

**SINTESIS DAN OPTIMASI SENYAWA METIL PIPERAT DARI BUAH
LADA HITAM (*Piper nigrum* Linn) SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERI**

(Skripsi)

Oleh

**NABILA PUTRI ANANDA
2217011053**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

SINTESIS DAN OPTIMASI SENYAWA METIL PIPERAT DARI BUAH LADA HITAM (*Piper nigrum* Linn) SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERI

Oleh

NABILA PUTRI ANANDA

Lada hitam (*Piper nigrum* Linn) mengandung senyawa utama piperin dengan berbagai aktivitas biologis, termasuk antibakteri. Penelitian ini bertujuan memperoleh metil piperat melalui esterifikasi Steglich dari asam piperat hasil hidrolisis piperin, menentukan kondisi waktu reaksi optimum berdasarkan rendemen, serta mengevaluasi aktivitas antibakterinya.

Metode penelitian meliputi isolasi piperin dari lada hitam menggunakan soxhletasi, hidrolisis piperin menjadi asam piperat, serta sintesis metil piperat dengan metode esterifikasi Steglich. Karakterisasi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) serta aktivitas antibakteri diuji menggunakan difusi cakram.

Hasil isolasi piperin dari ekstrak lada hitam berupa kristal berwarna kuning dengan kadar piperin sebesar 3% dengan titik leleh 129,2 °C. Sintesis metil piperat dari piperin telah berhasil dilakukan dengan dua tahap, tahap pertama hidrolisis piperin menjadi asam piperat didapatkan rendemen sebesar 83,35% dengan titik leleh 215°C, tahap kedua dilakukan sintesis dari asam piperat menjadi metil piperat didapatkan rendemen sebesar 82,57% dengan titik leleh 141,2°C yang diperoleh pada waktu reaksi 24 jam. Spektrum UV-Vis menunjukkan piperin memiliki puncak serapan maksimum pada 342 nm, asam piperat pada 343 nm, dan metil piperat pada 341 nm, yang mengindikasikan keberadaan sistem aromatik dan karbonil terkonjugasi. Analisis FTIR piperin dibuktikan dengan munculnya regangan C-N amida dari gugus piperidin, asam piperat dibuktikan dengan munculnya regangan O-H dan hilangnya renggangan C-N amida, sedangkan metil piperat dibuktikan adanya renggangan C=O karbonil ester pada 1705–1707 cm⁻¹ dan munculnya serapan C-O ester pada regangan 1200–1300 cm⁻¹. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan metil piperat memiliki zona hambat sebesar 7,6 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 8,6 mm terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: antibakteri, asam piperat, esterifikasi Steglich, metil piperat, piperin

ABSTRACT

SYNTHESIS AND OPTIMIZATION OF METHYL PIPERATE FROM BLACK PEPPER FRUIT (*Piper nigrum* Linn) AS AN ANTIBACTERIAL AGENT

By

NABILA PUTRI ANANDA

Black pepper (*Piper nigrum* Linn) contains piperine as its principal bioactive compound with various biological activities, including antibacterial properties; therefore, this study aimed to synthesize methyl piperate via Steglich esterification of piperic acid obtained from piperine hydrolysis, to determine the optimum reaction time based on yield, and to evaluate its antibacterial activity. Piperine was isolated from black pepper using Soxhlet extraction, followed by hydrolysis to produce piperic acid and subsequent synthesis of methyl piperate via Steglich esterification, while characterization was carried out using UV–Vis spectrophotometry and Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, and antibacterial activity was assessed using the disk diffusion method. The isolated piperine was obtained as yellow crystals with a content of 3% and a melting point of 129.2 °C; the synthesis of methyl piperate was successfully conducted in two steps, where hydrolysis of piperine yielded piperic acid with a yield of 83.35% and a melting point of 215 °C, followed by esterification to methyl piperate with a yield of 82.57% and a melting point of 141.2 °C at an optimum reaction time of 24 h. The UV–Vis spectra showed maximum absorption at 342 nm for piperine, 343 nm for piperic acid, and 341 nm for methyl piperate, indicating the presence of conjugated aromatic and carbonyl systems, while FTIR analysis confirmed piperine through amide C–N stretching of the piperidine group, piperic acid through the appearance of O–H stretching and disappearance of amide C–N stretching, and methyl piperate through the presence of ester carbonyl (C=O) stretching at 1705–1707 cm^{-1} along with C–O ester absorption in the range of 1200–1300 cm^{-1} . The antibacterial assay demonstrated that methyl piperate exhibited inhibition zones of 7.6 mm against *Staphylococcus aureus* and 8.6 mm against *Pseudomonas aeruginosa*.

Key words: antibacterial activity, piperic acid, Steglich esterification, methyl piperate, piperine

**SINTESIS DAN OPTIMASI SENYAWA METIL PIPERAT DARI BUAH
LADA HITAM (*Piper nigrum* Linn) SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERI**

Oleh

Nabila Putri Ananda

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul : SINTESIS DAN OPTIMASI SENYAWA
METIL PIPERAT DARI BUAH LADA HITAM
(*Piper nigrum* Linn) SEBAGAI AGEN
ANTIBAKTERI

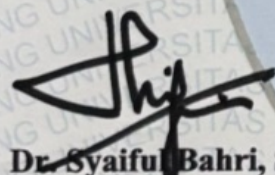
Nama Mahasiswa : Nabila Putri Ananda

Nomor Pokok Mahasiswa : 2217011053

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



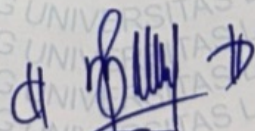


Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.
NIP 197308252000031001



Hapin Afriyani, M.Si.
NIP 199304062019032016

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung



Prof. Dr. Mita Rilyanti, M.Si.
NIP 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.**

Sekretaris : **Hapin Afriyani, S.Si., M.Si.**

Anggota : **Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc.**



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 04 Juni 2026

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nabila Putri Ananda
Nomor Pokok Mahasiswa : 2217011053
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul ***Sintesis dan Optimasi Senyawa Metil Piperat dari Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* Linn) sebagai Agen Antibakteri*** adalah benar karya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Saya tidak keberatan jika data dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 9 Juni 2026
Yang Menyatakan



Nabila Putri Ananda
NPM. 2217011053

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Nabila Putri Ananda dan lahir di Pringsewu, 27 September 2003 sebagai anak tunggal dari Papa Budi Yanto dan Mama Eldaningrum. Penulis menyelesaikan pendidikan di SDN 1 Kali Balau Kencana pada tahun 2010-2016, SMPN 5 Bandar Lampung pada tahun 2016- 2019 dan SMAN 1 Bandar Lampung pada tahun 2019-2022. Pada tahun 2022, penulis melanjutkan pendidikan sebagai mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila) dan menyelesaikan studinya pada tahun 2026.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif menjadi pengurus muda Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) pada tahun 2023. Selain itu, penulis aktif mengikuti perlombaan non-akademik sejak tahun 2022 hingga 2024.

Penulis mengikuti kegiatan MBKM Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bangun Jaya, Kecamatan Sungkai Utara, Kabupaten Lampung Utara pada 8 Januari-8 Februari 2025. Pada tahun 2025 penulis menjadi ketua sekaligus pemenang dari Program Kompetisi Kampus Merdeka (PKKM). Pada tahun 2022-2023 penulis aktif mengikuti lomba cipta dan baca puisi hingga tingkat nasional. Pada tahun 2025 penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Labotatorium Kimia Organik Universitas Lampung. Pada tahun 2024 nama penulis ikut serta pada penciptaan karya tulis dalam HAKI. Pada tahun 2026 penulis telah menyelesaikan tugas akhir untuk mendapatkan gelar sarjana dengan membuat skripsi yang berjudul “Sintesis dan Optimasi Senyawa Metil Piperat dari Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* Linn) sebagai Agen Antibakteri”.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

Dengan mengucap

Alhamdulillahirabbil'alamin dan dengan segala kerendahan hati,

Ku persembahkan karya ini teruntuk:

Kedua orang tuaku tercinta, Papa Budi Yanto dan Mama Eldaningrum yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan, mendukung, dan memberikan cinta dan kasih yang sangat besar sehingga putrimu dapat menyelesaikan studi ini.

Saya ucapkan terima kasih atas segala materi, nasihat, kasih sayang, keringat, dan air mata serta segala sesuatu yang telah kalian berikan. Kepada seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan, bantuan, dan perhatian untukku.

Dengan segala rasa hormat kepada Bapak Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., Ibu Hapin Afriyani, M.Si., dan Bapak Dr. Sonny Widiarto, S.Si., M.Sc., serta seluruh Dosen Pengajar yang telah membimbing dan mendidiku sampai menyelesaikan pendidikan Sarjana. Seluruh kerabat yang telah memberikan banyak dukungan, bantuan, dan saran.

Almamater Tercinta Universitas Lampung

MOTTO

“Wahai orang-orang yang beriman! Jika kamu menolong (agama) Allah, niscaya Dia akan menolongmu dan meneguhkan kedudukanmu”
(Q. S. Muhammad: 7)

“Wahai diriku teruslah menjadi kuda hitam, berlari kencang terengah-engah meski lelah, lemah, dan hampir menyerah hingga menakutkan para musuh (dalam diri)”
(Penulis)

“Hidup tidak selalu organik, kadang kala perlu sintesis dengan cara terbaik yang Allah ridhoi. Ingatlah, keberhasilan bukan hanya diukur dari hasil akhir, melainkan juga dari perjuangan dan niat baik yang kita lakukan”
(Penulis)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, hidayah dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Sintesis dan Optimasi Senyawa Metil Piperat dari Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* Linn) sebagai Agen Antibakteri”** sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains pada jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan berupa dorongan, bimbingan, semangat, nasehat, dan kerja sama dari berbagai pihak antara lain:

1. Panutan dan pintu surga penulis yakni mama dan papa. Terima kasih atas setiap tetes keringat dalam setiap langkah pengorbanan dan kerja keras yang dilakukan untuk memberikan yang terbaik kepada penulis, mengusahakan segala kebutuhan penulis, mendidik, membimbing, dan selalu memberikan kasih sayang yang tulus, motivasi, serta dukungan dan mendoakan penulis dalam keadaan apapun agar penulis mampu bertahan untuk melangkah setapak demi setapak dalam meraih mimpi di masa depan.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku ketua jurusan kimia FMIPA Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Syaiful Bahri, M. Si. selaku komisi pembimbing I skripsi. Terima kasih telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.

5. Ibu Hapin Afriyani, M.Si. selaku komisi pembimbing II skripsi. Terima kasih telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Sonny Widiarto, M.Sc. selaku pembahas yang telah memberikan masukan dan saran yang membantu sehingga skripsi ini menjadi lebih baik dan terarah.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan nasihat, dan membantu penulis selama menempuh studi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Ibu Dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas segala ilmu, pengalaman, dan motivasi yang telah diberikan selama masa perkuliahan.
9. Rekan seperjuangan Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari menaklukkan benteng sintesis senyawa metil piperat dan etil piperat. Menyusuri jalan panjang penelitian, berteman dengan ketelitian dan kesabaran, hingga akhirnya sampai pada titik keberhasilan.
10. Rekan-rekan *SBR '22*, Angga, Attohiroh, Arya, David, Shely, dan Zahra yang saling memberikan semangat, bantuan, dan keceriaan sehingga proses penelitian dapat berjalan dengan lancar dan menyenangkan. Kebersamaan dan dukungan kalian menjadi bagian yang sangat berarti dalam perjalanan ini.
11. Rekan-rekan 'Arek-Arek Jamet', Dias, Nishfa, Vebby, Zahra teman seperjuangan yang selalu mewarnai perjalanan selama masa perkuliahan. Bersama kalian, setiap hari di kampus menjadi lebih bermakna, penuh cerita, tawa, dan kenangan yang tak terlupakan. Terima kasih telah menjadi teman berbagi suka dan duka, saling mendukung dalam menghadapi tugas, praktikum, ujian, serta berbagai tantangan selama menempuh pendidikan.
12. Orang-orang inspiratif yang telah membimbing dan mengajarkan banyak hal, Kiyay Ibnu, Kiyay Bayu, Ginda Naurah, Ginda Rere, Ginda Ify, Ginda Nina, dan Ginda Zahra. yang telah tulus berbagi ilmu, pengalaman, nasihat, serta

memberikan bimbingan dan dukungan selama proses belajar. Terima kasih atas setiap pelajaran, motivasi, dan kebaikan yang diberikan, yang menjadi bekal berharga dalam perjalanan saya.

13. Rekan-rekan ORCHEM'22, teman satu laboratorium dan peergroup Organik yang telah bersama-sama berjuang, belajar, dan bertumbuh dalam setiap proses praktikum maupun penelitian.
14. Rekan-rekan Kelas Colid, yang telah mewarnai hari-hari perkuliahan dengan kebersamaan, kekompakan, dan kenangan yang tak terlupakan.
15. Rekan-rekan lintas kelas yang saya banggakan Kirana, Adel, Citra, Ulfi, Anas, Yosua, Yosua, Maylinda, dan Mutiara, yang telah menjadi bagian penting dalam perjalanan perkuliahan. Terima kasih telah berbagi informasi, saling mengingatkan, serta memberikan dukungan dan kebersamaan yang berarti selama proses perkuliahan
16. Rekan-rekan 'P0J06', teman-teman SMA yang tetap kebersamai hingga masa perkuliahan, menjadi tempat berbagi cerita dan saling mendukung dalam setiap perjalanan.
17. Rekan-rekan TPQ yang senantiasa menguatkan, memberikan semangat, dan mengingatkan dalam kebaikan di setiap langkah perjalanan.
18. Rekan-rekan KKN Bangun Jaya, Anisa, Bella, Dandi, Oktiana, Rendy, dan Shohib yang senantiasa hadir dan memberikan dukungan dalam setiap proses perjalanan akademik, mulai dari seminar proposal hingga sidang komprehensif. Terima kasih atas semangat, doa, kebersamaan, serta hadiah penuh makna yang diberikan. Perhatian dan ketulusan kalian menjadikan setiap pencapaian terasa semakin istimewa.
19. Terima kasih kepada seluruh rekan Chemistry'22 yang telah mewarnai perjalanan perkuliahan dengan kebersamaan, dukungan, dan kenangan yang berharga. Semoga persahabatan dan silaturahmi yang telah terjalin dapat terus terjaga, serta kesuksesan menyertai setiap langkah kita di masa depan.
20. Rekan-rekan SBR'23 adik tersayang, tetaplah semangat dalam menjalani setiap proses pembelajaran dan perjuangan yang ada di depan. Jangan takut

untuk mencoba, belajar, dan berkembang dari setiap pengalaman, selamat berjuang!

21. Terima kasih kepada diriku sendiri yang telah bersedia menjadi kuda hitam yang mampu berjuang hingga sampai pada titik ini. Terima kasih karena tidak memilih menyerah meskipun lelah, lemah, dan hampir meyerah. Terima kasih atas setiap usaha, air mata, doa, dan kesabaran yang telah dicurahkan dalam setiap proses yang dijalani.

Sebagai penutup, penulis menyampaikan permohonan maaf apabila dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Penulis sangat berterima kasih atas segala dukungan, bimbingan, serta kebaikan yang telah diberikan, semoga Allah SWT memberkahi kita semua.

Bandar Lampung, 9 Juni 2026
Penulis

Nabila Putri Ananda
2217011053

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Tanaman Lada (<i>Piper nigrum</i> Linn)	4
2.2. Kandungan Senyawa Kimia dalam Lada Hitam (<i>Piper nigrum</i> Linn)	6
2.3. Piperin	6
2.4. Asam Piperat	7
2.5. Metil Piperat.....	8
2.6. Metode Ekstraksi	9
2.6.1. Soxhletasi	10
2.6.2. Refluks	11
2.6.3. Ekstraksi Cair–Cair	13
2.7. Kromatografi.....	14
2.7.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	14
2.7.2. Sinar Ultraviolet.....	16
2.8. Uji Titik Leleh.....	17
2.9. Spektrofotometri Ultraviolet–Visible (UV–Vis)	18
2.10. Spektrofotometri Inframerah (IR).....	20
2.11. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.12. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
2.13. Metode Uji Aktivitas Antibakteri	26
III. METODE PERCOBAAN.....	28
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.2. Alat dan Bahan.....	28
3.2.1. Alat.....	28
3.2.2. Bahan	29

3.3. Prosedur Penelitian	29
3.3.1. Persiapan dan Pengambilan Sampel.....	29
3.3.2. Isolasi Piperin.....	29
3.3.3. Hidrolisis Piperin	30
3.3.4. Sintesis Metil Piperat	30
3.3.5. Karakterisasi Senyawa	31
3.4. Uji Aktivitas Antibakteri.....	31
3.4.1. Preparasi Uji.....	31
3.4.2. Uji Difusi Agar.....	32
3.5. Diagram Alir.....	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1. Persiapan Sampel	35
4.2. Isolasi Piperin.....	35
4.2.1. Soxhletasi	35
4.2.2. Pemeriksaan dengan KLT terhadap Piperin Murni.....	39
4.2.3. Uji Titik Leleh Piperin.....	40
4.2.4. Karakterisasi Piperin dengan UV–Vis.....	40
4.2.5. Karakterisasi Piperin dengan FTIR.....	42
4.3. Hidrolisis Piperin.....	44
4.3.1. Hidrolisis Piperin Menjadi Asam Piperat.....	44
4.3.2. Pemeriksaan dengan KLT terhadap Asam Piperat Murni.....	46
4.3.3. Uji Titik Leleh Asam Piperat	46
4.3.4. Karakterisasi Asam Piperat dengan UV–Vis	47
4.3.5. Karakterisasi Asam Piperat dengan FTIR.....	49
4.4. Sintesis Metil Piperat	50
4.4.1. Optimasi Waktu Reaksi Metil Piperat.....	50
4.4.2. Reaksi Asam Piperat Menjadi Metil Piperat.....	52
4.4.3. Perbandingan <i>Spot</i> KLT Piperin, Asam Piperat, dan Metil Piperat....	56
4.4.4. Uji Titik Leleh Metil Piperat.....	57
4.4.5. Karakterisasi Metil Piperat dengan UV–Vis	57
4.4.6. Karakterisasi Metil Piperat dengan FTIR.....	60
4.5. Uji Aktivitas Antibakteri.....	63
4.6. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Metil Piperat terhadap Literatur.....	64
V. KESIMPULAN DAN SARAN	66
5.1. Kesimpulan	66
5.2. Saran	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Eluen, kepolaran, dan tampak noda (UV).....	15
2. Titik leleh senyawa turunan piperin.....	18
3. Hasil analisis UV–Vis senyawa piperin dan asam piperat.....	20
4. Data spektrum UV–Vis senyawa piperin dan turunannya.....	20
5. Data FTIR piperin, asam piperat, dan metil piperat.....	23
6. Hasil analisis dengan UV–Vis.....	41
7. Hasil analisis identifikasi gugus fungsi piperin pembandingan dan piperin isolasi pada spektrum FTIR.....	43
8. Hasil analisis dengan UV–Vis senyawa asam piperat hasil hidrolisis dan asam piperat pembandingan.....	48
9. Hasil analisis bilangan gelombang asam piperat hidrolisis dan piperin isolasi pada spektrum FTIR.....	50
10. Hasil optimasi waktu reaksi sintesis metil piperat.....	51
11. Perbandingan waktu reaksi sintesis metil piperat.....	53
12. Hasil analisis UV–Vis senyawa piperin, asam piperat, dan metil piperat.....	59
13. Hasil analisis FTIR senyawa piperin, asam piperat, dan metil piperat.....	62
14. Pengukuran zona hambat metil piperat, kontrol positif, dan kontrol negatif.....	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman lada	5
2. Struktur senyawa piperin.....	7
3. Hidrolisis piperin menjadi asam piperat	8
4. Reaksi pembentukan metil piperat	9
5. Peralatan soxhletasi	11
6. Peralatan refluks.....	12
7. Peralatan ekstraksi cair–cair	13
8. (a) Spektrum UV–Vis piperin dan (b) asam piperat.....	19
9. (a) Spektrum FTIR piperin, (b) asam piperat, dan (c) metil piperat	22
10. Isolat <i>Staphylococcus aureus</i> pada media dan pewarnaan Gram mikroskopis.....	24
11. Koloni bakteri yang tumbuh pada media MCA dan pewarnaan Gram bakteri <i>P. aeruginosa</i>	26
12. Diagram alir.....	34
13. (a) Sampel lada hitam utuh dan (b) serbuk lada hitam.....	35
14. (a) Proses soxhletasi piperin dan (b) larutan hasil soxhletasi.....	36
15. (a) Hasil pemekatan, (b) penambahan 20% C ₂ H ₅ OH.KOH, dan (c) penambahan akuades.....	37
16. (a) Hasil crude piperin dan (b) KLT crude piperin dalam pengamatan sinar UV.....	38
17. (a) Hasil larutan rekristalisasi dan (b) kristal piperin.....	38
18. (a) Hasil KLT piperin dalam pengamatan sinar UV dan (b) piperin dalam pewarnaan serium sulfat.....	39
19. Hasil spektrum UV–Vis piperin isolasi dan piperin pembanding.....	41
20. Hasil spektrum FTIR piperin.....	43

21. (a) Proses hidrolisis asam piperat dan (b) larutan hasil hidrolisis.....	44
22. (a) Penambahan HCl, (b) ekstraksi cair–cair, (c) pemekatan asam piperat, dan (d) padatan asam piperat.....	45
23. (a) Hasil KLT asam piperat dalam pengamatan sinar UV dan (b) pewarnaan serium sulfat.....	46
24. Hasil spektrum UV–Vis asam piperat sampel dan asam piperat pembanding.....	47
25. (a) Hasil FTIR asam piperat hidrolisis dan (b) piperin isolasi.....	49
26. (a) Proses sintesis metil piperat dan (b) larutan hasil sintesis.....	51
27. (a) Pemekatan metil piperat dan (b) padatan metil piperat.....	52
28. Reaksi asam piperat menjadi metil piperat.....	53
29. Mekanisme reaksi esterifikasi Steglich.....	54
30. (a) Perbandingan <i>spot</i> KLT piperin, asam piperat, dan metil piperat pengamatan dibawah sinar UV dan (b) pewarnaan serium sulfat.....	56
31. (a) Hasil spektrum UV–Vis piperin, (b) asam piperat, dan (c) metil piperat.....	58
32. (a) Hasil spektrum FTIR metil piperat dan (b) asam piperat.....	61
33. (a) Diameter zona hambat uji antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan (b) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan rempah–rempah yang melimpah, salah satu rempahnya adalah lada. Indonesia menjadi salah satu produsen lada terbesar di dunia dengan tujuan ekspor adalah Amerika dan negara Asia seperti Vietnam (Trilarasati dkk., 2023). Lada dalam bentuk utuh termasuk ke dalam sepuluh komoditas andalan pertanian Indonesia. Pasar dunia umumnya mengenal lada hitam Indonesia sebagai "*Lampung Black Pepper*" dan "*Munthok White Pepper*" untuk lada putih (Balqis dan Yanuar, 2021). Sebagian besar lada dihasilkan dari Provinsi Kepulauan Bangka Belitung dan Lampung dengan kontribusi masing–masing sebesar 38,02 % dan 16,65 % (Trilarasati dkk., 2023). Berdasarkan varietasnya, lada di Indonesia terbagi menjadi sepuluh varietas, di antaranya Petaling 1, Petaling 2, Natar 1, dan Natar 2 dari Lampung; Chunuk dan Nyelungkup dari Bangka Belitung; Lada Daun Kecil (LDK) dari Bangka; Bengkayang dari Kalimantan Tengah; Malonan 1 dari Kalimantan Timur; serta Ciinten dari Jawa Barat (Rostianana dan Ruhnayat, 2020).

Tanaman lada (*Piper nigrum* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu asam askorbat, asam palmitat, asam miristat, champene, carvacrol, metil eugenol, alkohol, piperin, minyak atsiri, resin, piperidin, dan pati. Lada hitam memiliki komponen terbesar yaitu piperin. Senyawa piperin merupakan alkaloid utama yang memberikan rasa pedas pada buah lada hitam (Andini dkk., 2023). Jumlah piperin bervariasi pada tanaman *Piperaceae*, umumnya berkisar antara 2% sampai 7,4%, namun pada lada hitam kandungan piperin dapat mencapai 9%. Piperin merupakan senyawa yang bersifat basa sangat lemah. Piperin dalam suasana asam atau alkali,

dapat dihidrolisis menjadi piperidin dan asam piperat (Octavia dkk., 2024). Sari dkk. (2014), Hasriyani dkk. (2020), dan Trindade *et al.* (2020) melaporkan bahwa piperin memiliki gugus piperidin, sedangkan asam piperat mempunyai gugus fungsi hidroksi. Perbedaan gugus fungsi pada piperin dan asam piperat dapat mempengaruhi aktivitas biologisnya. Kedua senyawa ini berperan penting sebagai agen antibakteri dan terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Mekanisme kerja piperin dalam aktivitas antibakteri berkaitan dengan kemampuannya mendenaturasi protein serta merusak membran sel bakteri melalui pelarutan lemak pada dinding sel, sehingga menyebabkan kerusakan struktur dan kematian sel bakteri (Hasriyani dkk., 2020).

Modifikasi asam piperat dapat dilakukan melalui reaksi esterifikasi dengan metode Fischer (Purwaningsih dkk., 2022). Prinsip metode Fischer memerlukan suhu sekitar 60°C dan waktu reaksi 4–6 jam, sedangkan penggunaan asam sulfat sebagai katalis menyebabkan reaksi bersifat reversibel, sehingga produk dapat kembali menjadi asam piperat, yang juga turut memengaruhi efisiensi sintesis. Selain metode Fischer, sintesis turunan asam piperat juga dapat dilakukan menggunakan metode Steglich. Penelitian oleh Choochana *et al.* (2015) melaporkan sintesis beberapa senyawa ester dari asam piperat yang berasal dari *Piper nigrum* L., termasuk metil piperat, dengan menggunakan *dicyclohexylcarbodiimide* (DCC) sebagai pereaksi dan *4-dimethylaminopyridine* (DMAP) sebagai katalis. Keunggulan metode Steglich terletak pada kondisi reaksi yang hanya memerlukan suhu 0°C hingga 25°C (suhu kamar), sehingga sintesis dapat berlangsung lebih lama tanpa risiko degradasi akibat panas. Penelitian tersebut tidak melaporkan suhu dan waktu reaksi pada sintesis metil piperat, sehingga kondisi optimal untuk memperoleh rendemen dan kemurnian senyawa tersebut belum diketahui.

Metil piperat yang diisolasi dari buah cabai Jawa (*Piper longum* L.) dilaporkan memiliki rendemen sebesar 0,084% serta menunjukkan potensi aktivitas antibakteri yang kuat, dengan diameter zona hambat sebesar 20 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan *strain* standar (Khaing, 2019).

Tingkat rendemen tersebut tergolong sangat rendah, namun nilai aktivitas antibakteri tersebut tergolong sangat baik, karena berdasarkan rentang yang dijelaskan oleh Morales *et al.* (2003), aktivitas antibakteri dianggap kuat apabila zona hambat berada pada kisaran >20 mm. Penelitian ini fokus pada evaluasi kemampuan senyawa hasil sintesis dalam menghambat pertumbuhan bakteri, serta menilai keberhasilan proses sintesis berdasarkan rendemen yang diperoleh.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengisolasi senyawa piperin dari buah lada hitam (*Piper nigrum* L.).
2. Mensintesis senyawa metil piperat dari asam piperat hasil hidrolisis piperin menggunakan metode esterifikasi Steglich.
3. Mengoptimasi rendemen metil piperat menggunakan parameter waktu reaksi esterifikasi.
4. Menguji aktivitas antibakteri metil piperat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode difusi agar disk.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi tentang sintesis senyawa ester metil piperat dari senyawa piperin dari buah lada. Senyawa sintesis serta aktivitas yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dikembangkan lebih lanjut terkait aktivitasnya sebagai kandidat antibakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Lada (*Piper nigrum* Linn)

Lada dikenal dengan nama merica atau sahang, nama latin (*Piper nigrum* Linn) memiliki rasa agak pedas, pahit, dan bersifat hangat dan dikenal sebagai *the King of Spices* atau rajanya rempah–rempah dalam sejarah perdagangan rempah–rempah. Lada hitam merupakan salah satu komoditas rempah–rempah tertua yang diperdagangkan sejak zaman penjajahan Belanda. Lada hitam seperti ditunjukkan pada Gambar 1 merupakan tanaman kaya senyawa seperti minyak lada. Selain digunakan rempah, biji lada hitam banyak digunakan masyarakat untuk menambah cita rasa masakan.

Klasifikasi tanaman lada hitam (*Piper nigrum* L.) yaitu:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Piperales</i>
Famili	: <i>Piperaceae</i>
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper nigrum</i> Linn



Gambar 1. Tanaman lada (Ikhlas dkk., 2023)

Tanaman lada merupakan salah satu tanaman perkebunan termasuk famili *Piperaceae*. Suhu yang cocok untuk tanaman lada adalah 20–34°C dengan kisaran terbaik 21–27°C pagi hari, 26–32°C siang hari, dan 24–30°C sore hari. Tanaman lada tumbuh dan berkembang lebih baik pada ketinggian 0–500 m–dpl, curah hujan antara 2.000–4.000 mm/tahun, bulan kering 1–3 bulan/tahun dan hari hujan 110–200 hari. Intensitas cahaya matahari yang dibutuhkan tanaman lada berkisar antara 50–75%. Kelembaban 70–90 % dengan pH tanah 5,0–6,5 (Amalia dkk., 2020). Buah lada adalah salah satu hasil rempah penting dari segi ekonomi dapat berupa lada hitam (*black pepper*) maupun lada putih. Lada secara morfologi merupakan jenis tumbuhan memanjat batang berkayu. Buah lada berwarna hijau saat muda dan berwarna merah ketika matang, memiliki diameter 4–6 mm, dalam satu malai terdapat 60–80 buah (Evizal, 2013).

Lada memiliki sifat higroskopis sehingga menarik air dari udara dan memperbesar kemungkinan untuk piperin terhidrolisis. Semakin tinggi kadar air dalam lada, maka kadar piperin akan semakin kecil karena piperin mudah terhidrolisis menjadi piperat dan piperidin yang asam mempunyai rasa kurang pedas. Kadar piperin pada lada hitam lebih besar dari pada kadar piperin lada putih. Hal ini dikarenakan pada saat proses pengeringan pasca panen, biji lada hitam dikeringkan bersama daging buah lada. Di dalam daging buah lada hitam terdapat senyawa *chavicin* yang merupakan asam tidak jenuh dan merupakan isomer piperin (Sutamihardja dkk., 2018).

2.2. Kandungan Senyawa Kimia dalam Lada Hitam (*Piper nigrum* Linn)

Kandungan kimia dan manfaat buah lada hitam mengandung senyawa alkaloid piperin sebagai senyawa bioaktif utama dan beberapa senyawa steroid atau minyak *essential*. Kandungan piperin dalam lada hitam mencapai 5,3–9,2%, selain itu, terdapat senyawa lain, seperti kavisin (1%), metil-pirolin, minyak atsiri (1,2–3,5%); lemak (6,5–7,5%); pati (36–37%) dan serat kasar ($\pm 14\%$) (Sari dan Bare, 2020).

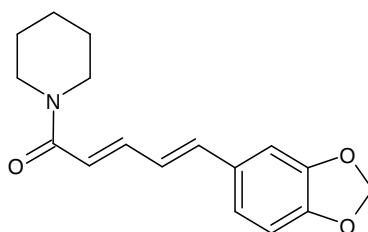
Lada hitam memiliki komposisi utama minyak lada sebagian besar merupakan campuran kompleks dari senyawa terpen hidrokarbon dan senyawa oksigen. Minyak lada hitam asal Jawa mengandung 40 senyawa volatil yang teridentifikasi dengan komponen utama yaitu *beta caryophyllene*, *limonene*, *delta-3-carene*, *beta pinene*, dan *alpha pinene*. Piperin merupakan senyawa aktif dalam biji lada dan menentukan tingkat kepedasan dari biji lada. Ekstrak lada diketahui memiliki berbagai efek farmakologis, antara lain sebagai antiasma, antiinflamasi, analgesik, antioksidan, antihipertensi, dan antikanker (Damanik dkk., 2020). Manfaat lain dari lada hitam adalah sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Arief dkk., 2020).

2.3. Piperin

Piperin pertama kali diisolasi dari ekstrak lada oleh *Hans Christian Orsted* pada tahun 1819. Piperin berbentuk kristal, berwarna kuning dengan titik leleh 128°C hingga 130°C (Octavia dkk., 2024). Kandungan utama dari lada hitam adalah piperin, yaitu senyawa identitas yang mempengaruhi tingkat rasa pedas lada (Mardjan dan Surbakti, 2023). Piperin memiliki rumus molekul $C_{17}H_{19}NO_3$, berbentuk kristal berwarna putih kekuningan dan merupakan alkaloid dari golongan piperidin yang memiliki sifat hampir tidak larut dalam air (Hikmawanti dkk., 2016).

Piperin tergolong senyawa basa sangat lemah dan mengalami penguraian melalui hidrolisis dengan asam atau basa menjadi piperidin dan asam piperat. Senyawa aktif piperin merupakan komponen metabolit sekunder dalam lada, berkisar antara 2–9%.

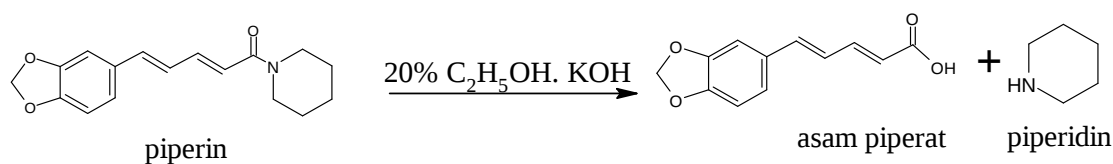
Piperin merupakan golongan senyawa metabolit sekunder alkaloid yang bersifat basa lemah dengan nilai pKa 12. Titik leleh kristal piperin berkisar antara 128–129°C (Bahri *et al.*, 2019). Piperin merupakan senyawa semi polar yang memiliki kelarutan rendah dalam air (Sahu *et al.*, 2014). Piperin memiliki serapan UV yang berkisar antara 230 hingga 400 nm, dengan absorptivitas molar yang tinggi sebesar $3,10 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ pada panjang gelombang 344 nm (Choochana *et al.*, 2014). Berikut bentuk struktur senyawa piperin terdapat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa piperin

2.4. Asam Piperat

Asam piperat diperoleh melalui hidrolisis basa terhadap piperin (Sayari *et al.*, 2024). Kristal asam piperat yang dihasilkan memiliki titik leleh sebesar 217,2–218°C berdasarkan pengukuran dengan alat titik Lebur Fisher–John (Bahri *et al.*, 2019). Transformasi piperin menjadi asam piperat dapat dikonfirmasi melalui data spektrum NMR dengan muncul pita baru pada 168,86 ppm yang menunjukkan keberadaan gugus karboksilat. Sementara itu, pita pada 165,53 ppm yang sebelumnya menunjukkan gugus amida menurun intensitasnya dan menghilang setelah proses hidrolisis, yang mengindikasikan terjadinya perubahan gugus amida menjadi gugus karboksilat (Zarai *et al.*, 2013). Selain itu, asam piperat juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan piperin dalam pengujian 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Achanta *et al.*, 2020). Berikut reaksi hidrolisis piperin menjadi asam piperat terdapat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hidrolisis piperin menjadi asam piperat (Achanta *et al.*, 2020)

2.5. Metil Piperat

Metil piperat merupakan senyawa ester hasil reaksi antara asam piperat dengan metanol melalui proses esterifikasi. Asam piperat sendiri merupakan turunan dari piperin, alkaloid utama pada buah lada hitam. Metil piperat termasuk ke dalam golongan piperamida yang banyak diteliti karena memiliki potensi bioaktivitas yang menjanjikan, terutama sebagai antibakteri dan pelindung sinar ultraviolet (UV) (Choochana *et al.*, 2015).

Secara fisikokimia, metil piperat diperoleh dalam bentuk padatan berwarna kuning pucat dengan titik leleh 141–142°C. Senyawa ini menunjukkan spektrum serapan UV pada panjang gelombang maksimum (λ_{max}) 342 nm dengan molar absorptivitas 16.844 M⁻¹ cm⁻¹. Analisis FTIR memperlihatkan adanya serapan khas gugus karbonil ester pada bilangan gelombang 1703 cm⁻¹, sedangkan hasil ¹H NMR menunjukkan puncak khas gugus metoksi pada δ 3,85 ppm. Senyawa ini dapat disintesis menggunakan metode esterifikasi Steglich dengan katalis *dicyclohexylcarbodiimide* (DCC) dan 4-*dimethylaminopyridine* (DMAP), yang mampu menghasilkan rendemen sebesar 84,94% (Choochana *et al.*, 2015).

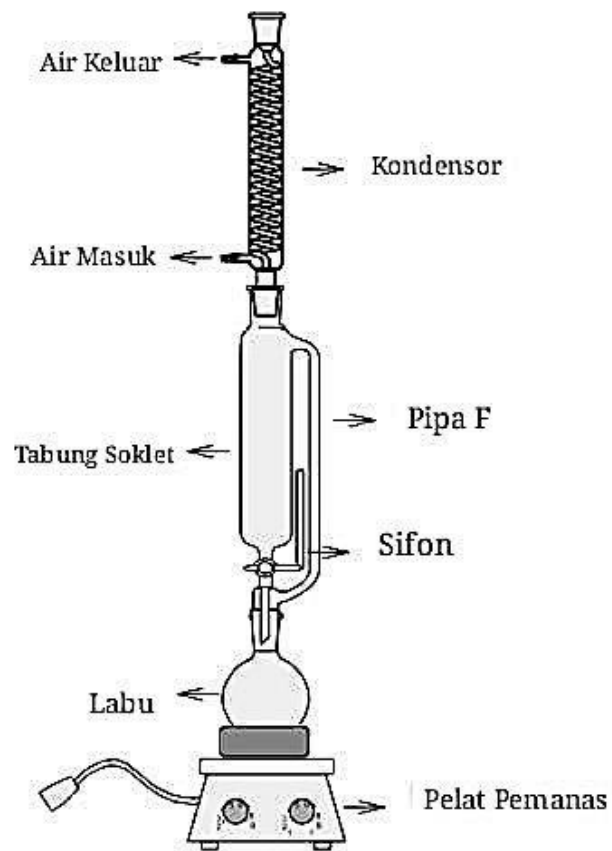
Selain sifat fisikokimia tersebut, metil piperat juga memiliki sifat biologis yang penting. Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, metil piperat menunjukkan aktivitas sebagai agen pelindung UV dengan nilai SPF 2,68 ± 0,17 serta rasio UVA/UVB sebesar 0,967, yang termasuk kategori sangat baik berdasarkan Boots Star Rating: 5/ultra. Dengan sifat-sifat tersebut, metil piperat berpotensi dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi dan kosmetik, baik sebagai

2.6.1. Soxhletasi

Ekstraksi soxhletasi merupakan salah satu metode pemisahan zat dari campurannya yang memanfaatkan proses pemanasan dengan pelarut yang digunakan secara berulang melalui sirkulasi (Wijaya dkk., 2019). Peralatan soxhletasi terdiri atas tiga bagian utama, yaitu bagian bawah berupa labu didih yang berisi pelarut penyari, bagian tengah berupa badan soxhlet yang menampung serbuk simplisia, serta bagian atas berupa kondensor tegak yang berfungsi mengembunkan uap pelarut.

Proses soxhletasi dimulai dengan pemanasan pelarut hingga mencapai titik didihnya, namun tetap harus diperhatikan agar tidak merusak sampel. Pelarut yang dipanaskan akan menguap, bergerak melalui pipa samping badan soxhlet, lalu menuju kondensor untuk diembunkan kembali. Hasil kondensasi berupa cairan akan menetes ke dalam wadah simplisia sehingga menyari senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Setelah volume cairan dalam badan soxhlet mencapai batas tertentu, pelarut yang telah membawa zat terlarut akan kembali mengalir ke labu didih melalui pipa kapiler. Proses ini disebut satu kali siklus, dan akan berlangsung secara berulang hingga seluruh senyawa dalam simplisia terekstraksi. Soxhletasi dihentikan ketika pelarut yang keluar dari pipa kapiler sudah tampak bening, yang menandakan bahwa senyawa dalam simplisia telah terekstraksi secara maksimal (Oktoviani, 2020).

Penelitian Rahmatuzzahrah dkk. (2024) melaporkan rendemen soxhletasi buah cabai jawa sebesar 12,568% dan rendemen maserasi sebesar 8,275%. Kandungan piperin tetap stabil pada suhu pemanasan sehingga soxhletasi meningkatkan kelarutan dan jumlah senyawa yang terekstrak. Metode soxhletasi dinilai lebih unggul untuk isolasi piperin karena memberikan rendemen lebih besar dan proses lebih efisien dibandingkan maserasi. Berikut peralatan alat soxhletasi terdapat pada Gambar 5.

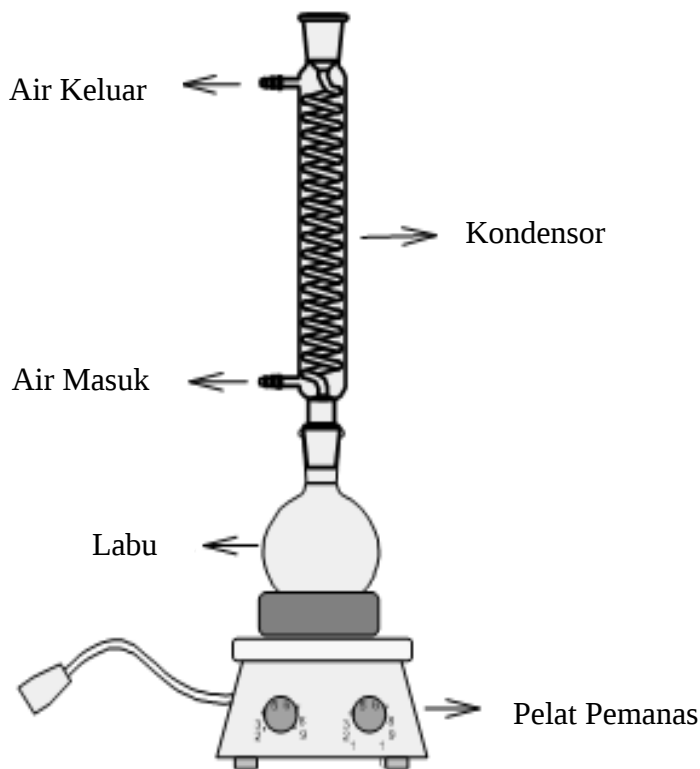


Gambar 5. Peralatan soxhletasi

2.6.2. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan bantuan panas. Faktor yang sangat berpengaruh terhadap ekstraksi menggunakan refluks adalah penambahan pemanasan, sedangkan pelarut yang digunakan tetap berada dalam keadaan segar karena terjadi penguapan kembali pelarut yang merendam bahan. Metode ekstraksi refluks menggunakan pemanasan yang dapat meningkatkan proses ekstraksi karena suhu merupakan salah satu faktor yang memengaruhi kecepatan ekstraksi. Suhu tinggi mampu mempercepat desorpsi senyawa aktif dari tanaman akibat perusakan sel yang lebih besar pada bahan karena tingginya suhu pelarut. Peningkatan suhu pada metode refluks juga menjaga pelarut tetap segar selama ekstraksi sehingga kejenuhan pelarut dapat dihindari dan kemampuan pelarut dalam menarik senyawa tahan panas meningkat (Susanti dkk., 2015).

Prinsip metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, kemudian didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang semula berbentuk uap mengembun pada kondensor dan turun kembali ke dalam wadah reaksi, sehingga pelarut tetap tersedia selama reaksi berlangsung (Azhari dkk., 2020). Berikut peralatan refluks terdapat pada Gambar 6.



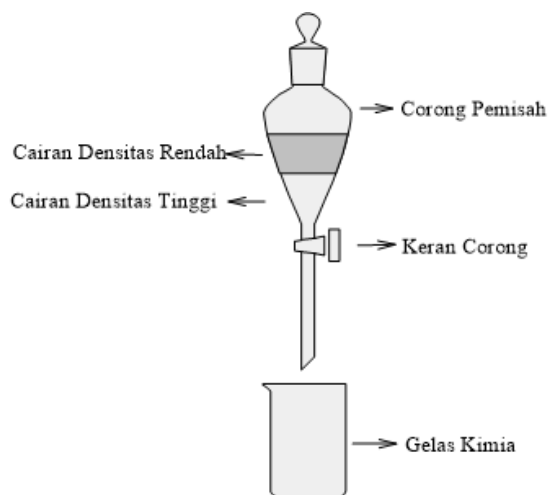
Gambar 6. Peralatan refluks

Penelitian ini, pada tahap refluks dilakukan untuk pemurnian setelah proses isolasi piperin untuk memperoleh produk piperin murni dari piperin kasar (*crude piperin*). *Crude piperin* hasil isolasi direfluks menggunakan etanol dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 45 menit. Piperin murni yang telah diperoleh kemudian direfluks kembali pada proses hidrolisis piperin untuk menghasilkan asam piperat (Choochana *et al.*, 2015).

2.6.3. Ekstraksi Cair–Cair

Ekstraksi cair–cair atau yang dikenal dengan ekstraksi *solvent* merupakan proses pemisahan fasa cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang akan dipisahkan antara larutan asal dan pelarut pengeksrak (*solvent*). Prinsip dasar ekstraksi cair–cair ini melibatkan pengontakan suatu larutan dengan pelarut (*solvent*) lain yang tidak saling melarut (*immisible*) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda, sehingga akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan solvent. Hal ini menyebabkan terjadinya perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut pengeksrak (*solvent*). Perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut baru yang diberikan, disebabkan oleh adanya daya dorong (*dirving force*) yang muncul akibat adanya beda potensial kimia antara kedua pelarut (Mirwan, 2013).

Proses ekstraksi cair–cair merupakan perpindahan massa yang berlangsung secara difusional. Proses ekstraksi cair–cair berlangsung pada suatu alat yang dirancang sedemikian rupa sehingga mempunyai luas permukaan yang mencukupi untuk terjadinya kontak antar fasa–fasa yang terlibat (fasa kontinyu yang berisi zat terlarut dan fasa dispersi) sehingga distribusi komposisi dalam kedua fasa menjadi lebih sempurna dan berhasil dengan baik (Mirwan, 2013). Berikut peralatan ekstraksi cair–cair terdapat pada Gambar 7.



Gambar 7. Peralatan ekstraksi cair–cair

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi cair–cair setelah proses refluks hidrolisis piperin. Larutan dimasukkan ke dalam corong pisah dilakukan ekstraksi cair–cair menggunakan pelarut diklorometana (DCM). Pada tahap ini, DCM berfungsi sebagai fasa bawah (fasa organik) karena memiliki densitas lebih tinggi ($1,33 \text{ g/cm}^3$) dibandingkan fasa air ($1,00 \text{ g/cm}^3$). Senyawa hasil hidrolisis berupa asam piperat mentah akan lebih mudah larut dalam fasa organik DCM, sedangkan komponen polar tetap berada pada fasa air. Setelah dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan, lapisan bawah (DCM) yang mengandung asam piperat dipisahkan dan dikumpulkan untuk tahap rekristalisasi (Choochana *et al.*, 2015).

2.7. Kromatografi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan senyawa kimia yang memanfaatkan perbedaan distribusi zat antara dua fase, yaitu fase diam (padat) dan fase gerak (cair atau gas). Metode ini umumnya digunakan untuk memisahkan komponen–komponen dalam suatu campuran secara efisien. Keunggulan dari kromatografi adalah prosesnya yang cepat dan praktis, serta hanya membutuhkan peralatan yang relatif sederhana. Prinsipnya, kromatografi bekerja berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi masing–masing komponen saat melewati fase diam, dengan bantuan fase gerak berupa pelarut (Muhaimim dkk., 2025). Salah satu teknik kromatografi yang paling umum digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dalam campuran dan menentukan kemurnian suatu senyawa adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Prasetyawan dkk., 2024).

2.7.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu teknik analisis yang ekonomis dan andal untuk analisis residu senyawa adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Tujuan utama dari KLT adalah untuk memperoleh noda senyawa yang terdefinisi dengan baik dan terpisah secara jelas. KLT menggunakan fase diam, umumnya berupa silika gel atau alumina, yang bersifat sangat polar (fase normal) atau non–polar (fase balik), serta fase gerak berupa pelarut

yang dipilih berdasarkan polaritasnya. Laju pergerakan senyawa dalam KLT sangat bergantung pada polaritasnya senyawa yang lebih polar cenderung berinteraksi lebih kuat dengan fase diam dan bergerak lebih lambat, sedangkan senyawa yang kurang polar akan lebih larut dalam fase gerak dan bergerak lebih cepat (Islam *et al.*, 2024).

Nilai *Retention Factor* (R_f) menunjukkan rasio antara jarak yang ditempuh senyawa dan jarak pelarut, digunakan untuk menilai efektivitas pemisahan pada KLT. Pelarut non-polar (seperti n-heksana dan pentana), senyawa polar tertahan di garis dasar, sedangkan senyawa non-polar bergerak lebih jauh. Sebaliknya, pada pelarut polar, senyawa non-polar cepat mencapai ujung pelat dan senyawa polar mulai bergerak. Sistem pelarut yang ideal menghasilkan nilai R_f antara 0,15–0,85, yang menjadi target dalam optimasi KLT (Islam *et al.*, 2024).

Prinsip kerja KLT didasarkan pada perbedaan afinitas senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Pemilihan fase gerak sangat penting dan sering disesuaikan melalui uji coba, misalnya dengan campuran n-heksana : etil asetat (1:1) yang dapat dimodifikasi. Jika nilai R_f terlalu kecil, polaritas pelarut ditingkatkan; jika terlalu besar, polaritas dikurangi. Variasi komposisi n-heksana dan etil asetat memengaruhi kepolaran fase gerak serta pola pemisahan senyawa yang diamati di bawah sinar UV (Islam *et al.*, 2024). Hasil variasi eluen, kepolaran fase gerak, dan tampilan noda pada UV disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Eluen, kepolaran, dan tampak noda (UV) (Suoth dkk., 2023)

Eluen (n-Heksan : Etil Asetat)	Kepolaran Fase Gerak	Tampak Noda (UV)
10 : 1	Sangat non polar	UV 254 & 366 nm
5 : 1	Non polar-semi polar	UV 366 nm
3 : 1	Semi polar	UV 366 nm
1 : 1	Semi polar	UV 366 nm
1 : 3	Polar	UV 366 nm
1 : 5	Polar	UV 366 nm
1 : 10	Sangat polar	UV 366 nm

Hasil analisis menggunakan KLT menghasilkan bercak–bercak (*spot*) yang memiliki jarak migrasi berbeda–beda. Perbedaan jarak tersebut dapat digunakan untuk menentukan nilai *Retention Factor* (*R_f*), yang menggambarkan interaksi antara senyawa dalam sampel dengan fase gerak (eluen). Nilai *R_f* ditentukan untuk mengidentifikasi dan memastikan adanya pergerakan senyawa target dalam suatu sampel (Rohman, 2020). Berikut rumus perhitungan nilai *R_f* seperti pada Persamaan (1):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \dots\dots\dots (1)$$

2.7.2. Sinar Ultraviolet

Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode analisis sederhana yang dapat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak (Lintang dkk., 2024). Prinsip kerja kromatografi lapis tipis (KLT) dengan deteksi sinar ultraviolet melibatkan penggunaan dua panjang gelombang, yaitu 254 nm dan 366 nm, untuk menampakkan noda senyawa pada lempeng. Penyinaran pada panjang gelombang 254 nm dilakukan dalam penelitian ini untuk mengidentifikasi senyawa berdasarkan transisi elektron π yang mencirikan gugus fungsi khususnya, seperti ikatan rangkap karbonil (C=O) terkonjugasi dan cincin aromatik. Pada panjang gelombang ini, lempeng KLT akan memancarkan warna hijau akibat adanya indikator fluoresensi, sementara senyawa yang menyerap sinar UV akan tampak sebagai bercak gelap (Katadi dkk., 2023).

Penampakan noda terjadi karena adanya interaksi antara sinar UV dengan komponen fluoresen di lempeng atau senyawa itu sendiri. Selain itu, untuk memperoleh hasil yang reproduksibel, penotolan sampel harus dilakukan dengan volume minimal 0,5 μ L, dan jika menggunakan volume 2–10 μ L, maka perlu dilakukan secara bertahap dengan pengeringan antar totolan. Setelah penotolan, lempeng dicelupkan ke dalam fase gerak dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhi uap pelarut, dengan ketentuan tinggi pelarut tidak melewati titik totolan. Penjenuhan ini biasanya

dilakukan dengan melapisi dinding bejana menggunakan kertas saring yang dibasahi hingga uap merata. Deteksi noda dapat dilakukan secara fisika maupun kimia, namun secara fisika khususnya menggunakan sinar UV menjadi metode utama untuk senyawa yang memiliki sifat fluoresensi, karena bercak akan terlihat mencolok di bawah pencahayaan tersebut (Katadi dkk., 2023).

2.8. Uji Titik Leleh

Titik leleh merupakan salah satu sifat fisik penting yang digunakan dalam karakterisasi suatu senyawa karena menunjukkan suhu transisi antara fase padat dan fase cair (Tahir *et al.*, 2002). Titik leleh (*melting point*) merupakan sifat fisik dasar yang banyak digunakan dalam ilmu farmasi, kimia organik, dan kimia biologis. Dalam praktik kimia organik, titik leleh dimanfaatkan tidak hanya untuk karakterisasi senyawa, tetapi juga untuk mengevaluasi tingkat kemurnian suatu zat. Selain itu, titik leleh memiliki peran penting sebagai parameter dalam memprediksi kelarutan senyawa, yang sangat memengaruhi bioavailabilitasnya (Mao *et al.*, 2016). *Melting point* (titik leleh) secara umum didefinisikan sebagai suhu di mana zat padatan mulai berubah wujud menjadi zat cair (Putra *et al.*, 2020).

Pengukuran skala laboratorium, titik leleh dari suatu senyawa murni dianggap sebagai karakteristik khas zat tersebut. Pada kenyataannya, sebagian besar alat penentu titik leleh hanya memungkinkan pengukuran dalam bentuk rentang leleh (*melting range*), bukan suhu pasti saat senyawa mulai meleleh. Jika zat yang diuji sangat murni, maka rentang lelehnya akan sangat sempit, hanya sekitar 1°C apabila pengukuran dilakukan secara hati-hati (Young, 2013).

Perbedaan struktur kimia dan gugus fungsi pada piperin, asam piperat, serta turunannya menyebabkan adanya variasi pada nilai titik leleh masing-masing senyawa. Perbedaan ini menunjukkan bahwa sifat fisik setiap senyawa dipengaruhi oleh jenis ikatan serta kestabilan molekul yang dimilikinya. Data titik leleh beberapa senyawa turunan piperin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Titik leleh senyawa turunan piperin
(Choochana *et al.*, 2015)

Senyawa	Titik Leleh (°C)
Piperin	129–130
Asam Piperat	213–215
Metil Piperat	141–142
Etil Piperat	117–118
Propil Piperat	97–98

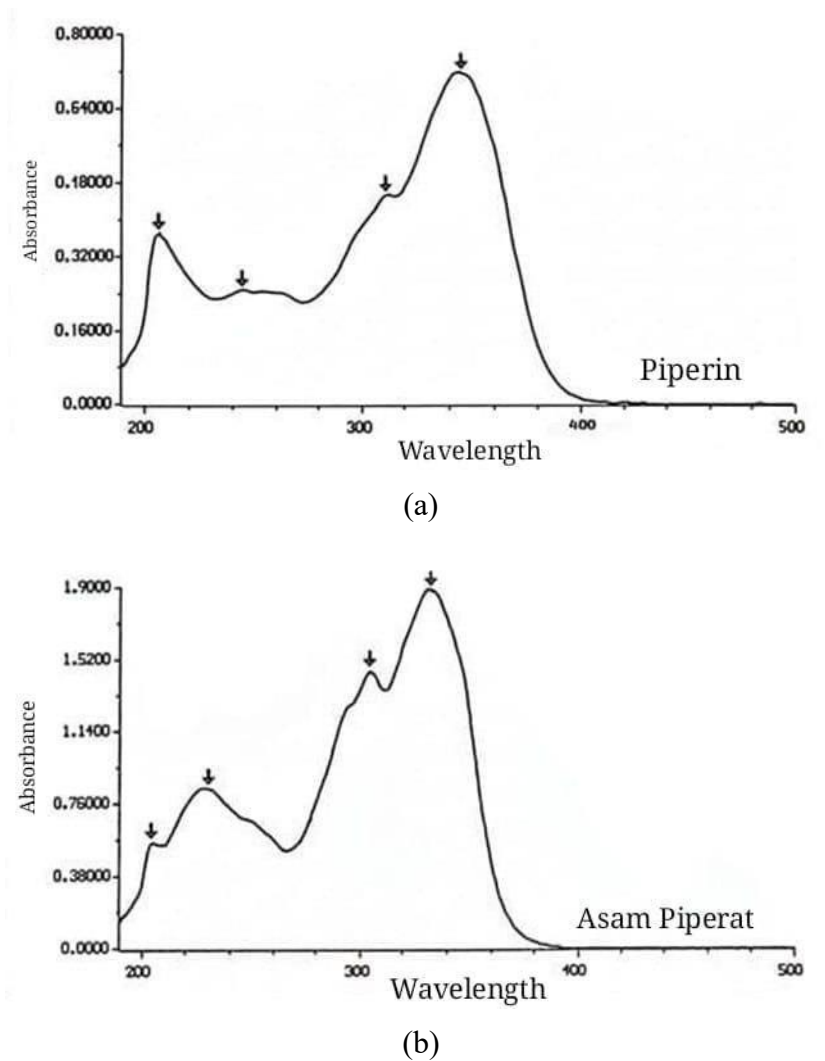
2.9. Spektrofotometri Ultraviolet–Visible (UV–Vis)

Spektrofotometri Ultraviolet–Visible (UV–Vis) merupakan salah satu metode spektroskopi yang bekerja pada rentang panjang gelombang 190–700 nm. Interaksi antara radiasi gelombang elektromagnetik di daerah ultraviolet dan cahaya tampak dengan materi dapat menyebabkan terjadinya transisi elektronik, yaitu perpindahan elektron dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV–Vis memiliki beberapa keunggulan penting, di antaranya biaya spektrofotometer yang relatif terjangkau, ketersediaannya di banyak laboratorium standar, kemudahan dalam pengoperasian, serta proses preparasi sampel yang dapat dilakukan menggunakan pelarut air distilasi murni, sehingga tidak memerlukan bahan kimia tambahan (Yulia dkk., 2021).

Prinsip kerja spektrofotometer UV–Vis didasarkan pada fenomena serapan cahaya, atom atau molekul berinteraksi langsung dengan radiasi elektromagnetik.

Spektrofotometer UV–Vis merupakan gabungan antara prinsip spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak, yang menggunakan dua sumber cahaya berbeda untuk masing–masing rentang gelombang. Spektrofotometri UV–Vis bekerja berdasarkan Hukum Lambert–Beer, yang menyatakan bahwa jika cahaya monokromatik melewati suatu senyawa tertentu, maka sebagian sinar akan diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lainnya diteruskan. Instrumen spektrofotometer UV–Vis menggunakan cermin berputar yang berfungsi utama untuk membagi sinar dari sumber cahaya

menjadi dua jalur optik. Panjang gelombang pada daerah ultraviolet berada dalam rentang λ 180–380 nm, sedangkan pada daerah cahaya tampak (*Visible*) berkisar antara 380–780 nm (Ahriani dkk., 2021). Berikut ini adalah gambar perbedaan karakterisasi UV–Vis dari perbandingan antara senyawa piperin dan senyawa asam piperat ditampilkan pada Gambar 8.



Gambar 8. (a) Spektrum UV–Vis piperin dan (b) asam piperat (Bahri *et al.*, 2019)

Berikut ini adalah hasil analisis panjang gelombang piperin dan asam piperat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis dengan UV–Vis senyawa piperin dan asam piperat

λ Piperin (nm)	λ Asam Piperat (nm)
342	332
308	304
254	230
208	204

Menurut Choochana *et al.*, (2015), hasil pengukuran spektrofotometri UV–Vis menunjukkan panjang gelombang maksimum (λ max) dan nilai absorptivitas molar (ϵ) dari senyawa piperin, asam piperat, dan metil piperat sebagaimana ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Data spektrum UV–Vis senyawa piperin dan turunannya Choochana *et al.*, 2015)

Senyawa	λ max (nm)	ϵ ($M^{-1} cm^{-1}$)
Piperin	343	31.350
Asam Piperat	340	17.658
Metil Piperat	342	16.844

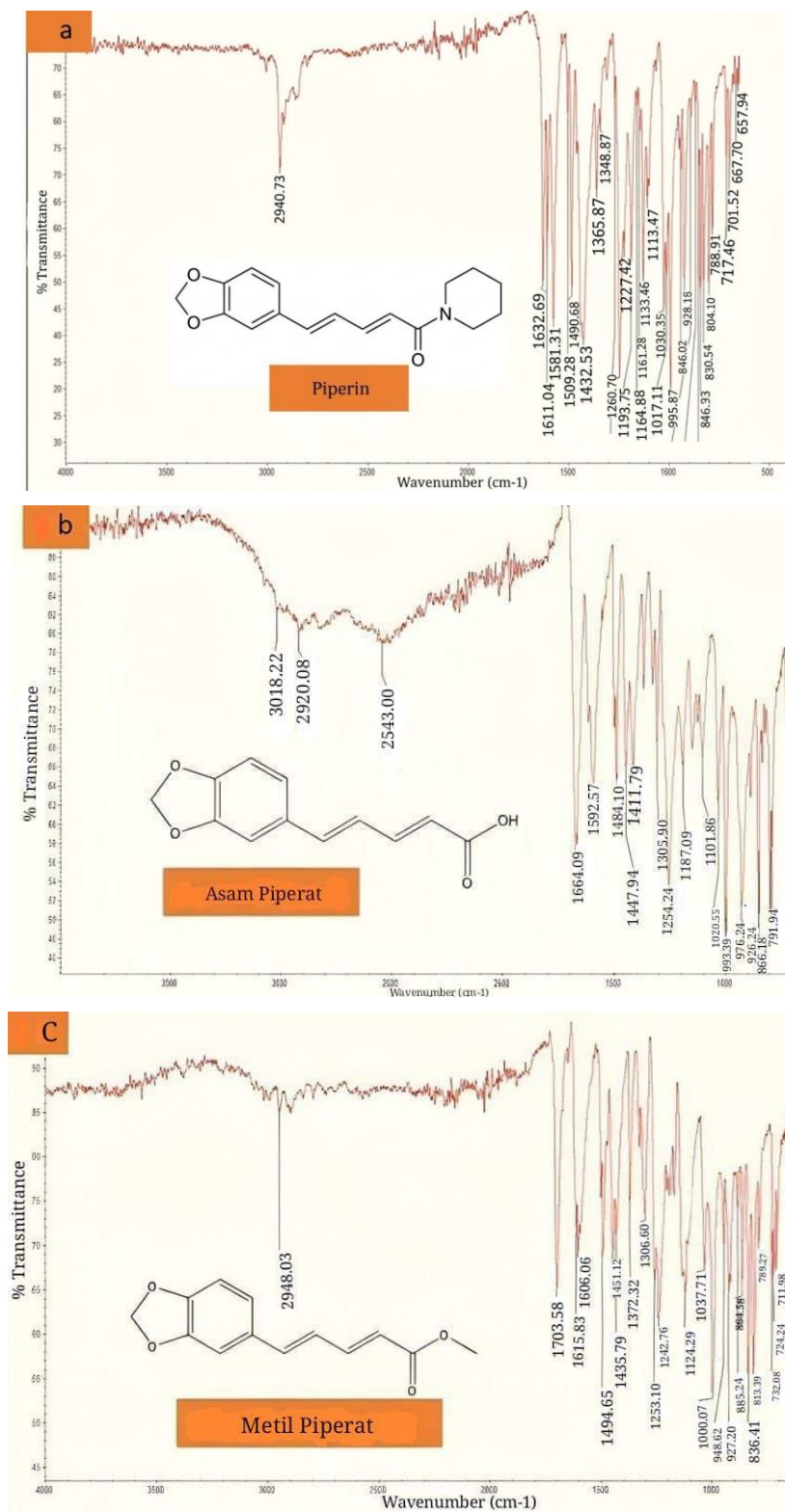
2.10. Spektrofotometri Inframerah (IR)

Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) merupakan salah satu teknik analitik yang sangat baik dalam proses identifikasi struktur molekul suatu senyawa. Komponen utama spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan (mendispersi) radiasi infra merah menjadi komponen–komponen frekuensi. Interferometer Michelson tersebut memberikan keunggulan metode FTIR dibandingkan metode spektroskopi inframerah

konvensional maupun metode spektroskopi yang lain. Keunggulan utamanya adalah informasi struktur molekul dapat diperoleh secara tepat, akurat, dan detail (memiliki resolusi yang tinggi). Keuntungan penting yang lain dari metode ini adalah dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam berbagai fase (gas, padat, atau cair) (Kusumastuti, 2011).

Prinsip kerja FTIR berlandaskan kemampuan molekul dalam menyerap radiasi inframerah pada frekuensi tertentu yang sesuai dengan mode vibrasi ikatan kimia dalam strukturnya. Ketika suatu senyawa dikenai radiasi inframerah, ikatan antar atom dalam molekul akan bergetar dengan cara tertentu tergantung pada jenis gugus fungsi yang dimilikinya. Getaran ini hanya dapat menyerap radiasi IR secara efektif apabila menghasilkan perubahan momen dipol dalam molekul tersebut (Patkowska *et al.*, 2025).

Spektrum serapan inframerah yang dihasilkan menggambarkan pola karakteristik spesifik dari molekul, sehingga dapat digunakan sebagai "sidik jari molekul" untuk identifikasi dan karakterisasi senyawa organik maupun anorganik. Gugus fungsi yang sama akan menyerap pada bilangan gelombang yang relatif tetap, meskipun berada dalam senyawa yang berbeda, sehingga adanya hubungan antara bilangan gelombang serapan dengan struktur kimia memungkinkan pengenalan zat berdasarkan posisi dan intensitas pita serapan dalam spektrum. Spektroskopi FTIR umumnya dilakukan pada wilayah inframerah tengah (mid-IR), yaitu pada rentang bilangan gelombang $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ (Patkowska *et al.*, 2025). Berikut ini adalah Gambar 9 perbedaan karakterisasi FTIR dari senyawa piperin, asam piperat, dan metil piperat.



Gambar 9. (a) Spektrum FTIR piperin, (b) asam piperat, (c) metil piperat (Ramirez *et al.*, 2024)

Berikut data FTIR piperin, asam piperat, dan metil piperat terdapat pada Tabel 5.

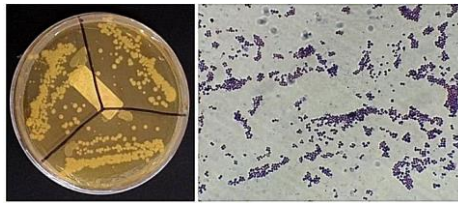
Tabel 5. Data FTIR piperin, asam piperat, dan metil piperat (Ramirez *et al.*, 2024)

Gugus Fungsi / Pita	Piperin	Asam Piperat	Metil Piperat
C–H regangan	2940 cm ⁻¹	2920 cm ⁻¹	2948 cm ⁻¹
C=O karbonil	1632 cm ⁻¹	1664 cm ⁻¹	1703 cm ⁻¹
C=C aromatik	1611–1490 cm ⁻¹	1592–1484 cm ⁻¹	1606–1494 cm ⁻¹
–OH (COOH)	–	3018–2920 cm ⁻¹	–
CH ₂ tekukan	1432 cm ⁻¹	1447 cm ⁻¹	1451 cm ⁻¹
C–O–C asimetris	1260–1193 cm ⁻¹	1254–1187 cm ⁻¹	1242–1124 cm ⁻¹
C–O–C simetris	1030 cm ⁻¹	1101 cm ⁻¹	1037 cm ⁻¹
C–O	1017 cm ⁻¹	993 cm ⁻¹	1000 cm ⁻¹
C–H aromatik (1,2,4–trisubstitusi)	846–804 cm ⁻¹	926–791 cm ⁻¹	836–789 cm ⁻¹

Berdasarkan hasil analisis FTIR Ramirez *et al.* (2024) pada piperin, asam piperat, dan metil piperat, diperoleh perbedaan spektrum yang berkaitan dengan gugus fungsi masing-masing senyawa. Semua senyawa menunjukkan pita C–H alifatik sekitar 2940–2950 cm⁻¹. Perbedaan utama terlihat pada gugus karbonil, yaitu amida pada piperin, asam karboksilat pada asam piperat, dan ester pada metil piperat. Cincin aromatik muncul pada ketiga senyawa dengan sedikit pergeseran posisi pita. Pita O–H lebar hanya terdapat pada asam piperat. CH₂ tekukan ada pada semua senyawa dengan sedikit pergeseran. Gugus metilendioksi muncul pada ketiganya, ditunjukkan oleh serapan C–O–C asimetris. Pergeseran kecil juga terlihat pada pita C–O–C simetris. Pita C–O hadir di semua senyawa namun berbeda posisi. C–H aromatik muncul pada ketiga senyawa dengan pergeseran pita yang berbeda.

2.11. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen pada manusia yang banyak ditemukan pada permukaan kulit maupun di rongga hidung. Apabila lapisan permukaan tubuh mengalami luka akibat gesekan, goresan, atau penyakit kulit lainnya, bakteri ini dapat menginfeksi bahkan masuk ke dalam pembuluh darah sehingga menyebabkan bakteremia dan menginfeksi berbagai organ tubuh manusia (Hanina dkk., 2022). *S. aureus* termasuk bakteri Gram positif berbentuk kokkus yang pada pewarnaan Gram menghasilkan warna ungu Gambar 10. Warna ini muncul karena bakteri mampu mempertahankan zat warna pertama, yaitu kristal violet. Perbedaan sifat Gram tersebut dipengaruhi oleh struktur dinding sel; bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan Gram negatif (Hayati dkk., 2019).



Gambar 10. Isolat *Staphylococcus aureus* pada media MSA dan pewarnaan Gram mikroskopis (Hayati dkk., 2019)

Secara morfologi, *S. aureus* berdiameter 0,5–1,5 μm , terdapat secara tunggal maupun berpasangan, serta membentuk susunan menyerupai buah anggur yang tidak beraturan. Bakteri ini dapat menimbulkan berbagai penyakit dengan gejala khas berupa peradangan (Khairunnisa dkk., 2023). Karakter fisiologinya antara lain bersifat non–motil, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif, katalase positif, dan oksidase negatif. *S. aureus* mampu tumbuh pada suhu 6,5–46°C dan pH 4,2–9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter hingga 4 mm, berbentuk bundar, halus, menonjol, berkilau, serta berwarna abu–abu hingga kuning keemasan. Warna keemasan ini berasal dari pigmen lipochrom, yang terbentuk optimal pada suhu kamar (20–25°C) setelah pertumbuhan 18–24 jam (Dewi, 2013).

Salah satu bahan alam yang berpotensi menghambat pertumbuhan *S. aureus* adalah lada hitam. Ekstrak etanol buah lada hitam terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif ini dengan daya hambat >10 mm. Erturk (2006) melaporkan bahwa ekstrak etanol lada hitam mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar 12,5 mm dan *Staphylococcus epidermidis* sebesar 15 mm. Aktivitas antibakteri lada hitam terutama disebabkan oleh kandungan piperin, senyawa alkaloid utama pada buah lada. Mekanisme kerja piperin terhadap *S. aureus* diduga melalui penghambatan protein A, yaitu protein spesifik pada permukaan sel *S. aureus* yang berperan dalam pelepasan toksin, sehingga mengurangi kemampuan bakteri dalam menimbulkan infeksi (Sari dkk., 2014).

2.12. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen yang dikenal sulit dikendalikan karena tingkat resistensinya yang tinggi terhadap berbagai antibiotik, sehingga menurunkan efektivitas pengobatan dan berkontribusi terhadap meningkatnya angka kematian (Ekawati dkk., 2018). *P. aeruginosa* dapat ditemukan pula sebagai bagian dari flora usus normal pada orang sehat dengan persentase yang kecil, namun angka kejadian lebih tinggi pada pasien rawat inap di rumah sakit yang memungkinkan infeksi endogen terutama individu dengan kondisi sistem kekebalan tubuh yang lemah. Bakteri ini juga banyak dijumpai pada area lingkungan yang lembab, dan umumnya penularan melalui kontak langsung maupun tidak langsung dari sumber lingkungan yang terkontaminasi. Sebagai bakteri yang bersifat oportunistik, *P. aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi hampir diseluruh bagian tubuh apabila disertai dengan kondisi yang mendukung. Infeksi yang ditimbulkan meliputi luka pada kulit dan luka bakar, menjadi patogen utama pada saluran pernapasan pada penderita fibrosis kistik, serta dapat menyebabkan pneumonia pada pasien dengan ventilator. Selain itu, bakteri ini juga dapat menjadi penyebab infeksi saluran kemih, septikemia, osteomielitis, dan endokarditis (Goering *et al.*, 2019).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bakteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gamma Proteobacteria
 Ordo : Pseudomonadales
 Famili : Pseudomonadaceae
 Genus : *Pseudomonas*
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Diggle and Whiteley, 2020)

Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 11 berikut.



Gambar 11. Koloni bakteri yang tumbuh pada media MCA dan pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Shafira dkk., 2022)

Berdasarkan Gambar 11 diatas, *Pseudomonas aeruginosa* memiliki karakteristik berbentuk batang, Gram negatif, heterotrof, dan motil, dengan ukuran berkisar antara 1–5 μm panjang dan 0,5–1,0 μm lebar. Bakteri ini dapat hidup dalam kisaran suhu yang luas, yaitu antara 4 hingga 42°C. *P. aeruginosa* juga sering dijumpai pada sumber air terkontaminasi oleh limbah hewan maupun manusia (Diggle and Whiteley, 2020).

2.13. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Salah satu metode yang digunakan dalam uji efektivitas antibakteri adalah metode difusi cakram. Prinsip pengujian metode ini adalah kertas cakram yang diberi konsentrasi senyawa antibakteri tertentu ditempatkan pada media di mana organisme

uji tumbuh. Zona hambat kemudian diamati sebagai daerah bening di sekeliling kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak uji. Kertas cakram berfungsi sebagai bahan penting karena berperan menyerap senyawa antibakteri yang digunakan dan menjadi sumber difusi ketika ditempatkan pada media pertumbuhan bakteri (Sundari, 2022).

Pengamatan biasanya dilakukan setelah proses inkubasi dengan indikator terbentuknya zona bening pada semua konsentrasi uji. Diameter zona hambat yang muncul dapat berbeda-beda, kemudian diukur menggunakan jangka sorong dengan cara mengukur diameter horizontal dan vertikal, lalu hasil yang diperoleh dikurangi diameter cakram sebesar 6 mm. Diameter zona hambat menjadi tolak ukur kekuatan suatu senyawa antibakteri. Morales *et al.* (2003), aktivitas antibakteri dianggap kuat apabila zona hambat berada pada kisaran >20 mm. Semakin besar zona hambat yang terbentuk maka semakin kuat pula kemampuan senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Intan dkk., 2021).

Metode difusi cakram memiliki beberapa kelebihan, yaitu proses pengujian yang relatif cepat, biaya yang murah, mudah dilakukan, serta tidak memerlukan keahlian khusus. Namun, metode ini juga memiliki kelemahan, antara lain sulit diaplikasikan pada mikroorganisme dengan pertumbuhan lambat, serta zona bening yang terbentuk sangat dipengaruhi oleh kondisi inkubasi, jumlah inokulum, dan ketebalan medium (Intan dkk., 2021). Selain itu, perbedaan ukuran zona hambat dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain konsentrasi larutan uji, kecepatan difusi bahan antimikroba dalam media agar, jumlah bakteri yang diinokulasikan, suhu inkubasi, sensitivitas bakteri, serta interaksi kompleks antara senyawa aktif dengan medium (Intan dkk., 2021).

III. METODE PERCOBAAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Oktober 2025–Februari 2026, meliputi preparasi sampel, isolasi piperin, hidrolisis asam piperat, serta sintesis metil piperat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis hasil isolasi, hidrolisis, dan sintesis di karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV–Vis dan spektrofotometer FTIR dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Institut Teknologi Bandung (ITB) serta uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat–alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer FTIR (*Shimadzu Prestige 21*), Spektrofotometer UV–Vis (*Agilent Technologies 8453*), alat penentu titik leleh (*Kruss*), *Laminar Air Flow* (*Airtech*), vakum *rotary evaporator* (*Heidolph*), refluks, soxhlet, timbangan digital (*Optika Italy*), *hot plate* yang dilengkapi dengan *magnetic stirrer*, *heating mantle* (*Favorit*), pompa vakum, penangas air, sinar UV (*Spectroline*), *blender*, Erlenmeyer berbagai ukuran, labu bundar, gelas kimia berbagai ukuran, pipet volume berbagai ukuran, pipet tetes, corong pisah, corong biasa, corong Büchner, saringan, cawan petri, jarum ose, termometer, dan tabung reaksi.

3.2.2. Bahan

Bahan–bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah lada hitam (*Piper nigrum* Linn), pelarut dan bahan kimia padat pro analis; etanol, kalium hidroksida, diklorometana, metanol, 4–dimetilaminopiridin (DMAP), disikloheksilkarbodiimida (DCC), n–heksana, etil asetat, dan asam klorida, *molecular sieves*, plat KLT (silika gel 60 GF₂₅₄), alkohol antiseptik, spirtus, media berupa *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), antibiotik (*ciprofloxacin*), agar (*Swallow Globe Brand*), kertas cakram, cotton bud, kapas, kain kasa, bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram–positif), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Gram–negatif), indikator pH universal, dan akuades.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Persiapan dan Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah lada hitam varietas Natar I, yang diperoleh dari Badan Standarisasi Instrumen Penelitian (BSIP) Bandar Lampung. Sebelum digunakan, buah lada hitam dikeringkan dan dihaluskan dengan *blender* hingga diperoleh serbuk halus.

3.3.2. Isolasi Piperin

50 gram serbuk halus buah lada hitam dibungkus dengan kertas saring, dibentuk silinder sesuai ukuran alat soxhlet. Sampel diekstraksi menggunakan etanol 300 mL selama 4 jam hingga hasil larutan yang telah diekstraksi terkumpul dalam labu alas bulat berwarna kuning kecokelatan dan pelarut etanol yang tersirkulasi dalam ruang ekstraksi tabung soxhlet menjadi jernih (tidak lagi berwarna), yang menandakan proses ekstraksi telah selesai. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan didiamkan pada suhu kamar. Setelah dingin, ditambahkan larutan KOH etanolat 10% (1:10) sebanyak 3/5 dari volume ekstrak sambil diaduk, lalu dituangkan akuades hingga terbentuk awan putih dalam larutan kemudian didiamkan selama 3 jam hingga

crude piperin mengendap yang menandakan resin telah terpisah. Setelah terbentuk endapan, disaring antara larutan dan endapan menggunakan corong Buchner dengan dihasilkan *crude* piperin. Selanjutnya *crude* piperin direkristalisasi dengan etanol perbandingan 1:10 (b/v) menggunakan alat refluks selama pemanasan 30 menit dilanjutkan 15 menit terakhir ditambahkan 0,2 gram norit dalam larutan untuk memisahkan zat pengotor. Larutan hasil dari rekristalisasi disaring untuk menghilangkan norit dan zat pengotor, lalu ditumbuhkan kristal piperin dalam lemari es selama 2 pekan. Kemudian, dihasilkan piperin berbentuk kristal jarum berwarna kuning.

3.3.3. Hidrolisis Piperin

Setelah diperoleh piperin murni, tahap selanjutnya dilakukan hidrolisis piperin berdasarkan literatur (Choochana *et al.*, 2015) yang telah dimodifikasi. 0,5 gram piperin direfluks pada suhu 70°C selama 12 jam digunakan 30 mL larutan KOH etanolat 20%. Setelah proses selesai, campuran didinginkan hingga mencapai suhu ruang, lalu diasamkan larutan menggunakan HCl 1 M. Campuran dipindahkan ke corong pisah dan ditambahkan 2 × 30 mL, lalu fasa organik diuapkan hingga diperoleh asam piperat mentah. Asam piperat mentah kemudian direkristalisasi dengan pelarut metanol : air (8:2), disaring dengan kertas saring.

3.3.4. Sintesis Metil Piperat

Asam piperat sebanyak 0,0903 g (0,46 mmol) dilarutkan dalam 15 mL diklorometana di labu alas bulat berkapasitas 50 mL. Larutan tersebut ditambahkan 1,0 mL metanol, 0,044 g (0,36 mmol) 4-dimetilaminopiridin (DMAP), dan 0,114 g (0,55 mmol) diksikloheksilkarbodiimida (DCC). Campuran reaksi diaduk secara kontinu pada variasi waktu 22, 24, dan 26 jam, dengan 2 jam suhu 10°C, sisa waktu reaksi dilanjutkan pada suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dan kemajuan reaksi ditinjau menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase gerak campuran n-heksana dan etil asetat (1:1) sebanyak 2 mL. Setelah reaksi selesai, pelarut diuapkan menggunakan

rotary evaporator, fraksi produk dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya hingga diperoleh padatan kuning pucat yang merupakan metil piperat (Choochana *et al.*, 2015).

3.3.5. Karakterisasi Senyawa

Sampel hasil isolasi, hidrolisis, dan sintesis dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk dipantau kemurnian dan keberadaan senyawa target. Apabila sampel telah menunjukkan satu noda (*single spot*) pada KLT serta memiliki titik leleh (*melting point*) yang sesuai, maka tahap selanjutnya dilakukan karakterisasi senyawa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrofotometer FTIR dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Institut Teknologi Bandung (ITB).

3.4. Uji Aktivitas Antibakteri

3.4.1. Preparasi Uji

Uji aktivitas antibakteri senyawa metil piperat, dimulai dengan: alat dan bahan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang digunakan ialah *Nutrient Agar* (NA) yang telah dimodifikasi melalui penambahan *Mueller Hinton Broth* (MHB) 3% dan 1,5% agar dalam 100 mL akuades. Media yang telah homogen disterilisasi dalam autoklaf selama 20 menit. Kemudian, media dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat.

Larutan stok antibiotik *ciprofloxacin* disiapkan dengan konsentrasi 1 mg/mL sebagai kontrol positif, mengacu pada metode penelitian sebelumnya (Agustina dkk., 2020). Sedangkan metanol 12,5% digunakan sebagai kontrol negatif untuk menyesuaikan dengan konsentrasi terendah sampel yang diuji. Pendekatan ini serupa digunakan oleh Utami dkk. (2021). Hal ini bertujuan agar perbandingan aktivitas antibakteri antar perlakuan tetap valid, serta memastikan pelarut tidak memberikan efek hambat pada pertumbuhan bakteri. Pengujian bioaktivitas pada bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negatif). Isolat bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* diperoleh dari deposit yang

tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Lampung. Kedua isolat bakteri tersebut diremajakan pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam hingga terbentuk koloni tunggal yang siap digunakan sebagai inokulum dalam uji difusi agar.

3.4.2. Uji Difusi Agar

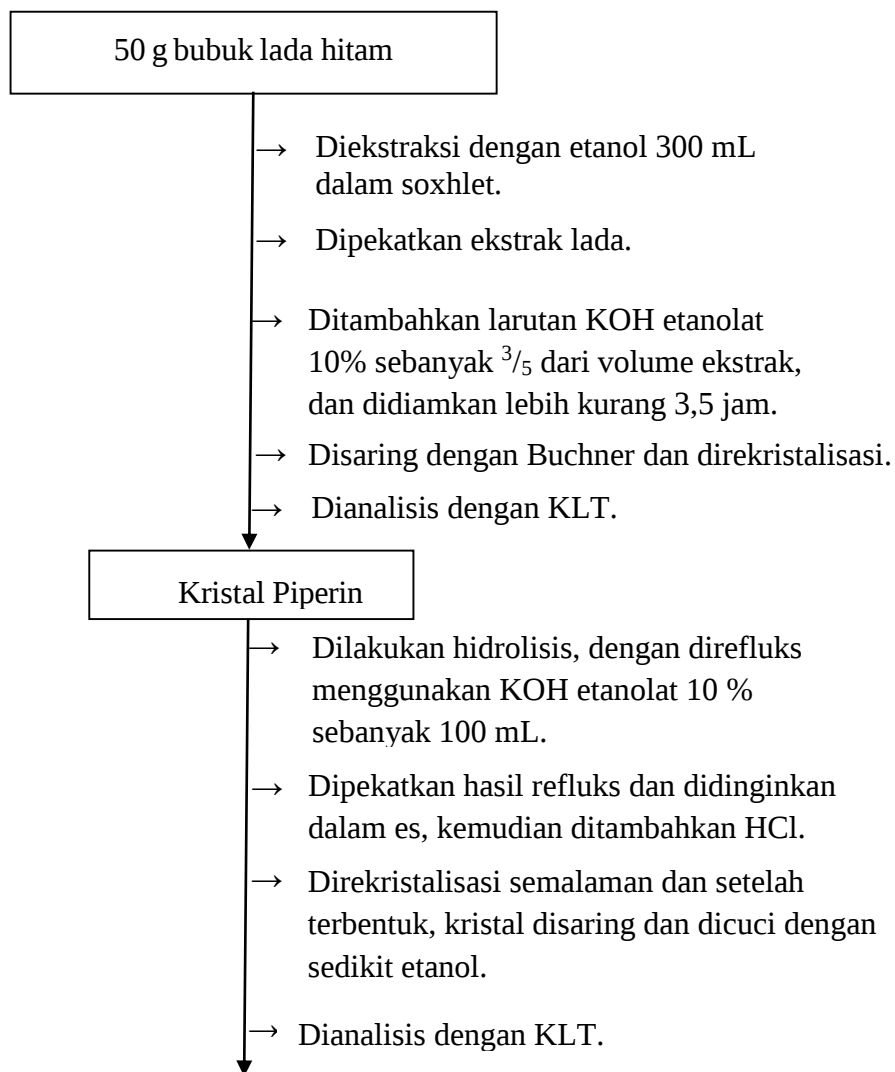
Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar (*disc diffusion method*) yang telah dimodifikasi mengacu pada metode Balouiri *et al.* (2016). Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang telah diremajakan terlebih dahulu diinkubasi pada media NA selama 18 jam pada suhu 37°C.

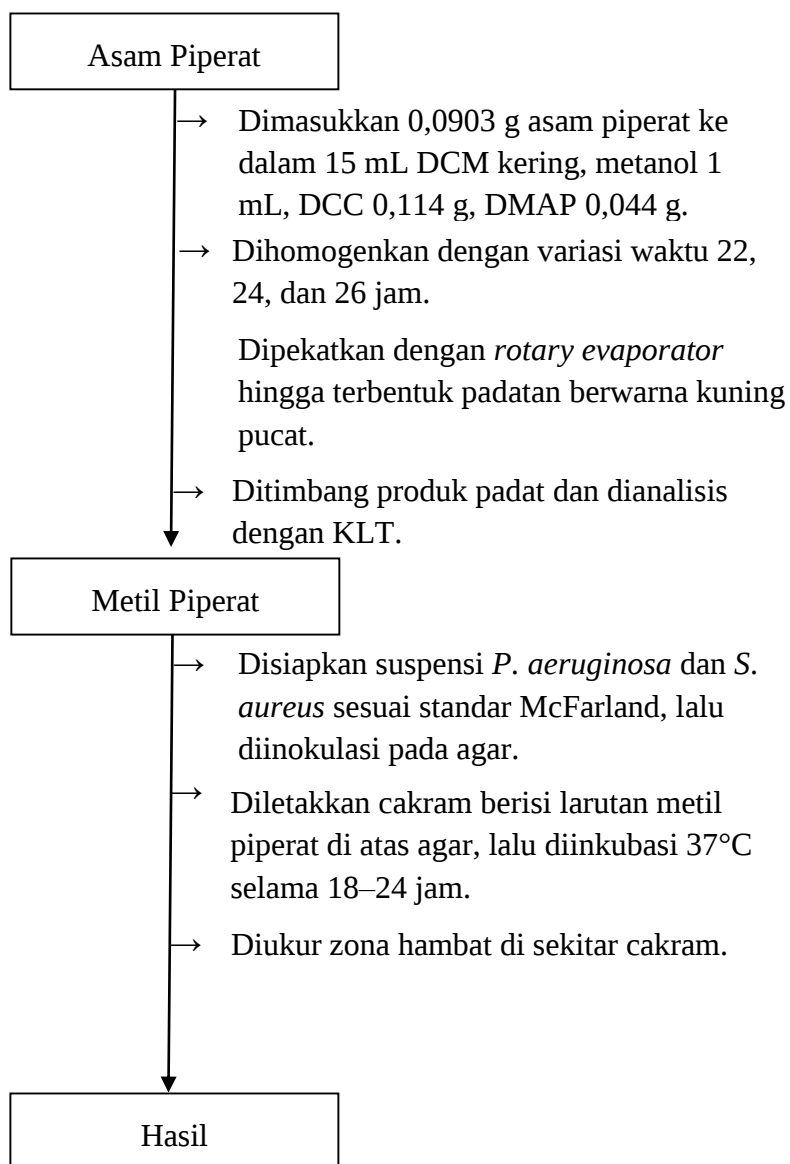
Selanjutnya, biakan bakteri tersebut diinokulasikan ke dalam medium cair *Mueller Hinton Broth* (MHB) dan diinkubasi kembali selama 1–2 jam hingga mencapai tingkat turbiditas/kekeruhan sesuai standar McFarland 0,5 (setara dengan konsentrasi sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Standar McFarland ini digunakan untuk menyeragamkan kepadatan sel bakteri sebelum proses inokulasi ke media padat.

Setelah itu, dilakukan persiapan media NA dalam cawan petri yang telah didiamkan hingga memadat sempurna. Suspensi bakteri yang telah distandarisasi kemudian diratakan di permukaan media menggunakan *cotton bud* steril hingga seluruh permukaan media tertutup secara merata oleh inokulum bakteri. Kertas cakram steril kemudian diletakkan di atas permukaan media tersebut, dan masing–masing cakram direndam 1 menit larutan sampel metil piperat, *ciprofloxacin* 1 mg/mL sebagai kontrol positif, serta metanol 12,5% sebagai kontrol negatif. Seluruh cawan petri yang telah diberi perlakuan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Setelah selesai, diamati dan diukur zona hambatnya menggunakan jangka sorong.

3.5. Diagram Alir

Adapun diagram alir pada penelitian ini dilihat pada Gambar 12.





Gambar 12. Diagram Alir

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Senyawa piperin berhasil diisolasi dari lada hitam dengan kadar 3%, ditunjukkan oleh titik leleh 129,2°C dan karakterisasi FTIR berupa regangan C–N amida pada 1250–1020 cm^{-1} .
2. Piperin berhasil dihidrolisis menjadi asam piperat dengan rendemen 83,35%, ditunjukkan oleh titik leleh 215°C serta karakterisasi FTIR dengan tidak munculnya regangan C–N amida dari piperidin pada 1250–1020 cm^{-1} dan munculnya regangan O–H pada 3500–3200 cm^{-1} .
3. Asam piperat berhasil disintesis menjadi metil piperat dengan rendemen 82,57% dan waktu reaksi optimum 24 jam, ditunjukkan oleh titik leleh 141,2°C serta hasil KLT yang menunjukkan satu noda (*single spot*) dengan nilai *R_f* sebesar 0,83.
4. Pada FTIR metil piperat masih menunjukkan pita serapan O–H dan N–H yang seharusnya tidak muncul, diduga berasal dari sisa metanol dan produk samping reaksi berupa *dicyclohexylurea* (DHU).
5. Metil piperat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 7,6 mm dan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan zona hambat 8,6 mm, tergolong aktivitas sedang.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperlukan pengembangan lebih lanjut melalui optimasi dan pemurnian produk hasil sintesis metil piperat serta pengujian aktivitas antibakteri dengan variasi jenis bakteri uji untuk memperoleh informasi yang lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Achanta, P. S., Raj, S., Horam, S., Arockiaraj, J., Bobbala, R. K., Akkinapally, R. R., Pasupuleti, M., and Achanta, A. R. V. N. 2020. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Piperic Acid Amides and Their Lower Homologues. *Drug Development Research*, **81**(3): 366–373.
- Agustina, D., Indreswari, L., Trisianti, F. N., Milla, K. I. E., Hermansyah, B., Wahyudi, S. S., dan Firdaus, J. 2020. Modulasi Aktivitas Ciprofloxacin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* oleh N-Asetilsistein dan Vitamin C. *Syifa' MEDIKA*, **11**(1): 30–40.
- Ahriani, S., Zelviani, R., Hernawati, dan Fitriyanti. 2021. Analisis Nilai Absorbansi untuk Menentukan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV–Vis. *Jurnal Fisika dan Terapannya*, **8**(2): 56–64.
- Amalia, R., Waspodo, R. S. B., dan Setiawan, B. I. 2020. Rancangan Sistem Irigasi Evaporatif untuk Tanaman Lada. *Jurnal Irigasi*, **15**(1): 45–54.
- Andini, S., Yulianita, Y., dan Febriani, E. N. K. 2023. Formulasi Sediaan Nanoemulgel Ekstrak Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) dengan Variasi Konsentrasi Tween 80 dan PEG 400. *Majalah Farmasetika*, **8**(3): 250.
- Arief, R. W., Mustikawati, D. R., dan Asnawi, R. 2020. Karakteristik Mutu Lada Hitam dan Lada Putih dari Beberapa Kabupaten Sentra Lada di Lampung. *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS*, **4**(1): 111–116.
- Ayu, L., Kuspradini H., dan Ruga, R. 2024. Diklorometana dan Metanol Bunga Terompet Emas (*Allamanda cathartica* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Atomik*, **9**(2): 78–83.
- Azhari, A., Mutia, N., dan Ishak, I. 2020. Proses Ekstraksi Minyak dari Biji Pepaya (*Carica papaya*) dengan Menggunakan Pelarut *n*-heksana. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, **9**(1): 77–85.
- Bahri, S., Ambarwati, Y., Iqbal, M., and Baihaqy, A. A. 2019. Synthesis 4-Piperoilmorpholine from Piperine. *Journal of Physics: Conference Series*, **1338**(1):1–7.

- Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibnsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **6**(2): 71–79.
- Balqis, P., dan Yanuar, R. 2021. Daya Saing Ekspor Lada Indonesia di Pasar Amerika dan Eropa. *Forum Agribisnis*, **11**(2): 182–194.
- Berliana, D., Shintawati, Sudiyo, dan Supriyatna, R. A. 2019. Peningkatan Nilai Tambah Lada Melalui Diversifikasi Pengolahan sebagai Upaya Penguatan Subsektor Hilir di Lampung Timur. *Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian*, **64**(1): 28–37.
- Choochana, P., Mounjaroen, J., Jongkon, N., Gritsanapan, W., and Tangyuenyongwatana, P. 2015. Development of Piperic Acid Derivatives from *Piper nigrum* as UV Protection Agents. *Pharmaceutical Biology*, **53**(4): 477–482.
- Damanik, A. D., Hutagaol, R. J., Fitriyani, F., Firmansyah, A., dan Winingsih, W. 2020. Peningkatan Kelarutan Ekstrak Lada (*Piper nigrum* L.) dalam Air dan Karakterisasinya. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, **9**(1): 1–10.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner (JSV)*, **31**(2): 138–150.
- Diggle, S. P., and Whiteley, M. 2020. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic Pathogen and Lab Rat. *Microbiology*, **166**(1), 30–33.
- Ekawati, E. R, Husnul, S. N. Y., dan Herawati, D. 2018. Identifikasi Kuman pada Pus dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal SainHealth*, **2**(1): 31–35.
- Elis Nurul Ikhlas, Lina Rahmawati Rizkuloh, dan Richa Mardianingrum. 2023. Analisa in silico Senyawa Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Kesehatan*, **2**(2): 301–321.
- Evizal, R. 2013. *Pengelolaan Perkebunan Lada*. Lampung: Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ferdiansyah, R., Rachmaniar, R., dan Herman, V. Y. 2019. Karakterisasi Kristalinitas Lemak Biji Tengkawang (*Shorea stepnotera* Ridley) Menggunakan X-Ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infra Red (FTIR) dan Automatic Melting Point. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, **8**(2): 29–34.
- Goering, R. V., Dockrell, H., Zuckerman, M., Chiodini, P. L., and Mims, C. A.

- (Eds.). 2019. *Mims Medical Microbiology and Immunology (Sixth edition)*. Elsevier. Amsterdam.
- Hanina, H., Humaryanto, H., Gading, P. W., Aurora, W. I. D., dan Harahap, H. 2022. Peningkatan Pengetahuan Siswa Pondok Pesantren Nurul Iman Tentang Infeksi *Staphylococcus aureus* di Kulit dengan Metode Penyuluhan. *Medical Dedication (Medic) : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat FKIK UNJA*, 5(2): 426–430.
- Hasriyani, H., Zulfa, A., Anggun, L., dan Murhayati, R. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 5(2): 14.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., dan Wibawati, P. A. 2019. Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* in Dairy Milk of The Etawah Crossbred Goat With Subclinical Mastitis in Kalipuro Village, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2): 76–82.
- Hikmawanti, N. P. E., Hariyanti, H., Aulia, C., dan Viransa, V. P. 2016. Kandungan Piperin dalam Ekstrak Buah Lada Hitam dan Buah Lada Putih (*Piper nigrum* L.) yang Diekstraksi dengan Variasi Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode KLT–Densitometri. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2): 173–185.
- Ibriyah, Y. Z., Hasriyani., dan Arif, F. 2025. Pengaruh Jenis Pelarut (Etanol 96%, Etil Asetat, dan Kombinasinya) pada Ekstraksi Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) terhadap Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Secara in vitro. *Journal of Innovative and Creativity*, 5(2): 21843–21861.
- Intan, K., Diani, A., dan Nurul, A. S. R. 2021. Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8(2): 121–127.
- Islam, S. Islam, S., and Hasan, R. 2024. Precision and Validation of Thin Layer Chromatography Analytical Technique to Analyze and Monitoring Antibiotic Residues in Poultry Products and Byproducts. *Journal of Pharmacology & Clinical Research*, 10(3):1–9.
- Katadi, S.; Rahmat, N.; Nurtina, W.; Dinata, A. S.; Rahmiati, A.; Anggraini, F. P.; Yuniar, F.; Rahmah, I. S.; dan Yudo, S. 2023. Kajian Senyawa Kimia Polar Ekstrak Methanol *Stylosetia* Sp. Asal Desa Ranooha Raya, Moramo Kabupaten Konawe Selatan. *Journal Pelita Kesehatan*, 3(2): 17–22.
- Khaing, E. E. 2019. Isolation of Methyl Piperate From The Fruit of *Piper longum* L. (Peik–Chin) and Antibacterial Screening of The Crude Extracts and Methyl

- Piperate. *Journal of the Myanmar Academy of Arts and Science*, **17**(1): 140–150.
- Kusumastuti, A. 2011. Pengenalan Pola Gelombang Khas dengan Interpolasi. *Jurnal Cauchy*, **2**(1): 8–12.
- Li, H., Wu, X., Li, X., Cao, X., Li, Y., Cao, H., and Men, Y. 2021. Multistage Extraction of Star Anise and Black Pepper Derivatives for Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activity. *Frontiers in Chemistry*, **9**(1), 1–14.
- Lintang, R. A. J., Losung, F., Menajang, F. I. S., dan Sumilat, D. A. 2024. Optimasi Komposisi Eluen Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk Pemisahan Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Spons dan Ascidia. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, **12**(2): 132–138.
- Lubis, R. A. F., Nasution, H. I., dan Zubir, M. 2020. Produksi Karbon Aktif dari Sumber Alami untuk Pemurnian Air. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology*, **3**(2): 67–73.
- Mao, F., Kong, Q., Ni, W., Xu, X., Ling, D., Lu, Z., and Li, J. 2016. Melting Point Distribution Analysis of Globally Approved and Discontinued Drugs: A Research for Improving The Chance of Success of Drug Design and Discovery. *ChemistryOpen*, **5**(4): 357–368.
- Mardjan, S. S., dan Surbakti, L. 2023. Penentuan Kadar Air dan Kandungan Piperin Bubuk Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Menggunakan Near Infrared Spectroscopy (NIRS). *Jurnal Keteknik Pertanian*, **11**(1): 102–115.
- McCourt, R. O., and Scanlan, E. M. 2019. A Sequential Acyl Thiol–Ene and Thiolactonization Approach for The Synthesis of δ -Thiolactones. *Organic Letters*, **21**(1), 3460–3464.
- Mirwan, A. 2013. Keberlakuan Model HB–GFT Sistem n–heksana MEK–Air pada Ekstraksi Cair–cair Kolom Isian. *Konversi*, **2**(1): 32–39.
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Paredes, A., Loyola, L. A., Gallardo, O., and Borquez, J. 2003. Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile: Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia salina*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, **48**(2), 13–18.
- Muhaimin, A., Alfiati, A. T., Yanti, I. N., Susanti, M., dan Nooriena, S. 2025. Tinjauan Berbagai Metode Kromatografi: Kromatografi Kertas, Gas, dan Cair dalam Analisis Kimia. *Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan*, **19**(2): 1–10.
- Munawar, S., Zahoor, A. F., Hussain, S. M., Ahmad, S., Mansha, A., Parveen, B., and Irfan, A. 2024. Steglich Esterification: A Versatile Synthetic Approach

- Toward The Synthesis of Natural Products, Their Analogues or Derivatives. *Heliyon*, **10**(1): 1–37.
- Muttaqin, F. Z., Yuliantini, A., Fitriawati, A., dan Asnawi, A. 2016. Penetapan Kadar Senyawa Metampiron dan Diazepam dalam Sediaan Kombinasi Obat Menggunakan Metode KLT Video Densitometri. *Pharmacy*, **13**(2): 127-136.
- Nguyen, T. N. H., Gopakumar, T. G., Yen, N. D. C., Mende, C., Smykalla, L., Schlesinger, M., Buschbeck, R., Rüffer, T., Lang, H., Mehring, M., and Hietschold, M. 2017. Ester Formation at The Liquid–Solid Interface. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, **8**(1): 2139–2150.
- Nur Khairunnisa, Lisa Yuniati, Arsal, A. S. F., Hermiaty, dan Syamsu, R. F. 2023. Efektifitas Ekstrak Daun Kemangi dan Ekstrak Daun Sirih Merah sebagai Anti Mikroba *Staphylococcus aureus* Penyebab Furunkle. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, **3**(2): 106–111.
- Octavia, M. D., Zaini, E., Hasmiwati, H., dan Revila, G. 2024. Isolasi Piperin dari Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) dan Uji Kemurniannya. *Jurnal Farmasi Higea*, **16**(1): 52.
- Oktoviani. 2020. Optimasi Ekstraksi Senyawa α -Mangostin dari Kulit Buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). *Jurnal Kesehatan Saintika Meditory*, **2**(2): 1–10.
- Pasieczna–Patkowska, S., Cichy, M., and Flieger, J. 2025. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Characterization of Green Synthesized Nanoparticles. *Molecules*, **30**(3): 1–36.
- Prasetyawan, H. R., Kusumawati, I., dan Primaharinastiti, R. 2019. Teknik Aplikasi Sampel pada Pengujian Kuantitatif Kromatografi Lapis Tipis: Tinjauan terhadap Area dan Faktor Retensi. *Media Farmasi*, **10**(2): 71–76.
- Pratiwi, D., Nisa, D. Q., Martia, E., Wulanbirru, P., dan Dwi, S. 2021. Isolasi Senyawa Kumarin pada Tanaman. *Syntax Idea*, **3**(7): 1577–1585.
- Purwaningsih, Y., Syukur, M., dan Wulandari, W. 2022. Esterification of Cinnamic Acid Using Menthol and Its Activity as Lowering Glucose Levels Using Anthrone Sulfate. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia (JKPK)*, **7**(1): 27–37.
- Putra, P. P., Fauzana, A., and Lucida, H. 2020. In silico Analysis of Physical–Chemical Properties, Target Potential, and Toxicology of Pure Compounds from Natural Products. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, **7**(3): 107–114.
- Rahmatuzzahrah, Ardini, D., May Indriyani, D., dan Rahayu, P. 2024. Perbandingan

- Metode Ekstraksi Soxhletasi dan Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dengan Metode DPPH. *Jurnal Analisis Farmasi*, **9**(1): 80–96.
- Riyanti, H. B., Yeni., dan Wilianita, R. A. 2023. Penetapan Kadar Tanin dalam Ekstrak Etanol Daun Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) Hasil Maserasi dan Soxhletasi Menggunakan Spektrofotometer UV–Vis, *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, **8**(1): 241–52.
- Rohman, A. (2020). *Analisis Farmasi dengan Kromatografi Cair*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Rostianana, O., dan Ruhnayati, A. 2020. *Booklet Varietas Unggul Lada*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro). Bogor.
- Ruiz Martel, C., Tarazona Ramirez, C., and Cabanillas, B. 2024. Antioxidant Activity of Piperic Acid Esters Synthesized from *Piper nigrum*. *Journal of the Chemical Society of Peru*, **90**(1): 1–10.
- Sahu, P. K., Sharma, A., Rayees, S., Kour, G., Singh, A., Khullar, M., Magotra, A., Paswan, S. K., Gupta, M., Ahmad, I., Roy, S., Tikoo, M. K., Sharma, S. C., Singh, S., and Singh, G. 2014. Pharmacokinetic Study of Piperine in Wistar Rats After Oral and Intravenous Administration. *International Journal of Drug Delivery*, **6**(1): 82–87.
- Sari, D. R. A. P., Yustiantara, P. S., Paramita, N. L. P. V., dan Wirasuta, I. M. A. G. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana*, **1**(1): 40–46.
- Sari, D. R. T., dan Bare, Y. 2020. Physicochemical Properties and Biological Activity of Bioactive Compound in *Piper nigrum*: in silico Study. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, **1**(2): 1–6.
- Sayari, A., Mahfoudhi, A., Alghamdi, O. A., and Hmida–Sayari, A. 2024. Characterization of Some Plant Extracts, Piperine, and Piperic Acid and Their Anti–Obesity and Anti–Acne Effects Through the in vitro Inhibition of Pancreatic and Bacterial Lipases. *Catalysts*, **14**(11): 1–19.
- Shafira, M. L., Ethica, S. N., dan Ernanto, A. R. 2022. Deteksi *Pseudomonas aeruginosa* Isolat Pus Luka Berbasis *Polymerase Chain Reaction* Menggunakan Gen *algD*. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, **5**(1): 795–806.
- Shintawati., Analianasari., dan Zukryandry. 2020. Kinetika Ekstraksi Minyak Atsiri Lada Hitam (*Piper nigrum*) secara Hidrodistilasi. *CHEESA: Chemical*

Engineering Research Articles Journal, 3(2): 63–70.

- Shulfi, A., Sari, P., dan Rizki, F. 2019. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Uji Efektivitas Stimulansia pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Politeknik Harapan Bersama*, 1(1): 1–9.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar–dasar Spektrofotometri UV–Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. CV. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung.
- Sundari, E. R. 2022. Alternatif Penggunaan Kertas Saring sebagai Pengganti Kertas Cakram pada Uji Resistensi Bakteri *Aeromonas* sp. terhadap Ampisilin dan Kloramfenikol. *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Sains dan Teknologi*, 2(1): 23–27.
- Suoth, E. J., Mansauda, K. L., Mpila, D., dan Sumantri, S. 2023. Profil Kromatogram dari Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol Ekstrak Daun Leilem serta Penentuan Nilai SPF. *Chemisrty Progress.*, 16(2): 85–92.
- Susanti, N. M. P., Warditiani, N. K., Laksmiani, N. P. L., Widjaja, I. N. K., Rismayanti, A. A. M. I., dan Wirasuta, I. M. A. G. 2015. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Rendemen Andrografolid dari Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees). *Jurnal Farmasi Udayana*, 4(2): 29–34.
- Sutamihardja, R. T. M., Yuliani, N., dan Rosani, O. 2018. Optimasi Suhu Pengeringan dengan Menggunakan Oven terhadap Mutu Lada Hitam dan Lada Putih Bubuk. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 8(2): 80–86.
- Tahir, I., Wijaya, K., Yahya, M. U., dan Yapin, M. 2002. Hubungan Kuantitatif antara Struktur Molekul dan Titik Leleh dari Berbagai Senyawa Organik. *Indonesian Journal of Chemistry*, 2(2): 83–90.
- Trilarasati, L. Syam, Nida'an Khafiya, N., Adriananta, Maskal, Fitriana, A. Nurindah, dan Velma, M. Gibran. 2023. Komparasi Daya Saing Ekspor Lada Indonesia terhadap Vietnam dan Amerika. *Economina*, 2(1): 231–240.
- Trindade, E. O., Souza, H. D. S., Brandao, M. C. R., Neto, H. D., Lima, E. O., Lira, B. F., Filho, P. F. A., and Filho, J. M. B. 2020. New Diesters Derived from Piperine: in silico Study and Evaluation of Their Antimicrobial Potential. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31(8): 1668–1678.

- Utami, B. C., Yuliani, N. N. S., dan Furtuna, D. K. 2021. Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Filtrat Aquadest Umbi Bawang Suna (*Allium schoenoprasum* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. *Herb-Medicine Journal*, **4**(4), 51–63.
- Wijaya, D. R., Paramitha, M., dan Putri, N. P. 2019. Ekstraksi Oleoresin Jahe Gajah (*Zingiber officinale* var. *officinatum*) dengan Metode Soxhletasi. *Konversi*, **8**(1): 8–16.
- Young, J. C. O.'C. 2013. True Melting Point Determination. *Chem. Educator*, **18**(2): 203–208.
- Yulia, M., Ningtyas, K. R., dan Suhandy, D. 2021. Penggunaan UV–Vis Spektroskopi dan Kemometrika untuk Uji Keaslian Kopi Codot Lampung. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, **26**(4): 479–489.
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Ben Salem, N., Gargouri, Y., and Sayari, A. 2013. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Various Solvent Extracts, Piperine and Piperic Acid from *Piper nigrum*. *LWT – Food Science and Technology*, **50**(2): 634–641.