



**ISOLASI DAN UJI DAYA ANTIMIKROBA EKSTRAK
KULIT NANAS (*Ananas comosus L. Merr*)**

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

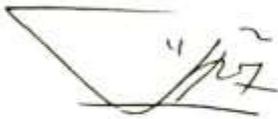
oleh
Muhammad Hafiz Setiawan
4311411036

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2015**

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang

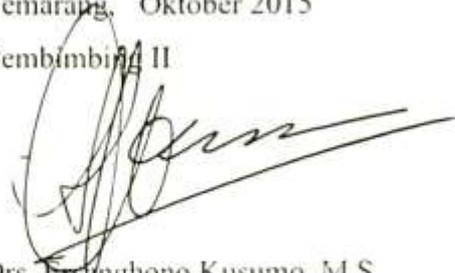
Pembimbing I



Dr. Sri Mursiti, M.Si
NIP. 196709131999032001

Semarang, Oktober 2015

Pembimbing II



Drs. Ersunghono Kusumo, M.S
NIP. 195405101980121002

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 15 Oktober 2015



Muhammad Hafiz Setiawan
4311411036

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr*)

disusun oleh

Nama : Muhammad Hafiz Setiawan

NIM : 4311411036

telah dipertahankan di hadapan Sidang Panitia Skripsi FMIPA Universitas Negeri Semarang pada tanggal 15 Oktober 2015.

Panitia

Ketua



Dr. Wiyanto, M.Si
NIP. 196310121988031001

Sekretaris

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Woro Sumarni', written over a light blue background.

Dra. Woro Sumarni, M.Si
NIP. 196507231993032001

Ketua Penguji

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Sudarmin', written over a light blue background.

Prof. Dr. Sudarmin, M.Si
NIP. 196601231992031003

Anggota Penguji/Pembimbing 1

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Sri Mursiti', written over a light blue background.

Dr. Sri Mursiti, M.Si
NIP. 196709131999032001

Anggota Penguji/Pembimbing 2

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Ersanghono Kusumo', written over a light blue background.

Drs. Ersanghono Kusumo, M.S
NIP. 195405101980121002

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

1. Man jadda wajada (siapa bersungguh-sungguh pasti berhasil), Man shabara zafira (siapa yang bersabar pasti beruntung), Man saaro' ala darbi washola (siapa menapaki jalan-Nya akan sampai ke tujuan)
2. Untuk mendapatkan apa yang dicintai, hendaklah bersabar dahulu dengan apa yang dibenci (Imam Al Ghazali)

PERSEMBAHAN:

Untuk

1. Kedua orang tua (Bapak Sumahdi dan Ibu Winarsih)
2. Adik (Achmad Arief Ichwani)
3. Almamater, Universitas Negeri Semarang
4. Rombel 1 kimia 2011
5. Rombel 2 kimia 2011
6. Teman-teman lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya milik Allah Subhanahu Wa Ta'ala, Tuhan semesta alam, yang dengan limpahan rahmat, kasih sayang dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr*)”**.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Program Studi Kimia di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Pada kesempatan ini, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, baik dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Dekan FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan izin kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
3. Ketua Program Studi kimia yang telah membantu dan membimbing dalam penyusunan skripsi.
4. Dr. Sri Mursiti, M.Si. Pembimbing I yang selalu sabar memberikan bimbingan, ilmu dan pengarahan kepada penulis.

5. Drs. Ersanghono Kusumo, M.S. Pembimbing II yang dengan bijaksana memberikan bimbingan, ilmu dan pengarahan kepada penulis.
6. Prof. Dr. Sudarmin, M.Si. Penguji yang telah memberikan ilmu, masukan dan pengarahan kepada penulis.
7. Segenap bapak dan ibu dosen Jurusan Kimia atas semua ilmu yang telah diberikan selama studi.
8. Segenap Karyawan dan Staf Laboratorium Kimia Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan dukungan.
9. Kedua orang tua yang selalu mendoakan dan memberikan semangat.
10. Teman-teman seperjuangan Kimia 2011 serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi positif bagi para pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan.

Semarang, 15 Oktober 2015

Penulis

ABSTRAK

Setiawan, Muhammad Hafiz. 2015. *Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (Ananas comosus L. Merr)*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Dr. Sri Mursiti, M.Si. dan Pembimbing Pendamping Drs. Ersanghono Kusumo, M.S.

Kata Kunci: kulit nanas, antimikroba, *S.aureus*, *E.coli*, flavonoid.

Kulit nanas seringkali hanya menjadi limbah yang mencemari lingkungan karena belum bisa didayagunakan dengan baik. Sangat disayangkan apabila kulit nanas yang diketahui mengandung senyawa-senyawa aktif khususnya flavonoid hanya dibuang begitu saja. Akan lebih baik bila kulit nanas ini dimanfaatkan guna mengurangi pencemaran lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak kulit nanas kering (KNK) dari metode DMME dan mengetahui jenis senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Senyawa flavonoid diisolasi menggunakan metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) dengan pelarut etanol. Hasil ekstraksi yang berupa ekstrak etanol kering diuji fitokimia dan selanjutnya dipartisi menggunakan etil asetat-air (1:1) untuk menyari senyawa flavonoid. Analisis senyawa flavonoid pada ekstrak KNB dan ekstrak KNK dilakukan secara kimia, uji dengan UV-Vis dan FTIR. Uji efektivitas antimikroba dengan cara mengukur besar diameter daerah hambatan pertumbuhan mikroba menggunakan metode difusi sumuran dengan konsentrasi ekstrak 1%, 2% dan 4%. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol KNB dan KNK mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan steroid. Hasil pemisahan senyawa dengan partisi pelarut, ekstrak yang positif flavonoid secara uji kimia yaitu ekstrak etil asetat. Ekstrak etil asetat KNB maupun ekstrak etil asetat KNK berpotensi sebagai antimikroba dengan aktivitas penghambatan tertinggi pada konsentrasi 4% terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Akan tetapi ekstrak etil asetat KNB lebih efektif menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan nilai Diameter Daerah Hambat (DDH) berturut-turut 13 mm dan 15 mm dibanding ekstrak etil asetat KNK dengan nilai DDH berturut-turut 12 dan 14,25 mm. Senyawa flavonoid dalam kulit nanas yang berperan sebagai antimikroba diduga merupakan golongan flavanon (KNB) dan dihidroflavanol (KNK) yang mempunyai gugus OH terikat, CH alifatik, C=O, C=C aromatik, dan C-O. Senyawa flavanon (KNB) juga mempunyai gugus O-glikosida pada atom C-7, dan tidak mempunyai gugus orto dihidroksil pada cincin A, B dan C. Sedangkan pada senyawa dihidroflavanol (KNK) terdapat gugus orto dihidroksil pada atom C-6 dan C-7 (cincin A), gugus orto dihidroksil pada atom C-4' dan C-5' (cincin B), dan gugus hidroksil pada atom C-3.

ABSTRACT

Setiawan, Muhammad Hafiz. 2015. *Isolation and Antimicrobial Efficacy Testing of Pineapple (Ananas comosus L.Merr) Peel Extract*. Undergraduate Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Primary Supervisor Dr. Sri Mursiti, M.Si. and Supervising Companion Drs. Ersanghono Kusumo, M.S.

Keywords : Pineapple peel, antimicrobial, *S.aureus*, *E.coli*, flavonoids.

Pineapple peel often only become waste that pollutes the environment because it can't properly utilized. It is unfortunate if the pineapple peel which is known to contain active compounds, especially flavonoids just thrown away. It would be better if pineapple peel utilized in order to reduce environmental pollution. This study aimed to know effectiveness of wet pineapple peel extract and dried pineapple peel extract antimicrobial and to know type of flavonoid compounds that have antimicrobial activity. Flavonoids were isolated using Domestic Microwave Maceration Extraction (DMME) method with ethanol. Extraction results in the form of dried ethanol extract tested by phytochemical and then partitioned using ethyl acetate-water (1: 1) to get flavonoids. Analysis of compounds in wet pineapple peel extract and dried pineapple peel according to chemically, tested extract with UV-Vis and FTIR. The antimicrobial effectiveness tested by measuring the large diameter area of microbial growth inhibition using a diffusion method pitting the extract concentration of 1%, 2% and 4%. Based on the results of phytochemical test, wet and dried pineapple peel ethanol extract contain flavonoids, alkaloids, tannins, saponins and steroids. The results of compounds separation with solvent partition, positive flavonoid extract based on chemical test, is ethyl acetate extract. Ethyl acetate extract of wet pineapple peel and dried pineapple peel have potentially as an antimicrobial indicated by the highest inhibitory activity at concentrations of 4% against *S.aureus* and *E.coli* bacteria. However ethyl acetate extract of wet pineapple peel is more effective inhibit *S.aureus* and *E.coli* bacteria with the Regional Diameter value Inhibitory consecutive 13 mm and 15 mm compared by ethyl acetate extract of dried pineapple peel with Inhibitory Regional Diameter respectively 12 and 14,25 mm. Flavonoid compounds of pineapple peel have a role as an antimicrobial is thought to be flavanones (wet pineapple peel) and dihydroflavonol (dried pineapple peel) which has OH group bonded, CH aliphatic, C=O, C=C aromatic, and C-O. Flavanones (wet pineapple peel) have also a O-glycoside group at atom C-7, and don't have a orthodihydroxyl group in ring A, B and C. Whereas dihydroflavonol compounds (dried pineapple peel) has an orthodihydroxyl group at atom C-6 and C-7 (ring A), orthodihydroxyl group at atom C-4' and C-5' (ring B), and hydroxyl group at atom C-3.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PENGESAHAN	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB 1 : PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 : TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Nanas (<i>Ananas comosus L.Merr</i>).....	5
2.2 Isolasi Senyawa Antimikroba	8
2.3 Bakteri.....	12
2.4 Mekanisme Kerja Zat Antimikroba	15
2.5 Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba	17
2.6 Spektrofotometer FTIR (<i>Fourier Transform Infra Red</i>).....	18
2.7 Spektrofotometer UV-Vis (<i>Ultra Violet – Visible</i>).....	20
BAB 3 : METODE PENELITIAN	
3.1 Variabel Penelitian.....	22
3.2 Prosedur Penelitian	22
3.3 Metode Analisis Data.....	28
BAB 4 : PEMBAHASAN	
4.1 Persiapan Sampel Kulit Nanas Basah dan Kulit Nanas Kering.....	29
4.2 Isolasi Kulit Nanas Basah (KNB) dan Kulit Nanas Kering (KNK)	30
4.3 Uji Kimia Senyawa Flavonoid.....	35
4.4 Analisis Struktur dengan FTIR dan UV-Vis.....	40
4.5 Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB) dan Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK).....	51
BAB 5 : PENUTUP	
5.1 Simpulan.....	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Nilai konstanta dielektrik beberapa pelarut.....	10
2.2 Perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif.....	13
2.3 Bilangan gelombang spektrum inframerah	19
2.4 Spektrum golongan flavonoid UV-Vis	21
4.1 Hasil ekstraksi kulit nanas.....	31
4.2 Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etanol kulit nanas	32
4.3 Hasil pemisahan	35
4.4 Analisis FTIR ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB).....	41
4.5 Analisis FTIR ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK)	42
4.6 Data spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNB sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser.....	46
4.7 Data spektrum UV-Vis flavanon dari kulit batang bungur sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser	47
4.8 Data spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNK sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser.....	50
4.9 Diameter daerah hambat (mm) ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) dan ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) terhadap bakteri <i>e.coli</i> dan <i>s.aureus</i>	53
4.10 Diameter daerah hambat (mm) ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) dan ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) terhadap bakteri <i>s.aureus</i> dan <i>e.coli</i> setelah dikurangi DDH kontrol negatif	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Buah nanas (<i>Ananas comosus L.merr</i>).....	5
2.2 Kulit nanas (<i>Ananas comosus L.merr</i>).....	7
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.4 <i>Escherichia coli</i>	15
4.1 Ekstrak etanol kulit nanas basah (1) dan ekstrak etanol kulit nanas kering(2)31	
4.2 Reaksi uji Dragendorff	33
4.3 Reaksi hidrolisis saponin dalam air	34
4.4 Pembentukan 2 lapisan dari partisi ekstrak kulit nanas basah (1) dan ekstrak kulit nanas kering (2).....	35
4.5 Reaksi fenol dengan $FeCl_3$	36
4.6 Reaksi fenol dengan air brom.....	37
4.7 Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium.....	38
4.8 Reaksi dengan reagen Tollens	39
4.9 Reaksi dengan reagen Fehling.....	39
4.10 Spektrum ekstrak etil asetat kulit nanas basah.....	40
4.11 Spektrum ekstrak etil asetat kulit nanas kering.....	41
4.12 Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB)	42
4.13 Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser NaOH	44
4.14 Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser $AlCl_3$	45
4.15 Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser $AlCl_3+HCl$	45
4.16 Spektrum UV-Vis flavanon dari kulit batang bungur	47
4.17 Struktur flavanon.....	48
4.18 Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK).....	48
4.19 Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser NaOH	49
4.20 Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser $AlCl_3$	49
4.21 Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser $AlCl_3+HCl$	50
4.22 Struktur dihidroflavonol	51
4.23 Dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif.....	54
4.24 Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Skema Kerja Penelitian	62
2 Hasil Perhitungan	72
3 Dokumentasi Penelitian	73
4 Analisis FTIR Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB).....	80
5 Analisis FTIR Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK)	82
6 Analisis UV-Vis Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB).....	84
7 Analisis UV-Vis Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK)	89

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) merupakan keluarga *Bromeliaceae* dengan ciri-ciri berduri di bagian kulit luar dan di atas buah terdapat daun-daun pendek yang tersusun. Saat ini, nanas telah tersebar ke seluruh dunia salah satunya Indonesia (Sunarjono, 2008). Di Indonesia, nanas sangat populer dan sering dijumpai di pasar-pasar. Buah ini mengandung nutrisi yang baik untuk kesehatan manusia seperti mineral, glukosa, fruktosa, sukrosa, vitamin C, senyawa fenolik dan flavonoid (Lu *et al.*, 2014).

Nanas merupakan makanan penting yang dapat dimakan langsung atau dimakan dalam bentuk olahan. Adapun olahan nanas yang sudah sering dijumpai di masyarakat yaitu dodol nanas, selai nanas, jelly nanas, keripik nanas, dan sirup nanas (Abadi & Handayani, 2007). Berbagai produk yang dihasilkan dari olahan kulit nanas, tentunya akan menyisakan limbah yaitu berupa kulit nanas. Seringkali kita jumpai di pasar-pasar, limbah kulit nanas ini kurang dimanfaatkan bahkan dibuang begitu saja di tempat sampah. Semakin lama kulit nanas dibiarkan menumpuk tentunya akan mencemari lingkungan terutama baunya yang tidak enak. Sangat disayangkan bila kulit nanas hanya menjadi pencemar lingkungan, padahal kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, dan steroid (Kalaiselvi *et al.*, 2012). Akan lebih baik bila limbah kulit nanas ini dapat dimanfaatkan dengan baik melihat kandungan senyawa aktif dalam kulit nanas.

Salah satu kandungan kulit nanas yang bermanfaat yaitu flavonoid yang merupakan golongan senyawa fenolik. Selain memiliki kemampuan sebagai antioksidan, flavonoid juga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antialergi, antivirus, antikanker dan antibakteri (Sandhar *et al.*, 2011). Berbagai penelitian yang telah dilakukan, flavonoid diketahui berperan aktif dalam bidang kesehatan seperti flavonoid jenis rutin sangat efektif untuk pengobatan peradangan pada fase kronis, quercetin dapat digunakan sebagai antialergi seperti asma, dan fisetin menjadi agen terapi untuk pengobatan diabetes mellitus (Sandhar *et al.*, 2011).

Melihat kemampuan flavonoid sebagai antibakteri, Arum (2010) menyatakan bahwa senyawa flavonoid jenis auron, flavonol, dan flavon dari ekstrak daun kersen mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Flavonoid jenis lain yang yaitu katekin yang diisolasi dari buah belimbing manis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Sukadana, 2009) dan flavonoid jenis flavanon yang diisolasi dari kulit akar awar-awar mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Vibrio cholera* dan *Eschericia coli* (Sukadana, 2010).

Flavonoid dalam kulit nanas dapat diperoleh dengan menggunakan berbagai macam proses ekstraksi yaitu dengan maserasi, perkolasi, ekstraksi menggunakan soxhlet, refluks dan menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Metode MAE ini merupakan ekstraksi berbantu gelombang mikro yang lebih efektif untuk mengekstrak senyawa fitokimia seperti senyawa fenolik dan flavonoid dibanding metode ekstraksi lain ditinjau dari waktu ekstraksi yang lebih

singkat, konsumsi energi dan penggunaan pelarut lebih sedikit, kontrol terhadap temperatur lebih baik dibanding proses pemanasan konvensional, akurasi dan randemen yang lebih tinggi (Xiao *et al.*, 2008).

Adanya penelitian untuk memodifikasi teknik ekstraksi MAE, saat ini senyawa flavonoid dapat diperoleh melalui proses ekstraksi dengan mengkombinasikan penggunaan pelarut dibantu dengan gelombang mikro (*microwave*) dalam oven rumah tangga yang disebut *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME). *Microwave* yang digunakan merupakan peralatan rumah tangga yang tanpa dimodifikasi yang harganya lebih murah dan mudah didapatkan di pasaran (Hartati, 2010; Agnes *et al.*, 2013). Metode DMME mempunyai keuntungan yaitu waktu ekstraksi yang lebih cepat, pelarut yang lebih sedikit (Hartati, 2010) dan efektif meningkatkan rendemen *Total Phenolic Compound* (TPC) (Agnes *et al.*, 2013).

Berdasarkan informasi tersebut, sangat perlu untuk melakukan isolasi dan uji daya antimikroba ekstrak kulit nanas dari metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sehingga dengan adanya penelitian ini diharapkan menjadi salah satu prospek positif guna memanfaatkan senyawa flavonoid dalam limbah kulit nanas sebagai salah satu alternatif pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan hal-hal yang diungkapkan di atas, dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apa jenis senyawa hasil isolasi ekstrak kulit nanas yang memiliki daya antimikroba?
2. Bagaimana efektivitas ekstrak kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak kulit nanas kering (KNK) dari metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) sebagai antimikroba *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Sesuai dengan topik yang disebutkan di atas, tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui jenis senyawa dari ekstrak kulit nanas yang memiliki daya antimikroba.
2. Membandingkan efektivitas ekstrak kulit nanas basah (KNB) dengan ekstrak kulit nanas kering (KNK) dari metode DMME sebagai antimikroba.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah :

1. Segi teoritis, manfaat bagi ilmu pengetahuan yaitu mengembangkan analisis kualitatif kandungan senyawa kimia.
2. Segi praktis, manfaat yang diharapkan yaitu memperoleh ekstrak kulit nanas dan memberikan informasi mengenai efektivitas ekstrak kulit nanas basah dan ekstrak kulit nanas kering dari metode DMME sebagai antimikroba, sehingga limbah kulit nanas bisa dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*)

2.1.1 Sistematika Tanaman

Menurut Rukmana (1996), tata nama atau sistematika (taksonomi) tumbuhan, nanas diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuh-tumbuhan)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji)
Kelas	: <i>Angiospermae</i> (berbiji tertutup)
Ordo	: <i>Farinosae</i> (Bromeliales)
Famili	: <i>Bromeliaceace</i>
Genus	: <i>Ananas</i>
Spesies	: <i>Ananas comosus L.merr</i>



Gambar 2.1. Buah nanas (*Ananas comosus L.merr*) (Anonim, 2015a)

2.1.2 Deskripsi Tanaman

Tanaman nanas berasal dari Amerika tropis, yakni Brasil, Argentina, dan Peru. Pada saat ini, nanas telah tersebar ke seluruh dunia, terutama di sekitar

khatulistiwa antara 30 °LU dan 30 °LS. Di Indonesia, tanaman nanas sangat populer dan banyak ditanam di tegalan dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Dari penghasil nanas yang terkenal diantaranya Subang, Bogor, Palembang, dan Blitar (Sunarjono, 2008).

Tanaman ini digolongkan ke dalam kelas monokotil yang bersifat tahunan yang mempunyai rangkaian bunga dan buah di ujung batang. Batang nanas berbentuk gada, beruas-ruas pendek dan tertutup oleh daun-daun dan akarnya. Panjang batang umumnya berkisar antara 20-30 cm. Akar nanas dapat dibedakan menjadi akar tanah dan akar samping dengan sistem perakaran dangkal dan terbatas.

Daun nanas tidak bertangkai, liat dan tidak mempunyai tulang daun utama. Bentuk daun seperti talang dan memanjang seperti pedang dengan ujung daun memanjang dan runcing, sehingga dapat menyalurkan embun dan air hujan untuk ditampung di pangkal daun. Buah nanas berukuran kecil, dengan bobot per buah 0,5 sampai 1,0 kilogram, kulit buah berwarna kuning bila telah matang, matanya berlekuk dalam, daging buah berwarna kekuningan dan berserat halus (Nuswamarhaeni, 1999).

2.1.3 Kandungan Kimia

Buah ini mengandung nutrisi yang baik untuk kesehatan manusia seperti mineral, glukosa, fruktosa, sukrosa, vitamin C, senyawa fenolik dan flavonoid (Lu *et al.*, 2014). Selain itu, nanas juga bermanfaat sebagai antioksidan. Antioksidan ini mengurangi kerusakan oksidatif seperti yang disebabkan oleh radikal bebas dan logam pengkkelat. Buah ini juga memiliki kompleks enzim protease

(bromelain). Bromelain mengandung peroksidase, asam fosfat, beberapa inhibitor protease dan organik (Tochi *et al.*, 2008).

2.1.4 Kulit Nanas

Dewasa ini, berbagai macam olahan nanas sudah banyak beredar di masyarakat diantaranya dodol nanas, selai nanas, jelly nanas, keripik nanas, dan sirup nanas (Abadi & Handayani, 2007). Berbagai produk dari olahan nanas tentunya akan menyisakan limbah yaitu berupa kulit nanas. Seringkali dijumpai di pasar-pasar, limbah kulit nanas ini kurang dimanfaatkan bahkan dibuang begitu saja di tempat sampah. Semakin lama kulit nanas dibiarkan menumpuk tentunya akan mencemari lingkungan terutama baunya yang tidak enak. Sangat disayangkan bila kulit nanas hanya menjadi pencemar lingkungan, padahal kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, dan steroid (Kalaiselvi *et al.*, 2012).



Gambar 2.2. Kulit nanas (*Ananas comosus L.merr*) (Anonim, 2015b)

2.2. Isolasi Senyawa Antimikroba

Isolasi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Metode dasar pemisahan yang biasa digunakan adalah maserasi, perkolasi dan ekstraksi menggunakan soxhlet (Arum, 2010). Adanya penelitian untuk memodifikasi teknik ekstraksi MAE, saat ini senyawa antimikroba dapat diperoleh melalui proses ekstraksi dengan mengkombinasikan penggunaan pelarut dibantu dengan gelombang mikro (*microwave*) dalam oven rumah tangga yang disebut *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME).

2.2.1. Metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME)

Pada prinsipnya, metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) merupakan proses ekstraksi dengan maserasi/perendaman disertai radiasi gelombang mikro dalam oven rumah tangga. *Microwave* yang digunakan merupakan peralatan rumah tangga tanpa modifikasi yang memiliki harga lebih murah dan mudah didapatkan di pasaran. Suhu yang ideal untuk ekstraksi yaitu 60⁰C. Setiap selang waktu radiasi tertentu campuran padatan dan pelarut dikeluarkan dari oven selama beberapa waktu sambil diaduk (Agnes *et al.*, 2013).

Menurut Zhang & Hayward, sebagaimana dikutip Hartati (2010), pemanasan gelombang mikro melibatkan tiga konversi energi, yaitu konversi energi listrik menjadi energi elektromagnetik, energi elektromagnetik menjadi energi magnetik, dan energi magnetik menjadi energi panas. Poin kunci yang menjadikan energi gelombang mikro menjadi alternatif yang menarik guna

menggantikan pemanasan konvensional adalah pada pemanasan konvensional, pemanasan terjadi melalui gradien suhu, sedangkan pada pemanasan gelombang mikro, pemanasan terjadi melalui interaksi langsung antara material dengan gelombang mikro. Hal tersebut mengakibatkan transfer energi berlangsung lebih cepat, dan berpotensi meningkatkan kualitas produk.

Menurut Hartati (2010) faktor yang mempengaruhi ekstraksi berbantu gelombang mikro diantaranya adalah :

1) Jenis Pelarut

Penggunaan pelarut yang tepat merupakan hal fundamental guna mencapai hasil ekstraksi yang optimal. Pelarut dipilih berdasarkan pada kelarutan senyawa target, interaksi antara pelarut dengan matriks bahan serta kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro. Ukuran kemampuan pelarut untuk menyerap energi gelombang mikro dan mengubahnya menjadi panas dinyatakan sebagai faktor disipasi ($\tan \delta$). Faktor disipasi dinyatakan dalam persamaan 1:

$$\tan \delta = \varepsilon'' / \varepsilon' \quad (1)$$

dimana ε'' adalah *dielectric loss* yang mengindikasikan efisiensi pelarut dalam mengkonversi energi gelombang mikro menjadi panas dan ε' adalah konstanta dielektrik yang merupakan ukuran kemampuan pelarut untuk menyerap energi gelombang mikro. Nilai konstanta dielektrik dan faktor disipasi beberapa pelarut disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Nilai konstanta dielektrik beberapa pelarut

Pelarut	Konstanta dielektrik ϵ'
Air	78,3
Metanol	32,6
Etanol	24,3
2-propanol	19,9
Aseton	20,7
Kloroform	4,81
Metil Eter	5,0
Dietil Eter	4,3
Benzena	2,3
Petroleum Eter	4,3
Heksana	1,89

Nilai konstanta dielektrik suatu pelarut merupakan ukuran kemampuan pelarut dalam menyerap energi gelombang mikro (Tabel 2.1). Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik pelarut, maka kemampuan bahan untuk menyerap energi gelombang mikro semakin besar.

Ekstraksi senyawa fenolik yang sebagian berasal dari golongan flavonoid baik menggunakan pelarut air dan etanol karena memiliki sifat kimia fenol yang larut dalam pelarut polar seperti air dan etanol. Selain itu, pelarut air dan etanol bersifat lebih aman untuk kesehatan dibandingkan pelarut lainnya seperti metanol (Hartati, 2010). Etanol merupakan pelarut yang paling baik digunakan untuk mengekstrak bahan-bahan alami yang komponen terbesarnya berupa senyawa polar. Hal ini disebabkan karena etanol memiliki polaritas yang cukup tinggi sehingga kemampuan mengekstrak senyawa-senyawa polarnya cukup tinggi. Pelarut yang digunakan adalah etanol dengan konsentrasi 96 % karena menghasilkan *Total Phenolic Compound* (TPC) yang lebih banyak (Agnes *et al.*, 2013).

2) Waktu Ekstraksi

Secara umum, dengan semakin meningkatnya waktu ekstraksi, maka jumlah analit terekstrak akan semakin tinggi. Namun bila dibandingkan dengan metode yang lain, ekstraksi dengan pemanasan gelombang mikro membutuhkan waktu yang jauh lebih singkat. Seringkali waktu ekstraksi 15-20 menit memberikan hasil yang baik (Hartati, 2010). Bahkan pada ekstraksi flavonoid dari tanaman *Portulaca oleracea L.* hanya membutuhkan waktu 9 menit untuk memperoleh hasil ekstraksi yang optimum (Zhu *et al.*, 2010).

3) Volume Pelarut

Menurut Mandal, sebagaimana yang dikutip Hartati (2010), volume pelarut merupakan faktor yang mempengaruhi ekstraksi berbantu gelombang mikro. Secara umum, volume pelarut harus cukup untuk meyakinkan bahwa bahan yang akan diekstrak terendam seluruhnya didalam pelarut. Volume pelarut yang lebih banyak dapat meningkatkan perolehan ekstrak dalam ekstraksi konvensional. Namun demikian dalam ekstraksi berbantu gelombang mikro, volume pelarut yang terlalu banyak dapat menghasilkan rendemen yang lebih rendah (Agnes *et al.*, 2013). Hal ini mungkin karena adanya pelarut yang berlebih mengakibatkan terjadinya pembengkakan berlebih (*excessive swelling*) pada material yang diekstraksi yang berakibat timbulnya *thermal stress* yang berlebih yang disebabkan oleh timbulnya panas yang cepat pada larutan akibat dari penyerapan gelombang mikro oleh pelarut. *Thermal stress* yang berlebih akan berakibat negatif terhadap senyawa-senyawa fitokimia (Hartati, 2010).

4) Daya

Menurut Shu, sebagaimana yang dikutip Hartati (2010), daya mikrowave dan waktu merupakan dua faktor yang saling mempengaruhi. Kombinasi daya yang rendah dan waktu ekstraksi yang panjang merupakan pilihan yang bijak mengingat kombinasi tersebut dapat menghindari terjadinya degradasi termal produk. Secara umum, efisiensi ekstraksi dengan waktu ekstraksi yang singkat akan meningkat seiring dengan meningkatnya daya mikrowave dari 30-150 W.

5) Suhu

Suhu ekstraksi merupakan faktor yang dapat meningkatkan dan menurunkan rendemen senyawa fenolik yang diekstrak. Semakin tinggi suhu akan dapat meningkatkan rendemen senyawa fenolik. Akan tetapi bila terlalu tinggi akan merusak senyawa itu sendiri. Flavonoid terekstrak secara optimal pada suhu 50 °C, dan akan menurunkan rendemen bila melebihi (Zhu *et al.*, 2010).

6) Luas permukaan material

Perlakuan awal juga dapat menentukan banyaknya senyawa yang akan diekstrak seperti dihaluskan, diblender, dan dihomogenkan dengan pelarut akan meningkatkan kandungan senyawa yang akan diekstrak. Perlakuan ini sering digunakan untuk ekstraksi berbantu gelombang mikro dan ekstraksi flavonoid. Xiao *et al.*, (2008) melakukan perlakuan awal dengan cara dihaluskan dan dengan dihaluskan lalu diayak.

2.3. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang bersel satu dan berkembang biak dengan membelah diri (aseksual). Ukuran bakteri bervariasi baik penampang

maupun panjangnya, tetapi pada umumnya penampang bakteri adalah sekitar 0,7 - 1,5 μm dan panjangnya sekitar 1-6 μm (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri dibagi menjadi dua golongan yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Perbedaan kedua jenis bakteri ini ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif

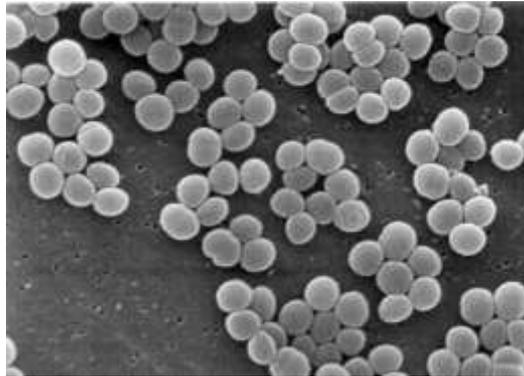
Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80 nm)	Tipis (10-15 nm)
Komposisi dinding sel	Berlapis tunggal (mono)	Berlapis tiga (multi)
	Kandungan lipid rendah (1-4%).	Kandungan lipid tinggi (11-22%).
	Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri	Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit, merupakan sekitar 10% berat kering.
	Memiliki asam tekoat	Tidak memiliki asam tekoat
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

(Pelezar & Chan, 1988)

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Menurut Jawetz *et al.*, (2005), klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah:

Divisi : *Protophyta*
 Kelas : *Schizomycetes*
 Bangsa : *Eubacteryales*
 Suku : *Micrococcaceae*
 Marga : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3. *Staphylococcus aureus* (Anonim, 2007)

S.aureus merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat dengan diameter 0,5-1,5 μm , berwarna kuning emas, dan tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur. Bakteri ini bersifat aerob atau anaerob fakultatif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi. Pemiakan bakteri ini optimal pada suhu antara 37 °C (Jawetz *et al.*, 2005).

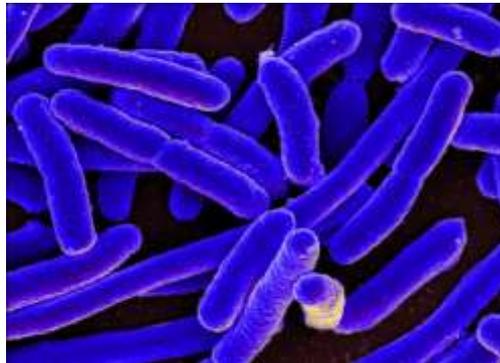
S.aureus dapat menyebabkan penyakit karena mempunyai kemampuan membelah diri, menyebar luas ke dalam jaringan, dan mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin dan enzim-enzim lain. Beberapa penyakit yang disebabkan bakteri *S.aureus* seperti jerawat, bisul, meningitis, pneumonia, dan mastitis pada manusia sering terdapat pada pori-pori, permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus (Jawetz *et al.*, 2005).

2.3.2 *Escherichia coli*

Menurut Pelezar & Chan (1988), klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah :

Divisio	: <i>Protophyta</i>
Subdivisio	: <i>Schizomycetea</i>
Kelas	: <i>Schizomycetes</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>

Familia : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*



Gambar 2.4. *Escherichia coli* (Anonim, 2013)

E.coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul (Pelezar & Chan, 1988). *E. coli* banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi apabila imunitas tubuh secara umum menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru – paru, saluran empedu dan saluran otak (Jawetz *et al.*, 2005).

2.4. Mekanisme Kerja Zat Antimikroba

Zat antimikroba merupakan zat atau obat pembasmi mikroba, khususnya yang merugikan manusia. Antimikroba dapat bekerja secara bakterisidal (membunuh) atau bakteriostatik (menghambat pertumbuhan mikroba). Menurut Pelezar & Chan (1988) mekanisme kerja antimikroba terbagi menjadi 5 cara, yaitu:

1) Merusak Dinding Sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubah setelah selesai terbentuk. Contoh : antibiotik jenis penisilin dan sefalosporin.

2) Merusak Membran Sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lainnya dan memelihara komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran sitoplasma dapat berakibat terhambatnya pertumbuhan sel sehingga menyebabkan kematian sel. Contoh : antibiotik jenis polimiksin B dan amfoterisin.

3) Menghambat Sintesis Protein Sel Mikroba

Kehidupan sel bergantung pada pemeliharaan molekul protein dan asam nukleat. Antimikroba dapat mengakibatkan koagulasi protein atau denaturasi bahan-bahan sel yang penting. Contoh : antibiotik jenis tetrasiklin dan streptomisin.

4) Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel dan merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Contoh : antibiotik jenis kloramfenikol dan metafen.

5) Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Protein, DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan apapun yang terjadi pada zat-zat

tersebut dapat mengakibatkan kerusakan sel. Contoh : antibiotik jenis norfosaksin dan sulfanilamida.

2.5. Metode Pengujian Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba ditentukan oleh spektrum kerja (spektrum luas, spektrum sempit), cara kerja (bakterisidal atau bakteristatik) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) serta potensi pada KHM. Suatu antimikroba dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi apabila KHM terjadi pada kadar antibiotik yang rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar (Pratiwi, 2008).

Menurut Pratiwi (2008) metode yang umum digunakan untuk menguji daya antimikroba diantaranya adalah :

1) Metode Difusi

a) Metode Sumuran (Perforasi)

Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

b) Metode Cakram Kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antimikroba sejumlah tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan agar padat

yang telah diolesi bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas.

2) Metode Dilusi

a) Metode Pengenceran Tabung

Antibakteri disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB) dengan pH 7,2-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl fisiologis steril atau dengan TSB, yang tiap mililiternya mengandung kurang lebih 10⁵-10⁶ bakteri. Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang bening menunjukkan zat antibakteri yang bekerja.

b) Metode Pengenceran Agar

Zat antimikroba dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu terendah mungkin ($\pm 45^{\circ}\text{C}$) dengan menggunakan berbagai konsentrasi aktif, larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya.

2.6. Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Spektroskopi inframerah sangat berguna untuk analisis kualitatif (identifikasi) gugus fungsi dari senyawa organik. Spektrofotometer inframerah adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur resapan radiasi inframerah pada berbagai daerah bilangan gelombang. Daerah inframerah meliputi inframerah dekat (*near infrared*, NIR) antara 20.000-4000 cm^{-1} , IR tengah 4000-400 cm^{-1} dan IR jauh (*far infrared*, FIR) berada pada 400-10 cm^{-1} (Sastrohamidjojo,

2003). Daerah antara 1400-4000 cm^{-1} , bagian kiri spektrum inframerah, merupakan daerah khusus yang berguna untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional (Fessenden & Fessenden, 1982).

Tabel 2.3. Bilangan gelombang spektrum inframerah

NO	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
1	900-1300	C-O
2	1450-1600	C-C
3	1600-1700	C=C
4	1640-1820	C=O
5	2800-3300	C-H
6	3000-3700	OH

(Sastrohamidjojo, 2003)

Pada dasarnya spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) sama dengan spektrofotometer IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra merah melewati contoh. Spektrofotometer IR dispersi menggunakan prisma (*grating*) sebagai pengisolasi radiasi, sedangkan spektrofotometer FT-IR menggunakan interferometer yang dikontrol secara otomatis dengan komputer. Spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif (Hayati, 2007).

Secara keseluruhan, analisis menggunakan spektrofotometer FT-IR memiliki dua kelebihan utama dibandingkan dengan dispersi, yaitu (Sastrohamdjojo, 2003):

1. Spektrofotometer FT-IR dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat daripada menggunakan cara sekuensial atau *scanning*.

2. Sensitifitas dari metode spektrofotometer FT-IR lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistem detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (*slitless*).

2.7. Spektrofotometer Ultraviolet-Visible

Penggunaan spektrofotometer ultraviolet-visible untuk mengidentifikasi secara kuantitatif senyawa-senyawa yang mengandung gugus-gugus pengabsorpsi. Selain digunakan untuk menunjukkan ada atau tidaknya ikatan rangkap terkonjugasi, spektrofotometer ultraviolet-visible dapat juga digunakan untuk menentukan jenis inti yang terdapat dalam senyawa flavonoid. Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut metanol atau etanol dan ditampilkan dalam bentuk spektrum serapan pada daerah bilangan gelombang (Markham, 1988).

Spektrum Flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut Metanol (MeOH) atau Etanol (EtOH). Spektrum khas terdiri atas dua maksimal pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Kedudukan yang tepat dan kekuatan nisbi maksimal tersebut memberikan informasi yang berharga mengenai sifat flavonoid dan pola oksigenasinya. Ciri khas spektrum tersebut ialah kekuatan nisbi yang rendah pada pita I dalam dihidroflavon, dihidroflavonol, dan isoflavon serta kedudukan pita I pada spektrum khalkon, auron dan antosianin yang terdapat pada panjang gelombang yang tinggi (Markham, 1988).

Ciri spektrum golongan flavonoid utama dapat ditunjukkan sebagai berikut:

Tabel 2.4. Spektrum golongan flavonoid UV-Vis

λ maksimum utama (nm)	λ maksimum tambahan (nm)	Jenis Flavonoid
310-350	250-280	Flavon
330-360	250-280	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
350-385	250-280	Flavonol (3-OH bebas)
310-330 (bahu)	245-275	Isoflavon
300-330 (bahu)	275-295	Flavanon dan dihidroflavonol
340-390	230-270 (kekuatan rendah)	Kalkon
380-430	230-270 (kekuatan rendah)	Auron
465-560	275-280	Antosianin

(Markham, 1988)

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini ada 3 macam variabel yaitu :

1. Variabel terikat adalah variabel yang menjadi titik pusat penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah senyawa antimikroba dan daya antimikroba (zona bening).
2. Variabel bebas yaitu variabel yang diselidiki pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis kulit (kulit nanas basah/yang masih segar dan kulit nanas kering/disimpan selama 1 minggu) dan jenis bakteri uji (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*).
3. Variabel terkontrol adalah faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil reaksi, tetapi dapat dikendalikan. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah cara kerja, alat ekstraksi, suhu ekstraksi, perbandingan padatan:pelarut (1:5), pelarut etanol teknis 96 % dan media pertumbuhan bakteri.

3.2. Prosedur Penelitian

3.2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya pisau, blender, *microwave home*, alat-alat gelas (pyrex), neraca digital, *hot plate magnetic stirrer*, *rotary evaporator*, statif, klem, spektrofotometer UV-Vis, *Frontier FTIR Perkin Elmer Spectrum 100*, corong pisah, cawan petri, gelas ukur 10 mL, 250 mL, pipet

volume 10 mL, pipet tetes, pelubang agar (*cork borer*), erlenmeyer 250 mL, jarum ose, lampu spiritus dan pinset.

Bahan–bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kulit nanas yang didapat dari Pasar Ungaran, Kabupaten Semarang, etanol teknis 96 % (*l*), *aluminium foil*, kertas saring, etil asetat (*l*), metanol p.a (*l*), HCl p.a 37% (*l*), kloroform (*l*), asam asetat anhidrat (*l*), H₂SO₄ p.a (*l*), reagen Mayer (*l*), reagen Dragendorff (*l*), FeCl₃ 1% (*l*), bubuk Mg (*s*), media agar (NA), bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) dan *Escherichia coli* (Gram-negatif).

3.2.2 Cara Kerja

3.2.2.1 Isolasi Senyawa Antimikroba

Perlakuan awal kulit nanas basah yaitu dengan dicuci dengan air dan dikeringkan (dalam oven dengan suhu 50 °C), sedangkan perlakuan awal kulit nanas kering yaitu dengan dicuci dengan air kemudian beberapa saat di kenakan sinar matahari, selanjutnya diangin-anginkan selama seminggu. Selanjutnya masing-masing kulit nanas yang sudah kering dihaluskan dengan cara diblender kemudian diayak dengan ayakan 50 mesh supaya didapatkan serbuk yang homogen dan luas permukaan sampel yang lebih besar.

Proses ekstraksi menggunakan metode *Domestic Microwave Maceration Extraction (DMME)* yaitu proses ekstraksi dengan maserasi/perendaman disertai radiasi gelombang mikro dalam *microwave* rumah tangga. *Microwave* yang digunakan merupakan peralatan rumah tangga yang tanpa dimodifikasi yang harganya lebih murah dan mudah didapatkan di pasaran (Agnes *et al.*, 2013). Kulit nanas basah dan kulit nanas kering yang sudah halus masing-masing 20

gram dicampurkan dengan etanol 96% sebanyak 100 mL. Selanjutnya masing-masing campuran kulit nanas dan pelarut dimasukkan ke dalam *microwave* (frekuensi 2450 MHz, suhu 60 °C dan daya 120 W) untuk mengalami proses radiasi. Setiap 30 detik campuran kulit nanas dan pelarut dikeluarkan dari *microwave* untuk diaduk dalam *magnetic stirrer* selama 2 menit. Kemudian campuran kulit nanas dan pelarut diradiasi kembali dalam *microwave* selama 30 detik, kemudian dikeluarkan kembali dari *microwave* untuk diaduk dalam *magnetic stirrer* selama 2 menit. Tahap radiasi dan pengadukan diulangi sampai total waktu radiasi 150 detik (5 kali radiasi masing-masing 30 detik) dan total waktu pengadukan 10 menit (5 kali pengadukan masing-masing 2 menit). Setelah itu, larutan disaring menggunakan kertas saring. Residu berupa ampas dibuang dan filtratnya dievaporasi menggunakan *evaporator* dengan suhu 50 °C sampai didapatkan ekstrak serbuk kulit nanas. Ekstrak yang didapat diuji fitokimia. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh dipartisi dengan menambahkan 100 mL air dan 100 mL etil asetat, kemudian digojog. Lapisan etil asetat dipisahkan dengan lapisan air kemudian masing-masing diuji kandungan flavonoidnya. Lapisan positif flavonoid selanjutnya dianalisis dengan UV-Vis dan FT-IR serta diuji antimikroba.

3.2.2.2 Uji Fitokimia (Hayati & Halimah, 2010; Marlinda *et al.*, 2012)

3.2.2.2.1 Uji Flavonoid (Uji *Wilstater*)

Ekstrak serbuk kulit nanas basah dan ekstrak serbuk kulit nanas kering masing-masing dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu

ditambah 4-5 tetes HCl pekat dan 0,2 gram bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit.

3.2.2.2.2 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak kulit nanas dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna hijau kebiruan.

3.2.2.2.3 Uji Alkaloid

Ekstrak kulit nanas dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan endapan jingga pada tabung I dan endapan kekuning-kuningan pada tabung II.

3.2.2.2.4 Uji Tannin

Ekstrak kulit nanas ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka bahan tersebut mengandung tannin.

3.2.2.2.5 Uji Saponin

Ekstrak kulit nanas dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air dengan perbandingan (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila timbul busa

ditambahkan HCl 1 N. Busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.2.2.3 Uji Kimia Senyawa Flavonoid (Arum, 2010)

Pengujian adanya senyawa flavonoid secara kimia dilakukan menggunakan uji dengan FeCl_3 , uji wilstater, uji dengan Reagen Tollens, dan uji dengan Reagen Fehling.

3.2.2.3.1 Uji dengan FeCl_3

Uji ini dilakukan dengan menambahkan 5 ml aquades dan FeCl_3 pada sampel yang diuji. Terjadinya perubahan warna kuning hingga hijau kehitaman menyatakan sampel positif mengandung gugus hidroksil dari fenol.

3.2.2.3.2 Uji dengan Air Brom

Uji dilakukan dengan menambahkan 3 mL aquades dan Br_2 pada sampel yang diuji. Terjadinya perubahan warna kuning menunjukkan sampel positif mengandung gugus hidroksil dari fenol.

3.2.2.3.2 Uji Wilstater

Uji kualitatif adanya flavonoid dalam kulit nanas dilakukan dengan cara mengambil sedikit ekstrak kering dengan menambah beberapa tetes HCl pekat dan serbuk Mg kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Jika timbul warna merah muda sampai merah, maka ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid.

3.2.2.3.3 Uji dengan Reagen Tollens

Uji ini dilakukan dengan menambahkan sedikit ekstrak kulit nanas dengan 2-3 tetes reagen Tollens, gojog sampai benar-benar homogen dan diamkan

selama 5 menit. Amati dan catat ada tidaknya cermin perak. Jika perlu dapat dibantu dengan pemanasan di dalam penangas air selama 5 menit.

3.2.2.3.4 Uji dengan Reagen Fehling

Uji ini dilakukan dengan menambahkan sedikit ekstrak kulit nanas dengan 3 tetes reagen Fehling dan dipanaskan selama 5 menit dan amati hasilnya.

3.2.2.4 Pembuatan Media Agar Miring

Sebanyak 1 g nutrien agar "Oxoid" dilarutkan dalam 50 mL aquades kemudian dipanaskan dan diaduk hingga homogen dengan *magnetic stirrer* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan kapas dan kertas. Sterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121°C, tekanan 1-2 atm. Tabung reaksi selanjutnya dimiringkan agar media NA di dalamnya memadat berbentuk miring.

3.2.2.5 Uji Antibakteri

3.2.2.5.1 Membuat Biakan Bakteri

Bakteri dibiakkan pada media pertumbuhan *Nutrient Agar* (NA) miring dengan pola zig-zag dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.2.2.5.2 Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode difusi sumuran. Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri ditambahkan ke dalam cawan petri steril yang telah diisi oleh *Nutrient Agar* (NA) yang sudah memadat dengan cara disebar. Sumur dibuat dengan cara media NA yang telah memadat dilubangi dengan menggunakan *cork borer* (diameter 10 mm). Sumur ditetesi 100 µL ekstrak kulit nanas pada konsentrasi yang telah ditentukan (1%, 2% dan 4%) kemudian

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar sumur.

3.3. Metode Analisis Data

Penentuan luas daerah hambat atau zona bening bakteri adalah dengan mengukur zona bening dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong. Diameter zona bening adalah diameter yang tidak ditumbuhi oleh bakteri di sekitar lubang dikurangi diameter lubang.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Persiapan Sampel Kulit Nanas Basah dan Kulit Nanas Kering

Limbah kulit nanas didapatkan dari salah satu pedagang yang ada di Pasar Ungaran. Kulit yang dipilih berwarna kuning kehijauan karena kebanyakan kulit nanas yang menjadi limbah berwarna kuning kehijauan dan diharapkan dapat diperoleh senyawa-senyawa aktif khususnya flavonoid dengan kandungan yang lebih besar. Kulit nanas yang telah terkumpul dicuci dengan air, ditiriskan dan diangin-anginkan dengan tujuan menghilangkan sisa-sisa air setelah pencucian. Pengeringan kulit nanas basah (KNB) selanjutnya menggunakan oven pada suhu 50 °C dengan tujuan agar penguapan tidak berlebihan dan mengurangi kandungan air sehingga dapat mencegah timbulnya jamur serta menghindari pembusukan pada tumbuhan yang dapat menyebabkan perubahan kandungan pada senyawa di dalamnya. Perlakuan kulit nanas kering (KNK) setelah dicuci, dikeringkan dengan sinar matahari untuk beberapa saat selama satu minggu dengan tujuan kulit nanas tidak mengalami pembusukan.

Kedua sampel yang telah kering kemudian diblender dan diayak menggunakan ayakan 50 mesh dengan tujuan untuk meningkatkan luas permukaan sampel sehingga senyawa aktif yang ada dalam sampel akan lebih mudah terambil oleh pelarut.

4.2. Isolasi Kulit Nanas Basah (KNB) dan Kulit Nanas Kering (KNK)

Isolasi kulit nanas basah dan kering ada beberapa tahapan diantaranya yaitu preparasi sampel, proses ekstraksi, kemudian hasil ekstrak dipartisi. Proses ekstraksi penelitian ini menggunakan metode *Domestic Microwave Maceration Extraction* (DMME) yaitu proses ekstraksi dengan maserasi/perendaman disertai radiasi gelombang mikro dalam oven rumah tangga. Radiasi gelombang mikro yang disalurkan akan menembus material transparan hingga mencapai kelenjar grandular dan sistem vaskuler pada tanaman. Dengan demikian suhu pelarut dan air yang terkandung dalam tanaman akan meningkat sehingga dinding sel akan pecah dan zat-zat aktif yang ada di dalam sel tanaman akan keluar menuju pelarut (Agnes *et al.*, 2013). Metode DMME tersebut mempunyai keuntungan yaitu waktu ekstraksi yang lebih cepat, pelarut yang lebih sedikit (Hartati, 2010) dan efektif meningkatkan rendemen *Total Phenolic Compound* (TPC) (Agnes *et al.*, 2013).

Proses ekstraksi dilakukan secara berulang-ulang dengan perbandingan padatan/pelarut yaitu 20 gram sampel serbuk dalam 100 mL etanol. Menurut Agnes *et al.*, (2013), perbandingan padatan/pelarut ini merupakan perbandingan terbaik untuk ekstraksi senyawa fenolik menggunakan metode DMME. Supaya lebih efisien, ekstraksi dilakukan menggunakan 2 erlenmeyer sekaligus dengan perbandingan padatan dan pelarut yang sama. Hasil ekstraksi kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut sampai menjadi ekstrak kering.



(1)



(2)

Gambar 4.1. Ekstrak etanol kulit nanas basah (1) dan ekstrak etanol kulit nanas kering (2)

Hasil isolasi senyawa flavonoid dalam kulit nanas dijelaskan pada Tabel

4.1.

Tabel 4.1. Hasil ekstraksi kulit nanas

Jenis sampel	Berat Sampel	Pelarut	Ekstrak yang diperoleh	Warna ekstrak	Ekstrak Kering	Rendemen % (b/b)
Kulit Nanas Basah	360 g	1800 mL	1334 mL	Coklat Tua	31,6582 g	8,7939
Kulit Nanas Kering	260 g	1300 mL	890 mL	Coklat Tua	8,8649 g	3,4095

Berdasarkan Tabel 4.1 terlihat rendemen ekstrak yang diperoleh cukup tinggi, sehingga kemungkinan zat aktif khususnya senyawa flavonoid banyak yang terekstrak. Kedua ekstrak etanol kulit nanas yang didapatkan selanjutnya diuji fitokimia untuk membandingkan dengan hasil penelusuran literatur. Berdasarkan penelitian Kalaiselvi *et al.*, (2012), kulit nanas mengandung senyawa seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tannin dan saponin. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu uji flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, tannin dan saponin.

Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etanol kulit nanas dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil pengamatan uji fitokimia ekstrak etanol kulit nanas

Golongan Senyawa	Hasil Identifikasi	
	Ekstrak Etanol KNB	Ekstrak Etanol KNK
Flavonoid	+	+
Terpenoid	-	-
Steroid	+	+
Alkaloid (Dagendorf)	+	+
Alkaloid (Mayer)	+	+
Tannin	+	+
Saponin	+	+

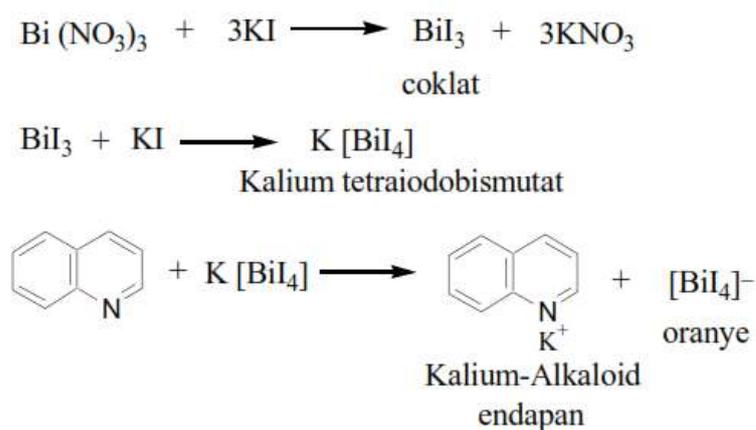
Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa ekstrak kulit nanas basah (KNB) maupun ekstrak kulit nanas kering (KNK) positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tannin dan saponin. Banyaknya senyawa yang terekstrak dikarenakan pelarut yang digunakan merupakan pelarut yang universal yaitu etanol. Etanol memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH₃) sehingga dapat menarik zat-zat aktif yang bersifat polar maupun nonpolar (Astarina *et al.*, 2013).

Senyawa flavonoid memiliki tipe yang beragam. Biasanya dalam bentuk bebas (aglikon) atau terikat sebagai glikosida. Aglikon polimetoksi bersifat non polar, aglikon polihidroksi bersifat semi polar, sedangkan glikosida flavonoid bersifat polar (Astarina *et al.*, 2013). Salah satu cara yang digunakan untuk mendeteksi flavonoid yaitu dengan uji *wilstater*. Flavonoid sendiri memiliki struktur benzopyron, sehingga jika bereaksi dengan asam mineral yaitu asam klorida pekat dan sedikit serbuk Mg akan menghasilkan garam flavilium yang

berwarna (Marliana *et al.*, 2005). Berdasarkan pengamatan, kandungan flavonoid pada ekstrak KNB lebih kuat dibandingkan ekstrak KNK ditandai dengan terbentuknya warna merah tua.

Analisis senyawa triterpenoid dan steroid didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat pada pelarut asetat glasial yang membentuk warna (Marlinda *et al.*, 2012). Kedua ekstrak yang diuji tidak terbentuk cincin kecoklatan maupun violet, sehingga keduanya negatif mengandung terpenoid. Terbentuknya warna hijau kehitaman menunjukkan keduanya positif mengandung steroid.

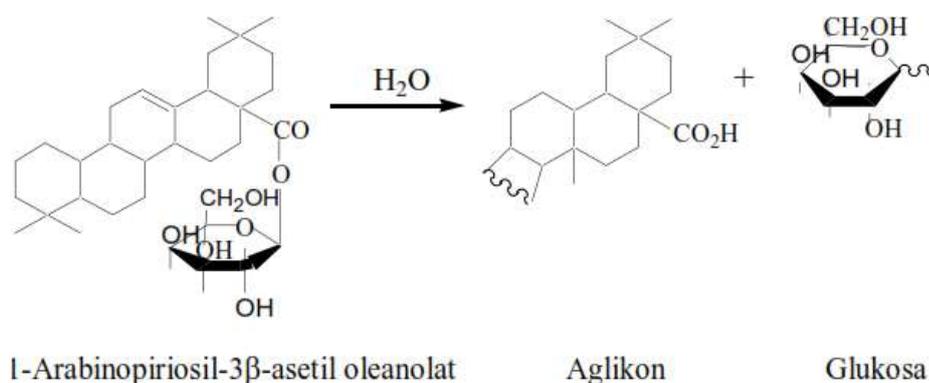
Hasil positif alkaloid pada uji wagner ditandai dengan warna merah jingga. Sedangkan hasil positif alkaloid juga pada uji dragendorff ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga setelah direaksikan dengan pereaksi kalium tetraiodobismutat. Reaksi pada uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Reaksi uji Dragendorff (Marliana *et al.*, 2005)

Identifikasi terhadap adanya tannin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang merupakan adanya tannin terkondensasi. Perubahan

warna ini terjadi karena penambahan FeCl_3 bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tannin (Astarina *et al.*, 2013). Saponin merupakan bentuk glikosida dari sapogenin sehingga bersifat polar. Senyawa ini dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air yang menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Astarina *et al.*, 2013). Reaksi hidrolisis saponin dalam air ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana *et al.*, 2005)

Berdasarkan pengamatan, ekstrak etanol yang diperoleh masih mengandung banyak senyawa metabolit sekunder. Oleh sebab itu ekstrak kasar yang dihasilkan selanjutnya dipisahkan menggunakan metode partisi pelarut menggunakan air dan etil asetat dengan perbandingan 1:1 yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Etil asetat ini bersifat semi polar sehingga mampu menarik komponen glikon yang polar maupun aglikon yang nonpolar. Pemisahan ini terbentuk 2 lapisan yang dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Pembentukan 2 lapisan dari partisi ekstrak kulit nanas basah (1) dan ekstrak kulit nanas kering (2)

Dua lapisan yang terbentuk adalah lapisan air yang berada di bawah dan lapisan etil asetat berada di atas. Kedua lapisan dipisahkan kemudian masing-masing lapisan diuji wilstater. Hasilnya ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) maupun ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) positif mengandung flavonoid ditandai dengan warna merah tua (KNB) dan jingga (KNK), sedangkan ekstrak air KNB dan KNK setelah diuji wilstater menunjukkan warna kuning yang berarti negatif. Kedua ekstrak etil asetat yang telah diketahui positif flavonoid kemudian dievaporasi sampai kering kemudian dianalisis menggunakan UV-Vis, dan FTIR. Hasil pemisahan disajikan pada Tabel 4.3.

Sampel	Volume		Warna Ekstrak	
	KNB	KNK	KNB	KNK
Ekstrak etil asetat	289 mL	95 mL	Hitam	Hitam
Ekstrak air	297 mL	102 mL	Merah tua	Merah jingga

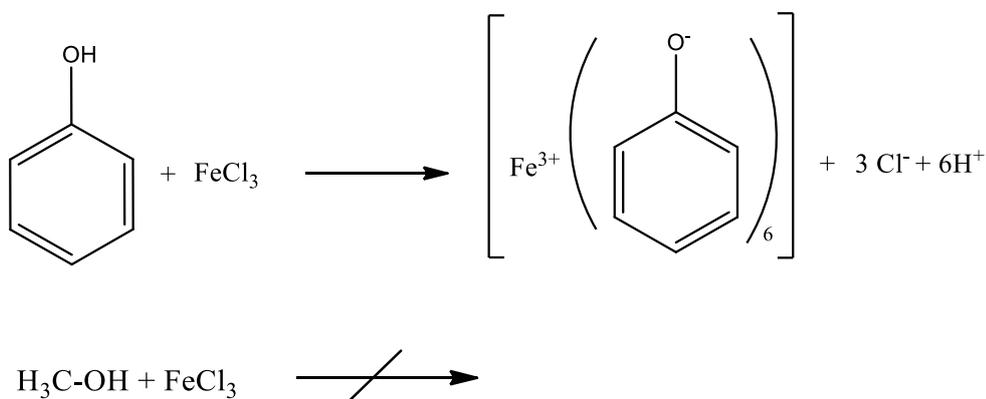
4.3. Uji Kimia Senyawa Flavonoid

Pengujian adanya senyawa flavonoid secara kimia dilakukan menggunakan uji dengan FeCl_3 , uji dengan air brom, uji wilstater, uji dengan reagen Tollens dan uji dengan reagen Fehling.

4.2.1. Uji dengan FeCl₃

Menurut Harborne (1987) senyawa fenol dapat dideteksi dengan menambahkan besi (III) klorida ke dalam sampel. Fenol serupa dengan alkohol tetapi gugus fungsinya melekat langsung pada cincin aromatik. Fenol dan senyawa yang mendukung gugus hidroksil yang terikat pada suatu atom karbon tak jenuh akan bereaksi membentuk senyawa kompleks dengan besi, sedangkan alkohol tidak dapat bereaksi dengan FeCl₃. Reaksi fenol dengan FeCl₃ akan menyebabkan perubahan warna kuning kecoklatan keruh (Utami, 2011), hijau kehitaman (Arum, 2010), atau warna lain tergantung pada struktur dari fenol dengan FeCl₃ (Harborne, 1987).

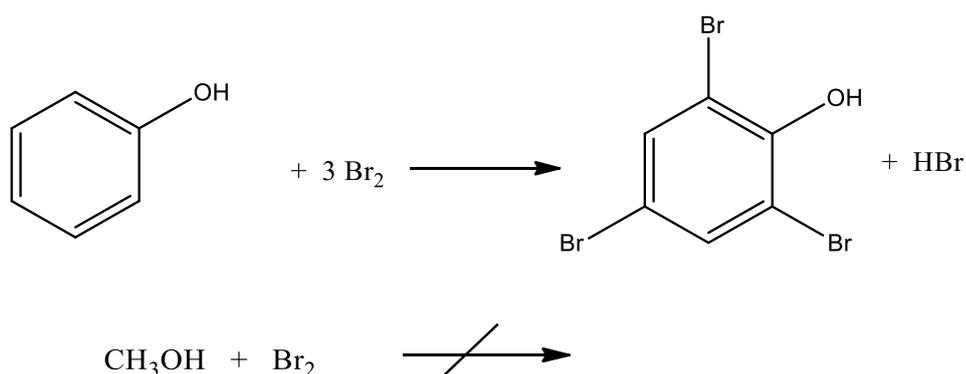
Berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit nanas basah (KNB) maupun kering (KNK), keduanya mengandung gugus hidroksil dari fenol. Hal ini ditandai dengan terbentuknya warna kuning kecoklatan. Reaksi antara fenol dengan FeCl₃ ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Reaksi fenol dengan FeCl₃

4.2.2. Uji dengan Air Brom

Uji ini dilakukan untuk menunjukkan adanya gugus hidroksil dari fenol. Berdasarkan pengamatan, ekstrak etil asetat KNB maupun KNK terbentuk warna kuning setelah ditambahkan air brom. Sehingga senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak mengandung gugus hidroksil dari fenol. Reaksi ini mengakibatkan cincin dari benzena dari fenol reaktif terhadap substitusi elektrofilik, sehingga berlangsung dalam keadaan sangat lemah. Sedangkan gugus hidroksil dari alkohol tidak dapat berlangsung (Utami, 2011). Reaksi fenol dengan Br_2 disajikan pada Gambar 4.6.

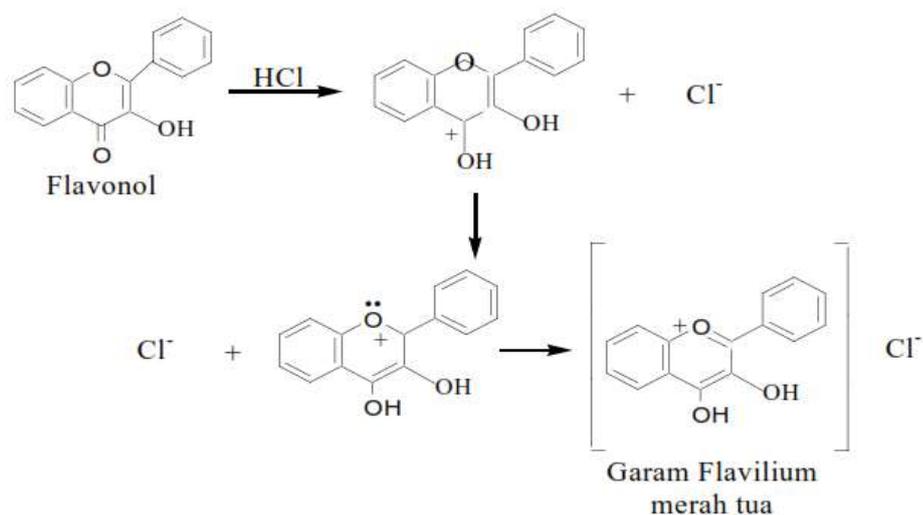


Gambar 4.6. Reaksi fenol dengan air brom

4.2.3. Uji Wilstater

Uji wilstater biasanya digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mempunyai inti α -benzopyron. Oleh sebab itu jika bereaksi dengan asam mineral akan menghasilkan garam flavilium yang berwarna merah magenta (Marliana *et al.*, 2005). Berdasarkan pengamatan, ekstrak etil asetat KNB dan KNK setelah direaksikan dengan HCl dan Mg terbentuknya warna merah tua dan jingga

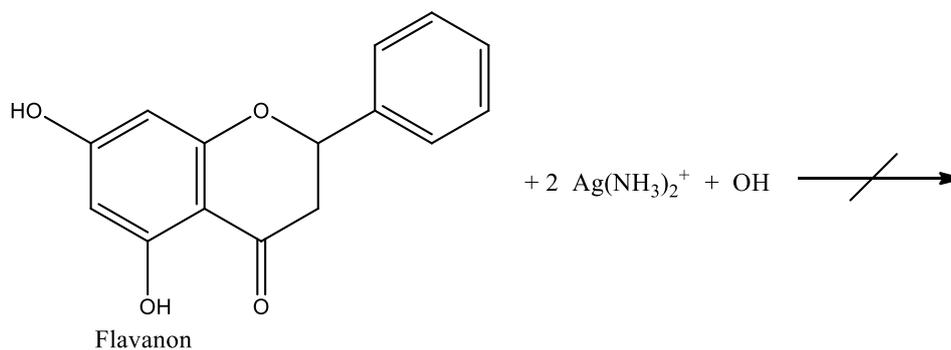
sehingga menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid. Reaksi pembentukan garam flavilium dicontohkan oleh flavonol seperti pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium (Marliana *et al.*, 2005)

4.2.4. Uji dengan Reagen Tollens

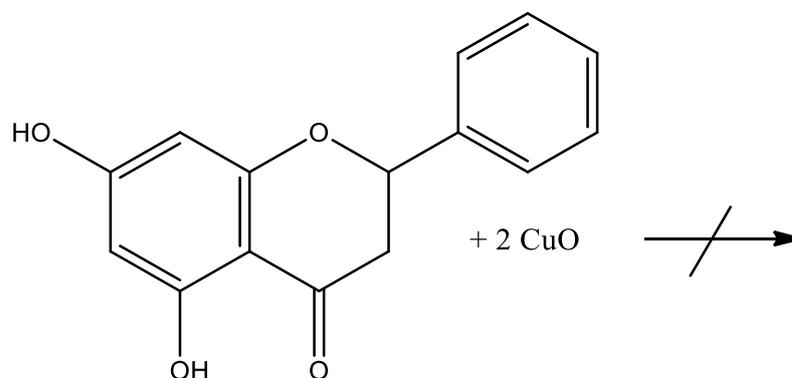
Reagen tollens digunakan untuk membedakan gugus C=O antara aldehid dan keton. Reagen ini tidak bereaksi dengan keton dan hanya akan bereaksi dengan aldehid yang ditandai dengan terbentuknya endapan perak sebagai cermin (Arum, 2010). Berdasarkan pengamatan, ekstrak etil asetat KNB maupun KNK setelah direaksikan dengan reagen Tollens dan dibantu dengan pemanasan 5 menit tidak terbentuk cermin perak, sehingga menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak mengandung C=O dari keton. Reaksi dengan reagen Tollens ditunjukkan pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Reaksi dengan reagen Tollens

4.2.5. Uji dengan Reagen Fehling

Selain reagen Tollens, reagen Fehling juga dapat digunakan untuk membedakan gugus C=O karbonil antara aldehyd dan keton. Fehling akan bereaksi dengan aldehyd dengan terbentuknya endapan kuning coklat dan tidak bereaksi dengan keton (Arum, 2010). Berdasarkan pengamatan, ekstrak etil asetat KNB maupun KNK setelah direaksikan dengan reagen Fehling dan dibantu dengan pemanasan 5 menit tidak terbentuk endapan kuning kecoklatan, sehingga menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak mengandung C=O dari keton. Reaksi dengan reagen Fehling ditunjukkan pada Gambar 4.9.



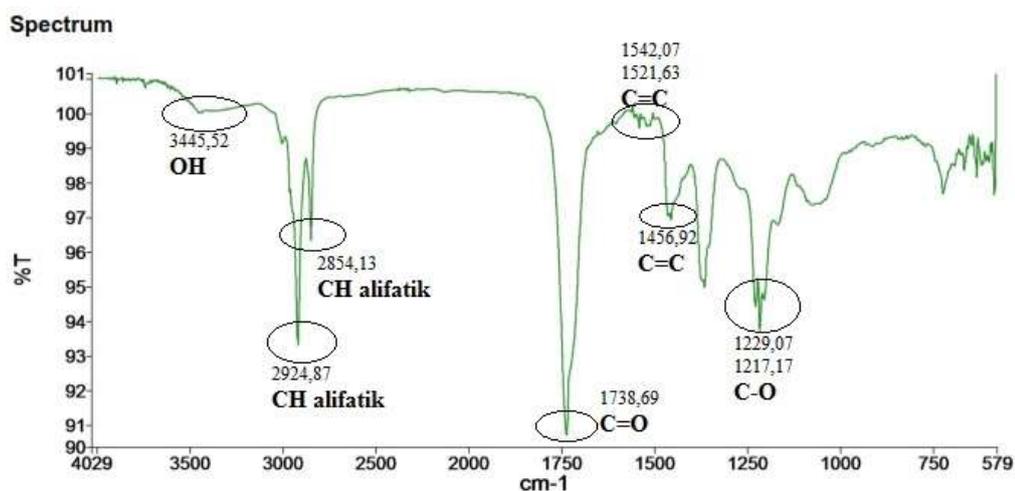
Gambar 4.9. Reaksi dengan reagen Fehling

4.4. Analisis Struktur dengan FTIR dan UV-Vis

Kedua ekstrak etil asetat kulit nanas yang telah diketahui positif mengandung flavonoid setelah diuji secara kimia kemudian dianalisis strukturnya menggunakan FTIR dan UV-Vis.

4.3.1 Analisis Struktur dengan FTIR

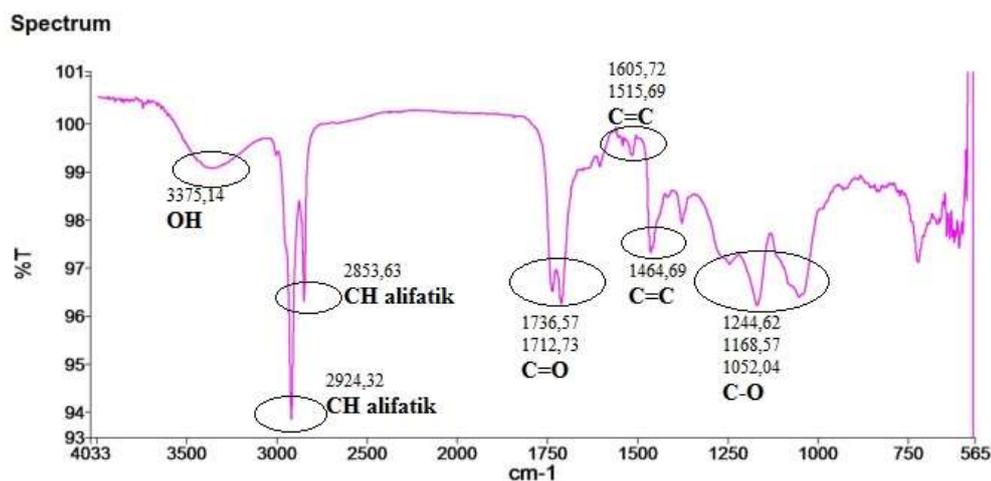
FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak kulit nanas. Spektrum FTIR ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) disajikan pada Gambar 4.10 dan Gambar 4.11.



Gambar 4.10. Spektrum ekstrak etil asetat kulit nanas basah

Berdasarkan Gambar 4.10 dan Gambar 4.11 menjelaskan kedua spektrum FTIR menunjukkan adanya serapan OH pada bilangan gelombang 3445,52 cm⁻¹ dan 3375,14 cm⁻¹, CH alifatic pada bilangan gelombang 2924,87 cm⁻¹ dan 2853,63 cm⁻¹, serapan C=O pada bilangan gelombang 1738,69 cm⁻¹ dan 1712,73 cm⁻¹, dan C=C aromatik pada bilangan gelombang antara 1456,92 cm⁻¹ dan

1464,69 cm^{-1} , serta C-O pada bilangan gelombang antara 1217,17 cm^{-1} dan 1168,57 cm^{-1} .



Gambar 4.11. Spektrum ekstrak etil asetat kulit nanas kering

Secara umum tidak ada perbedaan yang signifikan antara kedua spektrum.

Tabel karakteristik FTIR ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) disajikan pada Tabel 4.4 dan Tabel 4.5.

Tabel 4.4. Analisis FTIR ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB)

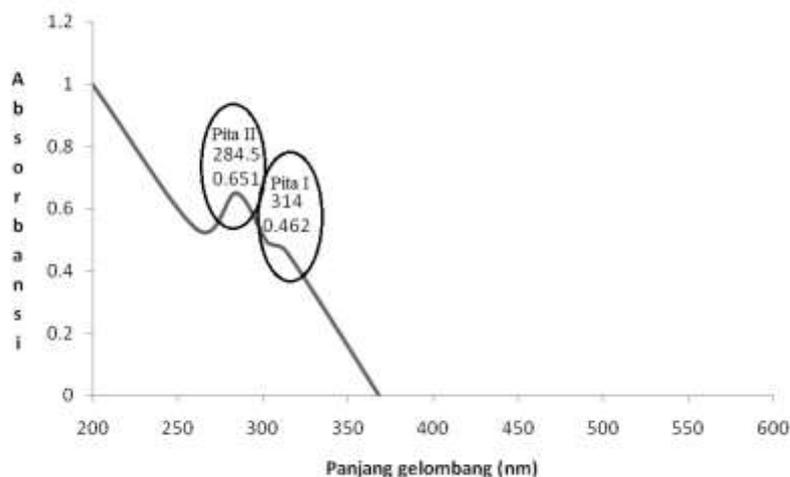
Bilangan Gelombang (cm^{-1})				
No	Pada Spektra	Pada Pustaka (Sastrohamidjojo, 2003; Silverstein <i>et al.</i> , 2002)	Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
1	3445,52	3500-3000	Melebar	-OH
2	2924,87	3000-2850	Tajam	-CH alifatik
3	2854,13	3000-2850	Tajam	-CH alifatik
4	1738,69	1810-1640	Tajam	-C=O
5	1542,07	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
6	1521,63	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
7	1456,92	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
8	1229,07	1300-1000	Tajam	-C-O
9	1217,17	1300-1000	Tajam	-C-O

Tabel 4.5. Analisis FTIR ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK)

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka (Sastrohamidjojo, 2003; Silverstein <i>et al.</i> , 2002)		
1	3375,14	3500-3000	Melebar	-OH
2	2924,32	3000-2850	Tajam	-CH alifatik
3	2853,63	3000-2850	Tajam	-CH alifatik
4	1736,57	1810-1640	Tajam	-C=O
5	1712,73	1810-1640	Tajam	-C=O
6	1605,72	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
7	1515,69	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
8	1464,69	1650-1400	Tajam	-C=C aromatik
9	1244,62	1300-1000	Tajam	-C-O
10	1168,57	1300-1000	Tajam	-C-O
11	1052,04	1300-1000	Tajam	-C-O

4.3.2 Analisis Struktur dengan UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya ikatan rangkap terkonjugasi dan juga untuk menentukan jenis inti yang terdapat dalam senyawa flavonoid. Hasil spektrum UV-Vis dari ekstrak etil asetat KNB disajikan pada Gambar 4.12.

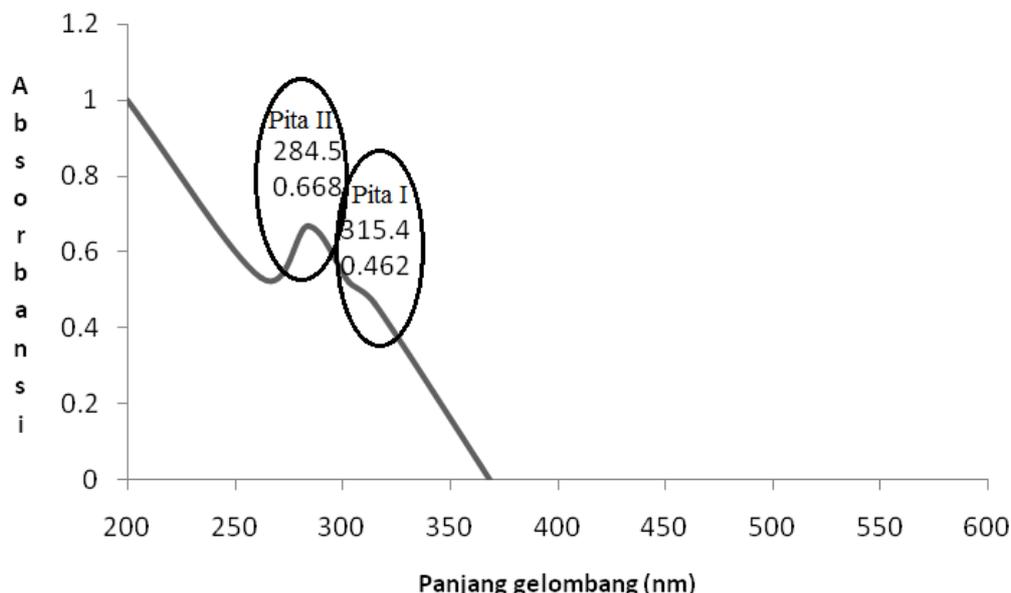


Gambar 4.12. Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB)

Berdasarkan spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNB tersebut diperoleh dua puncak serapan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid yaitu puncak II pada 284,5 nm dan puncak I (bahu) pada 314 nm. Menurut Markham (1988), serapan maksimum tersebut merupakan ciri khas senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol yang memiliki serapan maksimum antara 275-295 nm pada pita II dan 300-330 (bahu) nm pada pita I.

Senyawa golongan flavonoid umumnya memiliki dua pita serapan yaitu pita I dan pita II, karena adanya resonansi yang melibatkan cincin B dan C (pita I) dan cincin A (pita II). Pola oksigenasi atau kemungkinan letak substituen gugus hidroksi (OH) pada kerangka flavanon atau dihidroflavonol dapat dilihat dari beberapa pereaksi geser diantaranya NaOH 2 M, AlCl₃, dan AlCl₃-HCl (Markham, 1988).

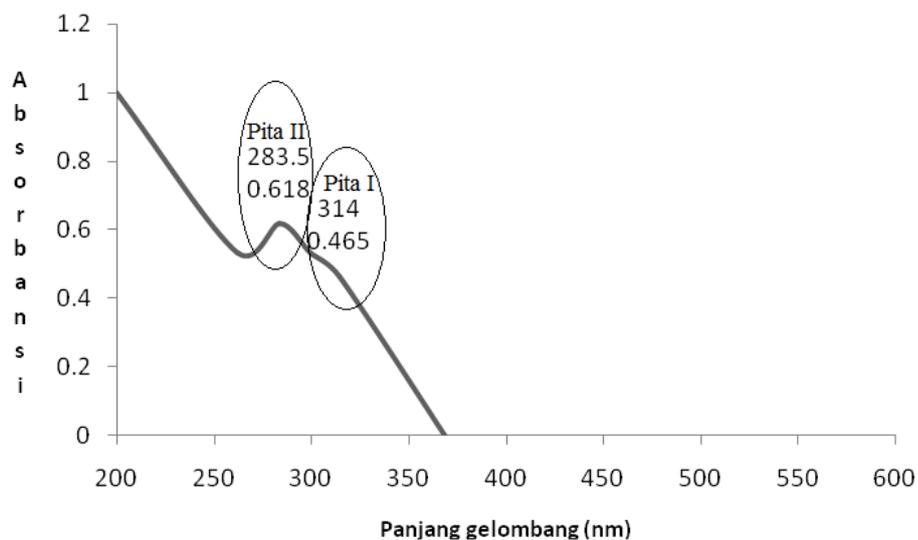
NaOH 2 M digunakan sebagai pengganti pereaksi geser NaOMe. Spektrum ini biasanya merupakan petunjuk sidik jari pola hidroksilasi dan juga bermanfaat untuk mendeteksi gugus hidroksil yang lebih asam dan tidak tersubstitusi (Markham, 1988). Spektrum UV-Vis dengan pereaksi geser NaOH dapat dilihat pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser NaOH

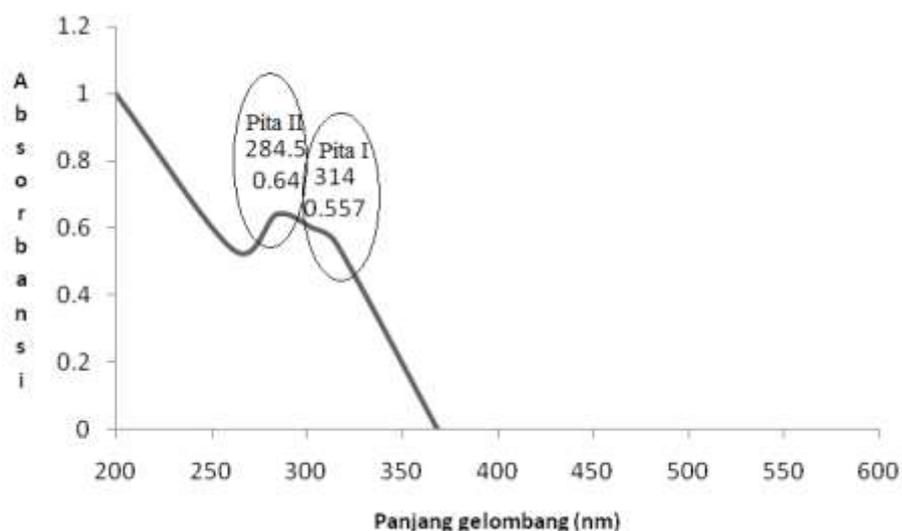
Spektrum dari penambahan pereaksi geser NaOH (Gambar 4.13) menunjukkan adanya pergeseran serapan puncak I pada 315,4 nm dan puncak II tetap pada 284,5 nm. Akan tetapi pembacaan spektrum 5 menit selanjutnya terjadi pergeseran sebanyak 0,5 nm pada puncak panjang gelombang II yang merupakan geseran batokromik (pergeseran panjang gelombang serapan maksimum ke arah panjang gelombang yang lebih tinggi) sehingga kemungkinan gugus OH terletak pada cincin A yaitu pada atom C-7 (Markham, 1988).

Spektrum UV-Vis dengan pereaksi geser AlCl_3 dan $\text{AlCl}_3\text{-HCl}$ digunakan untuk mendeteksi gugus orto-dihidroksil yang membentuk kompleks tak tahan asam dan mendeteksi gugus hidroksil dan keton yang bertetangga yang membentuk kompleks tahan asam (Markham, 1988). Spektrum UV-Vis dengan pereaksi geser AlCl_3 dan $\text{AlCl}_3\text{+HCl}$ disajikan pada Gambar 4.14 dan 4.15.



Gambar 4.14. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser AlCl_3

Spektrum dari penambahan pereaksi geser AlCl_3 (Gambar 4.14) menunjukkan pergeseran hipokromik yang terjadi pada pita II sebanyak 1 nm dan tidak terjadi pergeseran setelah ditambahkan pereaksi HCl (Gambar 4.15). Hal ini menunjukkan tidak ada gugus orto dihidroksil pada C-4' maupun C-5' dan tidak ada gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang dapat membentuk kompleks apabila berikatan dengan gugus keton dengan bantuan AlCl_3/HCl .



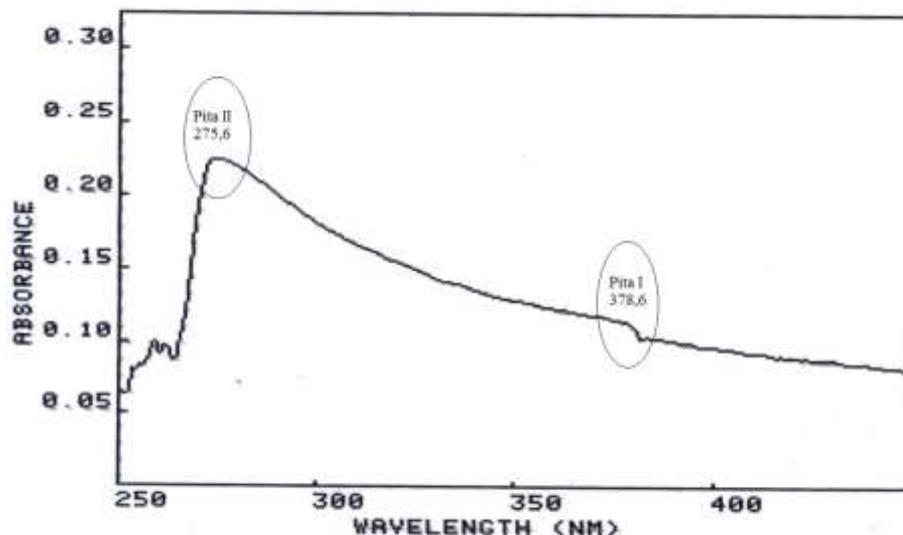
Gambar 4.15. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser AlCl_3+HCl

Tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3 menandakan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak bukan merupakan golongan dihidroflavonol, melainkan merupakan senyawa flavonoid golongan flavanon (Markham, 1988). Dugaan ini diperkuat dengan uji warna yaitu reduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat yang menunjukkan perubahan warna merah yang sesuai dengan warna flavanon (Harborne, 1987). Pergeseran hipokromik yang terjadi pada pita II setelah penambahan pereaksi geser AlCl_3 , menunjukkan adanya gugus O-glikosida pada atom C-7 (Markham, 1988). Spektrum UV-Vis sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dan data tabulasi sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dipaparkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6. Data spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNB sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

Pereaksi	Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)		Geseran Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Metanol	314	284,5		
Metanol + NaOH	315,4	284,5	+1,4	-
Metanol + NaOH(5 menit)	315,4	285	+1,4	+0,5
Metanol + AlCl_3	314	283,5	-	-1,0
Metanol + AlCl_3 +HCl	314	284,5	-	-

Asih & Setiawan (2008) mengisolasi senyawa flavonoid dari kulit batang bungur (*Lagerstroemia speciosa Pers.*). Senyawa yang diperoleh diduga merupakan golongan flavanon dengan kemungkinan substituen gugus O-glikosida pada atom C-7. Hasil spektrum UV-Vis senyawa flavonoid golongan flavanon dari kulit awar-awar disajikan pada Gambar 4.16 dan data tabulasi pada Tabel 4.7.

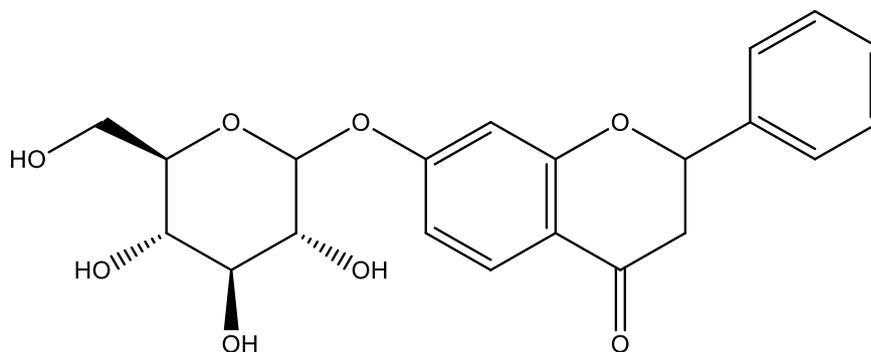


Gambar 4.16. Spektrum UV-Vis flavanon dari kulit batang bungur

Tabel 4.7 Data spektrum UV-Vis flavanon dari kulit batang bungur sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

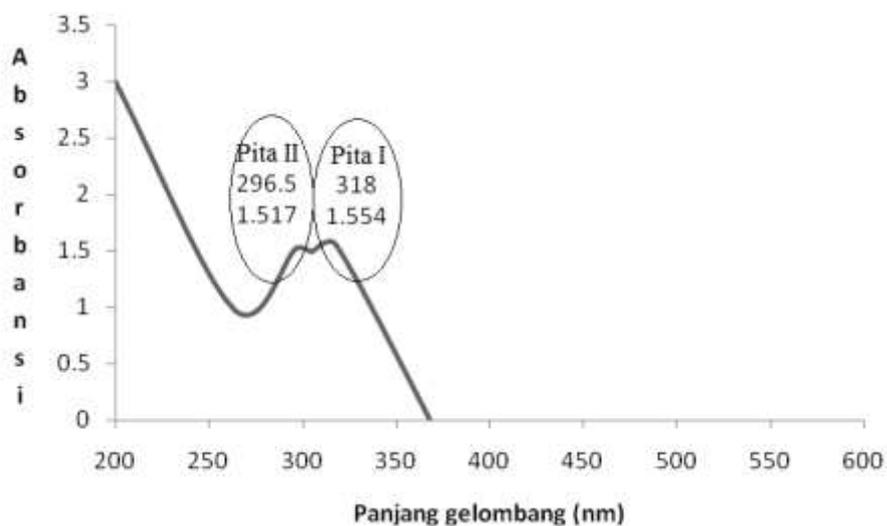
Pereaksi	Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)		Geseran Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Metanol	378,6	275,6		
Metanol + NaOH	375,6	276,9	-3,0	+1,3
Metanol + NaOH(5 menit)	376,8	276,0	-1,8	+0,4
Metanol + AlCl ₃	375,6	275,5	-3,0	-0,1
Metanol + AlCl ₃ +HCl	375,6	274,1	-3,0	-1,5

Berdasarkan analisis UV-Vis dan analisis spektrum inframerah yang didapat, penelitian ini sesuai dengan penelitian Asih & Setiawan (2008), sehingga senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kulit nanas basah diduga termasuk golongan flavanon dengan kemungkinan substituen gugus O-glikosida pada atom C-7. Struktur senyawa flavanon dari ekstrak etil asetat KNB ditunjukkan pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17. Struktur flavanon (flavanon 7-O-glikosida)

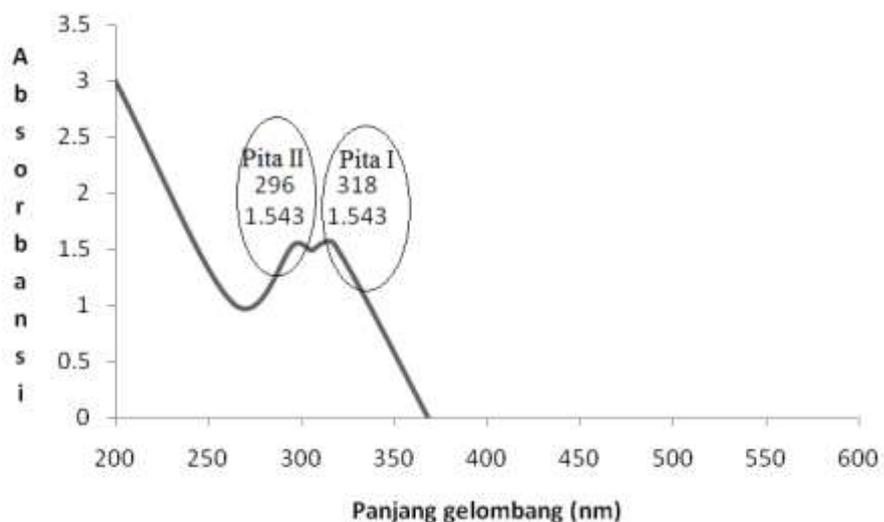
Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNK juga diperoleh dua puncak serapan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid yaitu puncak II pada 296,5 nm dan puncak I pada 318 nm. Serapan tersebut juga termasuk senyawa flavonoid golongan flavanon atau dihidroflavonol (Markham, 1988). Spektrum disajikan pada Gambar 4.18.



Gambar 4.18. Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK)

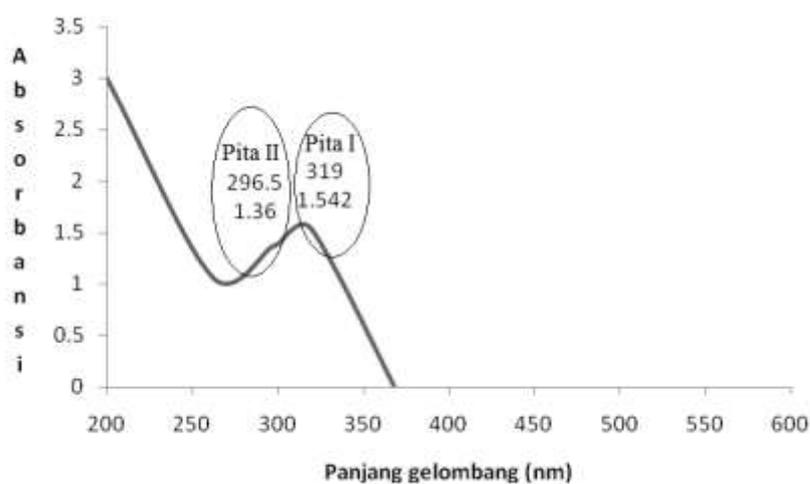
Berdasarkan spektrum dari penambahan pereaksi geser NaOH (Gambar 4.19) menunjukkan adanya pergeseran hipokromik pada puncak II sebanyak 0,5 nm sehingga kemungkinan terdapat gugus orto dihidroksil pada cincin A

(Markham, 1988). Spektrum UV-Vis dengan pereaksi geser NaOH disajikan pada Gambar 4.19.



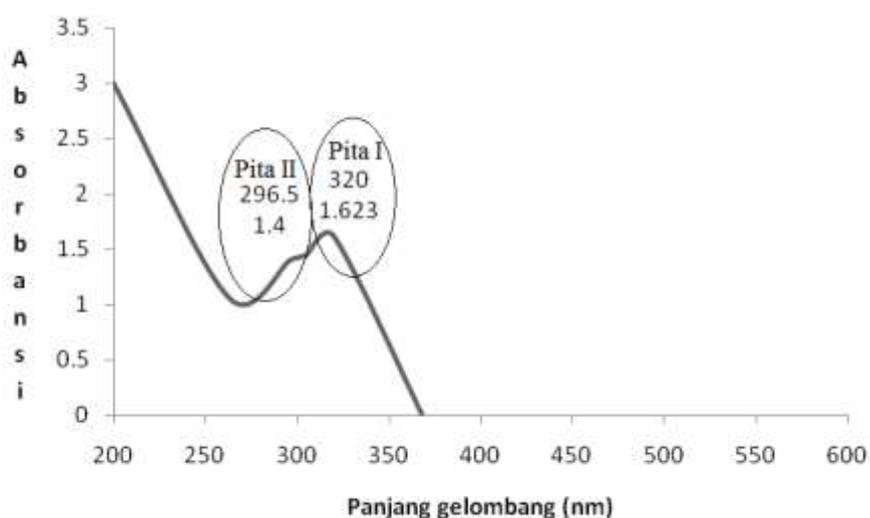
Gambar 4.19. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser NaOH

Spektrum dari penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ menunjukkan adanya pergeseran batokromik pada pita I sebesar 1 nm sehingga kemungkinan terdapat gugus orto dihidroksil pada C-4' maupun C-5' yang membentuk kompleks tak tahan asam. Spektrum dari penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ ditunjukkan pada Gambar 4.20.



Gambar 4.20. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser $AlCl_3$

Spektrum penambahan pereaksi geser AlCl_3+HCl menunjukkan adanya pergeseran batokromik pada pita I sebesar 2 nm, sehingga kemungkinan terdapat gugus hidroksil pada C-3 yang dapat membentuk kompleks tahan asam dengan gugus keton (Markham, 1988). Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser AlCl_3+HCl ditunjukkan pada Gambar 4.21.



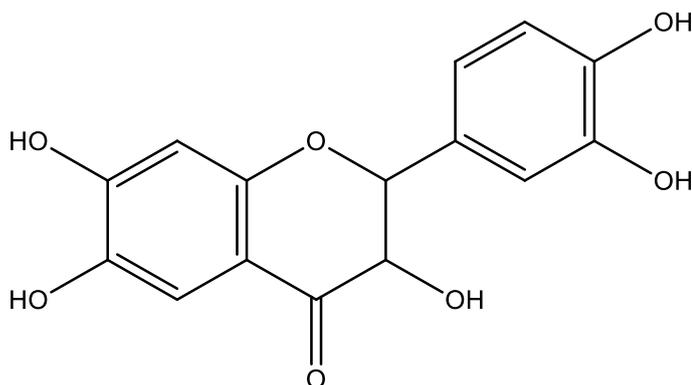
Gambar 4.21. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser AlCl_3+HCl

Adanya gugus hidroksil pada atom C-3 menandakan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak bukan merupakan golongan flavanon, melainkan merupakan senyawa flavonoid golongan dihidroflavonol (Markham, 1988). Penambahan pereaksi geser dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8. Data spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat KNK sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

Pereaksi	Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)		Geseran Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
Metanol	318	296,5		
Metanol +NaOH	318	296	-	-0,5
Metanol +NaOH(5 menit)	318	296	-	-0,5
Metanol + AlCl_3	319	296,5	+1	-
Metanol + AlCl_3+HCl	320	296,5	+2	-

Perkiraan struktur senyawa dihidroflavonol dari ekstrak KNK ditunjukkan pada 4.22.



Gambar 4.22. Struktur dihidroflavonol (3,6,7,4',5' pentahidroksi flavanon)

4.5. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB) dan Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK)

Pengujian aktivitas antimikroba bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) sebagai antimikroba terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. Uji aktivitas antimikroba ini menggunakan metode difusi sumuran (perforasi). Difusi sumuran dilakukan dengan mengisi lubang sumuran dengan ekstrak yang akan diuji. Pengujian dilakukan dengan mengukur diameter daerah hambatan (DDH) yang berwarna bening pada difusi sumuran. Apabila diameter zona hambat yang terbentuk pada uji difusi sumuran berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatan dikategorikan lemah, 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat (Liana, 2010).

Masing-masing ekstrak kering yang akan diujikan diencerkan menggunakan etil asetat teknis dengan konsentrasi 1 %, 2 % dan 4 %. Tabel 4.7

menunjukkan aktivitas ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) lebih efektif dibanding ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK). Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) terhadap bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 1% menunjukkan diameter 12,5 mm, konsentrasi 2% menunjukkan diameter 13,75 mm dan konsentrasi 4% menunjukkan diameter 14,25 mm. Aktivitas terhadap bakteri *S.aureus* dengan konsentrasi 1% menunjukkan diameter 11,5 mm, konsentrasi 2% menunjukkan diameter 11,65 mm dan konsentrasi 4% menunjukkan diameter 12 mm.

Pengujian aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) terhadap bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 1% menunjukkan diameter 12,5 mm, konsentrasi 2% menunjukkan diameter 14 mm dan konsentrasi 4% menunjukkan diameter 15 mm. Aktivitas terhadap bakteri *S.aureus* dengan konsentrasi 1% menunjukkan diameter 11 mm, konsentrasi 2% menunjukkan diameter 11,75 mm dan konsentrasi 4% menunjukkan diameter 13 mm.

Berdasarkan pengamatan pada zona bening, konsentrasi ekstrak yang lebih rendah terlihat tidak terlalu bening, sedangkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, zona bening semakin bening. Hal ini disebabkan semakin tinggi kadar senyawa bioaktif maka umumnya bersifat bakterisida (mematikan mikroba) dan kadar yang lebih rendah biasanya hanya bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan, bukan mematikan mikroba) (Kamal *et al.*, 2012).

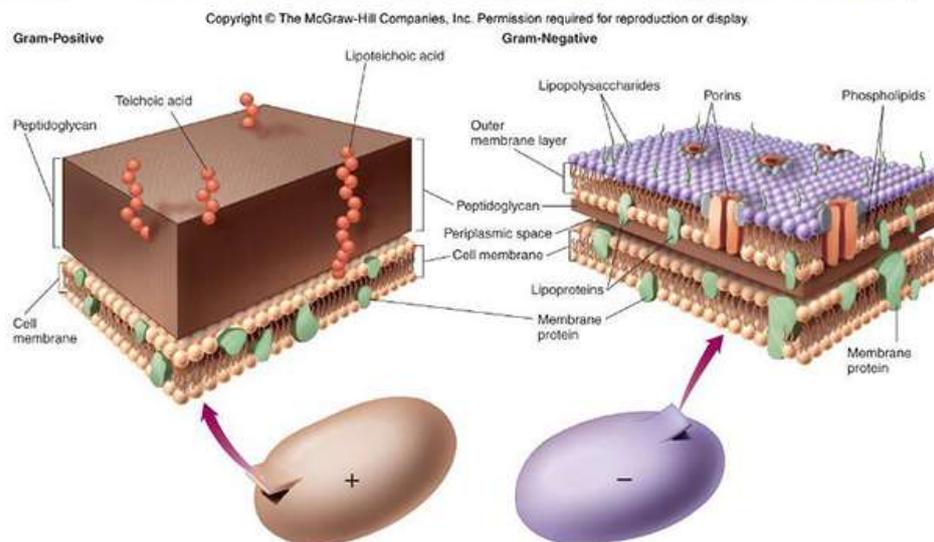
Tabel 4.9. Diameter daerah hambat (mm) ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) dan ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) terhadap bakteri *e.coli* dan *s.aureus*

Sampel	Diameter (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	1%	2%	4%	1%	2%	4%
KNK						
D1	12	12,5	13	11,5	11,7	12
D2	13	15	15,5	11,5	11,6	12
Rata-rata	12,5	13,75	14,25	11,5	11,65	12
KNB						
D1	12	14	15	11	12	13
D2	13	14	15	11	11,5	13
Rata-rata	12,5	14	15	11	11,75	13
Kontrol(-) Etil asetat						
D1	12,5	-	-	11	-	-
D2	12	-	-	11	-	-
Rata-rata	12,25	-	-	11	-	-

Keterangan : diameter zona hambat termasuk ukuran disc 10 mm

Berdasarkan Tabel 4.9, ekstrak cenderung lebih sensitif terhadap bakteri Gram negatif dibanding bakteri Gram positif. Penelitian ini sesuai dengan penelitian Sukadana (2010) dan Parubak (2013) yang menyebutkan bahwa senyawa flavanon yang diisolasi dari kulit awar-awar dan daun akway cenderung lebih sensitif menghambat bakteri *E.coli* (gram negatif) dibandingkan *Vibrio colera* (gram positif). Menurut Pelezar & Chan (1988), hal ini disebabkan karena bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis daripada bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari 10% peptidoglikan, lipopolisakarida dan kandungan lipid 11-12 %, sedangkan dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari 60-100% peptidoglikan, dan lipid 1-4%. Perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif disajikan pada Gambar 4.23.

Differences between Gram Positive and Gram Negative Bacteria



Gambar 4.23. Dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif (Anonim, 2015c)

Kontrol negatif yang digunakan berupa etil asetat teknis yang merupakan pelarut ekstrak. Menurut Solikhah (2015) kontrol negatif pada difusi sumuran berfungsi untuk melihat pelarut pada ekstrak yang digunakan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau tidak, karena kemungkinan daya antimikroba yang didapat tidak hanya dari ekstrak melainkan juga dari pelarutnya. Berdasarkan hasil penelitian etil asetat sebagai kontrol negatif ternyata mampu menghambat mikroba sehingga daya hambat ekstrak harus dikurangi dengan daya hambat kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiap-tiap konsentrasi ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) maupun ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) setelah dikurangi diameter zona hambat pelarut memiliki aktivitas penghambatan kurang dari 5 mm yang tergolong hambatan yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

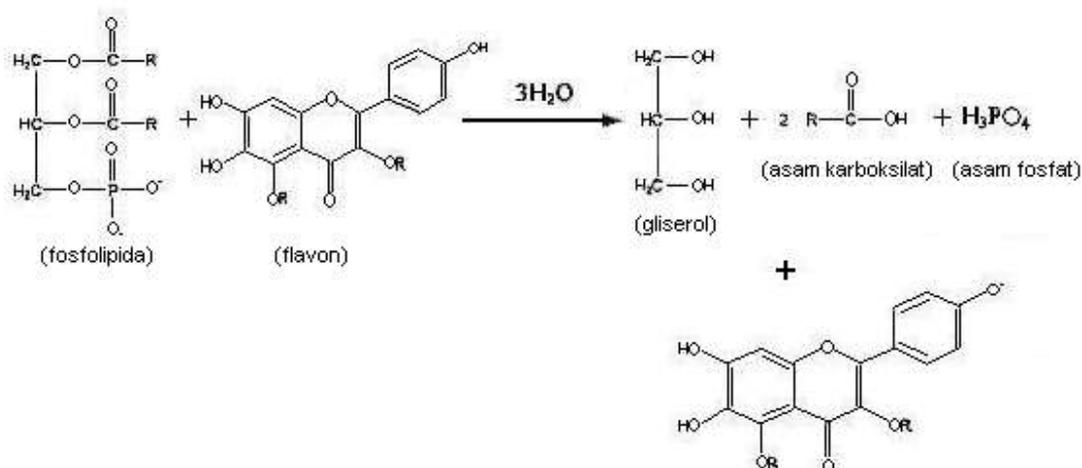
Tabel 4.10. Diameter daerah hambat (mm) ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) dan ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) terhadap bakteri *s.aureus* dan *e.coli* setelah dikurangi DDH kontrol negatif

Sampel	Diameter (mm)					
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	1%	2%	4%	1%	2%	4%
KNK						
Rata-rata	0,5	0,65	1	0,25	1,25	2
KNB						
Rata-rata	0	0,75	2	0,25	1,75	2,75

Berdasarkan Tabel 4.10, efek ekstrak sebagai antibakteri tergolong bakteriostatik. Efek penghambatan pertumbuhan bakteri ini terjadi karena adanya reaksi suatu senyawa kimia yang diduga merupakan senyawa flavonoid jenis flavanon. Menurut Chusnie & Lamb (2005) mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dibagi menjadi tiga, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa pada asam nukleat yang akan menghambat pembentukan DNA dan RNA. Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan lisosom. Kedua, mekanisme antibakteri flavonoid dengan cara menghambat fungsi membran sel yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga akan merusak membran sel diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Ketiga, mekanisme antibakteri flavonoid dengan cara menghambat metabolisme energi yaitu flavonoid menghambat sitokrom C reduktase sehingga proses metabolisme dan biosintesis makromolekul menjadi terhambat.

Menurut Volk & Wheeler (1988), senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri.

Menurut Prajitno (2007), pada perusakan membran sitoplasma ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Prajitno (2007) menjelaskan reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon ditunjukkan dalam Gambar 4.24.



Gambar 4.24. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

1. Senyawa flavonoid dari ekstrak kulit nanas basah (KNB) dan ekstrak kulit nanas kering (KNK) diduga merupakan golongan flavanon (KNB) dan dihidroflavonol (KNK) yang mempunyai gugus OH terikat, CH alifatik, C=O, C=C aromatik, dan C-O. Selain itu senyawa flavanon (KNB) juga mempunyai gugus O-glikosida pada atom C-7, tidak mempunyai gugus orto dihidroksil pada cincin A, B dan C, sedangkan pada senyawa dihidroflavonol (KNK) mempunyai gugus orto dihidroksil pada atom C-6 dan C-7 (cincin A), gugus orto dihidroksil pada C-4' dan C-5' (cincin B), dan gugus hidroksil pada atom C-3.
2. Ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB) maupun ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK) berpotensi sebagai antimikroba, akan tetapi ekstrak etil asetat KNB lebih efektif menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dibandingkan ekstrak etil asetat KNK pada konsentrasi 4 % dengan memberikan zona bening terbesar berturut-turut 13 mm dan 15 mm dibanding ekstrak etil asetat KNK berturut-turut 12 dan 14,25 mm.

5.2 Saran

1. Perlu adanya penelitian lanjut untuk menentukan struktur dari isolat menggunakan metode $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan GC-MS.

2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk memanfaatkan kulit nanas sebagai antimikroba selain pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, F.R. & F. Handayani. 2007. *Budidaya dan Pasca Panen Nanas*. Kalimantan Timur: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.
- Agnes, L.O.W., A. Ayucitra, & N. Indraswati. 2013. Ekstraksi Kulit Petai Sebagai Sumber Antioksidan Alami Dengan Metode Domestic Microwave Maceration. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, Vol. 11, No. 5.
- Anonim. 2007. Staphylococcus aureus. Tersedia di https://commons.wikimedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus [diakses 16-10-2015].
- Anonim. 2013. E.coli Bacteria. Tersedia di <https://www.flickr.com/photos/54591706@N02/16578744517> [diakses 16-10-2015].
- Anonim. 2015a. Benefits of Pineapples. Tersedia di www.med-health.net/Pineapple-Benefits.html [diakses 22-10-2015].
- Anonim. 2015b. Menjadikan Kulit nanas Pakan Bermutu. Tersedia di http://m.tabloidsinartani.com/index.php?id=148&tx_ttnews%5Btt_news%5D=1595&cHash=14e947c48f2a0fb6439588e23391be31 [diakses 22-10-2015].
- Anonim. 2015c. Perbedaan Antara Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Tersedia di <http://laboratoryinfo.blogspot.co.id/2015/07/perbedaan-antara-bakteri-gram-positif.html> [diakses 28-10-2015].
- Arum, Y.P. 2010. *Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (Muntingia Calabura)*. Skripsi. Semarang: FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Asih, I.A.R.A. & I.M.A. Setiawan. 2008. Senyawa Golongan Flavonoid pada Ekstrak N-Butanol Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.). *Jurnal Kimia*, (2): 111-116.
- Astarina, N.W.G., K.W. Astuti, & N.K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb). *Jurnal Farmasi Udayana*.
- Cushnie, T.P.T & A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (26): 343-356.
- Fessenden, R.J. & J.S. Fessenden. 1982. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Edisi ke-2 diterjemahkan oleh Padmawinata*. Bandung: Penerbit ITB.

- Hartati, I. 2010. *Isolasi Alkaloid dari Tepung Gadung (Dioscorea Hispida Dennst) dengan Teknik Ekstraksi Berbantu Gelombang Mikro*. Tesis. Universitas Diponegoro.
- Hayati, E.K. 2007. *Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*. Malang : Universitas Negeri Malang Press.
- Hayati, E.K. & N. Halimah. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Plant Extract. *Alchemy*, Vol. 1 No.2.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, Adelberg E.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Kalaiselvi, M., D. Gomathi, & C. Uma. 2012. Occurrence of Bioactive Compounds in *Ananus comosus (L)* : A Standardization by HPTLC. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S1341-S1346.
- Kamal, A., A. Binadja & Sudarmin. 2012. Aktivitas Antimikroba Senyawa Hasil Reaksi Hidrasi Kariofilena pada *E.coli* dan *S.aureus*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 1 (2) : 2252-6951.
- Liana, I. 2010. *Aktivitas Antimikroba Fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Senggani (Melastoma candidum D. Don) terhadap Staphylococcus aureus dan Salmonella typhimurium serta Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Teraktif*. Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Lu, X.H., D.Q. Sun, Q.S. Wu, S.H. Liu, & G.M. Sun. 2014. Physico-Chemical Properties, Antioxidant Activity and Mineral Contents of Pineapple Genotypes Grown in China. *Molecules*, (19) 8518-8532.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Marliana, S.D., V. Suryanti, & Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3 (1): 26-31.
- Marlinda, M., M.S. Sangi, & A.D. Wuntu. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1 (1) 24-28.
- Nuswamarhaeni, S. 1999. *Mengenal Buah Unggul Indonesia*. Jakarta: Penebar.
- Parubak, A.S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibakteri dari Akway (*Drimys becariana*. Gibbs). *Chem. Prog*, Vol. 6, No.1.
- Pelezar, M.J., & E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid 2*. Jakarta: UI Press.

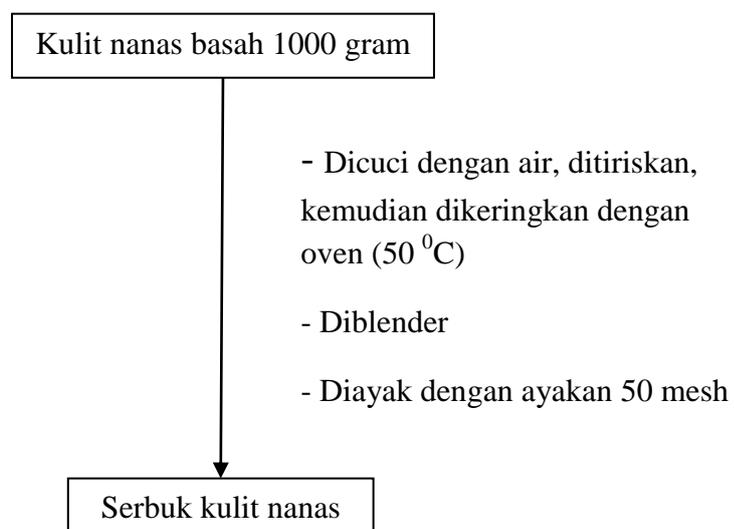
- Prajitno, A. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein*, No. 2, Vol. 15.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Rukmana, R.1996. *Nanas: Budidaya dan Pascapanen*.Yogyakarta: Kanisius.
- Sandhar, H.K., B. Kumar, S. Prasher, P. Tiwari, M. Salhan, & P. Sharma. 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol. 1 Issue 1.
- Sastrohamidjojo, H. 2003. *Spektroskopi Inframerah*. Yogyakarta: UGM.
- Silverstein. 2002. *Identification of Organic Compound, 3rd Edition*. New York: John Wiley & Sons Ltd.
- Solikhah, 2015. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Batang dan Daun Kemangi(Ocimum Basilicum L.)*. Skripsi. Semarang: FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Sukadana, I.M. 2010. Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar (*Ficus Septica Burm F*). *Jurnal Kimia*, 4 (1) 63-70.
- Sukadana, I.M. 2009. Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa Carambola Linn. L*). *Jurnal Kimia*, 3 (2) 109-116.
- Sunarjono, H.H. 2008. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tochi B.N, Z. Wang, S.Y. Xu, & W. Zhang. (2008). Therapeutic Application of Pineapple Protease (Bromelain): A Review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(4): 513-520.
- Utami, R.D. 2011. *Bioinsektisida Flavonoid dari Biji Mahoni (Swieteniae semen)*. Skripsi. Semarang: FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Volk, W.A. & Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Xiao, W., L. Han, & B. Shi. 2008. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids from Radix Astragali. *Separation and Purification Technology*, 62(3): 614–618.
- Zhu, H., Y. Wang, Y. Liu, Y. Xia, & T. Tang. 2010. Analysis of Flavonoids in *Portulaca oleracea L*. by UV–Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. *Food Anal. Methods*, (3): 90–97.

LAMPIRAN

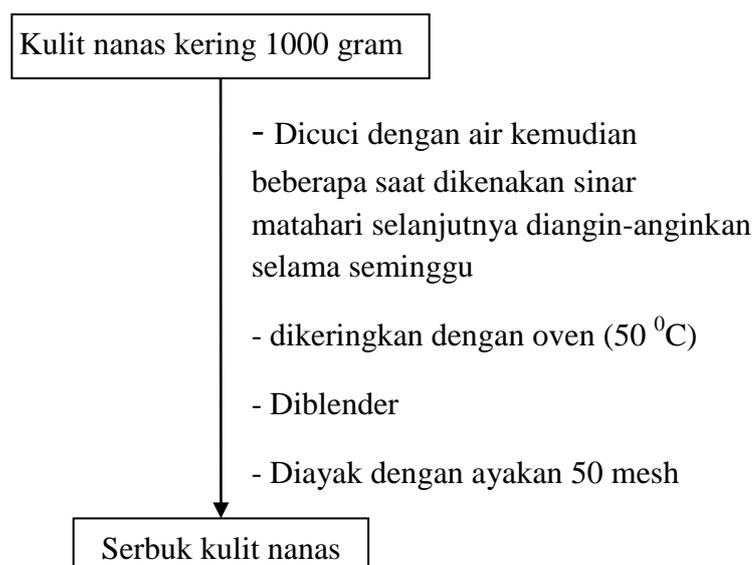
Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian

1. Persiapan Sampel

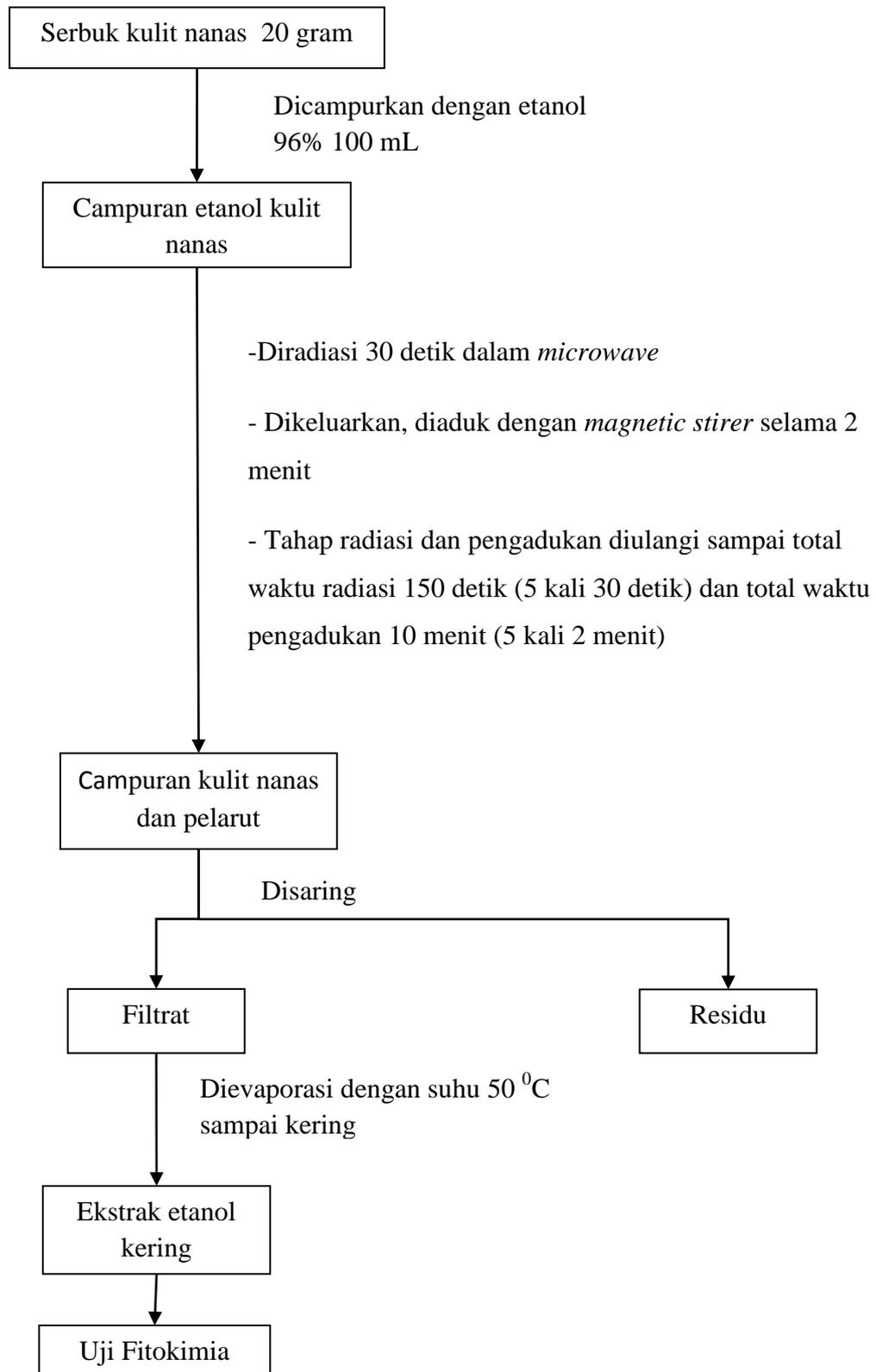
1.1. Persiapan Sampel Kulit Nanas Basah



1.2. Persiapan Sampel Kulit Nanas Kering

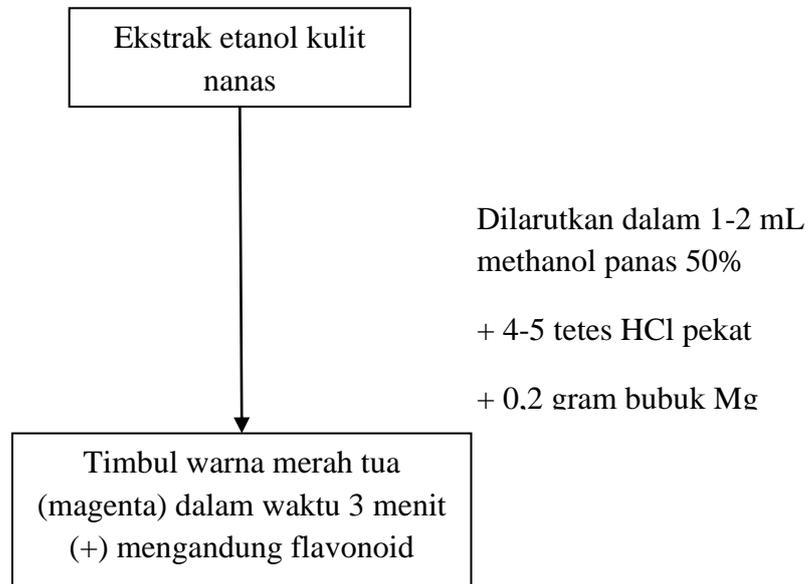


2. Persiapan Ekstrak

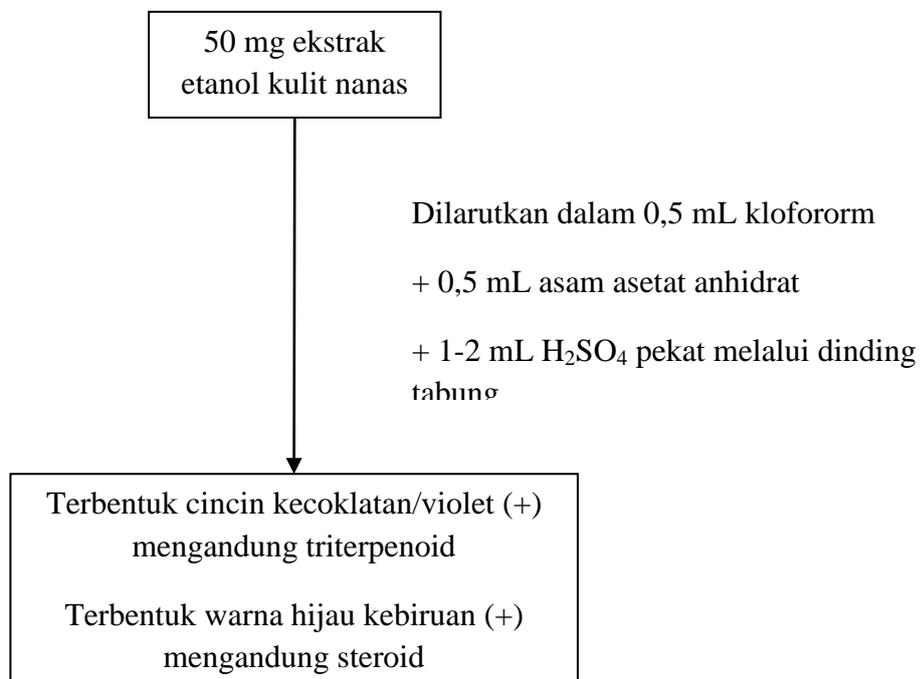


3. Uji Fitokimia

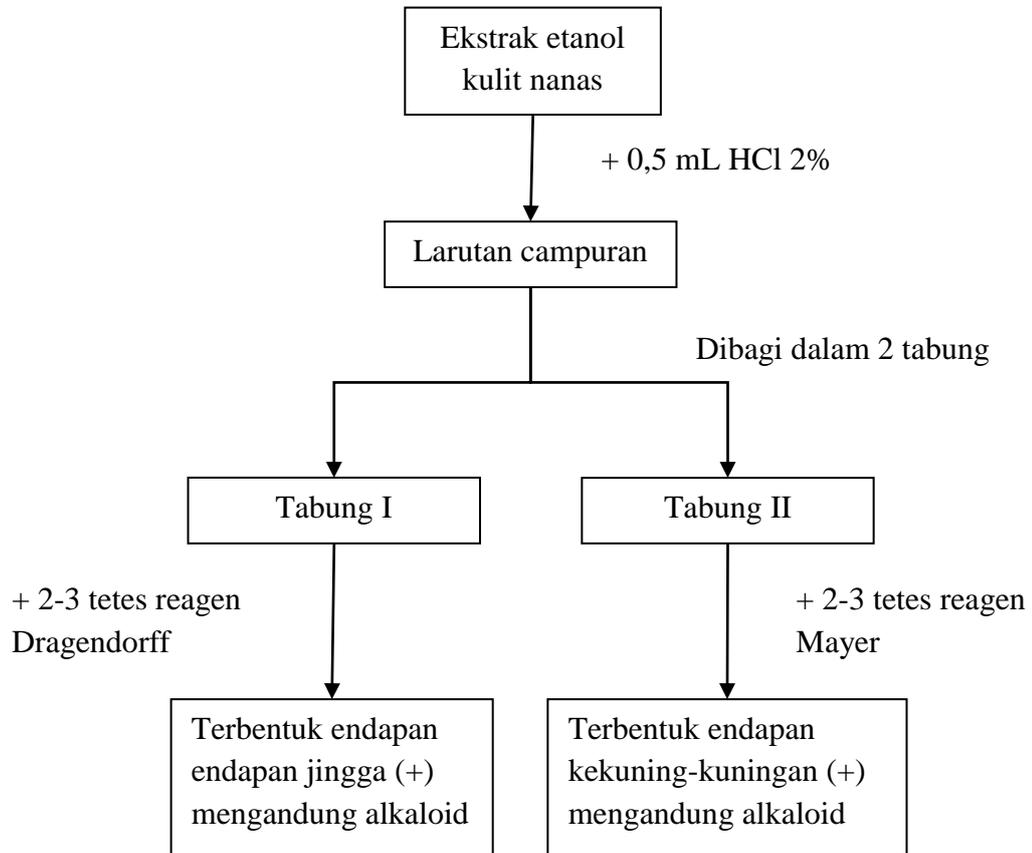
3.1. Uji Flavonoid



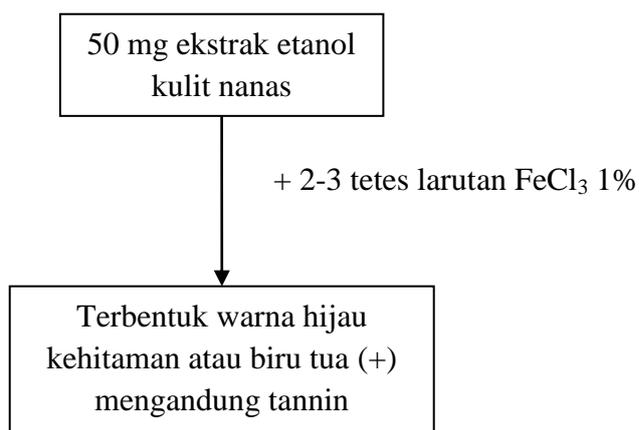
3.2. Uji Triterpenoid dan Steroid



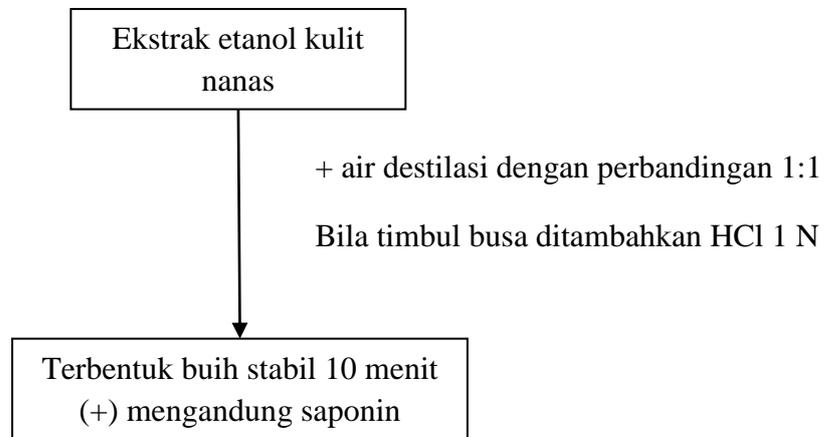
3.3. Uji Alkaloid



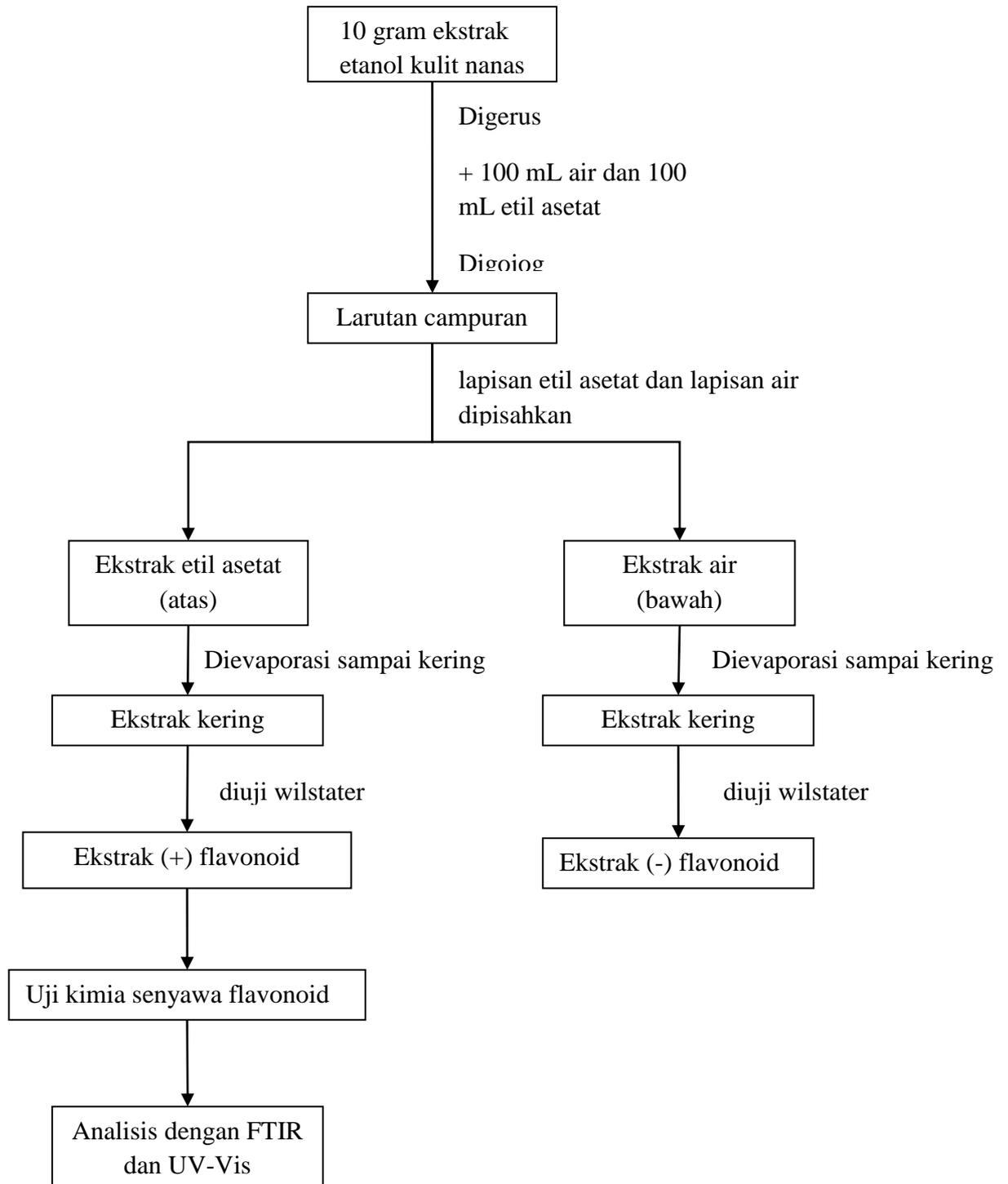
3.4. Uji Tannin



3.5. Uji Saponin

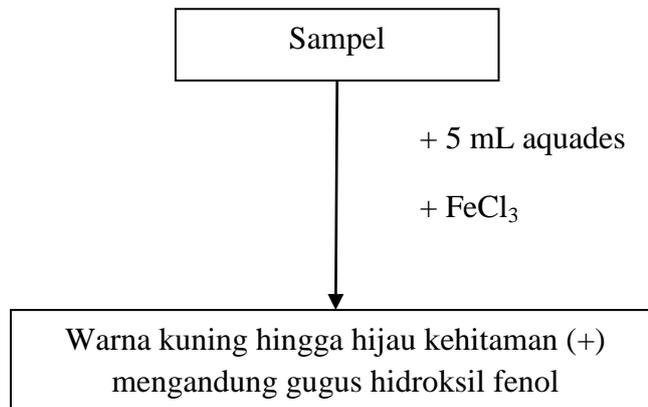


4. Pemisahan Flavonoid Kasar dengan Partisi Pelarut Etil Asetat-Air

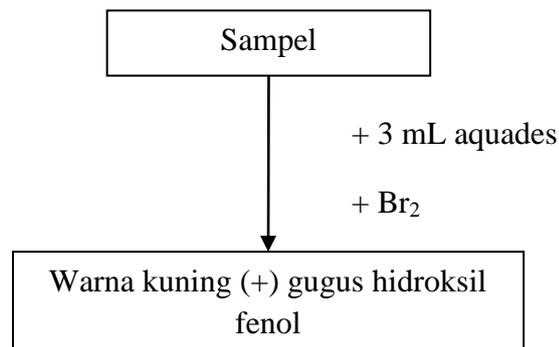


5. Uji Kimia Senyawa Flavonoid

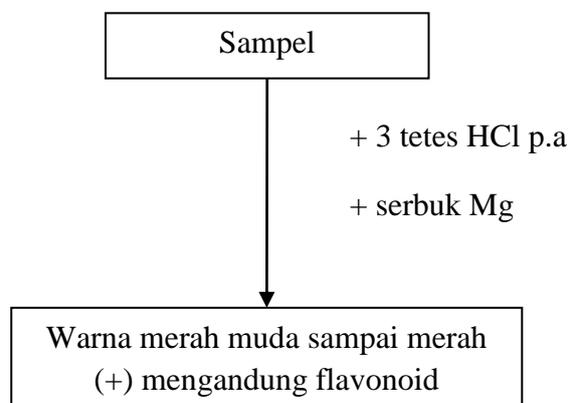
5.1. Uji dengan FeCl_3



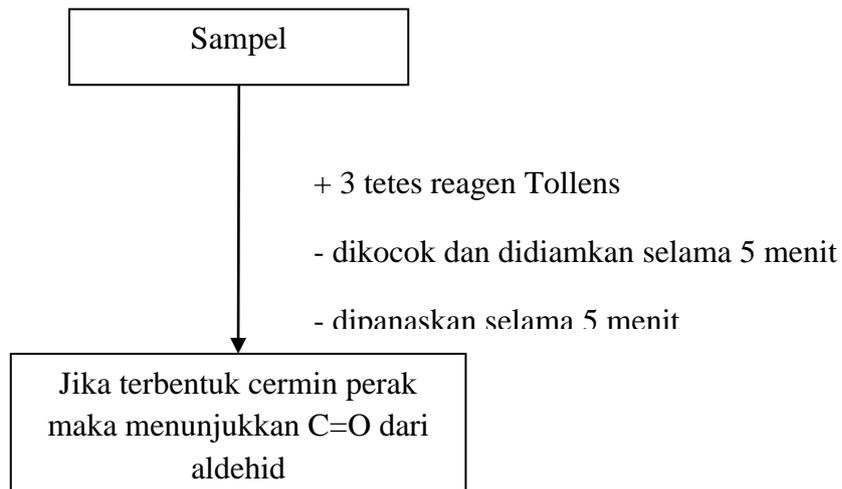
5.2. Uji dengan Air Brom



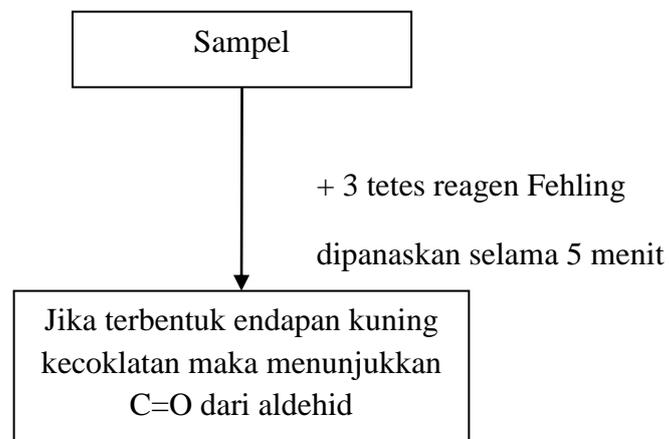
5.3. Uji Wilstater



5.4. Uji dengan Reagen Tollens



5.5. Uji dengan Reagen Fehling



6. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas

6.1. Pembuatan Media Agar Miring

1 g NA + 50 mL
aquades

dipanaskan

Larutan NA
panas

Dimasukkan tabung reaksi,
diletakkan pada posisi miring

Media agar
miring

Disterilisasi $T = 120^{\circ}\text{C}$, $t = 15$ menit

Media agar
miring steril

6.2. Biakan Bakteri

1 ose bakteri

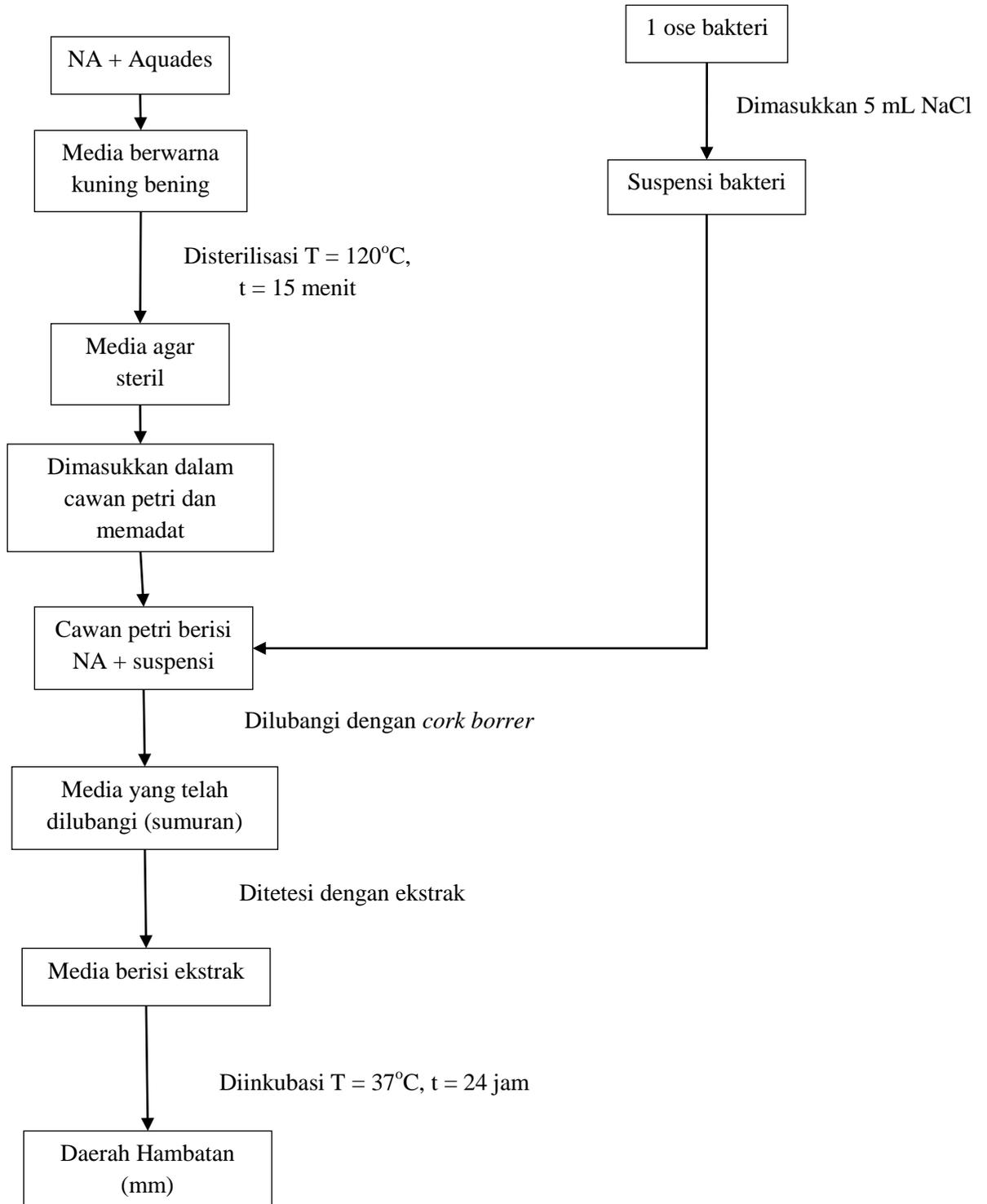
Digoreskan media agar miring

Media agar miring+bakteri

Diinkubasi $T = 37^{\circ}\text{C}$, $t = 24$ jam

Biakan bakteri dalam
agar miring

6.3. Uji Antibakteri



Lampiran 2. Hasil Perhitungan

1) Kadar Air Kulit Nanas Basah (KNB) dan Kulit Nanas Kering (KNK)

(Marlinda *et al.*, 2012)

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat sampel sebelum dipanaskan

B = Berat sampel setelah dipanaskan

$$\text{a) Kadar air KNB (\%)} = \frac{2,0006 \text{ gr} - 1,8039 \text{ gr}}{2,0006 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 9,8320 \%$$

$$\text{b) Kadar air KNK (\%)} = \frac{2,0008 \text{ gr} - 1,8011 \text{ gr}}{2,0008 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 9,9810 \%$$

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Kulit Nanas Basah (KNB) dan Kulit Nanas Kering (KNK)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat serbuk kulit nanas}} \times 100\%$$

$$\text{a) Rendemen ekstrak KNB (\%)} = \frac{31,6582 \text{ gr}}{360 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 8,7939 \%$$

$$\text{b) Rendemen ekstrak KNK (\%)} = \frac{8,8649 \text{ gr}}{260 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 3,4095 \%$$

2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil asetat Kulit Nanas Basah (KNB) dan Ekstrak Etil asetat Kulit Nanas Kering (KNK)

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak etil asetat kering}}{\text{Berat ekstrak etanol kering}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{a) Rendemen ekstrak etil asetat KNB (\%)} &= \frac{1,7427 \text{ gr}}{31,6582 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 5,5047 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b) Rendemen ekstrak etil asetat KNK (\%)} &= \frac{1,2214 \text{ gr}}{8,8649 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 13,8026 \% \end{aligned}$$

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

1. Ekstraksi Kulit Nanas Basah dan Ekstrak Kulit Nanas Kering



Serbuk kulit nanas basah



Serbuk kulit nanas kering



Ekstrak KNB



Ekstrak KNK



Ekstrak Kering KNB



Ekstrak Kering KNK



Ekstrak etil asetat KNB



Ekstrak etil asetat KNK



Hot plate

Alat *Microwave*Rangkaian Alat *Rotary Evaporator*

2. Uji Fitokimia

2.1. Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Nanas Basah (KNB)



Uji Flavonoid



Uji Tannin



Uji Triterpenoid



Uji Steroid



Uji Alkaloid (Dagendorff)



Uji Alkaloid (Mayer)



Uji Saponin

2.2. Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Nanas Kering (KNK)



Uji Flavonoid



Uji Tannin



Uji Triterpenoid



Uji Steroid



Uji Alkaloid (Dagendorff)



Uji Alkaloid (Mayer)



Uji Saponin

3. Uji Kimia Senyawa Flavonoid



Uji dengan FeCl_3



Uji dengan Air Brom



Uji Wilstater KNB dan KNK



Uji dengan Tollens



Uji dengan Fehling

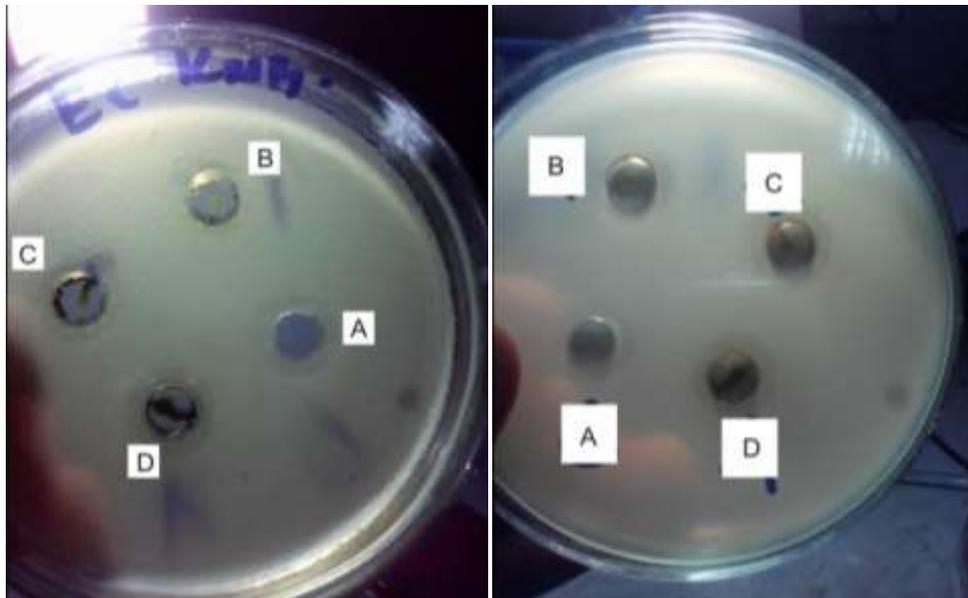
4. Uji Antimikroba



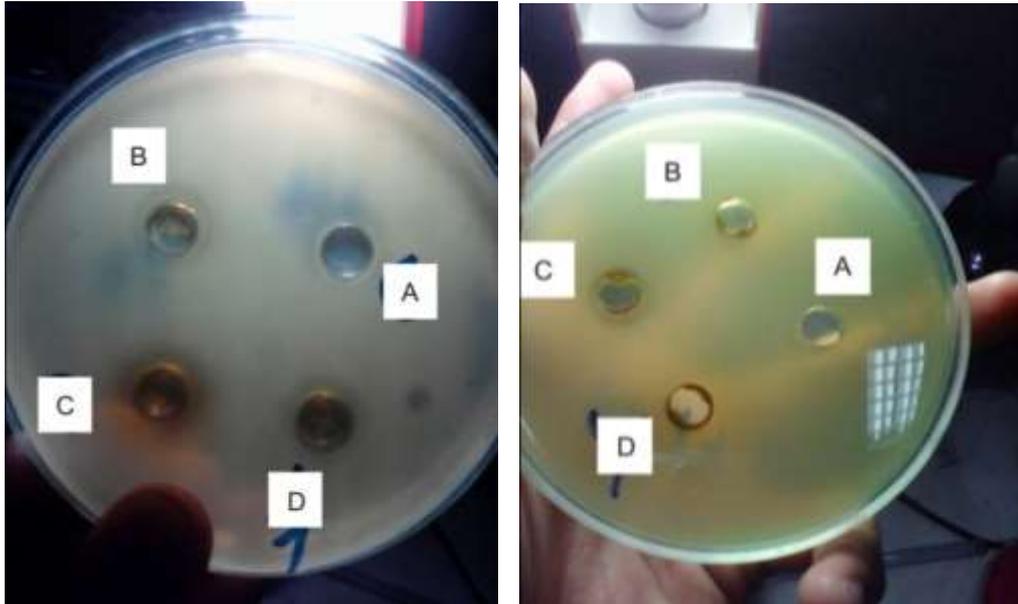
Variasi Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB) dan Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK)



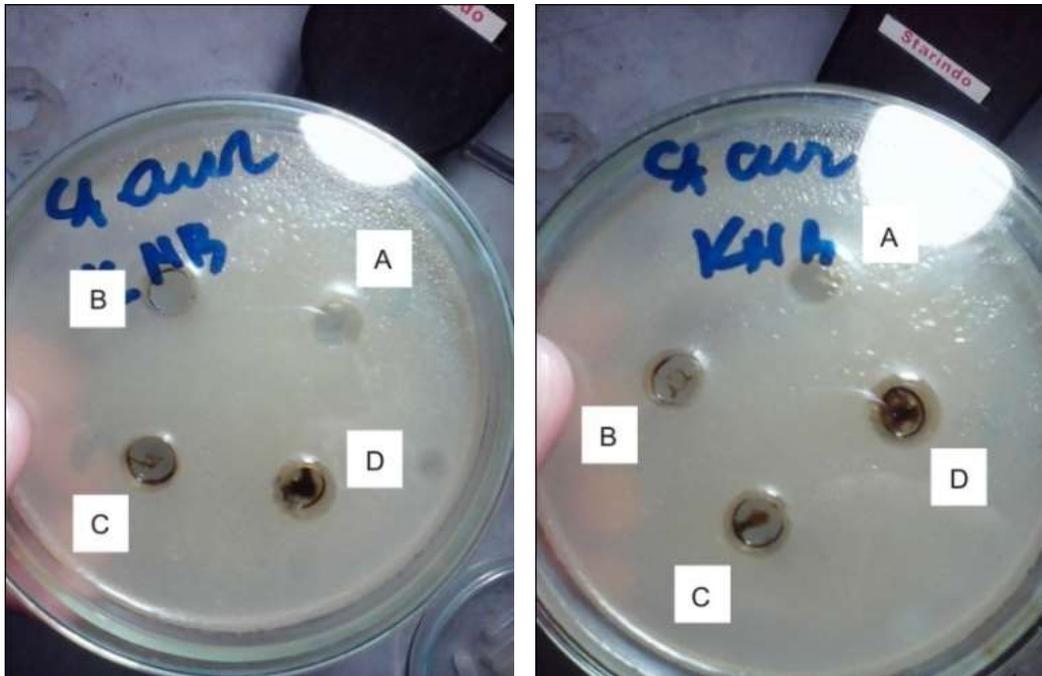
Kontrol Negatif



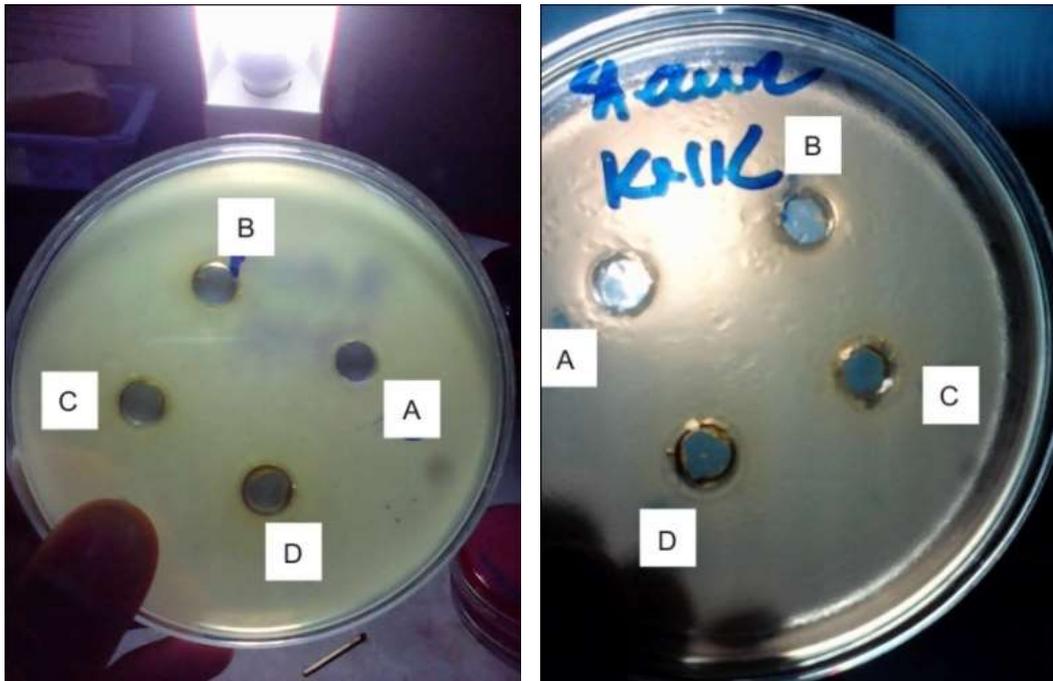
Diameter Daerah Hambat (DDH) Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB) terhadap *E. coli*



Diameter Daerah Hambat (DDH) Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK) terhadap *E. coli*



Diameter Daerah Hambat (DDH) Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB) terhadap *S. aureus*



Diameter Daerah Hambat (DDH) Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK) terhadap *S. aureus*

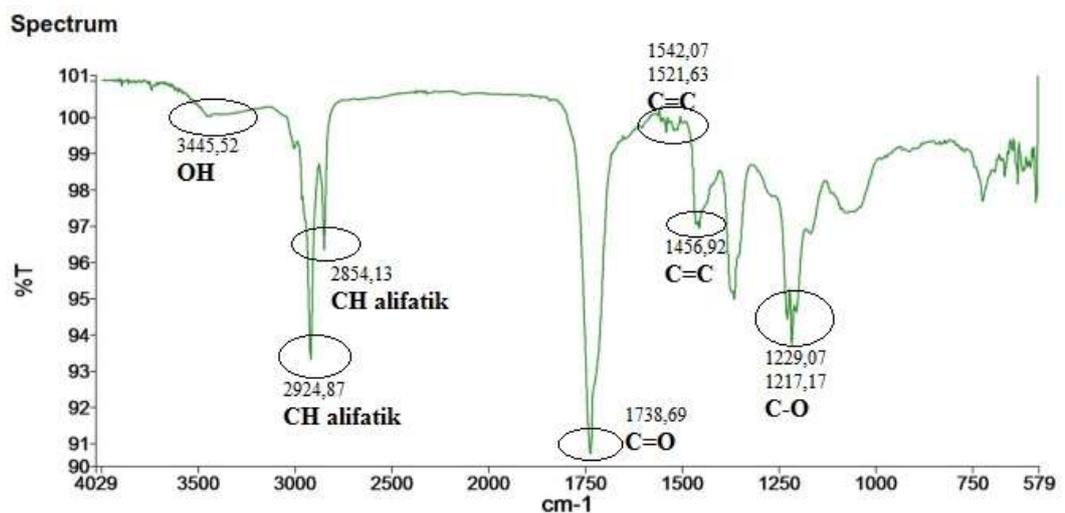
Keterangan : A : Kontrol negatif (pelarut etil asetat)

B : 1 %

C : 2 %

D : 4 %

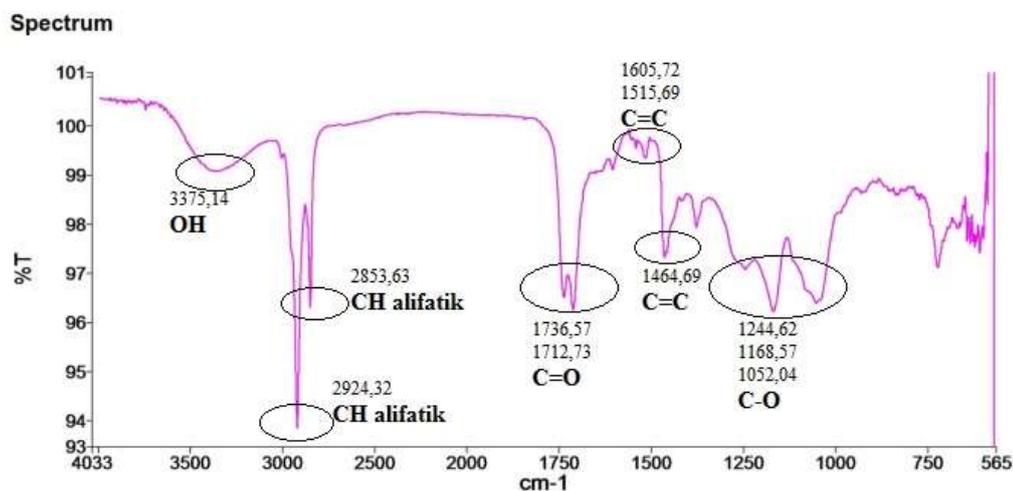
Lampiran 4. Analisis FTIR Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB)



Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
1	3902.35	100.49	-2.38	-0.16	4000	3874.49	4000	3874.49
2	3866.66	100.54	-4.84	-0.11	3874.49	3784.99	3874.49	3784.99
3	3749.86	100.36	-8.02	-0.26	3784.99	3676.08	3784.99	3676.08
4	3445.52	99.67	-162.27	-0.64	3676.08	3137.85	3676.08	3137.85
5	3009.95	98.83	10.94	-0.3	3137.85	2993.03	3137.85	2993.03
6	2924.87	93.22	-212.7	-5.42	2993.03	2881.49	2993.03	2881.49
7	2854.13	96.14	275.85	-2.38	2881.49	2376.4	2881.49	2376.4
8	1738.69	90.72	-525.36	-9.26	2376.4	1559.9	2376.4	1559.9
9	1542.07	99.26	-4.44	-0.41	1559.9	1538.89	1559.9	1538.89
10	1521.63	99.3	-7.15	-0.35	1538.89	1506.04	1538.89	1506.04
11	1456.92	96.71	-88.68	-2.28	1506.04	1404.84	1506.04	1404.84
12	1366.14	94.82	-123.28	-3.49	1404.84	1322.25	1404.84	1322.25
13	1229.07	94.3	55.14	-1.01	1322.25	1222.41	1322.25	1222.41
14	1217.17	93.62	-6.65	-1.28	1222.41	1211.04	1222.41	1211.04
15	1206.05	94.48	-2.43	-0.52	1211.04	1181.03	1211.04	1181.03
16	1169.38	96.56	-9.16	-0.42	1181.03	1131.95	1181.03	1131.95
17	1073.72	97.12	-101.23	-1.12	1131.95	936.26	1131.95	936.26
18	913.42	98.73	-6.74	-0.18	936.26	853.49	936.26	853.49
19	831.53	98.92	-2.71	-0.12	853.49	808.73	853.49	808.73
20	723.09	97.43	-52.57	-1.37	808.73	680.39	808.73	680.39
21	666.45	98.08	-9.29	-0.79	680.39	652.37	680.39	652.37
22	645.68	98.76	-1.78	-0.31	652.37	642.3	652.37	642.3
23	633.01	97.89	-7.31	-1.12	642.3	628.99	642.3	628.99
24	620.56	98.23	-6.26	-0.57	628.99	611.11	628.99	611.11
25	607.68	98.34	-0.64	-0.2	611.11	604.6	611.11	604.6
26	599.27	98.31	-1.78	-0.37	604.6	595.08	604.6	595.08
27	592.59	98.59	-0.63	-0.25	595.08	590.16	595.08	590.16
28	585.95	97.4	-24.04	-2.89	590.16	579.15	590.16	579.15
29	576.47	97.82	-8.62	-3.77	579.15	574.74	579.15	574.74
30	573.04	98.28	-27.42	-10.46	574.74	570.33	574.74	570.33
31	566.99	53.01	-162.38	-59.15	570.33	564.12	570.33	564.12
32	560.04	34.17	-74.51	-26.02	564.12	559.03	564.12	559.03
33	558.08	28.67	-32.19	-31.37	559.03	557.01	559.03	557.01
34	556.03	26.19	-53.77	-54.51	557.01	555.04	557.01	555.04
35	554	-6.4	-383.05	-217.13	555.04	552.32	555.04	552.32

Lampiran 5. Analisis FTIR Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK)



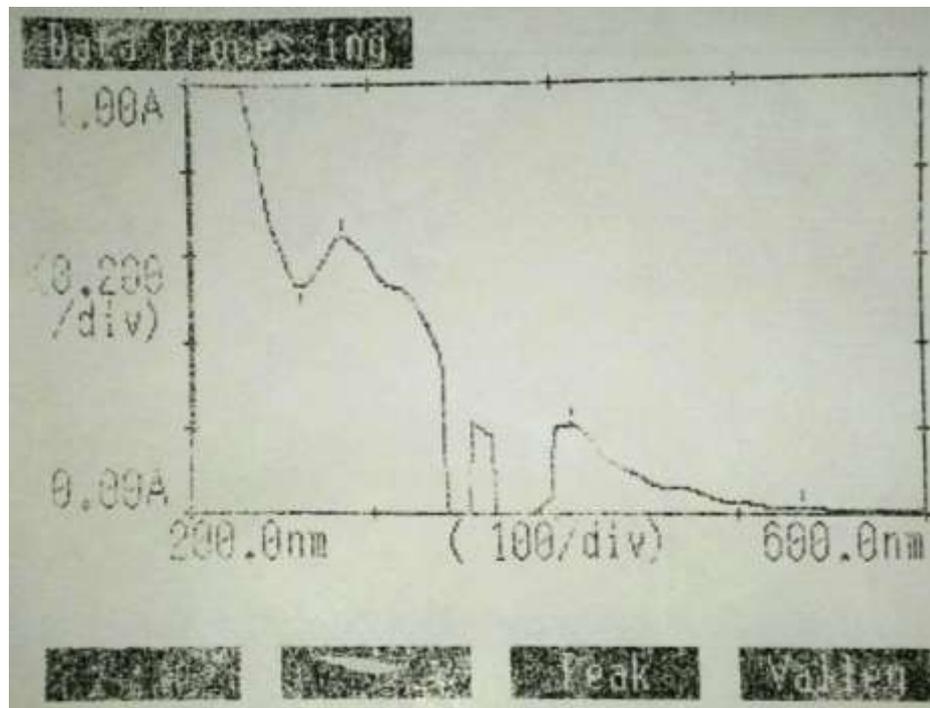
Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
1	3854.07	100.46	-8	-0.11	4000	3785.97	4000	3785.97
2	3749.63	100.35	-4.26	-0.19	3785.97	3720.24	3785.97	3720.24
3	3375.14	99.09	-320.03	-1	3720.24	3073.31	3720.24	3073.31
4	2924.32	93.87	-167.4	-4.85	3073.31	2880.64	3073.31	2880.64
5	2853.63	96.31	385.21	-2.19	2880.64	2236.12	2880.64	2236.12
6	1736.57	96.53	705.1	-0.52	2236.12	1727.75	2236.12	1727.75
7	1712.73	96.28	23.36	-1.03	1727.75	1614.8	1727.75	1614.8
8	1605.72	99.13	-5.07	-0.32	1614.8	1559.91	1614.8	1559.91
9	1541.89	99.57	-2.48	-0.2	1559.91	1538.9	1559.91	1538.9
10	1515.69	99.36	-6.58	-0.41	1538.9	1505.96	1538.9	1505.96
11	1464.69	97.34	-63.2	-1.98	1505.96	1404.8	1505.96	1404.8
12	1377.49	97.95	-12.7	-0.66	1404.8	1342.44	1404.8	1342.44
13	1244.62	97.1	-27.78	-0.45	1342.44	1220.67	1342.44	1220.67
14	1168.57	96.23	-53.15	-1.33	1220.67	1132.1	1220.67	1132.1
15	1052.04	96.41	-148.1	-1.77	1132.1	943.81	1132.1	943.81
16	929.94	98.65	-4.37	-0.15	943.81	882.12	943.81	882.12
17	837.42	98.61	-10.81	-0.25	882.12	797.37	882.12	797.37
18	771.3	98.52	-1.29	-0.14	797.37	766.96	797.37	766.96
19	721.1	97.14	-40.98	-1.24	766.96	682.08	766.96	682.08
20	666.57	97.93	-8.71	-0.41	682.08	647.09	682.08	647.09
21	641.97	97.67	-3	-0.67	647.09	637.62	647.09	637.62
22	633.07	97.62	-2.06	-0.57	637.62	629.69	637.62	629.69

23	626.1	97.66	-0.89	-0.3	629.69	623.99	629.69	623.99
24	621.1	97.56	-0.69	-0.25	623.99	618.28	623.99	618.28
25	616.01	97.67	-0.63	-0.2	618.28	612	618.28	612
26	607.52	97.44	-3.14	-0.56	612	600.7	612	600.7
27	597.88	97.73	-4.52	-0.61	600.7	589.12	600.7	589.12
28	586.1	98.42	-129.1	-7.31	589.12	574.94	589.12	574.94
29	573.01	116.73	-45.56	-19.7	574.94	570.94	574.94	570.94
30	566.9	48.55	-90.98	-42.16	570.94	565.2	570.94	565.2
31	563.43	49.77	-110.84	-46.7	565.2	560.9	565.2	560.9
32	559.93	120.67	-11.98	-12.19	560.9	558.98	560.9	558.98
33	558.21	122.23	-22.36	-20.3	558.98	556.98	558.98	556.98
34	556.18	129.65	-100.78	-95.19	556.98	555	556.98	555
35	554.03	128.01	-778.06	-419.55	555	552.31	555	552.31

Lampiran 6. Analisis UV-Vis Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Basah (KNB)

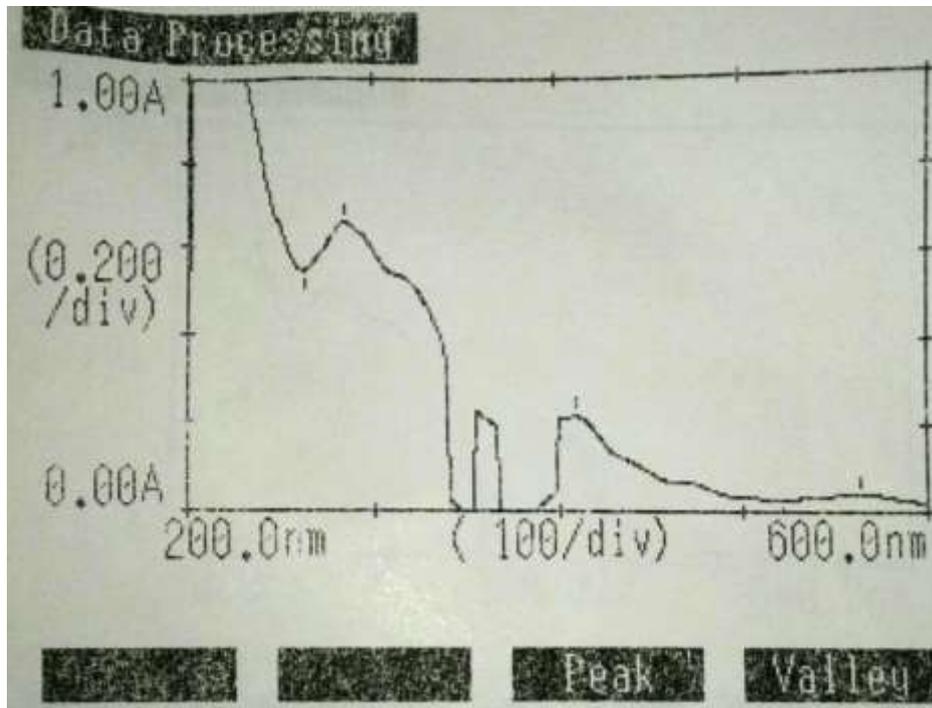
6.1. Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat kulit nanas basah (KNB)



Peak detection	
Abscis.	ABS
535.0	0.010
409.5	0.211
284.5	0.651

Valley detection	
Abscis.	ABS
581.0	0.007
526.0	0.016
368.5	-0.039
262.0	0.533

6.2. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser NaOH



Peak detection

Abscis.	ABS
565.0	0.043
409.5	0.218
284.5	0.668
211.5	1.607

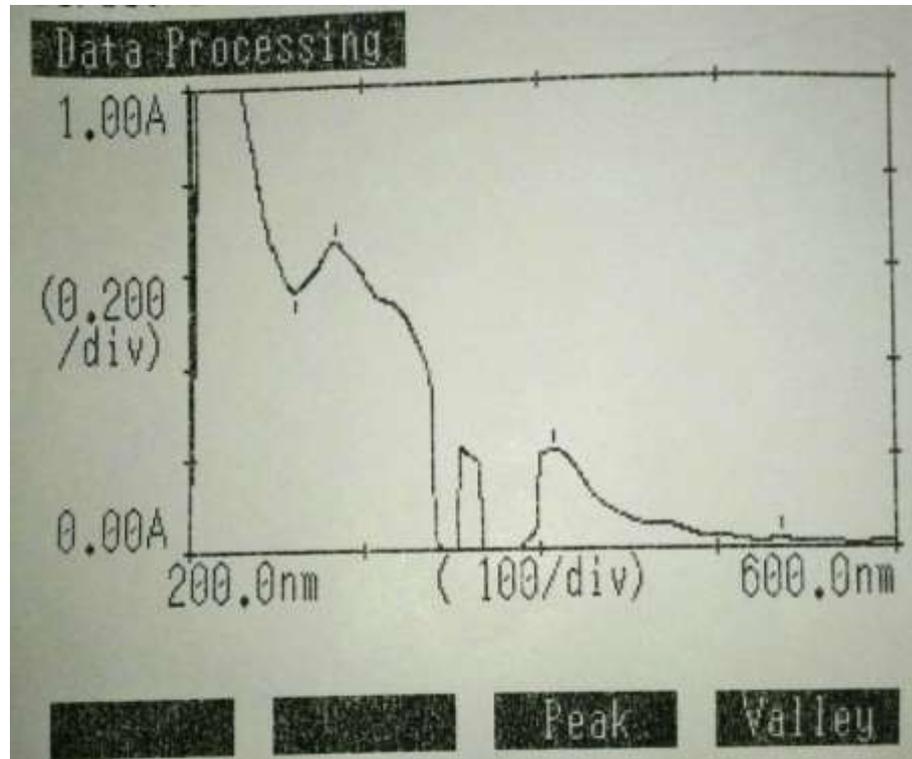
Graph

Valley detection

Abscis.	ABS
523.0	0.028
368.5	-0.028
262.5	0.557

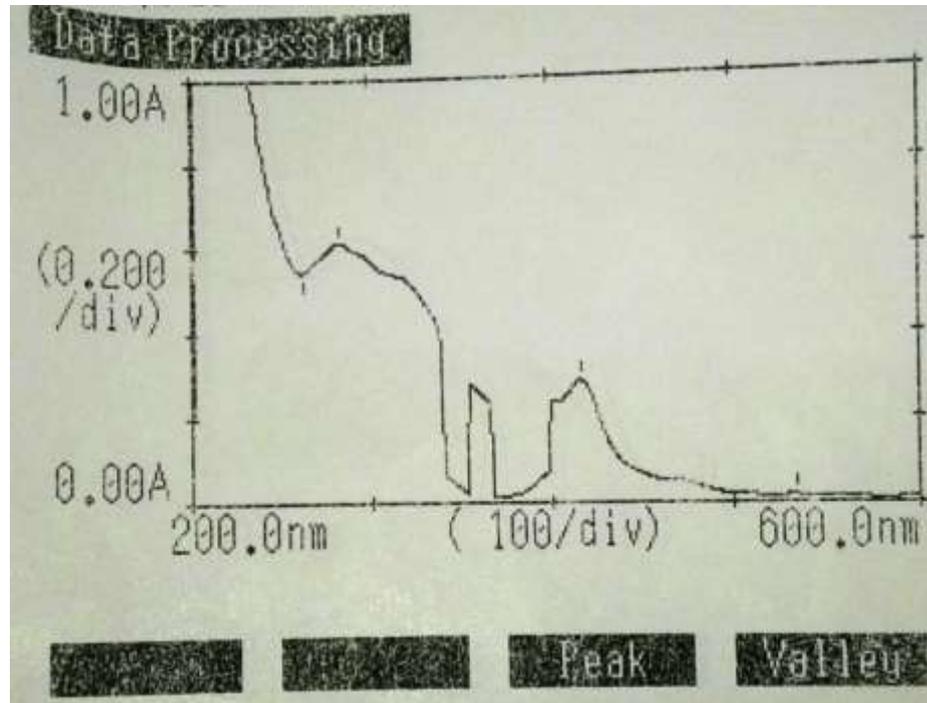
Graph

6.3. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser NaOH (5 menit)



Peak detection		Valley detection	
Abscis.	ABS	Abscis.	ABS
537.0	0.021	578.0	0.012
409.0	0.212	525.5	0.018
285.0	0.668	368.5	-0.035
214.0	1.409	261.5	0.565

Graph

6.4. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser AlCl_3 

Peak detection

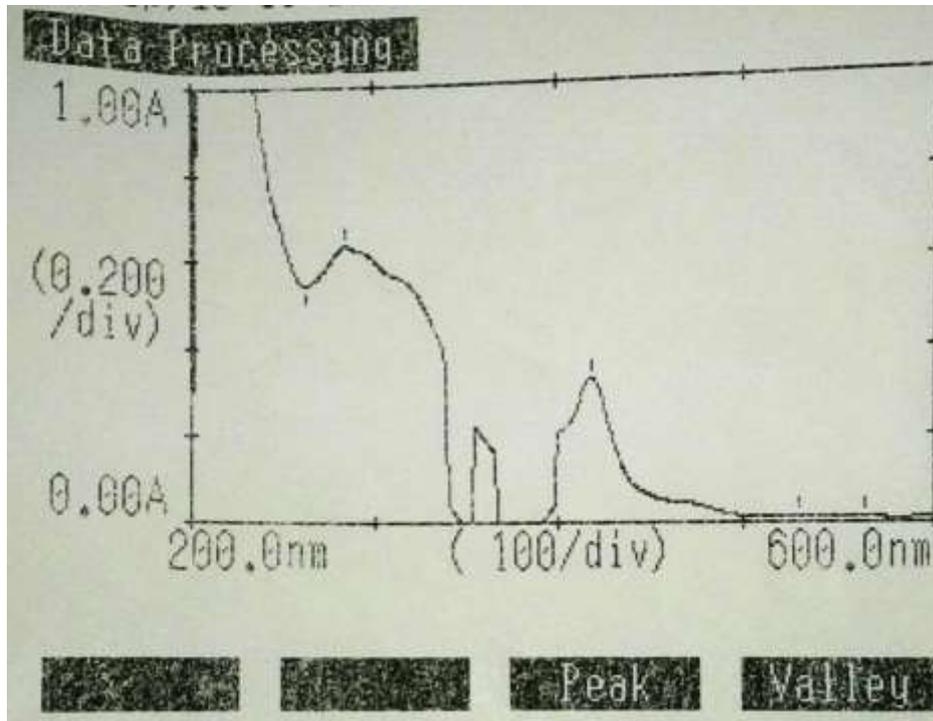
Abcis.	ABS
534.5	0.020
417.5	0.290
283.5	0.618

Graph

Valley detection

Abcis.	ABS
582.0	0.011
520.5	0.019
368.5	0.014
262.5	0.546

Graph

6.5. Spektrum UV-Vis KNB dengan pereaksi geser AlCl_3+HCl 

Peak detection

Abscis.	ABS
565.0	0.016
531.0	0.019
419.0	0.334
284.5	0.640

Graph

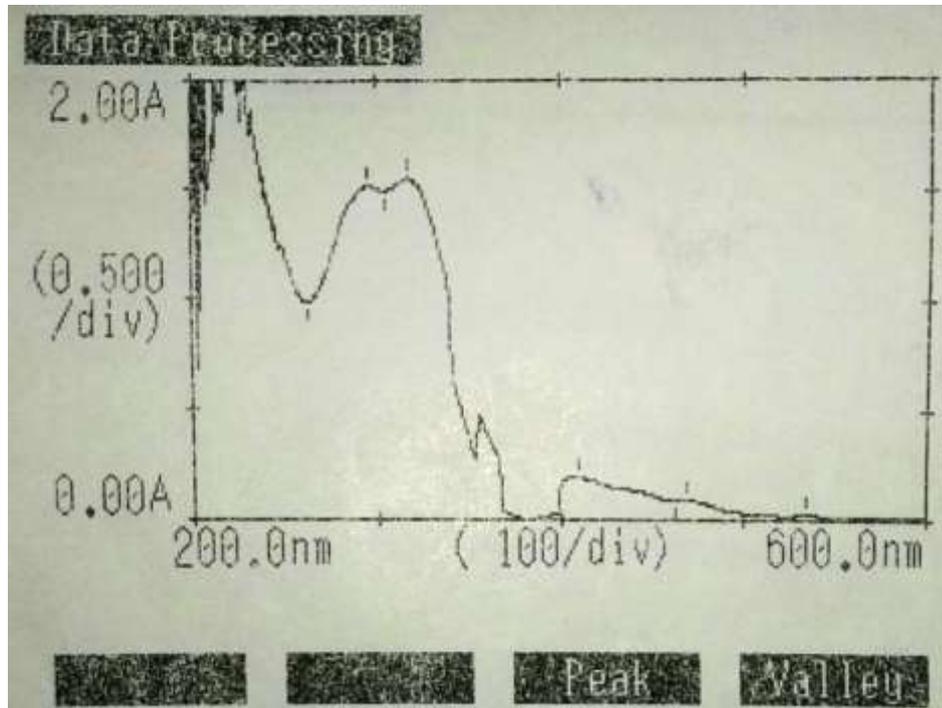
Valley detection

Abscis.	ABS
584.5	0.012
551.5	0.015
514.0	0.016
368.5	-0.062
263.0	0.549

Graph

Lampiran 7. Analisis UV-Vis Ekstrak Etil Asetat Kulit Nanas Kering (KNK)

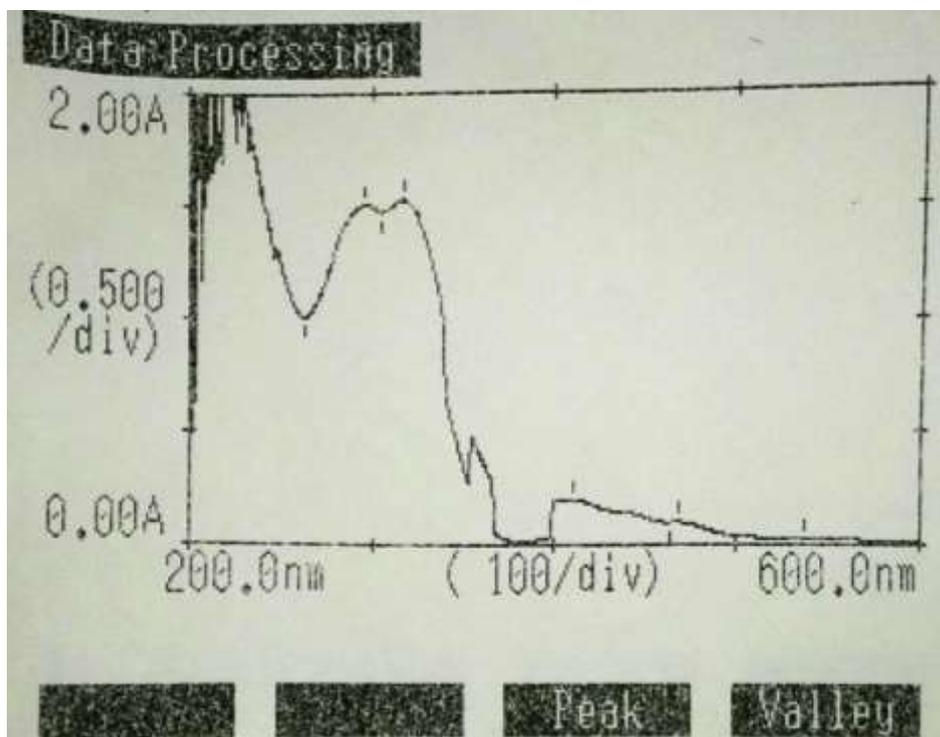
7.1. Spektrum UV-Vis ekstrak etil asetat kulit nanas kering (KNK)



Peak detection	
Abscis.	ABS
535.5	0.028
469.5	0.098
410.0	0.199
318.0	1.554
296.5	1.517
214.5	4.000

Valley detection	
Abscis.	ABS
588.0	0.015
525.5	0.026
463.5	0.096
383.5	0.008
305.0	1.490
263.0	0.987

7.2. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser NaOH



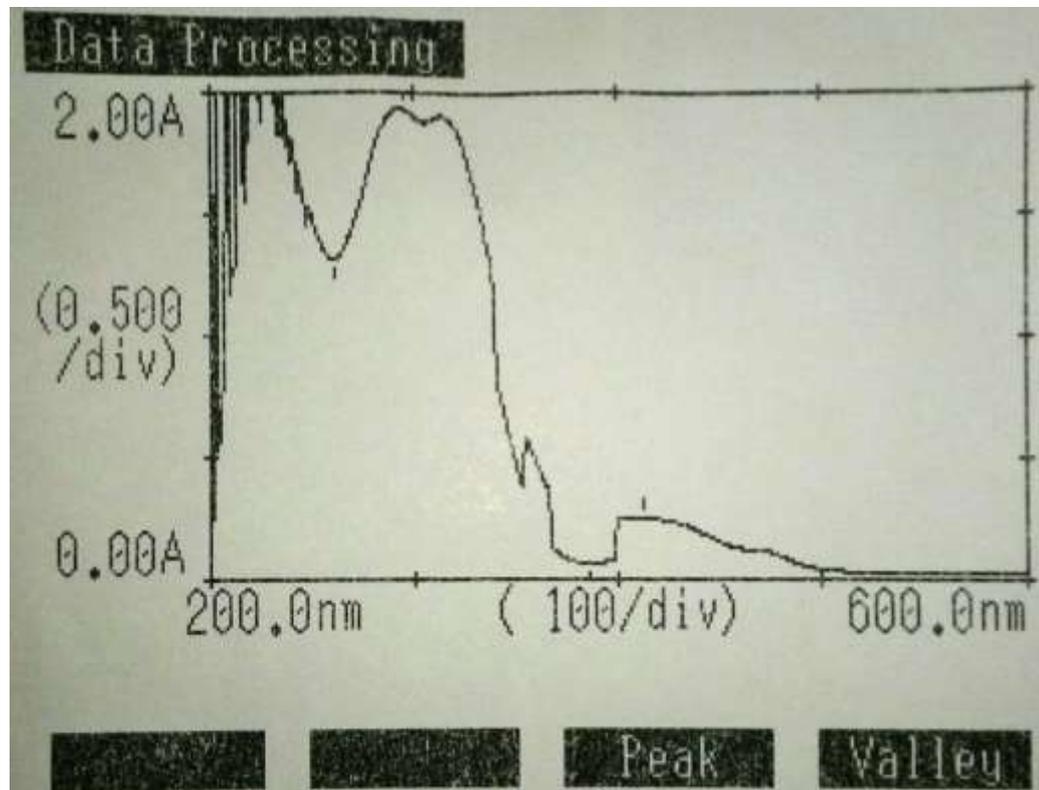
Peak detection	
Abscis.	ABS
538.0	0.037
469.5	0.106
411.0	0.206
318.0	1.543
296.0	1.520

Graph

Valley detection	
Abscis.	ABS
587.0	0.023
526.0	0.034
464.5	0.105
383.0	0.016
305.5	1.486
263.0	1.019

Graph

7.3. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser NaOH (5 menit)



Peak detection

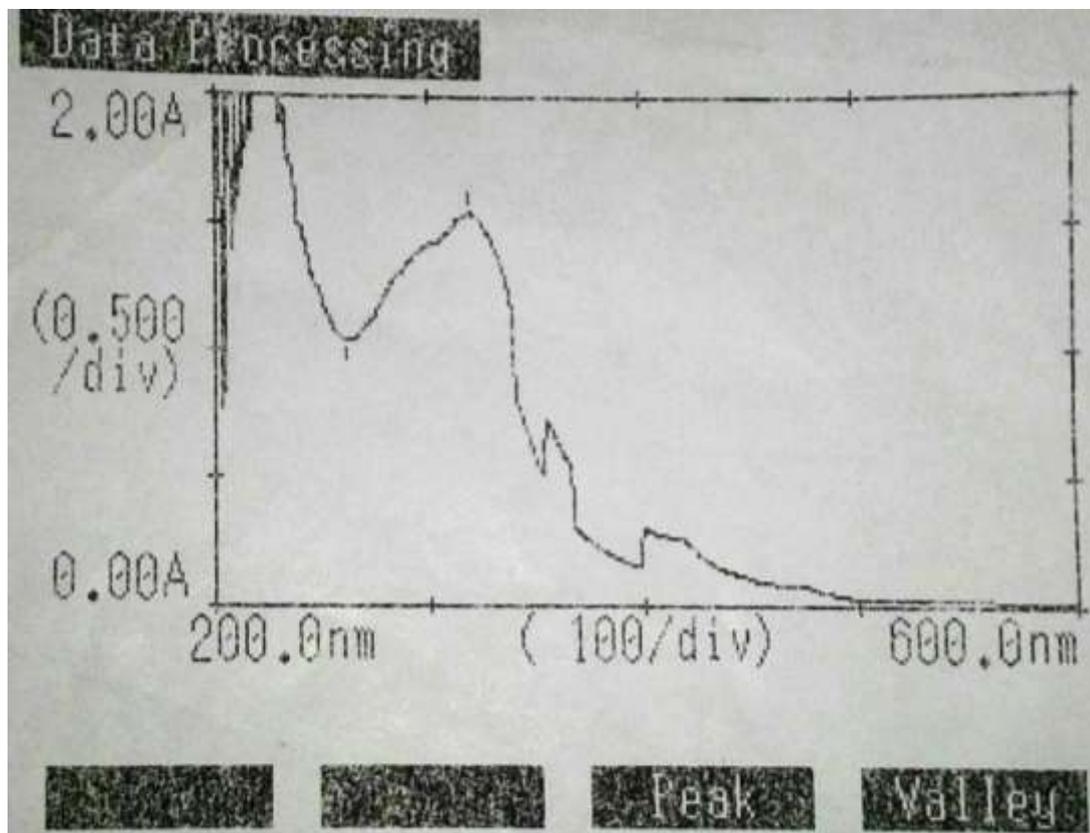
Abscis.	ABS
413.5	0.257
296.0	1.940
213.5	4.000

Graph

Valley detection

Abscis.	ABS
587.5	0.027
387.0	0.071
261.0	1.321

Graph

7.4. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser AlCl_3 

Peak detection

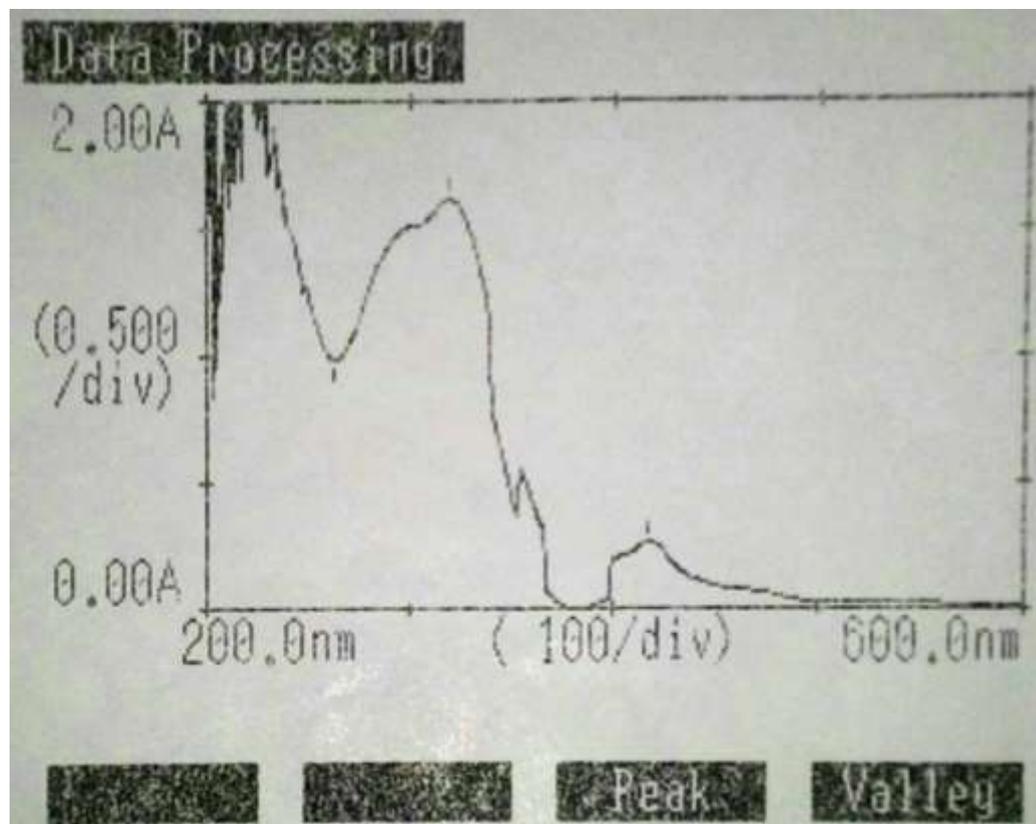
Abscis.	ABS
319.0	1.542
219.0	4.000

Graph

Valley detection

Abscis.	ABS
585.0	0.019
262.0	1.041

Graph

7.5. Spektrum UV-Vis KNK dengan pereaksi geser $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ 

Peak detection	
Abscis.	ABS
418.5	0.271
320.0	1.623

Graph

Valley detection	
Abscis.	ABS
585.5	0.018
384.5	0.005
264.0	0.993

Graph