 3.4 Prosedur isolasi dari ekstrak n-butanol

3.2.3 Penentuan struktur isolat

Senyawa hasil isolasi ditetapkan sifat fisiknya seperti wujud, warna, titik leleh. Struktur senyawa aktif ditentukan dengan metode spektroskopi meliputi, spektrometer ultra violet (UV), infra merah (IR), resonansi magnet inti (NMR), dan massa (MS), serta perbandingan dengan data spektra yang diperoleh dari penelitian terdahulu.

3.2.4 Uji aktivitas antijamur

Senyawa hasil isolasi diuji aktivitas antijamurnya secara *in vitro* terhadap jamur *C. albicans* dan *A. niger*.

1. Pembuatan standar McFarland

Sebanyak 0,5 mL Barium klorida 0,048 mol/L (1,175 % b/v) Barium klorida dihidrat) dan 99,5 mL Asam sulfat 0,18 mol/L (1% v/v) dicampur hingga homogen. Digunakan tabung bertutup dengan ukuran sama dengan yang digunakan untuk pembuatan inokulum jamur, *aliquot* dibuat sebanyak 4-6 mL tiap tabung. Tabung disimpan di tempat gelap pada suhu ruangan. Validasi kekeruhan standar McFarland dilakukan dengan OD dan colony count. *Optical density* (OD) dibaca dengan standar dengan spektrofotometer dengan cm^{-1} *light path* dengan kuvet yang sesuai. Absorbansi diukur pada 530 nm (OD harus berada diantara 0,08 sampai 0,10). Setengah standar McFarland setara dengan $1-5 \times 10^6$ yeast/mL (densiti yang direkomendasikan oleh CLSI untuk stok inokulum jamur).

2. Pengujian mikrodilusi

Alat dan media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit. Sebanyak 100 μ L SDB dimasukkan dalam pelat mikro pada kolom pertama sebagai kontrol negatif. Suspensi jamur sebanyak 5 μ L ditambahkan ke dalam 10 μ L SDB, kemudian diaduk dengan alat vortex. Sebanyak 100 μ L campuran tersebut dimasukkan dalam pelat mikro pada kolom kedua sampai ke dua belas. Pada kolom ke dua belas, ditambahkan 100 μ L larutan antibiotik / isolat dengan konsentrasi tertentu kemudian homogenkan. Dari kolom ke dua belas, diambil 100 μ L kemudian dipindahkan ke kolom sebelas. Pengenceran terus dilakukan sampai pada kolom ketiga yang akan memiliki konsentrasi terkecil yaitu pada kolom ke tiga. Pelat di inkubasi pada suhu ruangan selama 3 x 24 jam kemudian diamati bagian yang jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba). Konsentrasi terkecil di mana tidak terlihat pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai Nilai KHM. Nilai KHM diperoleh dari konsentrasi terendah tanpa turbiditas. Data pertumbuhan (log OD terhadap waktu) dibuat plot untuk menentukan nilai slope dari fase pertumbuhan eksponensial dan standar deviasi dihitung berdasarkan tiga kali pengulangan. Untuk kontrol positif digunakan flukonazol sebagai standar antijamur.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil.

Serbuk kering dari tumbuhan *L. microphyllum* sebanyak 3,6 kg diekstraksi dengan menggunakan metanol sehingga diperoleh ekstrak metanol pekat sebanyak 526,7 g. Ekstrak metanol difraksionasi secara berturut turut dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol, sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana (59,4 g), etil asetat (72,0 g), *n*-butanol (54,4 g) dan air (296,5 g).

Dalam penelitian ini telah diisolasi 8 senyawa fenolik yang diperoleh dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) pada Silika Gel G₆₀ fraksi KCV dipisahkan secara berulang dengan kolom kromatografi pada fasa diam normal, terbalik, Sephadex LH-20, MPLC Preparatif dan KLT pre-

paratif pada silika gel GF₂₅₄ dan dihasilkan senyawa 1-8.

4.1.1 Senyawa 1

Kristal berwarna coklat; Titik leleh 203°C, IR (KBr) (ν_{maks}) cm^{-1} 3350; 2982; 1750; 1606; 1035. ¹H-NMR (aseton-*d*₆, 500 MHz); ¹³C-NMR (aseton-*d*₆, 125 MHz). ESI-TOF-MS *m/z* 245,0857 [M-H]⁻, (perhitungan untuk C₁₄H₁₂O₄, *m/z* 245,0814)

4.1.2 Senyawa 2

Padatan kuning; titik leleh 276-278 °C, UV (MeOH) λ_{maks} (nm) (log ϵ): 266 (4,20), 353 (4,08); UV (MeOH + NaOH) λ_{maks} (nm) (log ϵ): 401 (3,91), 277 (4,40); UV (NaOAc) λ_{maks} (nm) (log ϵ): 353 (3,91), 267 (4,40); UV (AlCl₃/HCl) (λ_{maks}) (nm) (log ϵ): 396 (3,91), 274 (4,40). IR (KBr) (ν_{maks}) cm^{-1} : 3259, 2954, 1654, 1597-1435, dan 1045. ¹H-NMR (aseton-*d*₆, 500 MHz,) δ_{H} (ppm) (Tabel 4.2), ¹³C-NMR (aseton-*d*₆, 125 MHz) δ_{C} (ppm) (Tabel 4.2). HR-TOFMS *m/z* [M-H]⁻ 285,2463, perhitungan untuk C₁₅H₁₀O₆ *m/z* 286,2363.

4.1.3 Senyawa 3

Padatan berwarna kuning; titik leleh 315-317°C, spektrum UV (MeOH) λ_{maks} nm: 255 (ϵ 6.200), 370 (ϵ 7.200); spektrum UV (MeOH+AlCl₃) λ_{maks} nm: 268, 340; spektrum IR (KBr) ν_{maks} cm^{-1} : 3413 dan 1608; spektrum ¹H-NMR (aseton-*d*₆, 500 MHz) δ_{H} (ppm) dan spektrum ¹³C-NMR (aseton-*d*₆, 125 MHz) δ_{C} (ppm): (Tabel 4.3).

4.1.4 Senyawa 4

Serbuk berwarna kuning; ^1H NMR (piridin- d_6 , 600 MHz), Tabel 3; ^{13}C NMR (piridin- d_6 , 150 MHz), Tabel 4.4.

4.1.5 Senyawa 5

Kristal jarum berwarna kuning; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), Tabel 4.5.

4.1.6 Senyawa 6

Padatan amorf berwarna kuning, titik leleh 193-194 °C, ^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), tabel 4.6.

4.1.7 Senyawa 7

Senyawa 7 diperoleh berupa padatan kuning. UV (MeOH) (λ_{maks}) nm 382,2; 267,7, UV (MeOH + NaOH): 350,1; 267,7, UV (MeOH + NaOAc): 250,3; 250,9, UV (MeOH + NaOAc + H_3BO_3) 362,0; 267,7, UV (MeOH + AlCl_3): 383,2; 267,7; UV (MeOH + AlCl_3 + HCl): 383,4; 258,5; IR (KBr) (ν_{maks}) cm^{-1} 3433, 2896, 1654, 1266, 839. ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) dan ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), lihat Tabel 4.7, HR-TOFMS m/z 447,8083 [M-H] $^-$ (perhitungan untuk $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$, 447,3769).

4.1.8 Senyawa 8

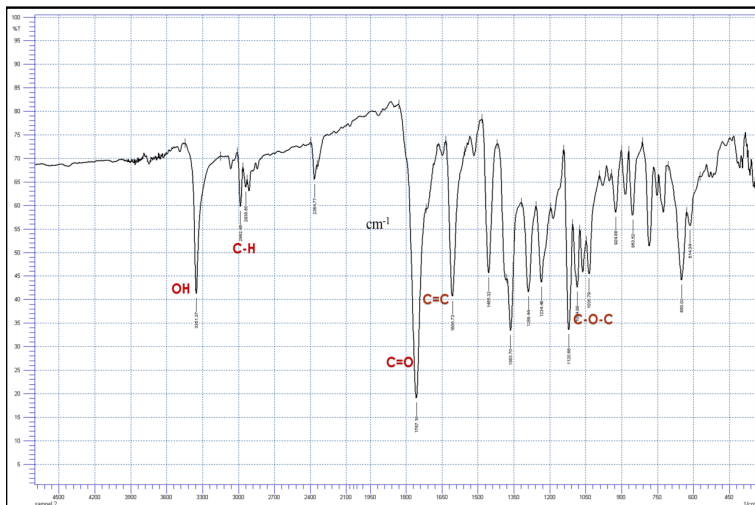
Serbuk amorf berwarna kuning; UV(MeOH) $\lambda(\text{maks})$ 354, 256 nm; ESI-MS m/z : 477[M-H] $^-$; ^1H -NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz), ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), Tabel 4.8.

4.2 Penentuan Struktur Kimia Senyawa 1-8

4.2.1 Penentuan struktur kimia senyawa 1

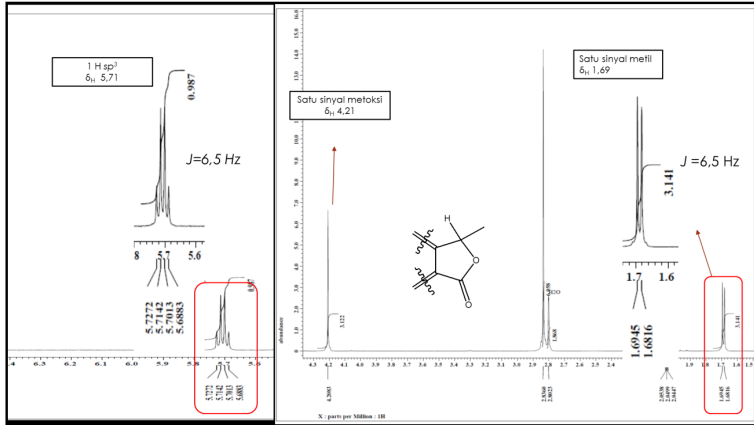
Senyawa **1** diperoleh sebagai kristal berwarna coklat, titik leleh 203°C. Rumus molekul senyawa **1** ditetapkan sebagai $C_{14}H_{12}O_4$ berdasarkan spektrum HRTOF-MS m/z 245,0857 $[M-H]^-$, (perhitungan untuk $C_{14}H_{12}O_4$, m/z 245,0814) bersama dengan data NMR (Tabel 4.1), dengan demikian diperoleh sembilan derajat ketidakejenuhan

Spektrum IR senyawa **1** (Gambar 4.1) menunjukkan kehadiran gugus hidroksil pada (3350 cm^{-1}), regang C-H alifatik (2982 cm^{-1}), regang C=O keton terkonjugasi (1750 cm^{-1}), C=C aromatik (1606 cm^{-1}) dan regang C-O-C eter (1035 cm^{-1}).

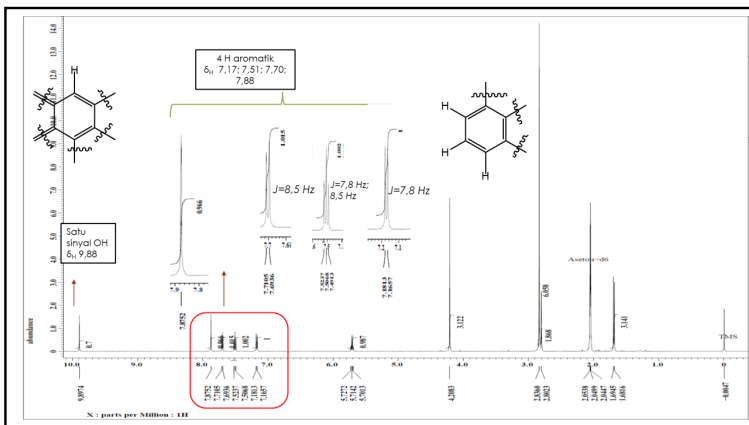


Gambar 4.1 Spektrum inframerah senyawa 1 (KBr).

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.2 Spektrum ¹H-NMR senyawa 1 (500 MHz, aseton-d₆)

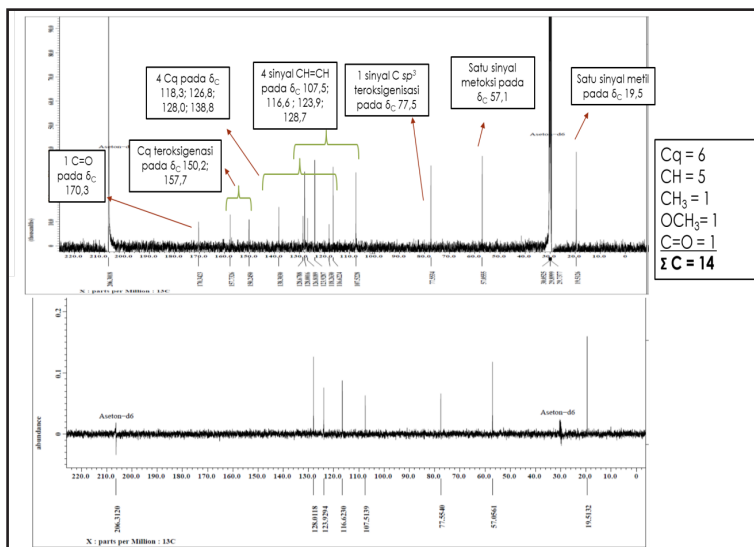


Gambar 4.3 Spektrum ¹H-NMR senyawa 1 (500 MHz, aseton-d₆)

Spektrum ¹³C-NMR senyawa 1 (Gambar 4.4) diperinci dengan percobaan DEPT 135° menunjukkan kehadiran empat belas sinyal karbon yang terdiri atas satu metil, lima metin sp², enam karbon kuarterner sp² dan dua diantaranya

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

adalah karbon kuartener yang teroksigenasi, serta satu karbon karbonil yang mengindikasikan senyawa golongan naftofuran (Arung *et al.*, 2012). Lima sinyal metin sp^2 pada δ_c 77,5 (C-3), 116,6 (C-4), 107,5 (C-6), 123,9 (C-7), 128,7 (C-8), enam karbon kuartener pada δ_c 157,7 (C-5), 150,2 (C-9), 126,8 (C-10), 128,0 (C-11), 118,3 (C-12), dan 138,3 (C-13), dan satu sinyal karbonil ester pada δ_c 170,3 (C-1). Fungsionalitas tersebut dihitung sebagai enam dari sembilan derajat ketidakjenuhan, sisa tiga derajat ketidakjenuhan lain berasal dari kerangka naftofuran (Arung *et al.*, 2012).



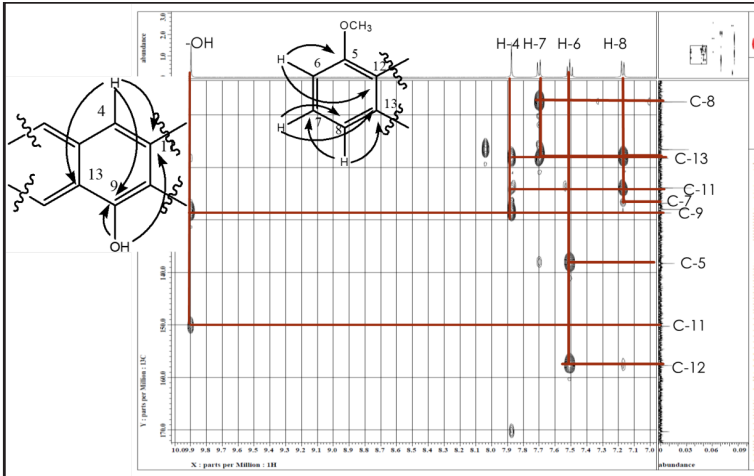
Gambar 4.4 Spektra ^{13}C -NMR dan DEPT 135° senyawa 1
(aseton- d_6 , 125 MHz)

Untuk menentukan posisi gugus fungsi $-\text{OH}$ dan metoksi pada senyawa 1 dikonfirmasi dengan percobaan

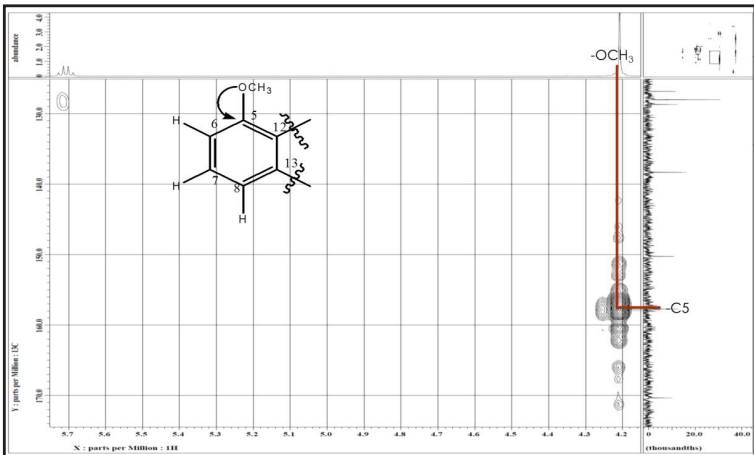
HMBC (Gambar 4.5). Adanya korelasi antara gugus -OH pada C-9 dan C-11 menunjukkan gugus -OH terikat pada posisi C-9. Korelasi proton aromatik H-4 yang berkorelasi dengan C-9, C-11, dan C-13, menunjukkan bahwa posisi H-4 adalah proton pentasubstitusi yang terikat pada posisi C-4. Korelasi antara H-6 dengan C-5 dan C-12, H-7 dengan C-8 dan C-13 serta H-8 dengan C-7 dan C-13 menunjukkan bahwa H-6, H-7, dan H-8 berada pada posisi benzen trisubstitusi dan masing-masing terikat pada C-6, C-7, dan C-8. Korelasi dari tiap proton aromatik pada H-4, H-5, H-6, H-7, dan H-8 berupa cincin benzen pentasubstitusi dan cincin aromatik lainnya merupakan cincin benzen trisubstitusi, menunjukkan bahwa struktur senyawa **1** mempunyai dua cincin aromatik yang bergabung satu sama lain. Posisi gugus metoksi diketahui melalui korelasi antara karbon oksiaril C-5 dengan gugus metoksi yang menunjukkan adanya korelasi bahwa gugus metoksi terikat pada posisi C-5. (Gambar 4.6).

Sedangkan posisi dari metil sekunder ditunjukkan melalui korelasi HMBC antara proton H-3 dengan C-11 serta metil berkorelasi dengan C-3 dan C-11, sehingga diketahui bahwa metil sekunder terikat pada posisi C-3 dan memiliki 1 tetangga proton (H-3) (Gambar 4.7) dan (Gambar 4.8).

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.5 Korelasi HMBC senyawa 1.

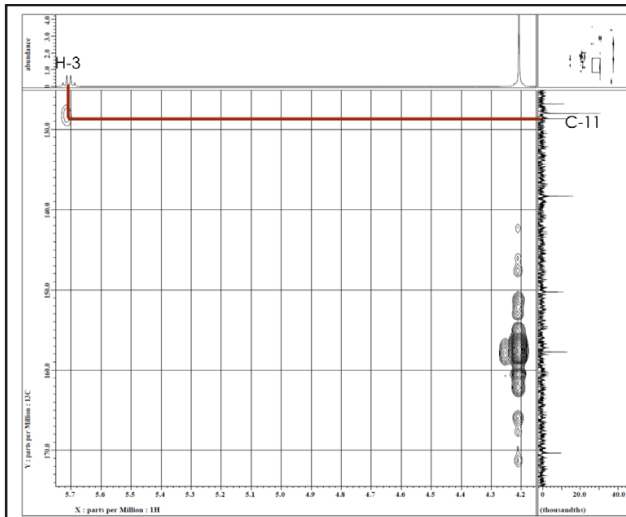


Gambar 4.6 Korelasi HMBC posisi -OCH₃ senyawa 1

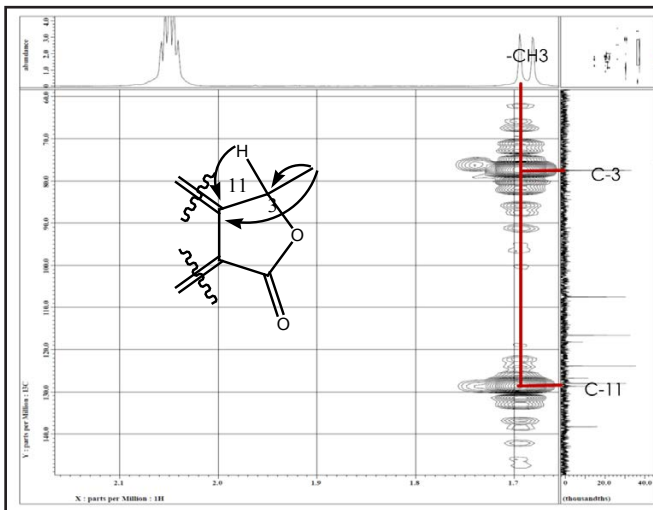
Kerangka senyawa naftofuran senyawa **1**, juga ditunjukkan oleh korelasi ¹H-¹H COSY sebagaimana pada Gambar 4.9. Teramati korelasi antara H-3/-CH₃, H-6/H-7

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

serta H-7/H-8 menunjukkan adanya kerangka naftofuran pada senyawa 1.

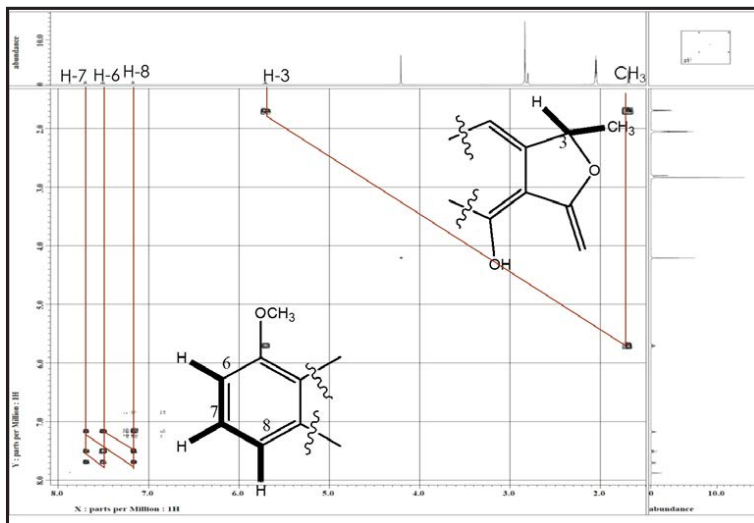


Gambar 4.7 Korelasi HMBC H-3 dan C-11 senyawa 1.

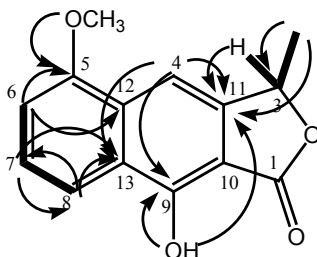


Gambar 4.8 Korelasi HMBC metil sekunder senyawa 1.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



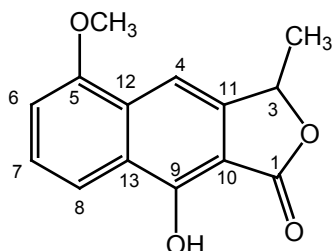
Gambar 4.9 Korelasi ¹H-¹H COSY senyawa 1.



Gambar 4.10 Korelasi HMBC dan ¹H-¹H COSY terpilih senyawa 1.

Dengan demikian, senyawa 1 memiliki struktur planar 9 Hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto (2,3c) furan-1 (3H)-on (Gambar 4.11). Posisi gugus -OH senyawa 1 terikat pada posisi C-9, hal ini berdasarkan pada nilai δ_{H} 9,88 (1H, s, -OH) yang lebih *deshielded* (pengaruh kuat dari ikatan hidrogen intramolekuler antara atom hidrogen pada hidroksil grup -OH (C-9) dan atom oksigen dari karbonil grup C=O

pada posisi C-1) dibandingkan gugus OH pada literatur yang lebih *shielded* dan terikat pada posisi C-4 (Arung *et al.*, 2012), hal ini diperkuat dengan nilai δ_c 150,2 pada C-9 yang lebih *deshielded* karena keberadaan gugus -OH, serta pendekatan biogenesis keberadaan turunan senyawa naftokuinon pada genus *Lygodium*, maka senyawa **1** ditetapkan sebagai senyawa naftokuinon baru 9 hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on (Gambar 4.11).



Gambar 4.11 Struktur kimia 9 Hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on (**1**)

Tabel 4.1 Perbandingan NMR antara senyawa **1** dan eleutherol (Arung *et al.*, 2012).

Posisi C	Senyawa 1		Eleutherol (Arung <i>et al.</i> , 2012)	
	$^1\text{H-NMR}$ δH (ΣH , mult, <i>J</i> , Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$ δC (ppm)	$^1\text{H-NMR}$ δH (ΣH , mult, <i>J</i> , Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$ δC (ppm)
1		170,3	-	172,2
3	5,71 (1H,q,6,5)	77,5	5.77 (1H, m)	78,5
4	7,88 (1H,s)	116,6	-	149,5
5	-	157,7	-	157,1
6	7,70 (1H,d, 8,5)	107,5	7.69 (1H, d,8.3)	107,1
7	7,51 (1H,dd, 8,5; 7,8)	123,9	7.48 (1H, dd,7.8; 8.3)	127,4
8	7,17 (1H, d, 7,8)	128,7	7.12 (1H, d, 7.8)	123,8
9	-	150,2	7,93 (1H,s)	116,8
10	-	126,8	-	125,7

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

11	-	128,0	-	128,1
12	-	118,3	-	118,0
13	-	138,3	-	137,8
3-CH ₃	1,69 (3H,d, 6,5)	19,5	1.64 (3H, dd, 1.2)	19,2
5-O- CH ₃	4,21 (3H,s)	57,1	4.05 (1H, s)	56,7
-OH	9,88 (1H, s)	-	9,52(1H,s)	-

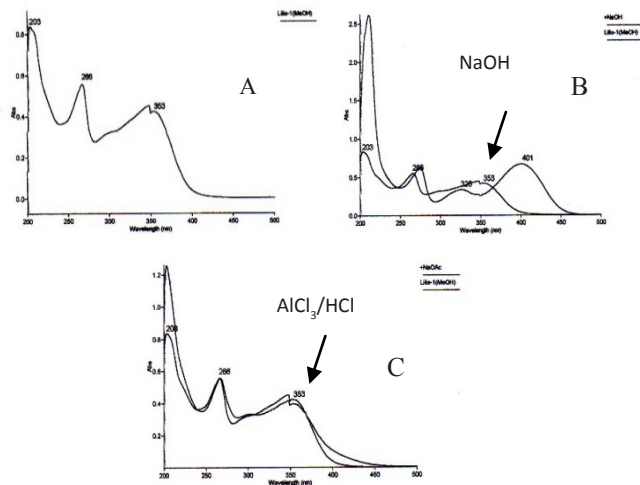
*pengukuran dilakukan dengan aseton-d₆ pada 500 MHz untuk ¹H dan 125 MHz untuk ¹³C

4.2.2 Penentuan struktur kimia senyawa 2

Senyawa **2** diperoleh berupa padatan berwarna kuning. Rumus molekul ditetapkan sebagai C₁₅H₁₀O₆ berdasarkan spektrum HR-TOFMS [M-H]⁻ (*m/z* 285,35) perhitungan untuk *m/z* 286,45 bersama dengan data NMR (Tabel 4.2), dengan demikian didapat sebelas derajat ketidaktertentuan dari tujuh C=C *sp*², C=O, dan tiga ring flavonoid.

Spektrum UV (metanol) senyawa **2** (Gambar 4.12a), menunjukkan serapan maksimum (λ_{maks}) pada 266 nm (log ϵ 4,20) dan 353 nm (log ϵ 4,08) diindikasikan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dari struktur flavonoid pada rentang pita I (300-550 nm) dan pita II (240-285 nm). Pita I merupakan karakteristik untuk resonansi gugus sinamoil dari cincin B dan pita 2 karakteristik untuk resonansi gugus benzoil yang terbentuk oleh resonansi dari cincin A.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



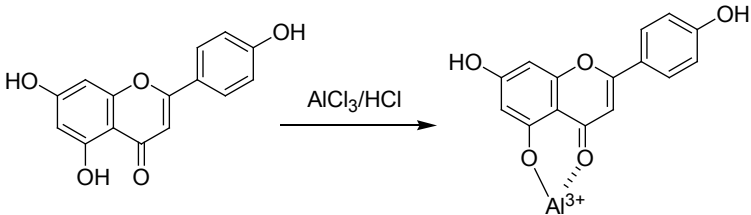
Gambar 4.12 Spektrum UV senyawa **2**, metanol (A), penambahan natrium hidroksida (B), penambahan alumunium triklorida (C).

Pada penambahan pereaksi geser natrum hidroksida (Gambar 4.12b) mengalami pergeseran batokromik pada pita I sebesar 48 nm, hal ini merupakan karakteristik gugus hidroksil pada posisi C-4' (Markham, 1988). Penambahan pereaksi geser alumunium klorida dan asam klorida (Gambar 4.12c) terbentuk kompleks yang tahan terhadap asam antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga (Markham, 1988), hal ini menunjukkan inti flavon tersebut memiliki hidroksil pada posisi C-5, yang memperkuat dugaan bahwa senyawa **2** merupakan golongan flavonol Gambar 4.13.

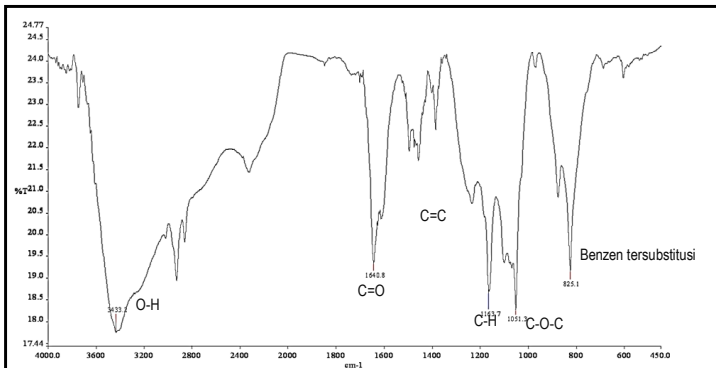
Spektrum IR (KBr) (Gambar 4.14) memberikan se-

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

rapan pada ikatan hidrogen intramolekuler, uluran O-H (3343 cm^{-1}), regang C=O (1640 cm^{-1}), regangan cincin C=C (1478 cm^{-1}), uluran C-H (1163 cm^{-1}), uluran C-O-C simetri (1051 cm^{-1}), dan benzen tersubstitusi (825 cm^{-1}). Rendahnya serapan lentur C=O (1640 cm^{-1}) disebabkan adanya gugus karbonil terkonjugasi, mengurangi sifat C=C sp^2 ke atom O, konjugasi lebih lanjut akan menurunkan serapan (panjang gelombang lebih panjang). Uluran C-H (1163 cm^{-1}) terlihat lemah sebab pita C-H terlihat sangat kuat dikarenakan adanya ikatan C-H dalam jumlah besar dalam senyawa **2**.

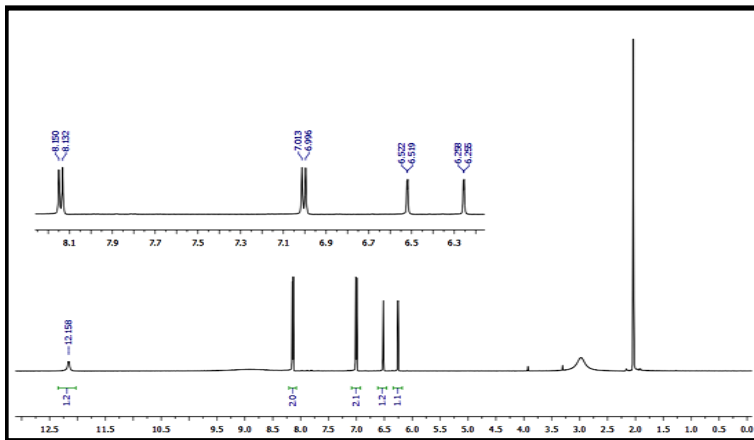


Gambar 4.13 Senyawa kompleks yang menjelaskan terjadinya pergeseran dalam spektrum pada penambahan Aluminium klorida/ Asam klorida



Gambar 4.14 Spektrum IR (KBr) senyawa **2**

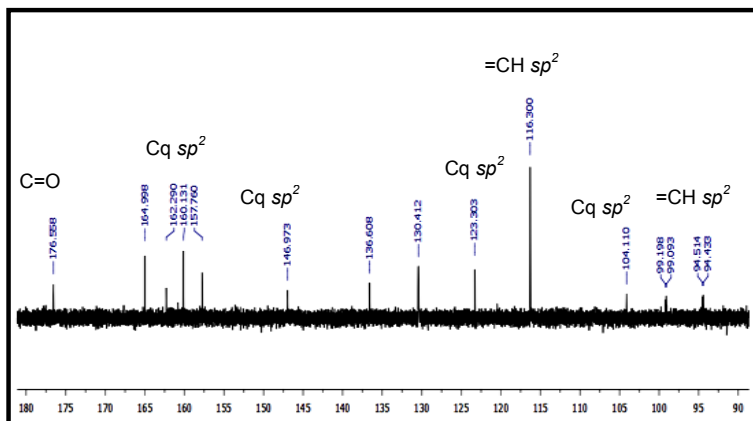
Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.15. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **2** (CD_3OD 500 MHz)

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **2** dalam CDCl_3 , 500 MHz (Gambar 4.15) memperlihatkan keberadaan sinyal proton yang khas untuk gugus hidroksil terkelasi (δ_{H} 12,15 ppm) pada C-5. Adanya proton di cincin A pada C-6 dan C-8 ditunjukkan oleh munculnya sepasang sinyal meta-kopling di daerah aromatik pada δ_{H} 6,52 (1H, *d*, $J = 1,5$ Hz, H-8), dan 6,26 (1H, *d*, $J = 1,5$ Hz, H-6), sehingga diindikasikan di C-7 terdapat gugus -OH. Dua sinyal proton aromatik 2H pada δ_{H} 8,14 (2H, *d*, $J=9,1$ Hz, H-2'; H-6'); dan 7,00 (2H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-3', H-5') berkopling orto, sehingga diindikasikan di cincin B terdapat gugus -OH pada C-4'. Hal ini menunjukkan karakteristik suatu flavon 3,5,7,4'-tetrasubstitusi.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.16 Spektrum ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) senyawa 2

Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 2 dalam CDCl_3 , 125 MHz (Gambar 4.6), menunjukkan 15 sinyal karbon yang terdiri dari 13 sinyal karbon sp^2 , satu sinyal karbon karbonil pada δ_c 176,6 ppm, dan satu sinyal karbon teroksidasi pada 136,6 ppm yang merupakan karakteristik untuk turunan flavonol (Harborne and Mabry, 1982). Berdasarkan data ^{13}C -NMR, maka derajat ketidakejenuhan dihitung sebagai delapan dari total sebelas derajat ketidakejenuhan. Tiga derajat ketidakejenuhan yang tersisa sesuai dengan kerangka struktur flavonoid trisiklik.

Perbandingan data NMR senyawa 2 dengan kaempferol (Tabel 4.2) (Chaturvedula & Prakash, 2011), menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut menunjukkan kesesuaian yang sangat tinggi, dengan demikian senyawa 2 diidentifikasi sebagai kampferol atau 3,4',5,7 tetrahidro-

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

ksiflavon (Gambar 4.17).

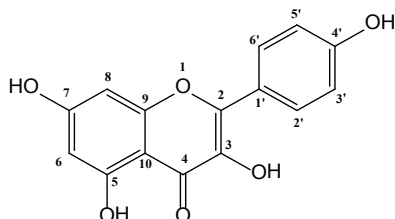
Tabel 4.2. Data $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) dan $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) senyawa 2

Posisi Atom C	Senyawa 2*		Kaempferol**	
	$^1\text{H-NMR}$ δ_{H} (ppm) (ΣH ; mult.; $J=\text{Hz}$)	$^{13}\text{C-NMR}$ δ_{C} (ppm)	$^1\text{H-NMR}$ δ_{H} (ppm) (ΣH ; mult.; $J=\text{Hz}$)	$^{13}\text{C-NMR}$ δ_{C} (ppm)
1	-	-	-	-
2	-	157,8	-	157,8
3	-	136,7	-	136,0
4	-	176,6	-	176,2
5	12,11 (1H, s)	162,3	-	162,6
6	6,26 (1H, d, 1,9)	99,2	6,28 (1H, d, 1,8)	99,9
7	-	165,1	-	165,6
8	6,54 (1H, d, 1,9)	94,5	6,74(1H, d, 1,8)	94,5
9	-	157,8	-	157,6
10	-	104,1	-	105,5
1'	-	123,3	-	121,7
2'	8,17 (1H, d, 9,1)	130,5	7,83(1H, d, 8,9)	131,5
3'	7,03 (1H, d, 9,0)	116,4	7,02(1H, d, 9,0)	116,4
4'	-	162,3	-	161,8
5'	7,03 (1H, d, 9,0) 8,17 (1H, d, 9,1)	116,4	7,02 (1H, d, 9,0)	116,4
6'	9,1)	130,5	7,83 (1H, d, 8,9)	131,6

* Pengukuran dilakukan dengan aseton- d_6 pada 500 MHz untuk ^1H dan 125 MHz untuk $^{13}\text{C-NMR}$

** Pengukuran dilakukan dalam DMSO- d_6 pada 600 MHz untuk ^1H dan 150 MHz untuk $^{13}\text{C-NMR}$ (Chaturvedula and Prakash, 2011)

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



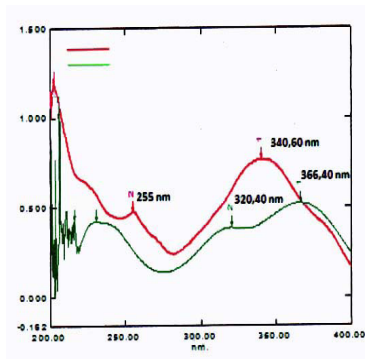
Gambar 4.17. Struktur kimia kaempferol
atau 3,5,7,4'-tetrahidroksi-flavonol (2)

4.2.3 Penentuan struktur kimia senyawa 3

Senyawa **3**, diperoleh berupa padatan kuning, titik leleh 310-312°C. Rumus molekul senyawa **3** ditetapkan sebagai $C_{15}H_{10}O_7$ berdasarkan spektra TQD MS ES⁻ [M-H]⁻ m/z 301,40 perhitungan untuk $C_{15}H_{10}O_7$ m/z 302,24 sehingga diperoleh sebelas derajat ketidaktepatan.

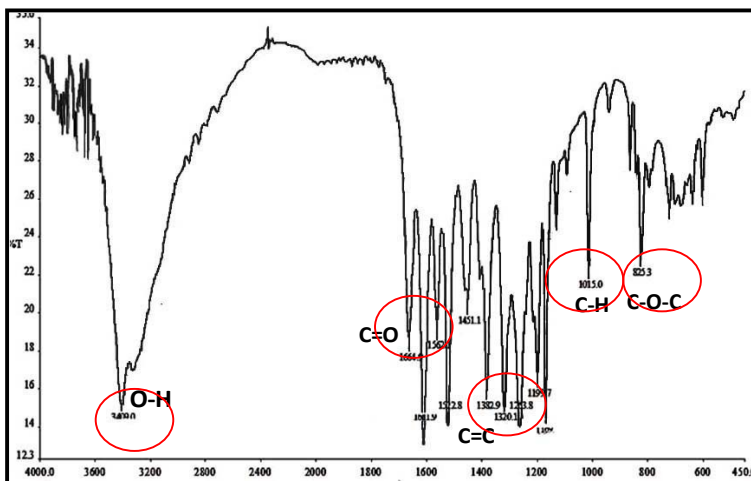
Spektrum UV senyawa **3** (Gambar 4.18) dalam pelarut metanol menunjukkan serapan maksimum pada λ_{maks} 255 nm (ϵ 4,01) dan 340,6 nm ($\log \epsilon$ 4,40) diindikasikan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dari struktur flavonoid. Pita II (255 nm) merupakan karakteristik untuk resonansi gugus sinamoyl dari cincin B dan pita I (340,6 nm) karakteristik untuk resonansi gugus benzoil dari cincin A. Pada penambahan pereaksi geser NaOH mengalami pergeseran pada pita 1 sebesar 46 nm, hal ini merupakan karakteristik gugus hidroksil pada posisi C-4' (Markham, 1988). Serapan UV menunjukkan kehadiran dari struktur 3, 5, 7, 3', 4'-pentahidroksiflavon (Toker *et al.*, 2004).

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.18 Spektrum UV (metanol) senyawa 3.

Spektrum IR (KBr) senyawa 3 (Gambar 4.19) menunjukkan pita-pita serapan dari gugus hidroksil (ν_{maks} 3409 cm^{-1}), karbonil (ν_{maks} 1644 cm^{-1}), C=C aromatik (ν_{maks} 1611 cm^{-1}), dan eter (ν_{maks} 1015 cm^{-1}).

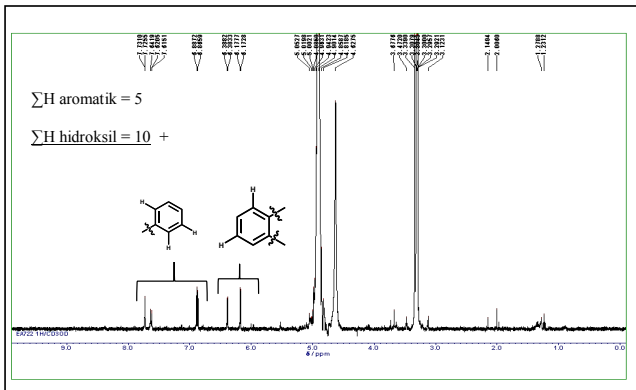


Gambar 4.19 Spektrum IR (KBr) senyawa 3.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

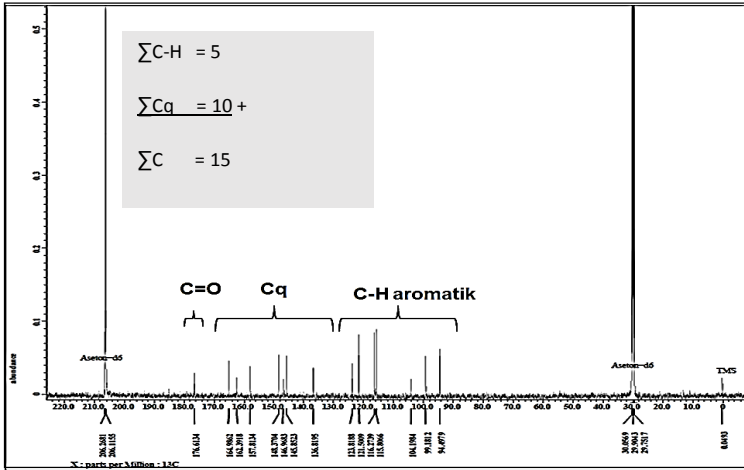
Spektrum $^1\text{H-NMR}$, senyawa **3** (Gambar 4.20) memperlihatkan sepasang sinyal proton aromatik pada δ_{H} 6,17 (1H, *d*, $J = 2,5$ Hz, H-6) dan δ_{H} 6,38 (1H, *d*, $J = 2,5$ Hz, H-8) berkopling *meta* ($J = 2,5$ Hz) merupakan sinyal proton pada C-6 dan C-8, sehingga di C-7 dan C-5 terdapat gugus -OH. Tiga sinyal proton aromatik lainnya muncul sebagai sistem ABX yang beresonansi pada δ_{H} 7,73 (1H, *d*, $J = 2,5$ Hz, H-2'), dan δ_{H} 7,62 (1H, *dd*, $J = 8,5$ Hz; $2,5$ Hz, H-6'), berkopling *meta* ($J = 2,5$ Hz), sedangkan pada δ_{H} 7,62 (1H, *dd*, $J = 8,5$ Hz; $2,5$ Hz, H-6') dan δ_{H} 6,87 (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-5') berkopling *orto* ($J = 8,5$ Hz), diindikasikan pada posisi C-2' dan C-4' terikat gugus -OH.

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa **3** (Gambar 4.21) menunjukkan lima belas sinyal karbon dengan satu sinyal karbonil terkonjugasi (δ_{C} 176,6), lima sinyal sp^2 metin dan sembilan sinyal sp^2 kuartener. Struktur flavonol pada senyawa **3** ditunjukkan oleh adanya dua sinyal karbon sp^2 pada δ_{C} 176,6 dan 136,8 ppm (Harborne & Mabry, 1982).



Gambar 4.20 Spektrum $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) senyawa **3**

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.21 Spektrum ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) senyawa 3

Berdasarkan data ^{13}C -NMR, maka derajat ketidakejenuhanannya dihitung sebagai delapan dari total sebelas derajat ketidakejenuhan dan tiga derajat ketidakejenuhan yang tersisa sesuai dengan kerangka flavonoid trisiklik (Toker *et al.*, 2004; Furusawa *et al.*, 2005).

Perbandingan data NMR senyawa 3 dengan quersetin (Mouffok *et al.*, 2012) pada Tabel 4.3, menunjukkan kesesuaian yang tinggi. Dengan demikian senyawa 3 diidentifikasi sebagai senyawa quersetin (3',4',3,5,7-pentahidroksiflavan) seperti ditunjukkan pada Gambar 4.22.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

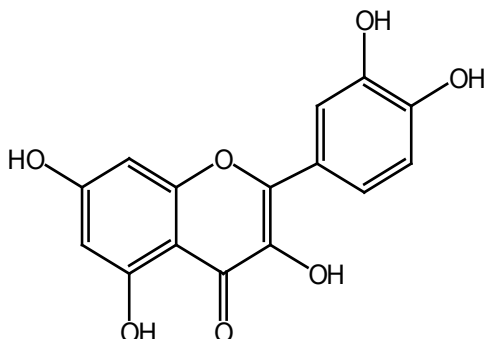
Tabel 4.3 Data NMR senyawa 3 dan quersetin (Mouffok *et al.*, 2012).

Posisi	Senyawa 3*		Kuersetin**	
	¹³ C-NMR δ _C ppm	¹ H-NMR δ _H ppm (ΣH; mult.; J=Hz)	¹³ C-NMR δ _C ppm	¹ H-NMR δ _H ppm (ΣH; mult.; J=Hz)
2	157,8	-	158,4	-
3	136,8	-	137,2	-
4	176,6	-	177,5	-
5	162,4	-	162,6	-
6	99,2	6,17 (1H, <i>d</i> , 2,5)	99,4	6,18 (1H, <i>d</i> , 2)
7	165,0	-	165,7	-
8	94,5	6,38 (1H, <i>d</i> , 2,5)	94,6	6,39 (1H, <i>d</i> , 2)
9	148,4	-	148,2	-
10	104,2	-	104,7	-
1'	121,5	-	121,8	-
2'	116,2	7,73 (1H, <i>d</i> , 2,5)	116,1	7,74 (1H, <i>d</i> , 2,1)
3'	147,0	-	148,9	-
4'	145,8	-	146,3	-
5'	116,0	6,87 (1H, <i>d</i> , 8,5)	116,1	6,88 (1H, <i>d</i> , 8,3)
6'	124,5	7,62 (1H, <i>dd</i> , 8,5, 2,5)	124,3	7,62 (1H, <i>dd</i> , 8,3, 2,1)

*Dalam pelarut CD₃OD pada 500 MHz untuk ¹H-NMR dan 125 MHz untuk ¹³C-NMR.

**Dalam pelarut CDCl₃ pada 500 MHz untuk ¹H-NMR dan 125 MHz untuk ¹³C-NMR.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4.22 Struktur kimia kuersetin (3)

4.2.4 Penentuan struktur kimia senyawa 4

Senyawa 4 diperoleh dalam bentuk serbuk kuning, titik leleh 266-268 °C. Rumus molekul yang telah ditetapkan adalah $C_{21}H_{20}O_{12}$ melalui spektra TOFMS (m/z 465 $[M^+H]^+$) bersama dengan Spektrum NMR (Tabel 1), Hal ini menunjukkan dua belas derajat ketidakjenuhan (DBE). Spektrum UV menunjukkan serapan maksimum pada 353 nm (pita I) dan 254 nm (pita II) menunjukkan karakteristik tipe quersetin (Slimestad *et al.*, 2007).

Spektra 1H NMR menunjukkan tiga sinyal proton aromatik pada δ_H 7.71 (1H, d, $J=2,0$ Hz, H-2'), 6.87 (1H, d, $J=8,4$ Hz, H-5') dan 7.58 (1H, dd, $J=2.0$ Hz; 8,4 Hz, H-6') dalam bentuk sistem spin ABX, menunjukkan adanya cincin B pada flavonol dengan 3',4'-disubstitusi, nilai tetapan penjodohan meta dari sinyal proton ditunjukkan pada δ_H 6.19 (1H, d, $J=2.0$ Hz; H-6) dan 6.38 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8) untuk cincin A. Hal ini juga menunjukkan adanya sinyal glukosa, pada δ_H 5.23 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1'') yang

mengindikasikan bahwa pada senyawa tersebut terikat pada unit β -glukosa .

Spektrum ^{13}C NMR mendukung dugaan tersebut dan menunjukkan 21 sinyal karbon termasuk sebuah sinyal karbon karbonil ($\text{C}=\text{O}$) pada δ_{C} 179.5 (C-4), lima metin sp^2 , delapan karbon kuartener sp^2 dan enam karbon teroksigenasi sp^3 . Hal ini menunjukkan kesamaan geseran kimia pada δ_{C} 135.6 (C-3), 163.0 (C-5), 165.9 (C-7), 145.9 (C-3'), 149.8 (C-4') yang menunjukkan 3, 5, 7, 3', 4' adalah inti flavon teroksigenasi.

Tabel 4. 4 Data NMR kuersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Islam *et al.*, 2012) dan Senyawa 4

Posisi C	Senyawa 3*		Kuersetin**	
	^{13}C - NMR δ_{C} ppm	^1H -NMR δ_{H} ppm (ΣH ;mult.; J =Hz)	^{13}C - NMR δ_{C} ppm	^1H -NMR δ_{H} ppm (ΣH ; mult.; J =Hz)
2	157,8	-	158,4	-
3	136,8	-	137,2	-
4	176,6	-	177,5	-
5	162,4	-	162,6	-
6	99,2	6,17 (1H, <i>d</i> , 2,5)	99,4	6,18 (1H, <i>d</i> , 2)
7	165,0	-	165,7	-
8	94,5	6,38 (1H, <i>d</i> , 2,5)	94,6	6,39 (1H, <i>d</i> , 2)
9	148,4	-	148,2	-
10	104,2	-	104,7	-
1'	121,5	-	121,8	-
2'	116,2	7,73 (1H, <i>d</i> , 2,5)	116,1	7,74 (1H, <i>d</i> , 2,1)
3'	147,0	-	148,9	-

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

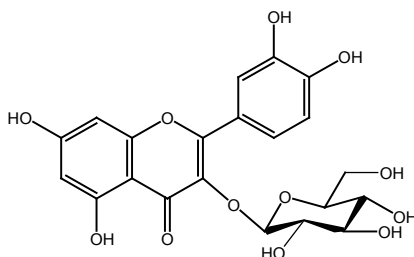
4'	145,8	-	146,3	-
5'	116,0	6,87 (1H, <i>d</i> , 8,5)	116,1	6,88 (1H, <i>d</i> , 8,3)
6'	124,5	7,62 (1H, <i>dd</i> , 8,5, 2,5)	124,3	7,62 (1H, <i>dd</i> , 8,3, 2,1)

*400 MHz for ^1H and 100 MHz for ^{13}C , in CD_3OD (Islam *et al.*, 2012)

**600 MHz untuk ^1H and 150 MHz for ^{13}C , in CD_3OD

Sinyal glukosa secara signifikan ditunjukkan pada δ_c 104.4 (C-1''), 75.7 (C-2''), 78.1 (C-3''), 71.2 (C-4''), 78.4 (C-5'') dan 62.6 (C-6''). Fungsionalitas ini dihitung sebagai delapan dari duabelas derajat ketidakekuivalenan. Sedangkan sisa empat derajat ketidakekuivalenan berasal dari flavonol dengan tambahan satu unit gula (Pereira *et al.*, 2007).

Perbandingan data NMR senyawa **4** dengan quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Islam *et al.*, 2012) pada Tabel 4.4, menunjukkan kesesuaian yang tinggi. Dengan demikian senyawa **4** diidentifikasi sebagai senyawa quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Islam *et al.*, 2012) seperti ditunjukkan pada Gambar 4.23.



Gambar 4.23 Struktur kimia quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (**4**)

4.2.5 Penentuan struktur kimia senyawa 5

Senyawa 5 diperoleh dalam bentuk kristal jarum berwarna kuning; Rumus molekul yang ditetapkan adalah $C_{16}H_{12}O_5$ melalui spektra EI-TOF-MS m/z : 284, 0683 $[M+H]^+$, perhitungan untuk $C_{16}H_{12}O_5$, m/z 284,0684 ; bersama dengan data NMR (Tabel 4.5), dengan demikian diperoleh sebelas derajat ketidakejenuhan.

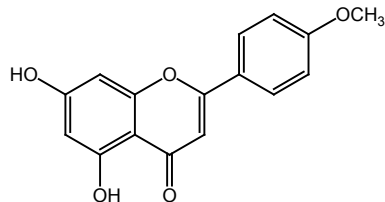
Spektra 1H NMR menunjukkan resonansi tiga sinyal proton yang terikat pada posisi C-4' berupa gugus metoksi yang diperkuat oleh resonansi sinyal ^{13}C -NMR pada δ_c 55.8. Sinyal proton yang beresonansi pada δ_H 10,85 dan δ_H 12,92 menunjukkan posisi gugus -OH yang terikat pada karbon C-5 dan C-7. Sinyal 1H NMR pada δ_H 12,92 menunjukkan proton hidroksil tersebut terikat pada konstituen terisolasi, dimana terdapat pengaruh kuat dari ikatan hidrogen intramolekuler antara atom hidrogen pada hidroksil grup -OH (C-5) dan atom oksigen dari karbonil grup CO (C-4).

Spektra ^{13}C NMR menunjukkan adanya enambelas sinyal karbon yang terdiri dari delapan sinyal sp^2 kuartener pada δ_c 160,5 (C-1); 159,6 (C-5); 162,3 (C-7); 159,4 (C-9); 106,0 (C-10); 121,2 (C-1') dan 160,6 (C-4') dan satu sinyal karbonil terkonjugasi pada δ_c 175,8 (C-3). Tujuh sinyal karbon metin sp^2 pada δ_c 107,6 (C-3); 96,0 (C-6); 95,9 (C-8); 127,1 (C-2'); 115,8 (C-3'); 115,6 (C-5') dan 127,6 (C-6'). Satu sinyal metoksi yang beresonansi pada δ_c 55,8 (-OCH₃).

Berdasarkan data ^{13}C NMR maka derajat ketidakejenuhannya di hitung sebagai delapan dari total sebelas

derajat ketidakjenuhan dan tiga derajat ketidakjenuhan yang tersisa sesuai dengan kerangka flavonoid trisiklik (Toker *et al.*, 2004; Gomez *et al.*, 2011)

Perbandingan data NMR dengan akacetin (Gomez *et al.*, 2011) menunjukkan kesesuaian yang tinggi, dengan demikian senyawa **5** diidentifikasi sebagai akacetin (Gambar 4.24).



Gambar 4. 24 Struktur kimia akacetin (5)

Tabel 4. 5 Perbandingan data NMR akacetin (Gomes *et al.*, 2011) dan senyawa 5

Posisi C	Akacetin (Gomes <i>et al.</i> , 2011)		Senyawa 5	
	δ_c	δH , mult, J dalam Hz	δ_c	δH , mult, J dalam Hz
C-2	160,7		160,5	
C-3	107,6	6.43 (s)	107,6	6.50 (1H, s)
C-4	175,8		175,8	
C-5	159,6		159,6	
C-6	96,0	6.15 (d, 2.0)	96,0	6.40 (1H,d, 2)
C-7	162,3		162,3	
C-8	95,9	6.32 (d, 2)	95,9	6.41 (1H, d, 2.5)
C-9	159,4		159,4	
C-10	106		106,0	
C-1'	121,2		121,2	
C-2'	127,1	7.72 (d, 9.0)	127,1	δ 7.80 (2H, d, 8)
C-3'	115,8	6.89 (d, 9.0)	115,8	δ 6.70 (2H, d, 8)
C-4'	160,6		160,6	
C-5'	115,6	6.89 (d, 9.0)	115,6	δ 6.70 (2H, d, 8)
C-6'	127,6	7.72 (d, 9.0)	127,6	δ 7.80 (2H, d, 8)
-OCH ₃	55,8	3.76 (s, OCH ₃ -4')	55,8	δ 4.10 (3H,S,

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

-OCH ₃	55,8	3,76 (s, OCH ₃ -4')	55,8	δ _H 4,10 (3H,s, OCH ₃)
-OH		10,80(1H, s)		10,85 (1H, s)
-OH		12,14(1H, s)		12,92 (1H, s)

4.2.6 Penentuan struktur kimia senyawa 6

Senyawa **6** diperoleh dalam bentuk padatan amorf berwarna kuning; titik leleh 193-194 °C; UV (MeOH): λ_{maks} 207, 267, dan 347 nm. Rumus molekul yang telah ditetapkan adalah C₁₄H₁₅O₃ melalui spektra HR-ESI-MS *m/z* 231,1004 [M-H]⁻ bersama dengan data NMR (Tabel 4.6) dengan demikian diperoleh delapan derajat ketidakejenuhan.

Pengukuran IR dengan pelat KBr diperoleh indikasi adanya kehadiran gugus -OH pada (3378 cm⁻¹), metil (2964 cm⁻¹) metil, regang C=O (1660 cm⁻¹), serta adanya *overtone* cincin benzena (1616 cm⁻¹), (1577 cm⁻¹), dan (1508 cm⁻¹).

Data spektrum ¹H-NMR senyawa **6** menunjukkan adanya sinyal pada daerah aromatik yaitu pada δ_H 7,30 (1H, s, H-5) dan δ_H 7,77 (1H, s, H-8) serta satu gugus metil yang terikat pada cincin aromatik pada δ_H 2,24 (3H, s, H-7).

Data spektrum ¹³C-NMR senyawa **6** dengan pelarut DMSO-*d*₆ menunjukkan adanya empat belas sinyal karbon. Pada daerah medan rendah dengan geseran kimia yang tinggi terlihat adanya dua sinyal karbon yang diduga dari dua gugus karbon karbonil pada δ_C 183,5 (C-1) dan 185,2 (C-4), delapan sinyal karbon pada daerah karbon *sp*² pada δ_C 156,6 (C-2); 131,6 (C-3); 110,3 (C-5); 129,5 (C-8); 16,2 ;26,6; 21,4 (-CH₃) yang diduga berasal dari satu

cincin benzena dan satu ikatan C=C . Pada daerah medan tinggi muncul empat sinyal karbon yang semuanya adalah karbon berjenis sp^3 pada δ_c 160,9 (C-6); 131,8 (C-7); 124,1 (C-9); 131,7 (C-10).

Dari data spektrum ^{13}C -NMR maka derajat ketidakjenuhannya dihitung sebagai enam derajat ketidakjenuhan dari delapan derajat ketidakjenuhan dan dua derajat ketidakjenuhan yang tersisa sesuai dengan kerangka naftokuinon (Chen *et al.*, 2010).

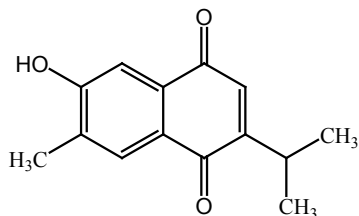
Perbandingan data NMR senyawa **6** dengan 6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (Chen *et al.*, 2010), menunjukkan kesesuaian yang tinggi dengan demikian senyawa **6** diidentifikasi sebagai 6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (Gambar 4.25).

Tabel 4.6 Data NMR senyawa 6 dan 6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (Chen *et al.*, 2010).

Posisi	Senyawa 6		6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (Chen <i>et al.</i> , 2010).	
	δ_c	δ_H , mult, J dalam Hz	δ_c	δ_H , mult, J dalam Hz
1	183,5		183,5	
2	156,6		156,6	
3	131,6	6,68 (1H)	131,6	6,68 (1H)
4	185,2		185,2	
5	110,3	7,30 (1H)	110,3	7,30 (1H)
6	160,9		160,9	
7	131,8		131,8	
8	129,5	7,77 (1H)	129,5	7,77 (1H)
9	124,1		124,1	

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

10	131,7		131,7	
CH ₃ -7	16,2	2,24 (3H, s)	16,2	2,24 (3H, s)
CH(CH ₃) ₂ -11	26,6	3,09 (1H, m)	26,6	3,09 (1H, m)
12 dan 13	21,4	1,12 (6H, d, J = 6,8)	21,4	1,12 (6H, d, J = 6,8)



Gambar 4.25 Struktur kimia
6-hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (6)

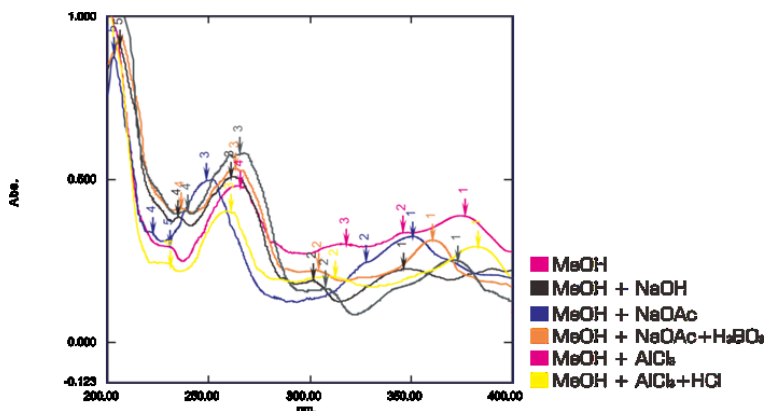
4.2.7 Penentuan struktur kimia senyawa 7

Senyawa 7 berupa padatan kuning. Rumus molekul ditetapkan sebagai C₂₁H₂₀O₁₁ berdasarkan spektrum HR-TOFMS m/z 447,8083 [M-H]⁻ bersama dengan data NMR (Tabel 4.7), dengan demikian didapat dua belas derajat ketidak jenuhan yang terdiri dari tujuh C=C *sp*², C=O, satu ring glukosa dan tiga ring flavonoid.

Spektrum UV senyawa 7 dalam MeOH memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} 267,7 dan 382 nm yang diindikasikan sebagai serapan khas flavonol. Puncak serapan senyawa 7 mengalami pergeseran batokromik akibat penambahan beberapa pereaksi penggeser seperti NaOH (λ_{maks} 350; 267 nm), pergeseran λ_{maks} 32 nm dan NaOAc (λ_{maks} 350; 250 nm), pergeseran λ_{maks} 31 dan 16 nm, mengindikasikan adanya gugus hidoksil bebas pada 4'-

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

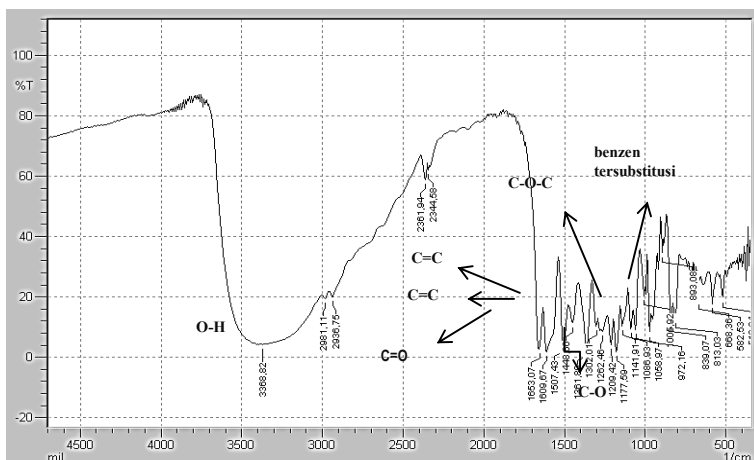
OH, NaOAc+H₃BO₃ (λ_{maks} 362; 267 nm), pergeseran λ_{maks} 20 nm hanya pada pita I, mengindikasikan adanya gugus hidoksil bebas pada 7-OH, AlCl₃ (λ_{maks} 367; 260 nm), pergeseran hanya λ_{maks} 1 nm pada pita I, AlCl₃ + HCl (λ_{maks} 383; 261 nm) pergeseran λ_{maks} 1,2 dan 9,2 menyarankan adanya gugus hidoksil bebas pada 5-OH dan formasi kompleks pada C-4 keto.



Gambar 4.26 Spektrum UV senyawa 7

Spektrum IR (KBr) (Gambar 4.27) memberikan serapan pada ikatan hidrogen intramolekuler, uluran O-H (3368 cm⁻¹), lentur C=O (1653 cm⁻¹), uluran cincin C=C (1507 cm⁻¹), regang cincin C=C (1448 cm⁻¹), uluran simetri C-O (1209 cm⁻¹), uluran simetris C-O-C (1086 cm⁻¹), benzen tersubstitusi (839 cm⁻¹) dan tekukan cincin C=C keluar bidang (608 cm⁻¹). Getaran ulur C-O-C simetri dapat berpindah gelombang yang lebih tinggi, sedangkan percabangan C-O-C pada

atom karbon C-3 kerangka flavonol akan menghasilkan pembelahan pita yang ditunjukkan pada uluran simetris C-O-C (1086 cm^{-1}).

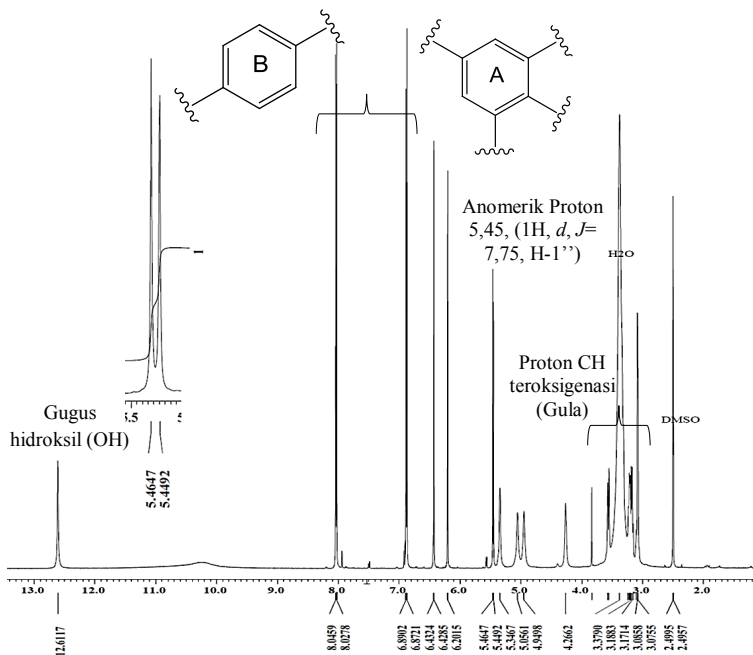


Gambar 4.27 Spektrum IR (KBr) senyawa 7

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz), menunjukkan enam sinyal proton metin sp^2 pada δ_{H} 8,08 (2H, *d*, $J=9,1$ Hz, H-2' dan H-6'), 6,88 (2H, *d*, $J=9,1$ Hz; H-3' dan H-5'), 6,43 (1H, *d*, $J=2,0$ Hz, H-8), 6,21 (1H, *d*, $J=2,0$ Hz, H-6), satu sinyal proton metin anomerik pada δ_{H} 5,45, (1H, *d*, $J=7,75$ Hz, H-1''), empat sinyal proton metin teroksigenasi pada δ_{H} 4,26 (1H, *dd*, $J=7,75$ Hz; 9,0 Hz, H-2''), 3,56 (1H, *t*, $J=9,0$ Hz, H-3''), 3,23 (1H, *t*, $J=9,0$ Hz, H-4''), 3,17 (1H, *dt*, $J=2,4$ Hz; 5,4 Hz; 9,0 Hz, H-5''), dan satu sinyal metilen teroksigenasi pada δ_{H} 3,08 (2H, *d*, $J=5,15$ Hz, H-6''). Proton H-2'; H-6'; H-3'; H-5' merupakan khas empat proton aromatik pada ring B yang merupakan karakteristik 1',4'-disubstitusi

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

flavonol. Proton H-8 dan H-6, $J=2,0$ terjodoh secara meta. Kehadiran proton anomerik δ_{H} 5,45, (1H, *d*, $J= 7,75$ Hz, H-1''), empat sinyal proton metin teroksidasi yang terinduksi oleh metilen teroksidasi pada δ_{H} 3,08 (2H, *dd*, $J=2,4$ Hz;12 Hz, H-6'') merupakan khas dari ring glukosa.

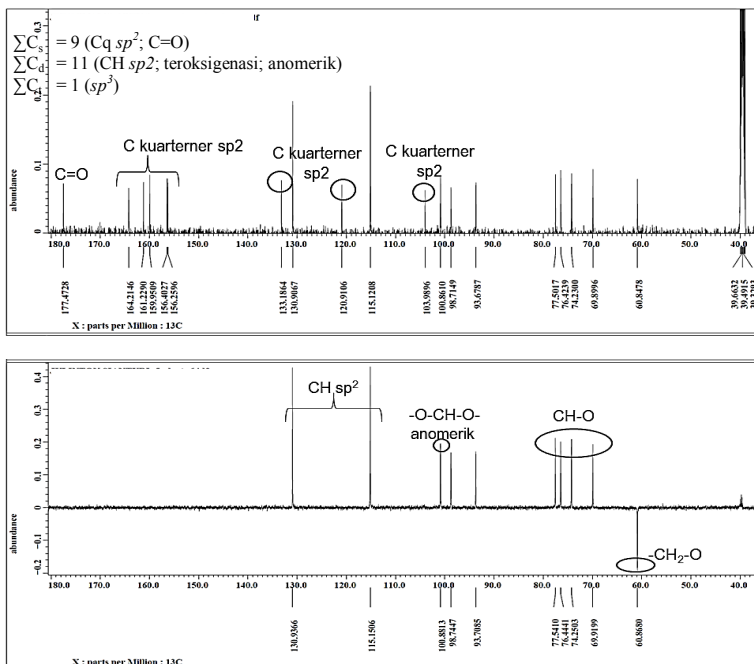


Gambar 4.28 Spektrum $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$ 500 MHz) senyawa 7

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dalam $\text{DMSO-}d_6$, 125 MHz (Gambar 4.30) menunjukkan resonansi duapuluh satu sinyal karbon yang terdiri dari 6 metin sp^2 pada δ_{C} 98,7 (C-6); 93,8 (C-8); 130,8 (C-2'); 115,1 (C-3'); 115,1 (C-5'); 130,9 (C-

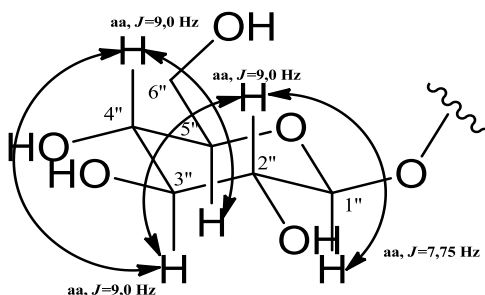
Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

6'), satu karbonil (C=O) pada δ_c 179,7, satu metin anomerik pada δ_c 103,9 (C-3), empat metin sp^3 teroksigenasi pada δ_c 100,9 (C-1''); 74,2 (C-2''); 76,4 (C-3'') dan 69,9 (C-4''), satu metilen teroksigenasi pada δ_c 60,8 (C-6'') yang diperinci melalui percobaan DEPT 135° (Gambar 4.29). Kehadiran karbon anomerik menunjukkan adanya ring gula berupa glukosa yang terikat pada rangka flavonol. Fungsionalitas ini dihitung sebagai delapan dari duabelas derajat ketidakhajenuhan, sedangkan sisa empat derajat ketidakhajenuhan berasal dari flavonol dengan tambahan satu unit gula (Pereira *et al.*, 2007).



Gambar 4.29 Spektrum ^{13}C -NMR dan DEPT 135° dalam $\text{DMSO}-d_6$, 125MHz

Jenis gula 7 ditetapkan berdasarkan penjadohan visinal tiga ikatan (3J). H_1-1'' dan H_1-2'' ; $^3J=7,75$ Hz mengindikasikan kedua proton berorientasi posisi aksial-aksial, H_1-2'' dan H_1-3'' ; $^3J=9,0$ Hz mengindikasikan kedua proton berorientasi posisi aksial-aksial, H_1-3'' dan H_1-4'' ; $^3J=9,0$ Hz mengindikasikan kedua proton berorientasi posisi aksial-aksial, H_1-4'' dan H_1-5'' ; $^3J=9,0$ Hz mengindikasikan kedua proton berorientasi posisi aksial-aksial, sehingga dapat disimpulkan, jenis residu gula pada C-3 berupa D-glukosa. Konfigurasi D-glukosa ditentukan berdasarkan δ_c karbon anomerik. C-1'' (δ_c 100,89 ppm) yang yang menyarankan konfigurasi β . Konfigurasi tersebut juga didukung oleh penjadohan visinal tiga ikatan (3J). H_1-1'' $^3J=7,75$ Hz yang berposisi aksial-aksial terhadap H-2'' (Saxena *et al.*, 2005)



Gambar 4.30 Struktur dan stereokimia gula senyawa 7

Perbandingan data NMR senyawa 7 (Tabel 4.7) dengan kaempferol-3-glukopiranosida (Kazuma *et al*, 2002), menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut menunjukkan kesesuaian yang sangat tinggi, analisis stereokimia

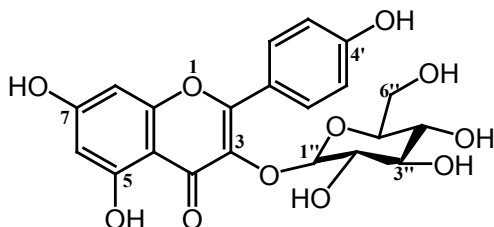
Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

gula menetapkan senyawa 7 berupa kaempferol-3-O- β -D-glukopiranosida (Gambar 4.31).

Tabel 4.7. Data $^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 500 MHz) dan $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, 125 MHz) senyawa 7

No.	$^1\text{H-NMR}$ δ (ppm) (ΣH ; m; $J=\text{Hz}$)	$^{13}\text{C-NMR}$ δ (ppm)
1	-	-
2	-	159,9 (s)
3	-	133,2 (s)
4	-	177,5 (s)
5	-	161,2 (s)
6	6,21 (1H, <i>d</i> , 2,0)	98,7 (d)
7	-	164,2 (s)
8	6,43 (1H, <i>d</i> , 2,0)	93,8 (d)
9	-	156,2 (s)
10	-	103,9 (s)
1'	-	120,9 (s)
2'	8,08 (1H, <i>d</i> , 9,1)	130,9 (d)
3'	6,88 (1H, <i>d</i> , 9,1)	115,1 (d)
4'	-	156,4 (s)
5'	6,88 (1H, <i>d</i> , 9,1)	115,1 (d)
6'	8,08 (1H, <i>d</i> , 9,1)	130,9 (d)
1''	5,45 (1H, <i>d</i> , 7,75)	100,9 (d)
2''	4,26 (1H, <i>dd</i> , 7,75; 9,0)	74,2 (d)
3''	3,56 (1H, <i>t</i> , 9,0)	76,4 (d)
4''	3,23 (1H, <i>t</i> , 9,0)	69,9 (d)
5''	3,17 (1H, <i>dt</i>	77,5 (d)
...	-	-

6'' 2,4;5,4;9,0) 60,8 (t)
3,08 (2H, d, 5,15)



Gambar 4.31 Struktur kimia kaempferol-3-O- β -D-glukopiranosida (7)

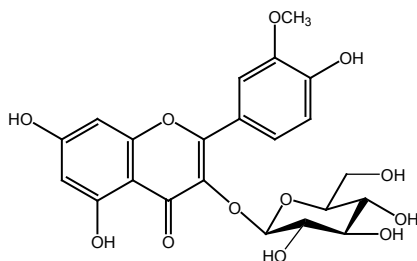
4.2.8 Penentuan struktur kimia senyawa 8

Senyawa 8 diperoleh dalam bentuk serbuk amorf berwarna kuning; titik leleh 267-269 °C; Rumus molekul senyawa 8 ditetapkan sebagai $C_{22}H_{23}O_{12}$ berdasarkan spektrum ESI-MS m/z 479 $[M+H]^+$, dengan demikian diperoleh duabelas derajat ketidakejenuhan.

Spektrum 1H -NMR menunjukkan adanya dua tetapan penjodohan yang memiliki nilai yang sama pada δ_H 6.21 ($J= 2.0$ Hz, H-6) and δ_H 6.44 ($J= 2.0$ Hz, H-8) pada daerah aromatik yang diperkuat dengan korelasi dari sinyal karbon pada δ_C 98.3 (C-6) dan δ_C 93.6 (C-8) Sinyal metoksi ditunjukkan pada resonansi sinyal dengan multiplisitas singlet pada δ_H 3.84 ppm yang berkorelasi dengan sinyal karbon yang beresonansi pada δ_C 55,7 ppm Pada sinyal resonansi dari 1H dan ^{13}C -NMR mengindikasikan kehadiran dari unit β -D-glukosa. Sinyal proton anomerik muncul pada δ_H 5.57 (d, $J=7.4$ Hz).

Data spektrum ^{13}C -NMR dalam (MeOD) 125 MHz menunjukkan adanya resonansi duapuluh dua sinyal karbon yang terdiri dari lima metin sp^2 , satu karbonil (C=O) pada δ_c 180,2 (C-4), delapan karbon kuartener sp^2 ; dan enam karbon teroksigenasi. Sinyal glukosa secara signifikan ditunjukkan pada δ_c 103,5 (C-1''), 75,5 (C-2''), 77,6 (C-3''), 71.1 (C-4''), 78.4 (C-5'') dan 62.2 (C-6''). Fungsionalitas ini dihitung sebagai delapan dari duabelas derajat ketidakjenuhan, sedangkan sisa empat derajat ketidakjenuhan berasal dari flavonol dengan tambahan satu unit gula (Liu *et al.*, 2010).

Perbandingan data NMR senyawa **8** dengan isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Liu *et al.*, 2010) menunjukkan kesesuaian yang tinggi dengan demikian senyawa **8** diidentifikasi sebagai isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Gambar 4.32).



Gambar 4. 32 Struktur kimia isorhamnetin- O - β -D-glukopiranosida (**8**)

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

Tabel 4. 8 Data NMR Senyawa 8 dan Isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Liu *et al.*, 2010)

Posisi	Senyawa 8		Isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida (Liu <i>et al.</i> , 2010)	
	δ_C	δ_H , mult, J dalam Hz	δ_C	δ_H , mult, J dalam Hz
2	158,3	-	156,3	-
3	135,3	-	133,0	-
4	180,2	-	177,5	-
5	163,0	-	161,1	-
6	99,4	6,22 (1H, d, 2,0)	98,8	6,20 (1H, d, 2,0)
7	166,9	-	164,0	-
8	94,7	6,41 (1H, d, 2,0)	93,8	6,39 (1H, d, 1,8)
9	158,0	-	156,4	-
10	105,4	-	104,2	-
1'	122,8	-	121,7	-
2'	113,9	7,95 (1H, d, 2,0)	111,5	7,57 (1H, d, 8,4)
3'	148,1	-	149,9	-
4'	150,6	-	146,4	-
5'	116,0	6,93 (1H, d, 8,0)	115,6	7,05 (1H, d, 8,4)
6'	123,8	7,62 (1H, dd, 2,0; 8,0)	122,3	7,69 (1H, dd, 1,8; 8,4)
-	56,8	3,97 (3H, s)	55,7	3,90 (3H, s)
OCH ₃				
1''	103,5	5,43 (1H, d, 7,8)	101,0	5,40 (1H, d, 8,5)
2''	75,5	3,28 (1H, dd, 7,8; 9,0)	74,2	
3''	77,6	3,56 (1H, t, 9,0)	77,2	
4''	71,1	3,23 (1H, t, 9,0)	70,0	
5''	78,4	3,17 (1H, dt 2,4; 5,4; 9,0)	76,6	
6''	62,2	3,60 (2H, d 5,15)	61,2	

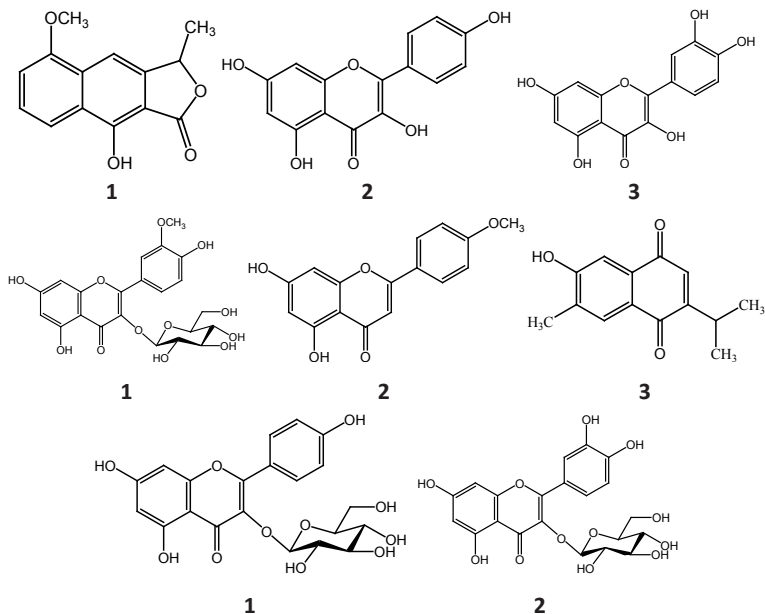
4.3 Profil Kimia Tumbuhan *L. microphyllum*

Studi fitokimia tumbuhan ini telah diperoleh 8 senyawa (1-8) yang secara umum merupakan kelompok se-

nyawa fenolik. Pada penelitian ini juga telah diperoleh satu senyawa baru yaitu suatu senyawa golongan nafto furan yakni 9-hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on (1). Tujuh senyawa lainnya merupakan senyawa yang telah dikenal yaitu enam senyawa kelompok flavanoid kaempferol (2) quercetin (3) quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (4) akasentin (5) kaempferol-3-O- β -D-glukopiranosida (7) isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida (8), dan satu senyawa kelompok naftokuinon yakni 6-Hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (6). Struktur kimia kedelapan senyawa tersebut telah diidentifikasi berdasarkan analisis data spektroskopi, meliputi infra-merah (IR), resonansi magnet inti (NMR) 1D dan 2D, serta spektroskopi massa, serta perbandingan data spektroskopi yang diperoleh dari literatur. Penemuan satu senyawa nafto furan baru, yaitu 9-hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on (1) pada *L. microphyllum* telah memberikan kontribusi penting terhadap pengembangan fitokimia genus *Lygodium*. Penemuan senyawa baru tersebut secara kemotaksonomi dapat menjelaskan keberadaan dari senyawa naftokuinon pada genus *Lygodium*.

Hasil penentuan struktur kimia kedelapan senyawa (1-8) yang berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol dari tumbuhan *L. microphyllum* ditunjukkan pada Gambar 4. 33.

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Gambar 4. 33 Struktur kimia senyawa 1-8

4.4 Hasil uji aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger*

Pengujian delapan senyawa fenolik (1-8) dari hasil isolasi tumbuhan *L. microphyllum* bertujuan untuk mengetahui sifat antijamur senyawa-senyawa tersebut terhadap jamur *C. albicans* dan *A. niger* dengan metode mikrodilusi. Parameter yang digunakan adalah tingkat kekeruhan yang terjadi akibat pertumbuhan dari jamur uji pada konsentrasi tertentu akibat adanya aktivitas antijamur senyawa 1-8 dengan dibandingkan terhadap kontrol positif dan negatif. Hasil pengujian dibaca dengan menggunakan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 530 nm. Kontrol

positif yang digunakan adalah flukonazol yang umum digunakan dalam pengobatan antijamur, dan pelarut yang digunakan sebagai kontrol negatif.

Hasil pengujian antijamur (Tabel 4.9) mengungkapkan bahwa senyawa quersetin 3-O- β -D-glukopiranosida (4) dan kaempferol-3-O- β -D-glukopiranosida (7) menunjukkan sifat antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger* dengan kriteria aktif sebagai antijamur dengan masing-masing nilai KHM <50 ppm, sedangkan senyawa lainnya tidak menunjukkan sifat antijamur dengan kriteria tidak aktif sebagai antijamur terhadap *C. albicans* dan *A. niger* dengan nilai masing-masing KHM >50 ppm, dengan mengacu pada kriteria tingkat aktivitas antijamur senyawa bahan alam dalam pengujian sifat antijamur. Mekanisme umum aktivitas antijamur dari golongan senyawa fenolik adalah dengan mengganggu membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran pada dinding sel. Senyawa fenolik juga diduga bekerja dengan menghambat protein seluler secara langsung. Senyawa fenolik mampu menembus membran sel sehingga menyebabkan gangguan jalur metabolik seperti sintesis dari ergosterol, glukukan, khitin, proteins and glukosamin dalam sel jamur (Brul & Klis, 1999; Ansari *et al.*, 2013).

Tabel 4.9 Hasil pengujian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*
dan *A. niger* senyawa 1-8

Senyawa	KHM (ppm)	
	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
1	>100	>100
2	>100	>100
3	>100	>100
4	15,00	15,64
5	>100	>100
6	>100	>100
7	54,00	54,85
8	>100	>100
Flukonazol*	4	4

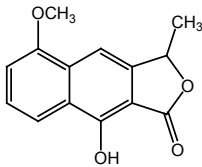
*Kontrol positif

4.5 Hubungan Struktur Kimia dan aktivitas antijamur

Delapan senyawa fenolik, meliputi 2 senyawa nafto-kuinon dan 6 senyawa flavanoid telah diisolasi dari tumbuhan *L. microphyllum* dari fraksi *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol, diuji sifat antijamurnya terhadap *C. albicans* dan *A. niger* dan memberikan hasil yang beragam Senyawa quersetin 3-*O*- β -D-glukopiranosida (**4**) menunjukkan aktivitas yang paling baik terhadap *C. albicans* dan *A. niger* dengan nilai KHM berturut-turut 15,00 ppm dan 15,64 ppm sedangkan senyawa quersetin 3-*O*- β -D-glukopiranosida (**7**) dengan nilai KHM berturut turut 54,00 ppm dan 57,85 ppm. Hal ini diduga dengan adanya gugus hidroksi yang terikat dan aktivitasnya semakin diperkuat dengan adanya gula yang terikat. Mekanisme dari senyawa (**4**) sebagai antijamur adalah dengan menjadikan membran sel

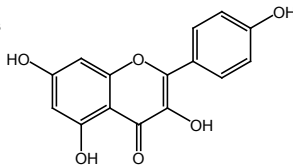
sebagai target dan menyebabkan membran sel mengalami permeabilisasi (menurunkan integritas membran dan menaikkan permeabilitas membran) dan terjadi depolarisasi yakni perubahan konsentrasi ion potasium didalam dan diluar sel sehingga menyebabkan terganggunya potensial membran, yang menyebabkan kebocoran pada membran dan mengakibatkan sel mengalami kematian (Yun *et al.*, 2015), Senyawa (4) juga diketahui memberikan efek bergantung pada konsentrasi yang terkait dengan ROS, menyebabkan kerusakan pada DNA melalui aktivasi caspase dan menginduksi penahanan terhadap siklus sel pada fase G2/M dan memicu apoptosis yang dimediasi oleh ROS (Yun *et al.*, 2016) Senyawa (8) isorhamnetin 3-O- β -D-glukopiranosida walaupun terdapat gugus gula, aktivitas antijamur senyawa tidak terlalu kuat hal ini diduga dengan adanya gugus metoksi yang menyebabkan pelepasan hidrogen pada gugus hidroksi tidak terjadi. Lemahnya aktivitas antijamur disebabkan oleh rendahnya hidrofobisitas dan perbedaan struktur molekul, gugus metoksi bertanggung jawab pada penurunan kemampuan melepaskan proton dari gugus hidroksil yang berpengaruh pada hidrofobisitas molekul. Hidrofobisitas berpengaruh pada kemampuan molekul untuk menembus membran sel. (Arfa *et al.*, 2006; Zabka & Pavela, 2013).

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



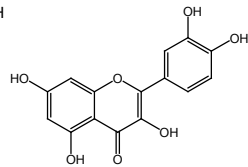
1

C. albicans (>100 ppm)
A. niger (>100 ppm)



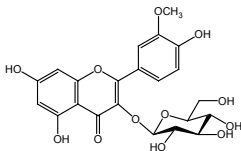
2

C. albicans (>100 ppm)
A. niger (>100 ppm)



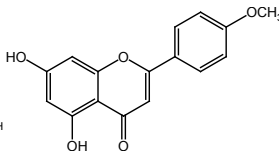
3

C. albicans (>100 ppm)
A. niger (>100 ppm)



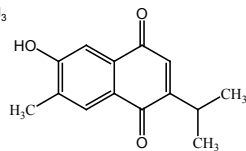
4

C. albicans (15,00 ppm)
A. niger (15,64 ppm)



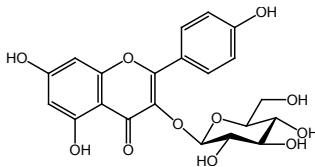
5

C. albicans (>100 ppm)
A. niger (>100 ppm)



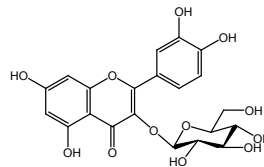
6

C. albicans (>100 ppm)
A. niger (>100 ppm)



7

C. albicans (54,00 ppm)
A. niger (54,85 ppm)



8

C. albicans (>100 ppm)
A. niger (>100 ppm)

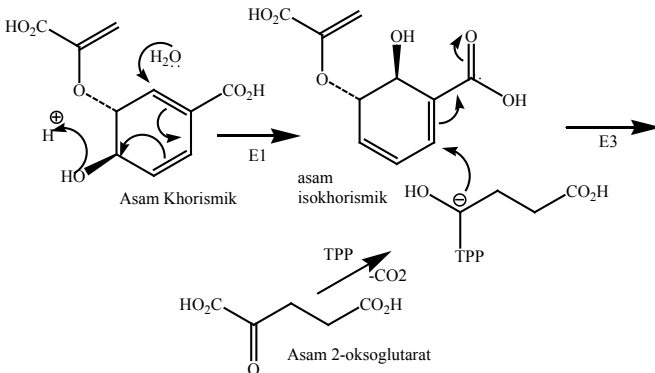
Gambar 4.34 Aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan
A. niger senyawa 1-8

4.6 Usulan Biogenesis senyawa baru 9-hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on

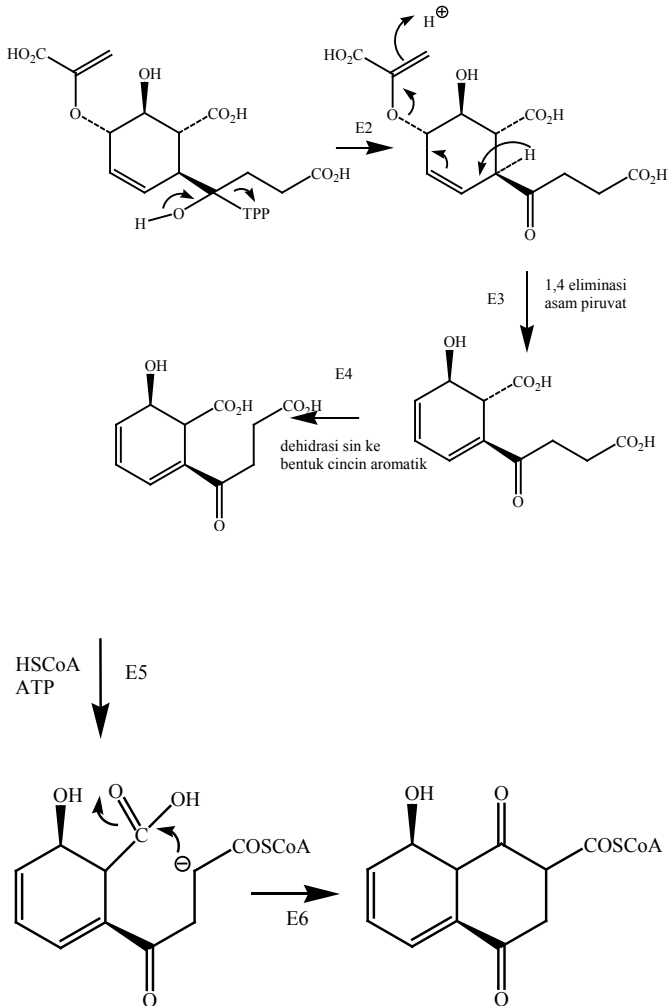
Untuk senyawa naftofuran baru berikut adalah usulan biogenesis untuk pembentukan kerangka quinon diturunkan dari asam klorisimat melalui isomernya yakni asam isoklorisimat. Penambahan atom karbon untuk pem-

Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)

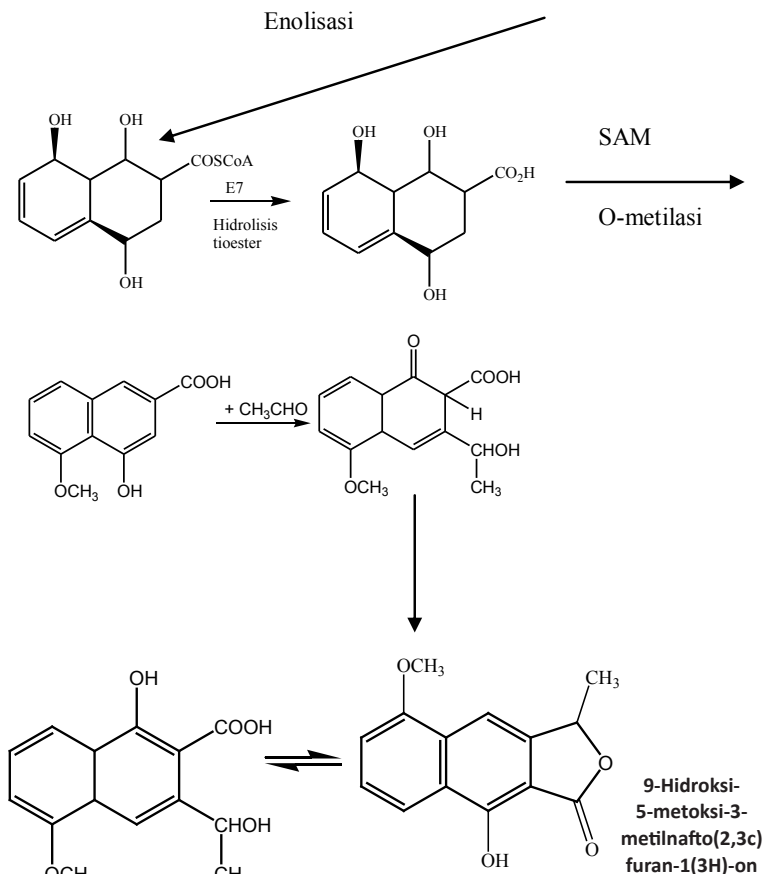
bentukan kerangka naftokuinon di inisiasi oleh asam 2 oksoglutarat dengan melibatkan koenzim tiamin difosfat (TPP), asam 2 oksoglutarat didekarboksilasi oleh TPP untuk memberikan anion TPP dari semialdehid suksinat dengan menyerang asam isokhorismat melalui reaksi Michael. Kehilangan kofaktor tiamin, eliminasi asam piruvat dan dehidrasi maka akan diperoleh suatu produk antara yakni OSB (Asam O-suksinatbenzoat). Dehidrasi melalui eliminasi *syn* yang melibatkan perpindahan proton melalui stabilisasi karboksilat dari anion. Kemudian OSB diaktivasi oleh formasi dari Koenzim A ester dan kondensasi Dieckmann dan membentuk formasi cincin. Asam dihidroksinaphtoat ester koenzim A yang terbentuk dihidrolisis dan dibantu dengan SAM serta terjadi O metilasi sehingga terbentuk kerangka naftofuran baru 9-hidroksi-5-metoksi-3-metilnafto(2,3c)furan-1(3H)-on (Dewick, 2009).



Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



Senyawa Fenolik dari Tumbuhan Kerokot
(*Lygodium microphyllum*)



- E1: isokhorismat synthase (menF)
 E2: 2-suksinil-5-enolpiruvill-6-hidroksi-3-sikloheksana-1-karboksilat synthase (men D)
 E3: 2-suksinil-6-hidroksi-2,4-sikloheksadien-1-karboksilat synthase (menH)
 E4: o-suksinatbenzoat synthase (men C)
 E5: o-benzoat suksinat-CoA synthetase (men E)
 E6: 1,4-dihidroksi-2-naftoil-CoA synthase (menB)
 E7: tioesterase

Gambar 4.35 Usulan biogenesis senyawa 1

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Delapan senyawa fenolik (**1-8**) telah diisolasi dari tumbuhan *L. microphyllum*, satu diantaranya merupakan senyawa naftofuran baru. 9-hidroksi-5-metoksi-3-metil-nafto(2,3c)furan-1(3H)-on (**1**), Tujuh senyawa lainnya, merupakan senyawa yang telah dikenal, yaitu enam senyawa kelompok flavanoid kaempferol (**2**) quercetin (**3**) quersetin 3-*O*- β -*D*-glukopiranosida (**4**) akasentin (**5**) kaempferol-3-*O*- β -*D*-glukopiranosida (**7**) isorhamnetin 3-*O*- β -*D*-glukopiranosida (**8**), dan satu senyawa naftokuinon yang telah dikenal yaitu 6-Hidroksi-2-isopropil-7-metil-1,4-naftokuinon (**6**).
2. Senyawa (**4**) memiliki aktivitas antijamur tertinggi dengan nilai KHM terhadap *C. albicans* dan *A. niger*

yakni 15,00 ppm dan 15,64 ppm. sedangkan nilai KHM senyawa **1-3** dan **5-8** adalah >50 ppm terhadap jamur *C. albicans* dan *A. niger* (lemah).

3. Adanya gugus gula dan hidroksi yang terikat dapat meningkatkan aktivitas antijamur, sedangkan adanya gugus metoksi justru menurunkan aktivitas dari senyawa.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme kerja dari senyawa **4** sebagai anti-jamur.
2. Berdasarkan keanekaragaman senyawa metabolit sekunder dari genus *Lygodium*, diindikasikan adanya metabolit lainnya dengan aktivitas biologis dari spesies lain dalam genus *Lygodium*, sehingga perlu telaah lebih lagi tentang metabolit sekunder yang belum terungkap dari spesies lainnya.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas lainnya untuk mengetahui lebih mendalam aktivitas farmakologi dari *L. microphyllum* (Lygodiaceae)
4. Perlu dilakukan analisis lebih mendalam secara *in silico* untuk kajian aktivitas antijamur menggunakan kajian pemodelan molekul.

DAFTAR PUSTAKA

- Abarca M, Bragulat M, Castellá G, & Cabañes F (1994).
“Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*”. *Appl Environ Microbiol.* 60 (7): 2650-2.
- Ansari, M.A., Anurag, A., Fatima, Z., & Hameed, S. 2013,
Natural Phenolic Compounds : A Potential Antifungal Agent, 1189-1195.
- Arfa, A. Ben, Combes, S., Gontard, N., & Chalier, P. 2006,
Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology.* **43**, 149-154.
- Arif, T., Bhosale, J., Kumar, N., Mandal, T., Bendre, R., Lavekar, G., & Dabur, R. 2009, Natural products -

- Antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Products Research*. **11**(7), 621–638.
- Arung, E.T., Kusuma, I.W., Kim, Y., Shimizu, K., & Kondo, R. 2012, Antioxidative compounds from leaves of Tahongai (*Klienhovia hospita*). *J. Wood Sci.* **58**, 77–80.
- Atta-ur-Rahman, Choudary, M. I., & Thomsen, W. J. 2005. *Bioassay Techniques For Drug Development*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- Benjamin, A. & Manickam, V.S. 2007, *Medicinal pteridophytes from the Western Ghats*, **6**(October), 611–618.
- Biswas, S.K. & Chaffin, W.L. 2005. Anaerobic growth of *C. albicans* does not support biofilm formation under similar conditions used for aerobic biofilm. *Curr Microbiol* (Epub ahead of print).
- Bower, F. O. 2010. *The Fern (Filicales)*. Cambridge University Press. Cambridge
- Brown, V. M. 1984. A Biosystematic Study of the Fern Genus *Lygodium* in eastern North America. Graduate Thesis. University of Central Florida. p. 81.
- Brul S, & Klis FM.1999. Mechanistic and Mathematical inactivation studies of food spoilage fungi. *Fungal genetics and biology*, Orlando; 27:199-208.
- Cao, H., Xin, T.C., Maria, W., Wong, J.Y.F., Wang, R., Yao, H., *et al.* 2017. *Phytochemicals from fern species : potential for medicine applications*. Springer Netherlands.

- Cavaleiro, C., Pinto, E., Goncalves, M.J., & Salgueiro, L. 2006. Antifungal activity of Juniperus essential oils against dermatophyte, Aspergillus and Candida strains, *Journal of Applied Microbiology* 100 (2006) 1333-1338, The Society for Applied Microbiology
- Chaturvedula, V.S.P., & Prakash, I. 2001. Kaempferol Glycosides from *Siraitia grosvenorii*, *J. Chem. Pharm. Res.* 3(6): 799-804
- Chen, L., Zhang, G., He, J., Guan, J., Pan, C., Mi, W., & Wang, Q. 2010. New naphthoquinone from the root of *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *Journal of Natural Medicines.* 64(1), 114-116.
- Cribb, A. B., & Cribb, J. W. 1981. *Wild Medicines in Australia.* Sydney: Collins.
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A., Kaufman, P. B., Warber, S. L., Duke, J. A., & Brielmann, H. L. 2006. *Natural Product From Plants.* New York: CRC Press.
- Davidson, P.M. 1997. *Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds.* In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R. & Montville, T.J. (Eds.). *Food Microbiology- Fundamentals and Frontiers.* Washington D.C., ASM Press: 520-556.
- Dewick, P. M. 2009. *Medicinal Natural Product A Biosynthetic Approach* (3rd ed.). Nottingham: Johns willey & Sons.
- FAO. 2005. *Forest area statistics Indonesia.* . Retrieved from

www.fao.org

Ferriter, A. 2001. *Lygodium Management Plant for Florida*. Florida: Florida Exotic Pest Plant Council Lygodium Task Force.

Guo-gang, Z., Ying-cui, H., Hong-xia, L., Lin-Xia, Z., & Li-juan, C. 2012. The Research of Lygodium. In Prof. Omboon Vallisuta, ed. *Drug Discovery Research in Pharmacognosy*. Shanghai: Intech, pp. 77-106.

Gomes, R.A., Ramirez, R.R.A., Maciel, J.K.S., Agra, M.F., Souza, M.F.V., Falcao-silva, V.S, *et al.* 2011, Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-Di-O-methylisoscuteellarein as modulator of bacterial drug resistance, *Quím. Nova* vol.34 no.8 São Paulo, <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000800016>.

Handwerk, B. 2005. Egypt's "King Tut Curse" Caused by Tomb Toxins. *National Geographic*.

Harborne, J. B., & Dey, P. M. 1991. Method in Plant Biochemistry. In 6, *Assay For Bioactivity*. London: Academic Press.

Harborne, J.B., 1999. *Phytochemical Dictionary, A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. 2nd ed. Taylor & Francis Ltd., 760-772

Harborne, J.B., & Mabry, T.J. 1982. *The Flavonoids: Advances in Research*. Chapman and Hall Ltd., London, New

York

- Hartini, S. 2007. Keragaman Flora dari Monumen Alam Kersik Luway , Kalimantan Timur. *Biodiversitas*. **8**(1), 67-72.
- Hay, R. J., Johns, N. E., Williams, H. C., Bolliger, I. W., Dellavalle, R. P.; Margolis, D. J. *et al.* 2013. "The Global Burden of Skin Disease in 2010: An Analysis of the Prevalence and Impact of Skin Conditions". *The Journal of Investigative Dermatology*. 134 (6): 1527-34. doi:10.1038/jid.2013.446
- Ho, R., Teai, T., Bianchini, J., Lafont, R., & Raharivelomanana, P. 2010. Ferns: From Traditional Uses to Pharmaceutical Development, Chemical Identification of Active Principles. In A. Kumar, H. Fernandez, & M. A. Revilla, *Working with ferns* (pp. 321-346). Berlin, Heidelberg, Germany: Springer-Verlag.
- Klich MA 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Utrecht, The Netherlands, Centraalbureau voor Schimmelcultures. ISBN 90-70351-46-3.
- Langeland, K. A. & Burks, K. C. 1998. *Identification and Biology of Non-Native Plants in Florida's Natural Areas*. University of Florida. Miami.
- Lott, M. S., Volin, J. C., Pemberton, R. W., & Austin, D. F. 2003. The reproductive biology of the invasive ferns *Lygodium microphyllum* and *L. japonicum*

- (Schizaeaceae): implications for invasive potential. *American Journal of Botany*. 90 p. 1144-1152.
- Islam, M., Al-Amin, M.D., Siddiqi, M.M.A., Akter, S., Haque, M.M., Sultana, N. & Chowdhury, A.S., 2012. Isolation of quercetin-3-O-beta-D-glucopyranoside from the leaves of *Azadirachta Indica* and antimicrobial and cytotoxic screening of the crude extracts. *Dhaka University journal of science*, 60(1), pp.11-14. DOI:<http://dx.doi.org/10.3329/dujs.v60i1.10328>
- Jawetz, E., Melnick, J., & Adelberg, E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Edi Nugroho & Maulany RF. Edisi 20, EGC, 627-9.
- Karthik, V., Raju, K., Ayyanar, M., Gowrishankar, K., & Sekar, T. 2011. *Ethnomedicinal Uses of Pteridophytes in Kolli Hills , Eastern Ghats of Tamil Nadu , India*. . 1(2), 50-55.
- Kazuma, K., Noda, N., & Suzuki, M., 2003, Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria teratea*, *Phytochemistry*, 62, 229-237.
- Kementrian Kehutanan RI. 2010. *Siaran pers Nomor : S. 251 /PIK-1/2010, Keanekaragaman hayati sektor kehutanan*. Retrieved from www.dephut.go.id: <http://www.dephut.go.id/index.php/news/details/7145>
- Kuncoro H, Farabi K, Julaeha E, Rijai L, & Supratman U, 2015, Stigmast-5(6)-en-3-ol dari Herba Tumbuhan Krokot (*Lygodium microphyllum*), *Jurnal Kimia Valensi*,

Hal 50-54, Vol 1 No.1 Mei 2015, Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Kuncoro H, Farabi K, Julaeha E, Rijai L, Shiono Y & Supratman U, 2017, Flavonols From The Leaves *Lygodium microphyllum* (Lygodiaceae), *Jurnal Kimia*, Hal 10-14, Vol 11. No. 1 Januari 2017, Jurusan Kimia FMIPA Udayana, Denpasar.

Langeland, K. A., & Hutchinson, J. 2001. *Natural Area Weeds: Old World Climbing Fern (Lygodium microphyllum)*. Florida: University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Science, EDIS.

Lodder, J. 1970. *The yeast. A taxonomic study*. Nort-Holland Publishing Company. Pp: 914-19.

Li, X., Zhou, A., & Han, Y. 2006. Anti-oxidation and anti-microorganism activities of purification polysaccharide from *Lygodium japonicum* in vitro. *Carbohydrate Polymers*. **66**(1), 34-42.

Linxia, Z., Guogang, Z., Lijuan, C., Shengchao, W., Ping, L., & Li, L. 2009. A new ecdysteroid from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *J. Nat. Med* **63**, 215-219.

LIPI. 1980. *Jenis paku indonesia*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional, LIPI.

Liu, H., Mou, Y., Zhao, J., Wang, J., Zhou, L., Wang, M., Wang, D., Han, J., Yu, Z., & Yang, F. 2010, Flavonoids

from *Halostachys caspica* and Their Antimicrobial Antioxidant Activities, *Molecules*, 15, 7933-7945; doi:10.3390/molecules15117933.

Manitto, P., & Sammes, P.G. 1992. Biosynthesis of natural Products, New York, John Willey & Sons

Markam, K.R. 1988. *Cara mengidentifikasi Flavonoid*, terjemahan Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung

Matsuda, H., Yamazaki, M., Naruo, S., Asanuma, Y., & Kubo, M. 2002. Anti-androgenic and hair growth promoting activities of *Lygodii spora* (spore of *Lygodium japonicum*) I. Active constituents inhibiting testosterone 5 alpha-reductase. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 25(5), 622-626.

Mouffok, S., Haba, H., Lavaud, C., Long, C., & Benkhaled, M. 2012. Chemical constituents of *Centaurea omphalotricha* Coss. & Durieu ex Batt. & Trab, *Rec. Nat. Prod.* 6:3 ; 292-295

Morais-braga, M.F.B., Souza, T.M., & Santos, K.K.A. (2013) Phenolic Composition and Antimicrobial Activity of the Ethyl Acetate Fraction of *Lygodium venustum* SW Short title : *Lygodium venustum* SW. . 43(12), 212-219.

Morais-braga, M.F.B., Souza, T.M., Santos, K.K.A., Andrade, J.C., Guedes, G.M.M., Tintino, S.R., et al. 2012, Antimicrobial and Modulatory Activity of Ethanol Extract of the Leaves from *Lygodium*

venustum SW. *American Fern Journal*.

- Pereira, A.P., Pereira, I.C., Marcelino, F., Valentao, P., Andrade, P.B., Seabra, R., *et al.* 2007. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. cv Cobrancosa) leaves. *Molecules*, 12, 1153-1162.
- Richardson, M.D & Warnock, W.D 2012 "Introduction". *Fungal Infection: Diagnosis and Management*. John Wiley & Sons, 2012. p. 5.
- Saad, A., Fadli, M., Bouaziz, M., Benharref, A., Mezrioui, N.-E., & Hassani, L. 2010 Anticandidal activity of the essential oils of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* and their synergism with amphotericin B and fluconazol, *Phytomedicine* 17, 1057–1060
- Samson RA, Houbraken J, Summerbell RC, Flannigan B, & Miller JD. 2001. "Common and important species of fungi and actinomycetes in indoor environments". *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. CRC. pp. 287–292. ISBN 0415268001.
- Saxena, V. K., & Sosanna, A., 2005, β -Sitosterol-3-O-D-xylopyranoside from the flowers of *Tridax procumbens* Linn, *J. Chem. Sci*, 32, 125-134.
- Slimestad, R., Andersen, O.M., Francis, G.W., Marston, A, A., & Hostettmann. 1995. Syringetin 3-O-(6"-acetyl)- β -glucopyranoside and other flavonols from needles of norway spruce, *Picea abies*. *Phytochemistry*, 40,

1537-1542.

- Takeo, K., Yamane, H., Yamauchi, T., Takahashi, N., Furber, M., & Mander, L.N. (1989) Biological Activities of the Methyl Ester of Gibberellin A 73 , a Novel and Principal Antheridiogen in *Lygodium japonicum*. *Plant Cell*. **30**(2), 201–205.
- Toker, G., Kupeli, E., Memisoglu, M., & Yesilada, E. 2004, Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden), *Journal of Ethnopharmacology* 95 (2004) 393–397, doi:10.1016/j.jep.2004.08.008
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C.L. 2004. *Microbiology an Introduction*, 8th Edition, San Fransisco, Benjamin Cummings, 606-7
- Tjitrosoepomo, G. 2009. *Taksonomi Tumbuhan*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tomšík, P. 2014. Ferns and lycopods - A potential treasury of anticancer agents but also a carcinogenic hazard. *Phytotherapy Research*. **28**(6), 798–810.
- Wang, R.L., Zheng, Z.H., Lu, J., Shao, H., Zhang, H., Su, Y.J., & Cai, Y.F. 2014. Allelopathic potential of invasive climbing fern *Lygodium microphyllum* against native plants and antibacterial activity of essential oils. *Allelopathy Journal*. **33**(1), 97–106.
- Wills, P.J. & Asha, V. V. 2009. Chemopreventive action of *Lygodium flexuosum* extract in human hepatoma PLC/

PRF/5 and Hep 3B cells. *Journal of Ethnopharmacology*. **122**(2), 294–303.

- Wills, P.J. & Asha, V. V. 2006a Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. (Lygodiaceae) against d-galactosamine induced liver injury in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **108**(1), 116–123.
- Wills, P.J. & Asha, V. V. 2006b. Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. extract against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **108**(3), 320–326.
- Ye, W., Fan, C., Zhang, L., Zhiqi Yin, & Zhao, S. 2007. A new phenolic glycoside from the roots of *Lygodium japonicum*. *Fitoterapia*. **78**(7–8), 600–601.
- Yun, J., Lee, H., Ko, H.J., Woo, ER., & Lee, D.G., 2015, Fungicidal effect of isoquercitrin via inducing membrane disturbance, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, Volume 1848, Issue 2, Pages 695–701.
- Yun, J., Woo, ER., & Lee, D.G., 2016, Isoquercitrin, isolated from *Aster yomena* triggers ROS-mediated apoptosis in *Candida albicans*, *Journal of Functional Foods* Volume 22, April 2016, Pages 347–357
- Zabka, M. & Pavela, R. 2013. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous ...

Chemosphere. **93**(January 2016), 1051-1056.

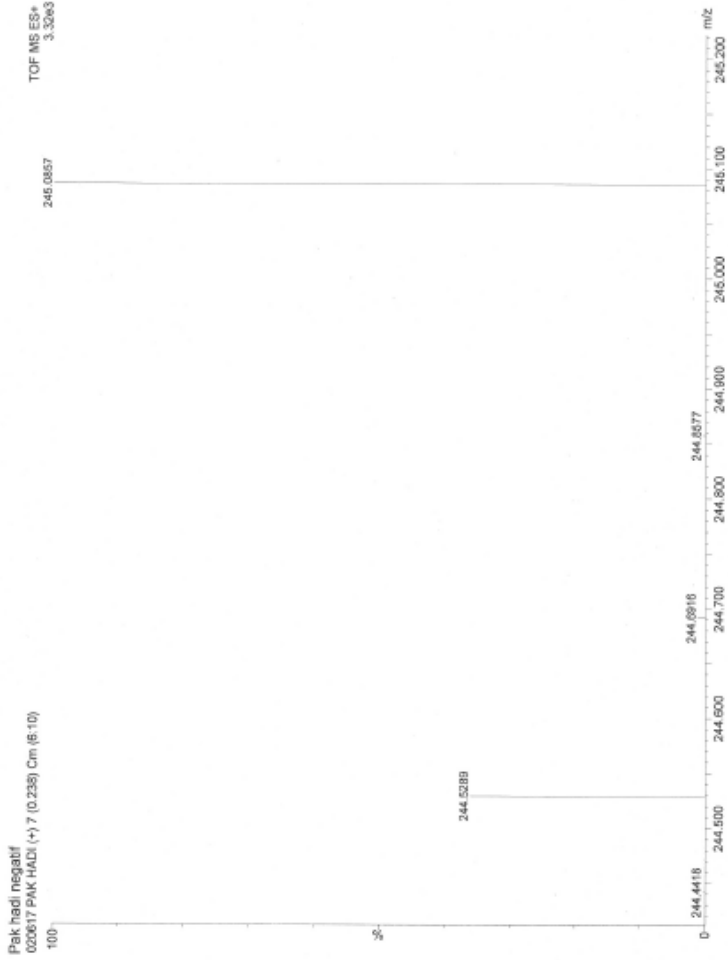
Zhang, L.H., Yin, Z.Q., & Ye, W.C. 2006. Flavonoids from *Lygodium japonicum*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **34**(12), 885-886.

Zhang, L. H., Fan, C. L., Zhang , X. T., Yin, Z. Q., & Ye, W. C. 2006. A new steroidal glycoside from *Lygodium japonicum* . *J.Chin. Pharm.Univ.* 37, 491-496.

Zhu, L., Zhang, G., Chen, L., Wang, S., Li, P., & Li, L. 2009. A new ecdysteroside from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *Journal of Natural Medicines*. **63**(2), 215-219.

LAMPIRAN

Lampiran 1





**KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS KEHUTANAN
LABORATORIUM DENDROLOGI DAN EKOLOGI HUTAN**

Alamat : Kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Ki Hajar Dewantara Samarinda 75123
Telp. (0541) 7013960, Email: lab_dendro_unmul@yahoo.co.id


SURAT KETERANGAN

Nomor : 09/H17.4.1.08/LL/2011
Lampiran : -
Perihal : Identifikasi Jenis

Schubungan dengan surat No. 089/H17.12/AK/II/2011 tanggal 25 Februari 2011 dari Ketua UP. Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman tentang Permohonan Identifikasi Jenis Tumbuhan atas nama: Harnita Sari (0711015230) untuk keperluan penelitian TA (Tugas Akhir), bersama ini kami sampaikan susunan taksonomi specimen yang bersangkutan sebagai berikut:

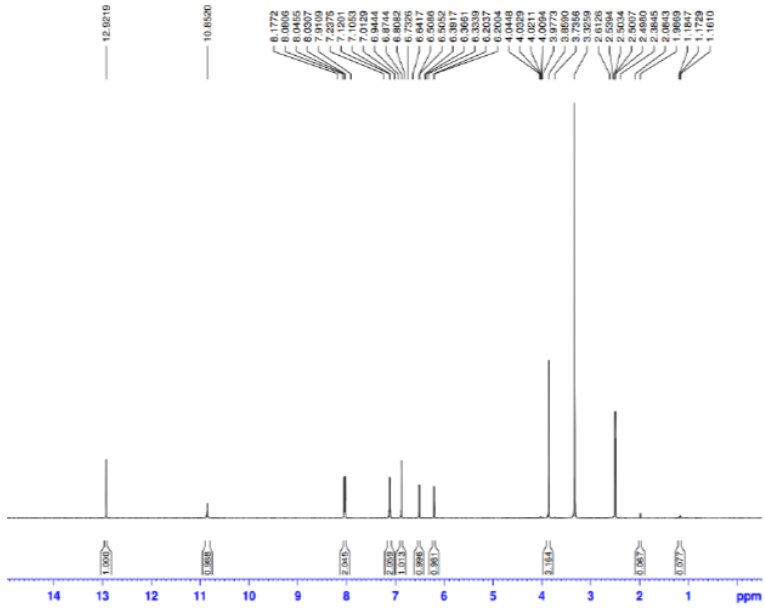
Kingdom : Plantae
Division : Pteridophyta
Class : Pteridopsida
Sub Kelas : Schizaeatae
Ordo : Schizaeales
Family : Schizaeaceae
Genus : Lygodium
Species : *Lygodium microphyllum* (Cav.) R. Br.

Demikian surat keterangan ini dibuat, untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Samarinda, 16 Maret 2011
Kepala,

Rita Diana, M.A.
NIP 196403031989032002

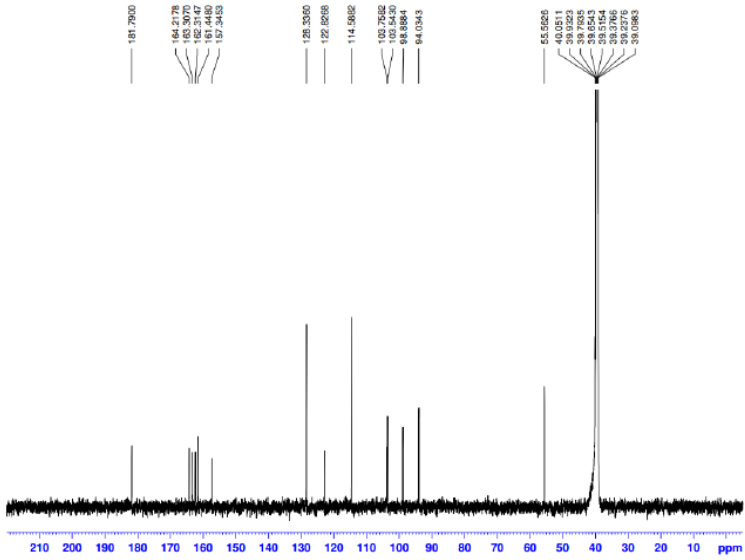
Tembusan:
Arsip

Lampiran 3



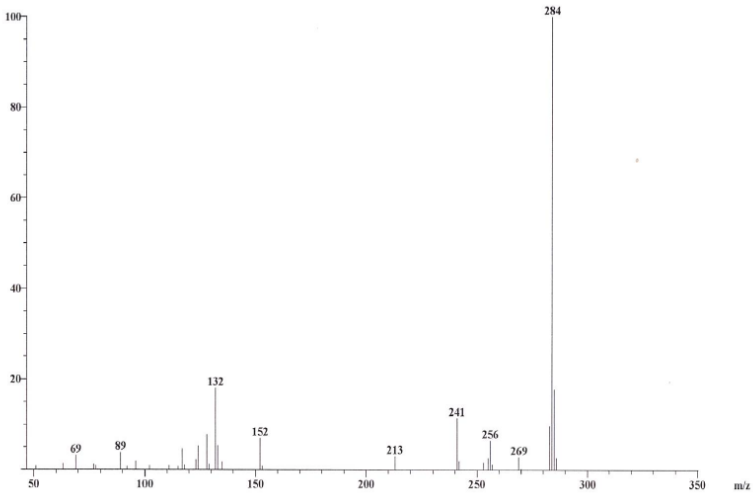
Gambar L.2 Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa 5

Lampiran 4



Gambar L.3 Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa 5

Lampiran 5



Gambar L.4 Spektrum EI-MS Senyawa 5

DALIL-DALIL

1. Tumbuhan merupakan laboratorium sintesis alami yang dapat memproduksi berbagai macam senyawa kimia yang dapat bermanfaat di dalam dunia kesehatan.
2. Setiap tumbuhan mempunyai kemanfaatan tidak terkecuali tumbuhan paku.
3. Penelusuran kandungan kimiawi pada tumbuhan dapat mengungkap secara jelas kemanfaatan dari tumbuhan tersebut.
4. Kondisi lingkungan saat ini menjadi tanggung jawab bersama dan manusia wajib menjaga dan melestarikan lingkungan karena masih banyak tumbuhan yang belum diekplorasi baik dari kandungan kimiawi maupun kemanfaatannya diberbagai bidang.
5. Kerjasama interpersonal serta interaksi interaksi antar


bidang ilmu dalam pengembangan keilmuan sangat diperlukan terutama untuk pengembangan kemanfaatan ilmu bagi masyarakat, bangsa dan negara.

6. Tumbuhan *Lygodium microphyllum* merupakan salah satu tumbuhan yang dianggap sebagai pengganggu namun memiliki kemanfaatan yang besar.
7. Studi lanjut merupakan sarana dalam meningkatkan kemampuan akademik dan wawasan terutama dalam dunia pengajaran karena banyak hal yang bisa menambah pengetahuan selama melaksanakan penelitian di laboratorium, salah satunya adalah bertambahnya relasi dalam lingkup akademik.


RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 1 September 1982 di Kota Samarinda Provinsi Kalimantan Timur, sebagai anak pertama dari 3 bersaudara, ayah H. Noto Haryono dan Ibu Hj. Sri Rochani, M.Pd.. penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah dasar di SDN 006 Samarinda pada tahun 1994, dan SMP di SMPN 2 Samarinda pada tahun 1997, Pendidikan jenjang SMU diselesaikan di SMUN 2 Samarinda pada tahun 2000. Menyelesaikan jenjang pendidikan sarjana S1 di jurusan S1 Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia Jogjakarta tahun 2004, Pendidikan Profesi

Apoteker di Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker FMIPA Universitas Islam Indonesia Jogjakarta tahun 2006, Tahun 2008 penulis melanjutkan pendidikan Magister Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya dengan beasiswa Pemerintah Daerah Provinsi Kalimantan Timur dan selesai tahun 2010. Tahun 2013 penulis memperoleh kesempatan melanjutkan pendidikan ke jenjang Doktor Ilmu Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung dengan Beasiswa 100 Doktor Universitas Mulawarman dari Pemerintah Daerah Provinsi Kalimantan Timur dan beasiswa PKPI (Peningkatan Kualitas Publikasi Internasional) dari KEMRISTEKDIKTI tahun 2015 dengan tujuan *Yamagata University Japan* selama 3 bulan yakni dari bulan September hingga November 2015 

Penulis menikah dengan Farissa Lianda pada 11 Mei 2007 dan dikaruniai seorang putra yaitu Dzaky Batara Kamajaya pada 8 Februari 2012.

Penulis mengabdikan sebagai tenaga pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda dengan status PNS sejak bulan Desember tahun 2008, pada tahun 2010 hingga tahun 2013 penulis menjabat sebagai Pembantu ketua III bidang kemahasiswaan pada Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda 

Selama mengikuti pendidikan Doktor Ilmu Kimia di FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung penulis telah mengikuti pelatihan dan publikasi sebagai berikut :

A. Seminar

1. Kuncoro H, Julaeha E, Rijai L, & Supratman U, Antioxidant and Hair Growth Promoting Activity of Kerokot Herb (*Lygodium microphyllum*), *The 3rd International Seminar on Chemistry 2014*, 20-21 November 2014, Aula Pusat Studi Bahasa Jepang, Universitas Padjadjaran Jatinangor.
2. Kuncoro H, Julaeha E, Rijai L, & Supratman U, Cytotoxic Activity Against P-388 Murine Leukemia Cell From *Lygodium microphyllum* Herb, *1st International Seminar on Pharmaceutical Technology*, 26-27 Januari 2016, Wahana Bhakti Pos, 8th Floor, Bandung
3. Kuncoro H, Julaeha E, Rijai L, & Supratman U, Aktivitas Biologi dari *L. microphyllum*, SEMINAR POKJANAS TOI ke 50, 20-21 April 2016, Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda
4. Kuncoro H, Farabi K, Julaeha E, Rijai L, Shiono Y & Supratman U, Stigma-5(6)-en-3 β -ol dan Stigmast-4-en-3-on Dari Tumbuhan *Lygodium microphyllum* Asal Kalimantan Timur, Seminar POKJANAS TOI Ke 51, 13-14 Oktober 2016, Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Bandung
5. Kuncoro H, Farabi K, Julaeha E, Rijai L, Shiono Y & Supratman U, Steroid dari Tumbuhan *Lygodium microphyllum* asal Kalimantan Timur, Simposium Nasional HKBAI ke XXIV , 17-19 Oktober 2016, Prodi S1 Farmasi, Universitas Islam Indonesia,

Jogyakarta.

B. Pelatihan dan Workshop

1. *Workshop Separation of Secondary metabolism Compound From Plant using Centrifugal Partition Chromatography (CPC)*, PPBS Universitas Padjadjaran, 3-4 Juni 2015, Jatinangor.
2. Sandwich / Beasiswa PKPI (Peningkatan publikasi ilmiah Internasional) KEMRISTEKDIKTI, September-November 2015, *Laboratory of Natural Product, Departemen Bioresource Engineering, Faculty of Agriculture, Yamagata University, Japan.*
3. Workshop NMR Benchtop 60 MHz, dalam rangka Simposium Nasional HKBAI ke XXIV, 17 Oktober 2016, Prodi S1 Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Jogyakarta.
4. *Workshop Instrumental Analysis Using Mass Spectrometry and General Application Of FTIR Spectrometer seminar*, Laboratorium sentral Universitas Padjadjaran, 24 November 2016, Jatinangor

C. Publikasi Nasional

1. Kuncoro H, Farabi K, Julaeha E, Rijai L, & Supratman U, 2015, Stigmast-5(6)-en-3-ol dari Herba Tumbuhan Krokot (*Lygodium microphyllum*), Jurnal Kimia Valensi, Hal 50-54, Vol 1 No.1 Mei 2015, Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
2. Kuncoro H, Farabi K, Julaeha E, Rijai L, Shiono Y & Supratman U, 2016, FLAVONOLS FROM THE

- LEAVES *Lygodium microphyllum* (Lygodiaceae),
Jurnal Kimia, Hal 10-14, Vol 11. No. 1 Januari 2017,
Jurusan Kimia FMIPA Udayana, Denpasar.
3. R Annisa, M Amir, H Kuncoro, 2017. Toxicity Study
Of Pare Leaf Extracts (*Momordica Charantia*) To
Culex Pipiens Mosquito Larvae, *Journal of Islamic
Pharmacy* 2 (2), 13-24
 4. Kuncoro, H., 2017. CYTOTOXIC ACTIVITY
AGAINST P-388 MURINE LEUKEMIA CELL
FROM *Lygodium microphyllum* HERB. *JURNAL
FARMASI GALENIKA*, 3(01).
 5. Susanti, M., Kuncoro, H., & Rijai, L. (2015, March
31). Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Daun Keladi
Birah (*Alocasia indica* Schott) Terhadap Larva
Nyamuk *Culex* sp. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(1),
5-10. [https://doi.org/https://doi.org/10.25026/
jsk.v1i1.8](https://doi.org/10.25026/jsk.v1i1.8)
 6. Kuncoro, Hadi et al. FLAVONOLS FROM THE
LEAVES *Lygodium microphyllum* (Lygodiaceae).
Jurnal Kimia (Journal of Chemistry), [S.l.], jan. 2017

D. Publikasi Internasional

1. Kuncoro H, Farabi K, & Rijai L, 2017, Steroids
and isoquercetin From *Lygodium microphyllum*,
Journal of Applied Pharmaceutical Sciences, Vol. 7
(11), pp. 136-141, November, 2017.
2. Rijai, L., Rijai, A.J., Kuncoro, H., Badrah, S., Amir,
M. 2017 Secondary metabolites compounds
profile by LC-MS/MS and chemical methods from

- kolowe stem bark (*Chydenanthus excelsus*), *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9 (4), 420-428
3. Rijai, L., Kuncoro, H., Amir, M. 2017 Chemical profile by LC-MS/MS and some bioactivities from leaves of kolowe (*Chydenanthus excelsus*): A wild and rare plant from Indonesia, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9 (2), 111-118
 4. Rijai, L., Kuncoro, H., Herman, H. 2015 Forest betel (p. acre Blume) a wild plant from east Kalimantan, Indonesia potentially as resources of drug compounds for cancer, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7 (7), 401-404.