

**SINTESIS SENYAWA ETIL PIPERAT DAN STUDI KOMPARATIF
AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA METIL PIPERAT DAN ETIL
PIPERAT TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN
*Staphylococcus aureus***

(Skripsi)

Oleh

**NABILAH ATTOHIROH SOFWAH AL-ATSARI
2217011002**



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

ABSTRAK

SINTESIS SENYAWA ETIL PIPERAT DAN STUDI KOMPARATIF AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA METIL PIPERAT DAN ETIL PIPERAT TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus*

Oleh

NABILAH ATTOHIROH SOFWAH AL-ATSARI

Lada hitam (*Piper nigrum* L.) mengandung senyawa utama piperin yang memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk antibakteri. Peningkatan resistensi antibiotik pada bakteri patogen mendorong pengembangan antibakteri berbasis bahan alam. Penelitian ini bertujuan mensintesis etil piperat dari asam piperat hasil hidrolisis piperin serta membandingkan aktivitas antibakterinya dengan metil piperat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Metode penelitian meliputi isolasi piperin dari lada hitam menggunakan metode soxhletasi, hidrolisis piperin menjadi asam piperat, serta sintesis etil piperat melalui esterifikasi Steglich. Senyawa hasil kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) serta aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram dan dilusi

Hasil menunjukkan kadar piperin sebesar 3,9%, rendemen asam piperat 73,91%, dan etil piperat 76,01%. Spektrum UV-*Vis* menunjukkan λ_{maks} piperin pada 207–342 nm, asam piperat pada 206–343 nm, dan etil piperat pada 346 nm yang mengindikasikan sistem ikatan rangkap terkonjugasi. Analisis FTIR memperlihatkan perubahan pita amida piperin menjadi karbonil karboksilat pada asam piperat serta munculnya pita karbonil ester dan serapan C–O ester pada 1200–1300 cm^{-1} yang menandakan keberhasilan esterifikasi sintesis etil piperat. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan etil piperat memiliki zona hambat lebih besar terhadap *S. aureus* (10 mm) dan *P. aeruginosa* (9,8 mm) dibandingkan metil piperat (7,1 mm dan 8,1 mm). Uji dilusi menunjukkan kedua senyawa menghambat *S. aureus* hingga pengenceran ke-3 (250 ppm), sedangkan terhadap *P. aeruginosa*, metil piperat hingga pengenceran ke-3 (250 ppm) dan etil piperat hingga pengenceran ke-4 (125 ppm). Hasil ini menunjukkan bahwa variasi gugus ester memengaruhi hidrofobisitas dan aktivitas antibakteri turunan piperat sebagai kandidat antibakteri alami.

Kata kunci: etil piperat, metil piperat, aktivitas antibakteri.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF ETHYL PIPERATE AND COMPARATIVE STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METHYL PIPERATE AND ETHYL PIPERATE AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* AND *Staphylococcus aureus*

By

NABILAH ATTOHIROH SOFWAH AL-ATSARI

Black pepper (*Piper nigrum* L.) contains piperine as its main compound, which exhibits various biological activities, including antibacterial properties. The increasing resistance of pathogenic bacteria to antibiotics has driven the development of antibacterial agents derived from natural products. This study aims to synthesize ethyl piperate from piperic acid obtained through the hydrolysis of piperine and to compare antibacterial activity with methyl piperate against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

The research methods included the isolation of piperine from black pepper using the soxhlet extraction method, hydrolysis of piperine into piperic acid, and synthesis of ethyl piperate via Steglich esterification. The resulting compounds were characterized using UV-Vis spectrophotometry and Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, and their antibacterial activity was evaluated using disc diffusion and dilution methods.

The results showed that the piperine content was 3.9%, with yields of 73.91% for piperic acid and 76.01% for ethyl piperate. The UV-Vis spectra indicated λ_{max} values of piperine at 207–342 nm, piperic acid at 206–343 nm, and ethyl piperate at 346 nm, suggesting the presence of a conjugated double-bond system. FTIR analysis showed the transformation of the amide band in piperine into a carboxyl carbonyl band in piperic acid, as well as the appearance of a strong ester carbonyl band and C–O ester absorption at 1200–1300 cm^{-1} , confirming the successful synthesis of ethyl piperate. Antibacterial activity tests revealed that ethyl piperate exhibited larger inhibition zones against *S. aureus* (10 mm) and *P. aeruginosa* (9.8 mm) compared to methyl piperate (7.1 mm and 8.1 mm). Dilution tests showed that both compounds inhibited *S. aureus* up to the third dilution (250 ppm), while against *P. aeruginosa*, methyl piperate was effective up to the third dilution (250 ppm) and ethyl piperate up to the fourth dilution (125 ppm). These results indicate that variations in the ester group influence hydrophobicity and antibacterial activity of piperate derivatives as potential natural antibacterial agents.

Keywords: ethyl piperate, methyl piperate, antibacterial activity.

**SINTESIS SENYAWA ETIL PIPERAT DAN STUDI KOMPARATIF
AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA METIL PIPERAT DAN ETIL
PIPERAT TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN
*Staphylococcus aureus***

Oleh

Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari

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 SENYAWA ETIL PIPERAT DAN
STUDI KOMPARATIF AKTIVITAS
ANTIBAKTERI SENYAWA METIL PIPERAT
DAN ETIL PIPERAT TERHADAP BAKTERI
Pseudomonas aeruginosa DAN *Staphylococcus
aureus*

Nama Mahasiswa

: Nabilah Attohiroh Sofwah Al-Atsari

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2217011002


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

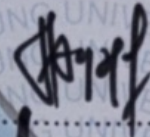
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



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



Anggota : **Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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 : Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari
Nomor Pokok Mahasiswa : 2217011002
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul ***Sintesis Senyawa Etil Piperat dan Studi Komparatif Aktivitas Antibakteri Senyawa Metil Piperat dan Etil Piperat Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*** 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

Menyatakan,



Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari
NPM. 2217011002

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari dan lahir di Bandar Lampung, 19 Agustus 2004 sebagai anak Ketiga dari Bapak Solihin dan Ibu Novianti. Penulis menyelesaikan pendidikan di SD Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2010-2016, SMP Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2016-2019 dan SMAS Al-Kautsar 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. Penulis aktif menjadi pengurus Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai anggota pengembangan sumber daya manusia pada tahun 2024. Penulis mengikuti kegiatan MBKM Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tanjung Pandan, Kecamatan Bangun Rejo, Lampung Tengah pada 6 Januari-6 Februari 2025. Pada tahun 2025 penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Dinas Lingkungan Hidup Kota Metro, Kecamatan Metro Timur, Kota Metro. Penulis pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Organik II pada tahun 2025. Pada tahun 2026 penulis telah menyelesaikan tugas akhir untuk mendapatkan gelar sarjana dengan membuat skripsi yang berjudul **“Sintesis Senyawa Etil Piperat dan Studi Komparatif Aktivitas Antibakteri Senyawa Metil Piperat dan Etil Piperat Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*”**.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

Dengan mengucapkan

Alhamdulillahirabbil'alamin dan dengan segala kerendahan hati,

Ku persembahkan karya ini teruntuk:

Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Solihin dan Ibu Novianti yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan, mendukung, dan memberikan cinta dan kasih yang sangat besar sehingga putrimu dapat menyelesaikan studi ini.

Ku 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 Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S., serta seluruh Dosen Pengajar yang telah membimbing dan mendidiku sampai menyelesaikan pendidikan Sarjana dan seluruh kerabat yang telah memberikan banyak dukungan, bantuan, dan saran.

Almamater Tercinta Universitas Lampung

MOTTO

“Allah never said that life would be easy, but He has promised that indeed, with hardship comes ease.”

(Q. S. Al-Insyirah: 5-6)

“Because prayer is an expression of faith, it connects the human heart with God. Allah promises in the Qur’ an, ‘Call upon Me, and I will answer you.’ ”

(Q. S. Ghafir: 60)

“Semua jatuh bangunmu hal yang biasa, angan dan pertanyaan, waktu yang menjawabnya, berikan tenggat waktu bersedihlah secukupnya, rayakan perasaanmu sebagai manusia.”

(Mata Air-Hindia)

“Let your dreams be bigger than your fears.”

(Penulis)

SANWACANA

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanahu *wa Ta'ala* atas segala limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis diberikan kekuatan, kesehatan, serta kesempatan untuk menyelesaikan skripsi yang berjudul “Sintesis Senyawa Etil Piperat dan Studi Komparatif Aktivitas Antibakteri Senyawa Metil Piperat dan Etil Piperat Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*”. Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad *Shalallahu 'alaihi wa Salam*, yang telah membawa umat manusia menuju kehidupan yang penuh dengan ilmu pengetahuan dan nilai-nilai kebaikan.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai tantangan dan hambatan. Namun demikian, berkat doa, semangat, serta dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayah tercinta Solihin, penulis mengucapkan terima kasih atas doa, dukungan, serta perhatian yang senantiasa diberikan selama proses perkuliahan hingga penyelesaian skripsi ini. Dukungan tersebut menjadi salah satu penyemangat bagi penulis dalam menyelesaikan studi.
2. Ibu tercinta Novianti yang selalu menjadi penyemangat penulis dan menjadi sandaran terkuat dari kerasnya dunia, yang tidak henti-hentinya memberikan kasih sayang dengan penuh cinta dan selalu memberikan motivasi yang luar

biasa. Terimakasih untuk doa-doa yang selalu diberikan untuk penulis, terimakasih selalu berjuang untuk penulis, berkat doa serta dukungannya sehingga penulis bisa berada di titik ini. Sehat selalu dan panjang umur karena ibu harus selalu ada dalam setiap perjuangan dan pencapaian penulis.

3. Kakak Irsyad Kamal, sosok luar biasa yang telah menjadi pilar kekuatan dan sumber harapan selama perjalanan pendidikan ini. Kakak dengan penuh keikhlasan telah memenuhi setiap kebutuhan, fasilitas, dan biaya kuliah penulis tanpa pernah mengeluh sedikit pun. Di balik senyum dan kesederhanaannya, tersimpan perjuangan besar yang memungkinkan penulis menempuh pendidikan hingga tahap ini. Terima kasih telah menggantikan peran pelindung, penyemangat, dan penopang di saat penulis hampir menyerah dan terima kasih atas kebahagiaan yang selalu diusahakan untuk penulis.
4. Kakak Ikhsan Musthafa Makhmud, terima kasih atas segala perhatian, dukungan, dan kepedulian yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga penyusunan skripsi ini. Terima kasih karena selalu hadir dengan cara yang mungkin tidak selalu terlihat, namun sangat berarti bagi penulis. Setiap nasihat, bantuan, dan semangat yang diberikan menjadi penguat bagi penulis untuk terus melangkah dan bertahan dalam berbagai proses yang tidak selalu mudah.
5. Bapak Dr. Syaiful Bahri, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah dengan penuh kesabaran memberikan arahan, bimbingan, ilmu pengetahuan, serta motivasi kepada penulis selama proses penelitian, hingga penyusunan skripsi ini, sehingga penulis dapat menyelesaikannya dengan baik.
6. Ibu Hapin Afriyani, M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, dan segala ilmu selama proses penelitian dan penyusunan skripsi, sehingga penulis dapat menyelesaikannya dengan baik.
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S., selaku dosen pembahas yang telah memberikan ilmu, arahan, bimbingan, ilmu pengetahuan serta berbagai masukan dan saran yang membangun selama proses studi, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

8. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan semangat dan arahan kepada penulis, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
11. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan studi di Universitas Lampung.
12. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat diselesaikan dengan baik.
13. Sahabat-sahabat penulis, Mikro Elusi; Alma, Dian, Erlyn, Muthiara, dan Maula. Terima kasih telah menemani, memberikan berbagai cerita, cinta, sudut pandang, tawa, dukungan, dan bantuan selama masa perkuliahan ini.
14. Nabila Putri Ananda, sebagai sosok yang sangat berarti bagi penulis. Terima kasih telah menjadi teman berbagi cerita, keluh kesah, kebingungan, dan berbagai tantangan yang dihadapi selama perjalanan penelitian. Kehadiranmu membuat setiap proses yang berat terasa lebih ringan, setiap kegagalan terasa lebih mudah untuk dihadapi, dan setiap pencapaian menjadi lebih bermakna untuk dirayakan bersama. Semoga segala usaha, kerja keras, dan perjuangan yang telah kita lalui bersama dapat menjadi kenangan berharga serta membawa kita menuju kesuksesan di masa yang akan datang.
15. Razan Danendra Noor Muhammad, terima kasih telah menjadi bagian dalam proses perjalanan hidup penulis. *Thank you for all the days you made me feel loved and appreciated. Thank you for the laughter, the warmth, and the unconditional love. I'm out of words to express how grateful I am to have you in my life.*

16. Teman seperjuangan penulis selama penelitian; Naput, Shely, Zahra, David, Angga, dan Arya atas bantuan, dukungan, dan kerja sama selama penelitian yang telah dilakukan bersama.
17. Seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung dalam menyelesaikan skripsi penulis dan tidak dapat disebutkan satu per satu, serta almamater Universitas Lampung.
18. *Last but not least*, diri saya sendiri. Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari. Terima kasih atas komitmen dan tanggung jawab dalam menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih atas kesabaran, ketekunan, dan semangat dalam menjalani proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik. Pengalaman ini menjadi pembelajaran berharga bahwa proses dan pertumbuhan diri merupakan hal yang patut disyukuri dan dihargai.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu, penulis memohon maaf dan memohon kritik serta saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan penelitian selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung, 9 Juni 2026

Penulis,

Nabilah Attohiroh Sofwah Al-atsari

NPM. 2217011002

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Resistensi Antibiotik.....	4
2.2. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
2.3. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.4. Infeksi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.5. Tanaman Lada (<i>Piper nigrum</i> , L)	8
2.6. Piperin.....	9
2.7. Metode Ekstraksi Senyawa Piperin	11
2.8. Ekstraksi Cair-Cair	13
2.9. Asam Piperat.....	14
2.10. Esterifikasi	15
2.11. Metil Piperat	16
2.12. Etil Piperat	17
2.13. Uji Titik Leleh (<i>Melting Point</i>).....	18
2.14. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	19
2.15. Spektrofotometri Inframerah	20
2.16. Spektrofotometer UV-Visible	24
2.17. Metode Uji Aktivitas Antibakteri	26
III. METODE PENELITIAN.....	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. Pengambilan dan Persiapan Sampel	29
3.3.2. Isolasi Piperin	29

3.3.3. Hidrolisis Piperin	30
3.3.4. Sintesis Etil Piperat	30
3.4. Karakterisasi dan Uji Kemurnian Senyawa	31
3.5. Uji Aktivitas Antibakteri	31
3.5.1. Preparasi Uji	31
3.5.2. Uji Difusi Agar	32
3.5.3. Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat	33
3.5.4. Uji Metode Dilusi	33
3.6. Diagram Alir	35
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1. Persiapan Sampel	36
4.2. Isolasi Piperin	37
4.2.1. Soxhletasi	37
4.2.2. Pemeriksaan KLT terhadap Piperin Murni	39
4.2.3. Uji Titik Leleh Piperin	40
4.2.4. Karakterisasi Piperin dengan UV-Visible	40
4.2.5. Karakterisasi Piperin dengan FTIR	41
4.3. Hidrolisis Piperin	43
4.3.1. Hidrolisis Piperin Menjadi Asam Piperat	43
4.3.2. Pemeriksaan KLT terhadap Asam Piperat Murni	45
4.3.3. Uji Titik Leleh Asam Piperat Murni	46
4.3.4. Karakterisasi Asam Piperat dengan UV-Visible	47
4.3.5. Karakterisasi Asam Piperat dengan FTIR	48
4.4. Sintesis Etil Piperat	49
4.4.1. Mekanisme	51
4.4.2. Pemeriksaan KLT terhadap Etil Piperat	52
4.4.3. Uji Titik Leleh Etil Piperat	53
4.4.4. Karakterisasi Etil Piperat dengan UV-Visible	54
4.4.5. Karakterisasi Etil Piperat dengan FTIR	55
4.5. Uji Aktivitas Antibakteri	57
4.5.1. Uji Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram	57
4.5.2. Observasi Awal Uji Antibakteri dengan Metode Dilusi dan Keterbatasan Penelitian	59
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
5.1. Kesimpulan	62
5.2. Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Titik Leleh Senyawa Piperin dan Senyawa Turunannya	19
2. Data FTIR Piperin dan Asam Piperat.	22
3. Data FTIR Metil Piperat dan Etil Piperat (Ramirez <i>et al.</i> , 2024).	24
4. Hasil Analisis Identifikasi Gugus Fungsi Piperin Referensi dan Piperin Isolasi Pada Spektrum FTIR	42
5. Hasil Analisis dengan FTIR Senyawa Etil Piperat dan Asam Piperat	56
6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dalam Media MCA (Shafira <i>et al.</i> , 2022).....	6
2. Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> dalam MSA dan Pewarnaan Gram (Putra <i>et al.</i> , 2023).....	7
3. Tanaman Lada Hitam (Vasavirama <i>et al.</i> , 2014).....	9
4. Struktur Senyawa Piperin (Patil <i>et al.</i> , 2011).....	11
5. Struktur Piperin dan Turunan Isomernya (Hammouti <i>et al.</i> , 2019).....	11
6. Peralatan Soxhlet (Daniswara <i>et al.</i> , 2017).....	13
7. Alat Ekstraksi Cair-Cair.....	14
8. Sintesis Senyawa Asam Piperat dari Piperin (Tiwari <i>et al.</i> , 2020).....	15
9. Skema Pembentukan Senyawa Metil Piperat (Choochana <i>et al.</i> , 2015).....	16
10. Esterifikasi Etil Piperat dari Asam Piperat Menggunakan Reaksi Steglich (Choochana <i>et al.</i> , 2015).....	18
11. (a) Spektra FTIR Piperin (Ramirez <i>et al.</i> , 2019), (b) Spektra FTIR Asam Piperat (Bahri <i>et al.</i> , 2025).....	21
12. (a) Spektra FTIR Metil Piperat, (b) Spektra FTIR Etil Piperat (Ramirez <i>et al.</i> , 2024).....	23
13. Skema Spektrofotometer UV-Visible.....	25
14. Diagram Alir.....	35
15. (a). Lada Hitam Kasar, (b) Lada Hitam Halus.....	36
16. (a) Proses Sokhletasi, (b) Hasil Larutan Setelah Sokhletasi.....	37
17. (a) Larutan Setelah Penambahan KOH Etanolat, (b) Larutan Setelah Penambahan akuades, (c) Crude Piperin.....	38
18. (a) Crude Piperin, (b) Kristal Piperin.....	39
19. Hasil KLT Piperin Isolasi dan Piperin Standar.....	39
20. Spektrum UV-Vis Piperin Isolasi dan Piperin Referensi (Bahri <i>et al.</i> , 2019). 41	41

21. Hasil FTIR Piperin Isolasi.....	42
22. (a) Diklorometana, (b) Garam KCl, (c) Etanol	44
23. Padatan Asam Piperat	44
24. Reaksi Hidrolisis Asam Piperat dari Senyawa Piperin	44
25. (a) Hasil KLT Asam Piperat Dibawah Sinar Ultraviolet, (b) Penampak Noda Serium Sulfat.....	45
26. Spektrum UV- <i>Vis</i> Asam Piperat Hidrolisis dan Piperin Isolasi.....	47
27. Hasil FTIR (a) Asam Piperat Hidrolisis, (b) Piperin Isolasi	48
28. Padatan Etil Piperat	50
29. Reaksi Esterifikasi Etil Piperat dari Asam Piperat.....	50
30. Mekanisme Reaksi Esterifikasi Steglich.....	51
31. Perbandingan Spot KLT (a) Piperin, (b) Asam Piperat, (c) Etil Piperat, (d) Metil Piperat.....	53
32. Spektrum UV- <i>Vis</i> Senyawa Etil Piperat Sintesis dan Asam Piperat Sampel..	54
33. Hasil FTIR (a) Etil Piperat Sintesis, (b) Asam Piperat Sampel	55
34. Diameter Zona Hambat Uji Antibakteri Terhadap (a) <i>Staphylococcus aureus</i> dan (b) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
35. Hasil Uji Antibakteri Dilusi Metil Piperat (a) dan Etil Piperat (b) Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Gambar 36. Hasil Uji Antibakteri Dilusi Metil Piperat (a) dan Etil Piperat (b) Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Peningkatan resistensi antibakteri saat ini diakui sebagai ancaman kesehatan global yang memicu timbulnya *silent pandemic* karena mikroorganisme patogen semakin kebal terhadap obat yang sebelumnya efektif sehingga mengakibatkan pengobatan semakin sulit dan mahal dengan beban kematian yang signifikan. Secara umum bakteri dapat dibagi menjadi dua kategori utama berdasarkan susunan dinding sel, yaitu Gram positif contohnya bakteri *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif contohnya bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Putri *et al.*, 2021; Brooks *et al.*, 2013). Penyebaran bakteri resisten, sebagian besar terjadi di lingkungan rumah sakit yang menyerang pasien dan petugas medis yang menyebabkan infeksi nosokomial. Bakteri yang menjadi penyebab terjadinya infeksi nosokomial adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Konoralma, 2019). Peningkatan resistensi di Indonesia tampak pada data pengawasan yang menunjukkan tingginya proporsi bakteri penghasil enzim *Extended-Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) di rumah sakit, sehingga kebutuhan akan kandidat antibakteri baru menjadi mendesak dalam mendukung strategi nasional dan agenda riset global yang ada (Samreen *et al.*, 2021). Penemuan senyawa antibakteri baru yang efektif dalam lintas kedua kelompok bakteri sangat penting untuk mengurangi tingkat resistensi antibiotik.

Salah satu kandidat yang potensial adalah piperin. Piperin adalah senyawa alkaloid utama dari buah lada hitam (Haq *et al.*, 2021). Piperin dari *Piper nigrum* L dan turunannya asam piperat dikenal memiliki aktivitas antibakteri terhadap

bakteri penting seperti *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) dan *Escherichia coli* (ATCC 25922) (Zarai *et al.*, 2013). Penelitian Zarai *et al.*, (2013) melaporkan bahwa hasil uji antibakteri terhadap senyawa piperin dan asam piperat, menunjukkan bahwa piperin dan asam piperat memiliki zona hambat yang kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 10,7 mm dan 12,7 mm. Penelitian yang dilakukan oleh Khaing (2019) menunjukkan bahwa turunan ester sederhana yaitu metil piperat, memiliki aktivitas sebagai agen antibakteri terhadap bakteri non-resisten. Namun, hingga saat ini belum terdapat laporan yang secara spesifik meneliti aktivitas antibakteri dari turunan ester sederhana asam piperat lainnya, yaitu etil piperat terhadap bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* yang rentan mengalami resistensi.

Derivatisasi ester dari asam piperat dapat dilakukan melalui metode Steglich yang menghasilkan berbagai ester seperti etil piperat dengan rendemen tinggi 92,79% (Choochana *et al.*, 2013). Pada saat ini belum ada laporan tentang uji aktivitas antibakteri dari senyawa etil piperat terhadap bakteri patogen, sehingga penelitian ini menyajikan suatu *novelty* yang terletak pada evaluasi komparatif langsung dua turunan piperat sederhana yaitu etil piperat dan metil piperat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran yang signifikan mengenai pengaruh perbedaan kecil pada struktur ester yang berpotensi menentukan variasi spektrum aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan senyawa etil piperat dari asam piperat melalui esterifikasi Steglich.
2. Mengkarakterisasi senyawa etil piperat menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR).
3. Menguji aktivitas antibakteri senyawa metil piperat dan etil piperat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram positif) menggunakan metode difusi cakram dan dilusi.

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini berkontribusi dalam memahami pengaruh modifikasi gugus ester pada senyawa piperat terhadap aktivitas antibakteri serta pemetaan hubungan struktur aktivitas (SAR) turunan piperat sederhana sebagai dasar pengembangan agen antibakteri alami baru. Hasil penelitian yang diperoleh dapat menjadi dasar pemilihan turunan piperat yang paling potensial untuk dikembangkan sebagai kandidat antibakteri baru dalam menekan penyebaran bakteri patogen.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Resistensi Antibiotik

Resistensi adalah keadaan dari evolusi bakteri yang menyebabkan antibiotik tidak lagi dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan bakteri (Sinuraya *et al.*, 2023). Resistensi antibiotik adalah kemampuan bakteri untuk bertahan hidup meskipun terpapar antibiotik yang seharusnya mampu menghambat atau membunuhnya (Rasyid *et al.*, 2025). Fenomena ini menjadi masalah kesehatan global yang serius dan mendapat perhatian khusus dari WHO. Pada tahun 2020, WHO menegaskan bahwa resistensi antimikroba merupakan salah satu dari sepuluh ancaman terbesar bagi kesehatan dunia dan diprediksi akan menyebabkan 10 juta kematian setiap tahun pada 2050 jika tidak ditangani dengan efektif. Surveilans nasional Indonesia menunjukkan peningkatan signifikan pada kejadian bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), terutama dari genus *Pseudomonas sp.* seperti *Pseudomonas aeruginosa* serta prevalensi tinggi *Staphylococcus aureus* di rumah sakit rujukan. Masalah ini tidak hanya menghambat efektivitas terapi klinis, tapi juga meningkatkan lama rawat inap, membengkaknya biaya pengobatan, dan menaikkan risiko mortalitas (Rasdianah *et al.*, 2023).

Tingginya resistensi pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan pendekatan konvensional berbasis sintesis antibiotik baru tidak cukup (Romero *et al.*, 2015). Adanya eksplorasi bahan alam sebagai antibakteri berpotensi menjadi alternatif yang banyak dikaji, baik sebagai calon obat baru maupun sebagai agen untuk memperkuat aktivitas antibiotik yang sudah ada (Pagarra *et al.*, 2024). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, termasuk

penggunaan tanpa resep dan dosis tidak sesuai, menjadi faktor utama meningkatnya resistensi bakteri tersebut. Tingginya potensi infeksi *Pseudomonas aeruginosa* yang masih sensitif terhadap antibiotik lini pertama seperti β -laktam dan fluoroquinolon serta kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam beradaptasi terhadap lingkungan klinis dan berbagai kelas antibiotik akan memperburuk kondisi klinis, sehingga diperlukan pendekatan multidisipliner yang meliputi penguatan sistem surveilans, peningkatan edukasi masyarakat, serta pengendalian infeksi untuk menekan penyebaran bakteri patogen tersebut (Nurfawardani *et al.*, 2024).

2.2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram-negatif yang banyak ditemukan di lingkungan seperti tanah, air, dan area lembap, serta dikenal sebagai patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi ketika daya tahan tubuh inang menurun. Bakteri ini adalah penyebab utama infeksi nosokomial yang sering ditemukan di fasilitas pelayanan kesehatan, seperti pneumonia terkait penggunaan ventilator, infeksi saluran kemih, infeksi pada luka bakar, serta bakteremia (Qin *et al.*, 2022). Kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* dalam menimbulkan penyakit dipengaruhi oleh berbagai faktor virulensi, seperti flagel dan pili yang berperan dalam perlekatan pada jaringan inang, serta produksi toksin dan enzim seperti eksotoksin A, elastase, dan fosfolipase yang dapat merusak jaringan serta mengganggu respons sistem imun (Jimenez *et al.*, 2012). Bakteri ini menghasilkan pigmen seperti *pyocyanin* yang bersifat toksik dan berkontribusi terhadap kerusakan sel inang selama proses infeksi. Ekspresi faktor-faktor virulensi tersebut diatur oleh sistem *quorum sensing* yang memungkinkan bakteri berkomunikasi dan menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya (Moradali *et al.*, 2017). Adapun koloni *Pseudomonas aeruginosa* terdapat pada Gambar 1.

Pseudomonas aeruginosa juga dikenal memiliki kemampuan tinggi dalam membentuk biofilm dan mengembangkan resistansi terhadap antibiotik (Thi *et al.*, 2020). Biofilm merupakan kumpulan sel bakteri yang melekat pada permukaan tertentu dan dilindungi oleh matriks ekstraseluler, sehingga bakteri di dalamnya

menjadi lebih tahan terhadap antibiotik dan serangan sistem imun tubuh (Soares *et al.*, 2020). Kondisi ini menyebabkan infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* sering bersifat kronis dan sulit diobati. Resistansi antibiotik pada bakteri ini dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, seperti penurunan permeabilitas membran luar, penggunaan pompa refleks untuk mengeluarkan antibiotik, serta produksi enzim yang mampu menonaktifkan antibiotik tertentu (Pang *et al.*, 2019). Akibatnya, kasus *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik semakin meningkat, terutama di lingkungan rumah sakit sehingga pemahaman mengenai mekanisme virulensi dan resistansi *Pseudomonas aeruginosa* sangat penting dalam upaya pencegahan dan penanganan infeksi secara efektif (Botelho *et al.*, 2019).

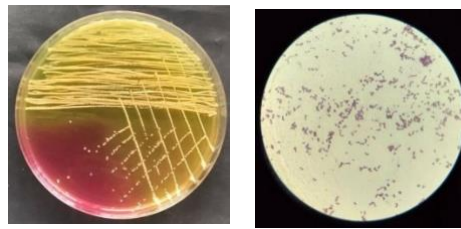


Gambar 1. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dalam Media MCA (Shafira *et al.*, 2022)

2.3. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah salah satu jenis bakteri flora normal yang dapat hidup pada tubuh manusia. *Staphylococcus aureus* menjadi salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi di kulit manusia (Noorhamdani, 2018). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen Gram positif yang termasuk dalam famili *Staphylococcaceae* dengan bentuk bulat yang membentuk kelompok seperti anggur adalah komensal yang sering hadir tanpa gejala pada bagian tubuh manusia (Gherardi, 2023). Kerusakan pada jaringan, seperti kulit yang mengalami luka disertai abses berisi nanah menjadi salah satu indikasi infeksi kulit akibat bakteri *Staphylococcus aureus*. Infeksi oleh bakteri ini dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti impetigo, luka terinfeksi, jerawat, hingga

bisul (Arfani, 2021). *Staphylococcus aureus* menjadi penyebab utama bakteremia dan endokarditis infeksi serta osteoartikular, kulit dan jaringan lunak, pleuropulmoner, dan infeksi lainnya (Tong *et al.*, 2015). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit infeksi pada manusia (Parija, 2009). Berikut ini adalah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dalam media MSA dan pewarnaan Gram pada Gambar 2.



Gambar 2. Koloni *Staphylococcus aureus* dalam MSA dan Pewarnaan Gram (Putra *et al.*, 2023)

2.4. Infeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

Infeksi bakteri adalah salah satu komplikasi yang paling sering terjadi dan menjadi penyebab utama kematian pada populasi ini. Sebagian besar pasien mengalami infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif, namun bakteri Gram positif merupakan penyebab infeksi yang sering terjadi, terutama pada pasien yang dirawat di rumah sakit. Beberapa tahun terakhir, infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resistan terhadap berbagai jenis obat menjadi masalah klinis yang penting (Jalan *et al.*, 2014). Konteks ini menekankan bahwa sebagian mikrobiota bakteri sangat penting bagi kehidupan manusia, tetapi beberapa dari mikrobiota merupakan sumber patogen bakteri yang berpotensi terlibat dalam pengembangan berbagai macam infeksi. Penyakit infeksi merupakan kondisi ketika mikroorganisme seperti bakteri, virus, protozoa, jamur, atau prion masuk ke dalam tubuh manusia dan berkembang biak, sehingga menimbulkan kerusakan pada organ tubuh (Noviyani, 2023).

Pemakaian obat antibakteri telah lama digunakan dalam dunia medis, akan tetapi infeksi akibat bakteri masih menjadi permasalahan serius yang terus berkembang

hingga saat ini (Papajk *et al.*, 2021). Piperin dari tanaman lada memiliki sifat antiinflamasi dan antibakteri yang telah banyak teruji secara ilmiah. Piperin, yang merupakan senyawa bioaktif utama dalam lada hitam (*Piper nigrum* L.), tidak hanya menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, tetapi juga mampu meredakan respon inflamasi yang terjadi akibat infeksi bakteri tersebut (Zhai *et al.*, 2016).

2.5. Tanaman Lada (*Piper nigrum*, L)

Tanaman lada merupakan salah satu komoditas utama negara Indonesia, sebagai negara penghasil kedua di dunia setelah Vietnam (Azahari *et al.*, 2021).

Tanaman lada hitam membutuhkan iklim tropis dengan kelembapan yang optimal untuk memastikan pertumbuhan yang subur, memenuhi seluruh ketentuan tersebut membuat Indonesia menjadi tempat yang tepat untuk membudidayakan tanaman lada hitam. Bagian tanaman lada hitam yang dimanfaatkan dan memiliki nilai jual adalah buah lada hitam yang dikeringkan. Sekitar 50 senyawa kimia telah ditemukan dari bagian lada hitam, baik dari bagian buah, biji, dan akar (Takooree *et al.*, 2019). Lada hitam adalah spesies yang paling banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Tanaman lada merupakan tanaman obat yang sering digunakan sebagai bahan masakan, dengan manfaat mengobati diare, mengurangi antiinflamasi, hepatoprotektan, dan perut mulas (Ahmad *et al.*, 2012).

Lada hitam umumnya dikenal sebagai “*King of Spices*”, yang termasuk dalam keluarga *Piperaceae*, adalah rempah-rempah paling populer yang digunakan di seluruh dunia dan berasal dari India bagian selatan (Nair, 2011). Buah lada hitam memberikan rasa pedas dan memiliki aroma khas yang kuat dibandingkan dengan rempah-rempah di seluruh dunia (Shamina, 2001). Lada hitam adalah salah satu bahan pedas yang penting dalam makanan, terutama di negara-negara Asia, dan juga memiliki aplikasi potensial dalam pengobatan tradisional wewangian pengawet dan insektisida. Konstituen ini telah dievaluasi untuk efek biologis dan antibakterinya (Wulandari *et al.*, 2021). Pengobatan tradisional dengan

menggunakan lada hitam telah dilaporkan memiliki aktivitas gastrointestinal untuk meningkatkan nafsu makan, penangkal batuk, pilek, penyakit tenggorokan, sesak napas, demam terputus-putus, disentri, sakit perut, serta digunakan sebagai antiinflamasi, antipiretik, dan mengobati epilepsi (Ashokkumar *et al.*, 2021). Lada hitam kaya akan mineral, vitamin dan nutrisi. Komposisi kimiawi 100 g biji lada hitam meliputi 66,5 g karbohidrat, 10 g protein, dan 10,2 g lemak, serta konsentrasi mineral yang relatif tinggi seperti kalsium (400 mg), magnesium (235,8-249,8 mg), kalium (1.200 mg), fosfor (160 mg), dan konsentrasi natrium, zat besi, dan seng yang lebih rendah (Emeka *et al.*, 2013). Berikut ini adalah gambar tanaman lada hitam pada Gambar 3.



Gambar 3. Tanaman Lada Hitam (Vasavirama *et al.*, 2014)

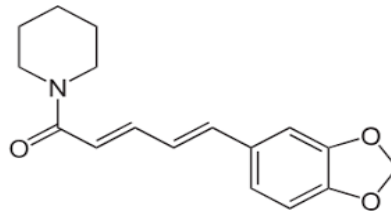
2.6. Piperin

Buah lada hitam diketahui mengandung berbagai senyawa kimia aktif, seperti alkaloid dan minyak atsiri. Komponen utama dalam minyak atsirinya meliputi felandren, dipenten, kariopilen, entoksilen, serta limonen (Depkes RI, 1980). Lada hitam memiliki kandungan alkaloid yang beragam, termasuk piperin dengan kadar antara 5,3% - 9,2%. Komponen lainnya mencakup minyak atsiri sekitar 1,2–3,5%, lemak sebesar 6,5–7,5%, pati antara 36–37%, dan serat kasar sekitar 14% (Loo, 1987). Piperin dikenal memiliki beragam manfaat farmakologis, di antaranya sebagai agen antiinflamasi, antimalaria, penurun demam, pengendali

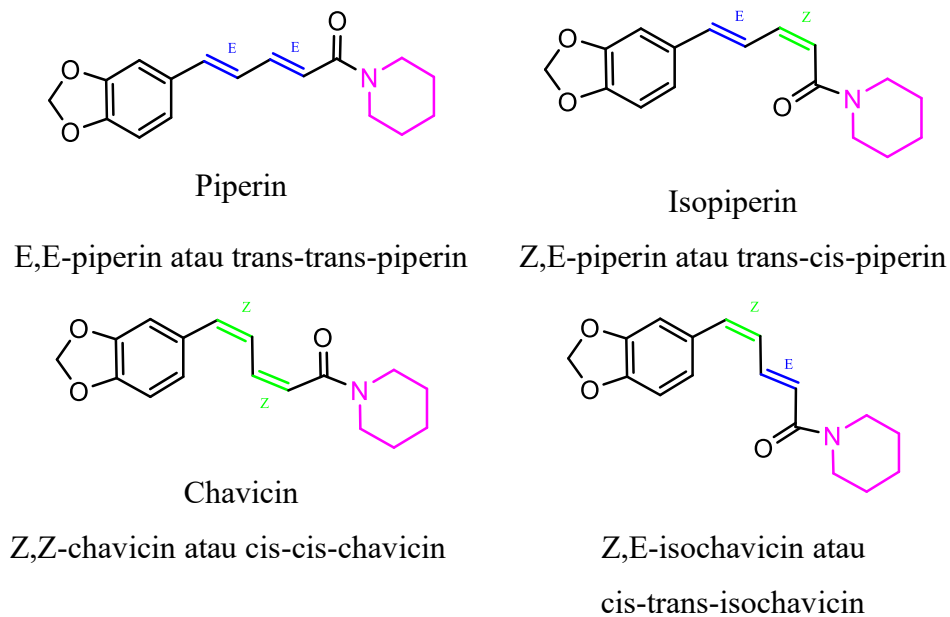
berat badan, serta penetral racun dari bisa ular dan antiepilepsi (Kolhe *et al.*, 2011).

Berbagai mekanisme untuk memperoleh senyawa turunan piperin umumnya diperoleh melalui sintesis berbasis karbokation (Ferreira *et al.*, 2011). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa piperin memiliki aktivitas analgesik dan antipiretik pada hewan uji seperti tikus, bahkan menunjukkan efektivitas yang sebanding dengan obat standar seperti indometasin (Sabina *et al.*, 2013). Kandungan senyawa bioaktif dalam buah lada secara langsung memengaruhi mutu dari ekstraknya. Proses ekstraksi harus dilakukan secara tepat agar senyawa yang diinginkan dapat diperoleh secara optimal. Ekstraksi lada hitam dalam skala industri umumnya dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 60% sebagai medium (Agoes, 2009). Piperin yang merupakan senyawa dominan dan memiliki berbagai efek terapeutik, perlu dipisahkan dengan metode ekstraksi yang selektif agar potensinya dapat dimanfaatkan secara maksimal (Hikmawanti *et al.*, 2016).

Piperin pada Gambar 4 adalah senyawa berbentuk kristal seperti jarum dan berwarna kuning. Lada hitam mengandung empat bentuk isomer piperin seperti pada Gambar 5, yaitu isomer trans-trans (1, piperin), isomer cis-trans (2, isopiperin), isomer cis-cis (3, *chavicine*), dan isomer trans-cis (4, *isochavicine*) (Tiwari *et al.*, 2020). Alkaloid ini memiliki kelarutan rendah dalam air, namun mudah larut dalam pelarut organik. Piperin telah menunjukkan berbagai aktivitas biologis seperti antiinfeksi, antimikroba, insektisida, antiinflamasi, antiamebik, antiulkus, dan antidepresan (Zarai *et al.*, 2013). Struktur piperin bersifat basa lemah yang dapat dihidrolisis menjadi asam piperat dan piperidin. Piperin menjadi salah satu kandidat senyawa yang memiliki sifat antibakteri, akan tetapi bioavailabilitas piperin masih relatif rendah karena kelarutan dalam air yang terbatas. Berbagai upaya telah dilakukan untuk memodifikasi struktur kimianya dengan tujuan meningkatkan aktivitas biologis. Salah satu derivat penting adalah asam piperat, hasil hidrolisis piperin, yang juga dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri (Trindade *et al.*, 2020).



Gambar 4. Struktur Senyawa Piperin (Patil *et al.*, 2011)



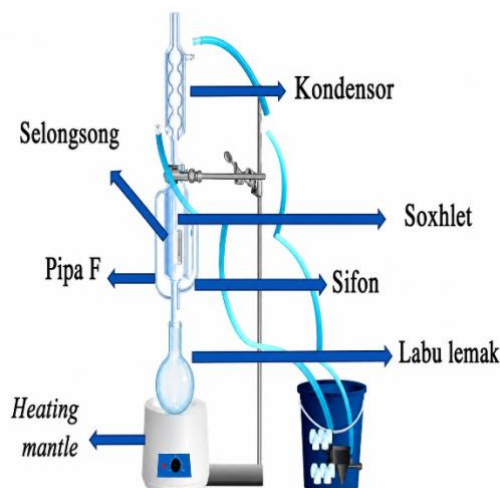
Gambar 5. Struktur Piperin dan Turunan Isomernya (Hammouti *et al.*, 2019)

2.7. Metode Ekstraksi Senyawa Piperin

Metode yang digunakan untuk mengisolasi piperin ada berbagai macam. Zat berminyak berwarna coklat tua yang diperoleh dengan pelarut organik polar melalui maserasi dan ekstraksi soxhlet dari lada hitam menghasilkan piperin dan amida yang serupa dengan menggunakan teknik kromatografi. Ekstraksi fluida superkritis, diikuti dengan kristalisasi telah digunakan untuk mendapatkan piperin murni. Berbagai metode tersedia dalam literatur untuk mendapatkan piperin dari lada hitam dengan metode ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2020). Piperin yang diisolasi dari biji lada hitam secara soxhlet berhasil diperoleh sebagai kristal kuning

dengan titik leleh 128,5–129,5°C, memiliki karakteristik UV-*Vis* pada 342 nm dan FTIR yang menampilkan sinyal khas seperti amida, alifatik, bending -CH₂, dan vibrasi cincin aromatik (Bahri *et al.*, 2025). Metode yang banyak digunakan untuk mengisolasi senyawa piperin adalah dengan menggunakan etanol karena menurut Zarai *et al.*, (2013) penggunaan etanol sebagai pelarut menghasilkan rendemen piperin terbanyak dibandingkan dengan pelarut metanol, kloroform, dan etil asetat. Proses selanjutnya adalah mencuci ekstrak pekat lada hitam dengan menggunakan kalium hidroksida (Chaudhri, 2017).

Maserasi dan soxhletasi merupakan teknik ekstraksi konvensional berbasis pelarut yang masih banyak digunakan karena mampu mengekstraksi senyawa bioaktif secara efektif. Maserasi memiliki keunggulan berupa prosedur yang sederhana, biaya operasional yang relatif rendah, serta tidak memerlukan peralatan khusus. Sementara itu, soxhletasi memungkinkan proses ekstraksi berlangsung lebih optimal karena pelarut yang digunakan terus bersirkulasi sehingga kontak dengan bahan menjadi lebih maksimal. Baik teknik ekstraksi konvensional maupun modern memiliki kelebihan dan keterbatasan masing-masing dalam menghasilkan piperin dengan rendemen serta tingkat kemurnian yang optimal (Gorgani *et al.*, 2016). Ekstraksi dengan masing-masing pelarut dilakukan pada suhu yang berbeda sesuai dengan titik didih pelarut. Teknik ekstraksi Soxhlet dengan pelarut etanol dilakukan pada suhu 83°C. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* (Dewi *et al.*, 2023). Ilustrasi gambar peralatan soxhlet terdapat pada Gambar 6.



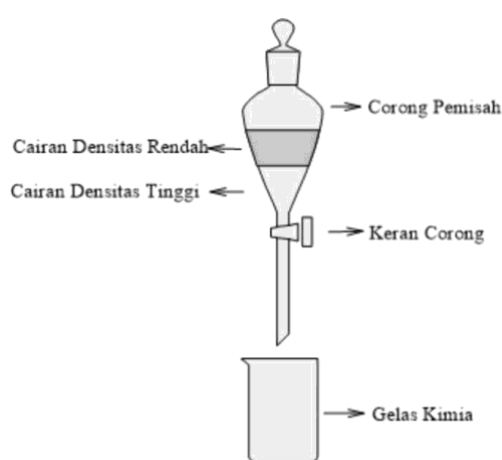
Gambar 6. Peralatan Soxhlet (Daniswara *et al.*, 2017)

2.8. Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair merupakan metode yang umum digunakan dalam kimia organik untuk memisahkan dan memurnikan senyawa berdasarkan perbedaan kelarutan dalam dua fase cair tidak saling bercampur, biasanya berupa fase air dan pelarut organik. Senyawa target pada proses ini biasanya merupakan senyawa organik yang akan berpindah dari fase air ke fase pelarut organik atau sebaliknya, bergantung pada sifat polaritas dan koefisien partisinya. Metode ini sangat penting dalam sintesis dan pemurnian senyawa organik karena dapat menghilangkan zat pengotor yang larut dalam fase lain sehingga meningkatkan kemurnian produk akhir (Rusdi *et al.*, 2024). Selain itu, ekstraksi cair-cair juga dapat memberikan kontrol selektivitas pemisahan yang sangat baik terhadap berbagai senyawa organik yang memiliki perbedaan polaritas atau sifat asam-basa, yang sangat bermanfaat untuk proses-proses sintesis dan isolasi senyawa kompleks (Karageorgis *et al.*, 2025).

Ekstraksi cair-cair adalah teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan komponen dalam campuran cair dengan menggunakan pelarut kedua yang tidak larut dalam pelarut pertama. Proses ini mengandalkan perbedaan kelarutan zat terlarut antara dua fase cair yang tidak bercampur, sehingga zat tersebut akan berpindah dari fase asal ke fase pelarut baru yang lebih sesuai secara kimiawi. Ekstraksi cair-cair dalam laboratorium kimia organik, sering dipakai untuk

mengisolasi senyawa organik dari campuran reaksi atau untuk menghilangkan pengotor berdasarkan sifat polaritas dan berat jenis kedua fase cair tersebut. Contohnya, senyawa organik non polar dapat diekstraksi dari fase air menggunakan pelarut organik seperti etil asetat atau kloroform. Ekstraksi cair-cair juga dapat dilakukan secara bertahap atau kontinu dengan alat seperti corong pisah atau ekstraktor berkelanjutan yang memungkinkan pemisahan lebih efisien dan penggunaan pelarut yang ekonomis (Mirwan, 2013). Ilustrasi gambar peralatan ekstraksi cair-cair terdapat pada Gambar 7.

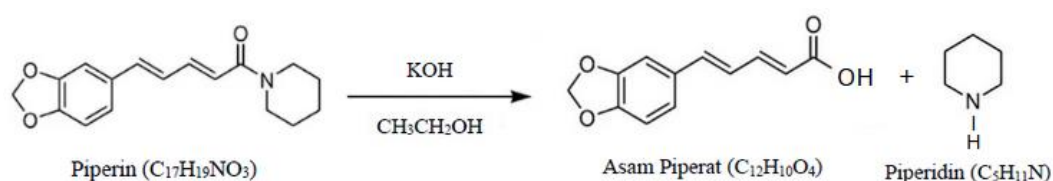


Gambar 7. Alat Ekstraksi Cair-Cair

2.9. Asam Piperat

Senyawa turunan piperin yang bernama asam piperat merupakan hasil hidrolisis piperin dengan larutan KOH alkoholis. Struktur kimia asam piperat mirip dengan piperin. Kedua senyawa ini memiliki gugus eter benzena dan alkena terkonjugasi. Perbedaan utama terletak pada gugus fungsi. Piperin memiliki gugus piperidin sedangkan asam piperat memiliki gugus hidroksi (karboksil). Perbedaan gugus fungsi ini memengaruhi aktivitas antibakteri asam piperat dibandingkan dengan piperin. (Hammad *et al.*, 2017). Piperin diisolasi dari buah *Piper nigrum* L. sebagai alkaloid utama, lalu dihidrolisis dengan basa untuk menghasilkan asam piperat dengan rendemen sekitar 86,96% sebagai prekursor derivatisasi selanjutnya. Asam piperat diubah menjadi beragam ester piperat melalui esterifikasi berbasis aktivasi karboksilat (reaksi Steglich) pada kondisi reaksi yang

lembut dan selektif. Pada tahap ini, reaksi dengan metanol, etanol, propanol, isopropanol, dan isobutanol menghasilkan masing-masing metil piperat, etil piperat, propil piperat, isopropil piperat, dan isobutil piperat. Proses keseluruhan memberikan rendemen 62,39–92,79%, menunjukkan rute sintesis yang efisien dan menghasilkan panel turunan ester yang siap untuk karakterisasi serta pengujian sifat fisikokimia dan aktivitas antibakteri (Choochana *et al.*, 2015). Skema sintesis senyawa asam piperat terdapat pada Gambar 8.



Gambar 8. Sintesis Senyawa Asam Piperat dari Piperin (Tiwari *et al.*, 2020)

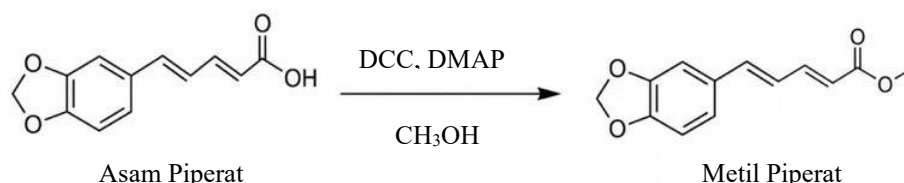
2.10. Esterifikasi

Esterifikasi merupakan reaksi kimia yang melibatkan asam karboksilat dengan alkohol untuk membentuk ester dan air sebagai produk samping. Reaksi ini penting dalam sintesis derivat senyawa bioaktif, termasuk senyawa turunan asam piperat yang merupakan metabolit utama dari piperin, senyawa bioaktif utama dari lada hitam (*Piper nigrum* L.). Proses esterifikasi asam piperat dapat dilakukan melalui berbagai metode, termasuk esterifikasi katalitik asam menggunakan p-toluena sulfonat dan Steglich esterifikasi yang menggunakan disikloheksilkarbodiimida (DCC) serta 4-dimetilaminopiridin (DMAP) sebagai katalis, yang memungkinkan reaksi berlangsung pada suhu kamar dengan hasil yang lebih tinggi dan produk yang lebih murni (Choochana *et al.*, 2013). Esterifikasi ini menghasilkan ester piperat seperti metil piperat dan etil piperat yang memiliki aplikasi potensial dalam bidang farmasi dan kosmetika, khususnya sebagai agen pelindung UV dan sebagai kandidat obat. Turunan asam piperat hasil esterifikasi juga telah disintesis dan dikarakterisasi melalui berbagai teknik spektroskopi seperti *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), dan *UV-Vis* untuk memastikan struktur dan kemurniannya.

Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa ester-ester ini dapat dimodifikasi untuk menambah variasi gugus aromatik dan alifatik guna meningkatkan aktivitas biologisnya, termasuk aktivitas antibakteri dan antikanker (Li *et al.*, 2022). Esterifikasi asam piperat membuka peluang dalam pengembangan senyawa turunan dengan aplikasi medis yang luas dan prospektif sebagai agen antibakteri patogen berbasis bahan alam.

2.11. Metil Piperat

Metil piperat merupakan metil ester dari asam piperat yang diperoleh melalui dua tahap utama. Tahap pertama, piperin hasil isolasi dari buah *Piper nigrum* L. diubah menjadi asam piperat dengan hidrolisis basa. Selanjutnya asam piperat tersebut diesterifikasi umumnya memakai pendekatan Steglich, yaitu metode aktivasi yang melibatkan senyawa DCC (*dicyclohexylcarbodiimide*) dan DMAP (*4-dimethylaminopyridine*) sebagai katalis, serta metanol sebagai donor gugus metil. Reaksi ini memungkinkan pembentukan metil ester dari asam piperat dengan efisiensi yang relatif tinggi. Hasil akhir dari rangkaian proses ini adalah terbentuknya metil piperat yaitu senyawa turunan dari piperin yang memiliki karakteristik kimia lebih sederhana dan lebih stabil, sehingga lebih mudah untuk disintesis ulang maupun dimurnikan (Choochana *et al.*, 2015). Skema sintesis senyawa metil piperat dengan metode Steglich terdapat pada Gambar 9.



Gambar 9. Skema Pembentukan Senyawa Metil Piperat (Choochana *et al.*, 2015)

Ditinjau dari struktur kimianya, senyawa metil piperat masih mempertahankan kerangka dasar konjugasi khas yang dimiliki oleh piperin, yakni keberadaan sistem alkena yang tersusun secara terkonjugasi dan terhubung langsung dengan cincin aromatik *benzodioxole*. Perbedaan utama antara kedua senyawa ini terletak

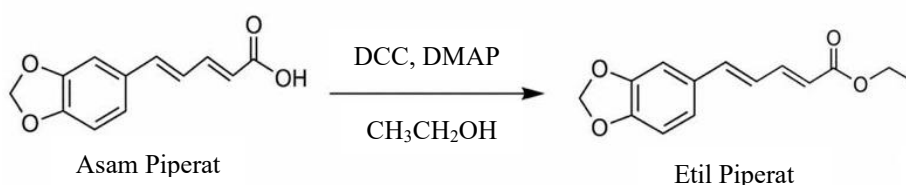
pada jenis gugus fungsi dominan yang mereka miliki. Pada struktur piperin, terdapat gugus amida piperidin yang merupakan hasil dari ikatan antara asam piperat dan piperidin, sedangkan pada metil piperat, gugus fungsi tersebut telah berubah menjadi gugus ester yang merupakan hasil dari proses esterifikasi asam piperat dengan metanol. Pergantian gugus fungsi dari amida siklik piperidin menjadi ester metil ini menyebabkan perubahan signifikan dalam sifat kimia senyawa tersebut, termasuk di antaranya polaritas dan lipofilisitas (Tiwari *et al.*, 2020). Metil piperat adalah senyawa turunan dari piperin karena adanya modifikasi pada gugus amida menjadi ester yang dapat memengaruhi tingkat kelarutan lemak, kemampuan senyawa menembus membran sel, serta pola interaksi biologisnya. Senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, namun efektivitasnya lebih rendah terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa keberadaan gugus ester berperan dalam perbedaan spektrum aktivitas antimikroba yang dihasilkan (Han *et al.*, 2023).

2.12. Etil Piperat

Pengembangan senyawa etil piperat yang berasal dari turunan asam piperat melalui modifikasi struktur piperin dilakukan sebagai upaya untuk mengatasi kelemahan yang dimiliki senyawa sebelumnya, terutama dalam hal mengurangi tingkat toksisitas tanpa mengorbankan aktivitas biologisnya. Modifikasi ini bertujuan untuk menghasilkan senyawa turunan dengan karakteristik yang lebih stabil serta memiliki profil farmakologis yang lebih aman. Etil piperat menunjukkan kestabilan kimia yang lebih baik daripada senyawa asam piperat. Etil piperat memiliki potensi efek samping yang lebih rendah, sehingga memberikan peluang yang menjanjikan untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat agen antibakteri dengan efektivitas yang lebih optimal (Choochana *et al.*, 2013).

Etil piperat adalah senyawa hasil modifikasi piperin melalui pembentukan turunan ester dari asam piperat. *Fischer esterification* etil piperat adalah pembuatan etil ester dari asam piperat dengan merefluks asam piperat bersama etanol berlebih

menggunakan katalis asam seperti H_2SO_4 dan HCl hingga terbentuk etil piperat dan air sebagai hasil samping. Pada reaksi esterifikasi, gugus OH yang terdapat pada asam karboksilat akan digantikan oleh gugus alkoksi yang berasal dari alkohol. Proses esterifikasi termasuk reaksi reversibel yang berlangsung sangat lambat, namun dengan adanya katalis berupa asam mineral seperti asam sulfat (H_2SO_4) maupun asam klorida (HCl), pencapaian kesetimbangan dapat berlangsung lebih cepat (Dwipa *et al.*, 2014). Studi preparatif menunjukkan etil piperat dapat diproduksi melalui reaksi esterifikasi yang dikatalisis asam dan reaksi Steglich (Choochana *et al.*, 2013). Modifikasi ini bertujuan mengurangi sifat toksik piperin sekaligus meningkatkan kestabilan senyawa. Etil piperat sebagai turunan ester memiliki karakteristik kimia yang lebih sederhana untuk disintesis serta lebih mudah dipelajari aktivitas biologisnya. Senyawa ini dianggap memiliki potensi farmakologis yang lebih aman dibanding senyawa induknya. Hal ini menyediakan material yang cukup untuk pengujian antibakteri lanjutan dan analisis hubungan struktur aktivitas (SAR) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Skema proses esterifikasi senyawa etil piperat dari asam piperat dengan metode Steglich terdapat pada Gambar 10.



Gambar 10. Esterifikasi Etil Piperat dari Asam Piperat Menggunakan Reaksi Steglich (Choochana *et al.*, 2015)

2.13. Uji Titik Leleh (*Melting Point*)

Titik leleh (*melting point*) adalah suhu tetap di mana suatu zat padat berubah menjadi cair pada tekanan tertentu, umumnya pada tekanan atmosfer. Titik leleh merupakan sifat fisik yang sangat penting karena setiap senyawa murni memiliki rentang titik leleh yang relatif sempit dan khas, sehingga sering digunakan sebagai parameter untuk mengidentifikasi dan memverifikasi kemurnian suatu senyawa. Senyawa yang tidak murni atau tercampur dengan zat lain biasanya memiliki titik

leleh yang lebih rendah dan rentangnya lebih lebar dibandingkan senyawa murni (Pavia *et al.*, 2015).

Senyawa piperin dan asam piperat memiliki perbedaan yang tereletak pada struktur senyawa dan gugus fungsi. Hal ini mengakibatkan kedua senyawa tersebut memiliki perbedaan *melting point*. Berikut ini adalah data *melting point* untuk senyawa piperin beserta senyawa turunannya pada Tabel 1.

Tabel 1. Titik Leleh Senyawa Piperin dan Senyawa Turunannya (Choochana *et al.*, 2015).

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

2.14. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik analisis yang sederhana namun efektif untuk mendeteksi keberadaan senyawa tertentu dalam ekstrak suatu sampel (Kowalska, 2022). Keberhasilan proses pemisahan senyawa dalam metode ini sangat dipengaruhi oleh jenis dan komposisi eluen yang digunakan. Eluen berfungsi sebagai fase gerak dalam sistem kromatografi, yang bertugas membawa senyawa-senyawa dari sampel melalui fase diam di permukaan plat KLT, sehingga terjadi pemisahan berdasarkan perbedaan afinitas senyawa terhadap fase diam dan gerak. Pemilihan eluen yang tepat menjadi faktor kunci dalam memperoleh hasil analisis yang akurat dan tajam (Lintang *et al.*, 2024).

Langkah penting dalam proses analisis KLT adalah optimalisasi campuran eluen atau pelarut. Komposisi eluen yang ideal akan meningkatkan keberhasilan dalam identifikasi senyawa, sehingga proses optimasi menjadi tahapan krusial dalam metode ini. Prinsip dari analisis KLT yaitu pemisahan senyawa multi komponen dengan menggunakan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Agustin *et al.*, 2021). Fase diam yang digunakan yaitu silika gel dan fase gerak yang digunakan

yaitu eluen berupa n-heksana : etil asetat (1:1) dalam 2 ml. Adapun standar senyawa piperin terletak pada nilai $R_f = 0,5$ dengan noda *single spot* (Febriyanti *et al.*, 2018). Adapun rumus perhitungan nilai R_f terdapat dalam Persamaan 1.

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

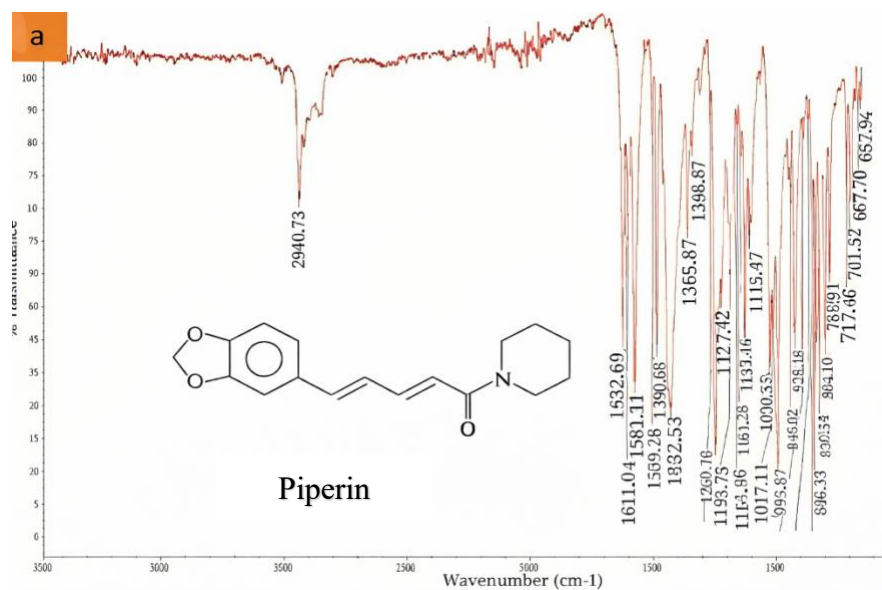
2.15. Spektrofotometri Inframerah

Spektrofotometri inframerah digunakan untuk mengidentifikasi senyawa organik karena menghasilkan spektrum dengan puncak yang kompleks. Teknik ini merupakan analisis yang memanfaatkan interaksi antara radiasi inframerah dan materi melalui proses penyerapan, pemancaran, atau refleksi gelombang elektromagnetik. Karakteristik spektrum yang dihasilkan, spektroskopi IR mampu memberikan informasi struktural mengenai molekul yang diteliti. Proses analisis menggunakan spektroskopi IR dilakukan dengan bantuan alat yang disebut spektrometer inframerah, yang menghasilkan spektrum khas dari suatu zat. Visualisasi ini membuat peneliti untuk mengenali pola serapan spesifik dengan ikatan kimia dan gugus fungsional senyawa (Karthika *et al.*, 2022). *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) merupakan pengembangan dari teknik spektroskopi inframerah yang menggunakan transformasi *fourier* untuk mengolah data spektrum yang dihasilkan (Sanjiwani dan Sudiarsa, 2021). Metode ini menjadi salah satu alat analisis yang sangat efektif dalam mengidentifikasi struktur molekul, baik organik maupun anorganik, dengan cakupan rentang bilangan gelombang mulai dari 14.000 cm^{-1} - 10 cm^{-1} . Melalui pendekatan ini, informasi spektral diperoleh secara simultan dan lebih akurat dibandingkan metode inframerah konvensional.

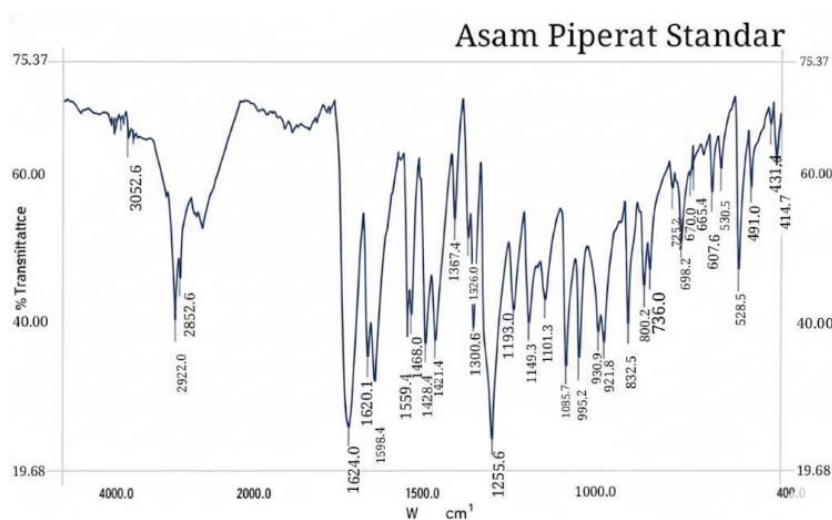
Berdasarkan rentang bilangan gelombang tersebut, wilayah inframerah diklasifikasikan ke dalam tiga zona utama. Wilayah inframerah dekat (14.000 – 4.000 cm^{-1}) yang terutama sensitif terhadap *overtone* dan kombinasi getaran molekul, wilayah inframerah tengah (4.000 – 400 cm^{-1}), yang merupakan area paling informatif dalam spektroskopi karena mencerminkan transisi vibrasi dalam

molekul, memberikan gambaran mengenai keberadaan gugus fungsi, dan wilayah inframerah jauh ($400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$), yang biasanya digunakan untuk menganalisis struktur molekul yang mengandung unsur-unsur berat, seperti senyawa anorganik kompleks dan logam berat (Sari *et al.*, 2018). Berikut ini adalah perbedaan karakterisasi FT-IR dari senyawa piperin dan asam piperat dalam Gambar 11.

a.



b.



Gambar 11. (a) Spektra FTIR Piperin (Ramirez *et al.*, 2019), (b) Spektra FTIR Asam Piperat (Bahri *et al.*, 2025)

Berikut data FTIR senyawa piperin dan asam piperat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Data FTIR Piperin dan Asam Piperat.

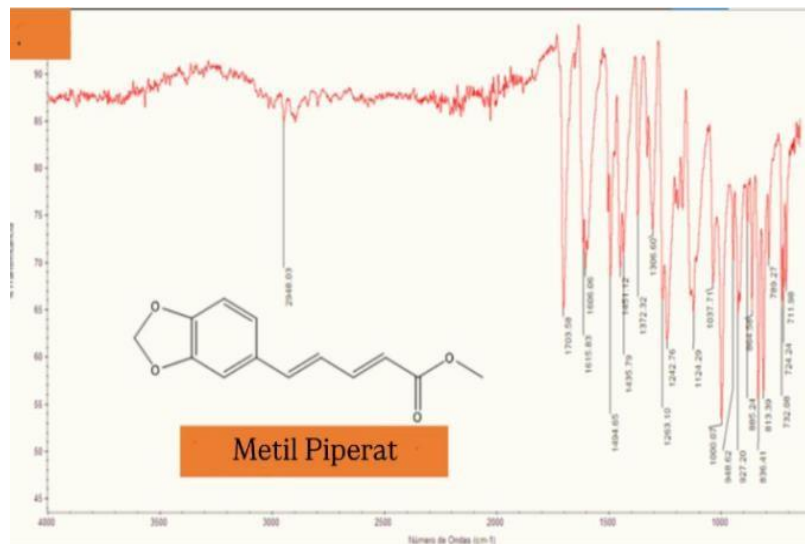
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Gugus Fungsi Asam Piperat	Gugus Fungsi Piperin
±3650	O–H	N–H / O–H (amin/alkohol)
3440 – 3000	–	O–H dan C–H (aromatik)
2920 – 2800	C–H (rantai alkana)	C–H (alkana dan aromatik)
2690 – 2610	–	C–H aldehyd
1670 – 1620	C=O (karbonil asam)	C=C (ikatan rangkap aromatik)
1600 – 1500	C=C (aromatik)	C=C (aromatik)
1450 – 1360	C–H bengkok, C–O (ester/alkoksi)	C–C, C–N
1300 – 1100	C–O (ester/alkoksi)	C–O (eter)
1050 – 850	C–H di cincin aromatik	C–H di cincin aromatik
700 – 600	Cincin aromatik	Cincin aromatik

Data pada Tabel 2 merangkum pita serapan FTIR khas pada piperin dan asam piperat yang menunjukkan berbagai getaran peregangan (*stretching*) dan pembengkokan (*bending*) dari gugus fungsi utama. Hasil spektrum FTIR menunjukkan bahwa asam piperat memiliki serapan khas pada bilangan gelombang sekitar 3650 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya gugus O–H, sedangkan pada piperin puncak tersebut berubah menjadi N–H atau O–H yang menandakan kemungkinan perbedaan jenis gugus polar. Pita serapan 2920–2800 cm⁻¹ pada kedua senyawa menunjukkan adanya gugus C–H alkana, namun pada piperin juga terdapat kontribusi dari C–H aromatik. Pita serapan 1670–1620 cm⁻¹ pada asam piperat menunjukkan gugus C=O (karbonil), sedangkan pada piperin bergeser menjadi C=C aromatik, mengindikasikan perubahan gugus karbonil menjadi ikatan rangkap terkonjugasi. Selain itu, serapan di daerah 1300–1100 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C–O pada kedua senyawa, namun dengan perbedaan tipe ikatan, yaitu ester pada asam piperat dan eter pada piperin. Secara

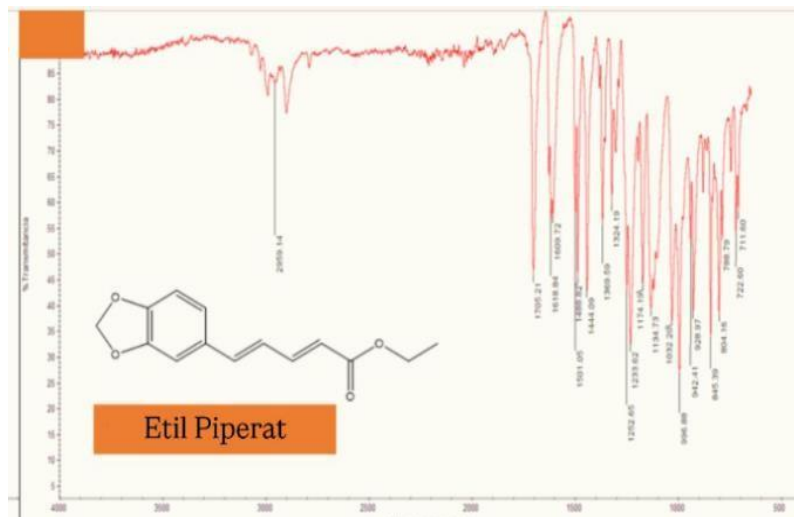
keseluruhan, perubahan ini menunjukkan bahwa piperin merupakan turunan dari asam piperat dengan modifikasi gugus karbonil menjadi sistem eter dan ikatan rangkap terkonjugasi.

Berikut ini adalah perbedaan karakterisasi FTIR dari senyawa metil piperat dan etil piperat dalam Gambar 12.

a.



b.



Gambar 12. (a) Spektra FTIR Metil Piperat, (b) Spektra FTIR Etil Piperat (Ramirez *et al.*, 2024)

Berikut data FTIR senyawa piperin dan asam piperat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Data FTIR Metil Piperat dan Etil Piperat (Ramirez *et al.*, 2024).

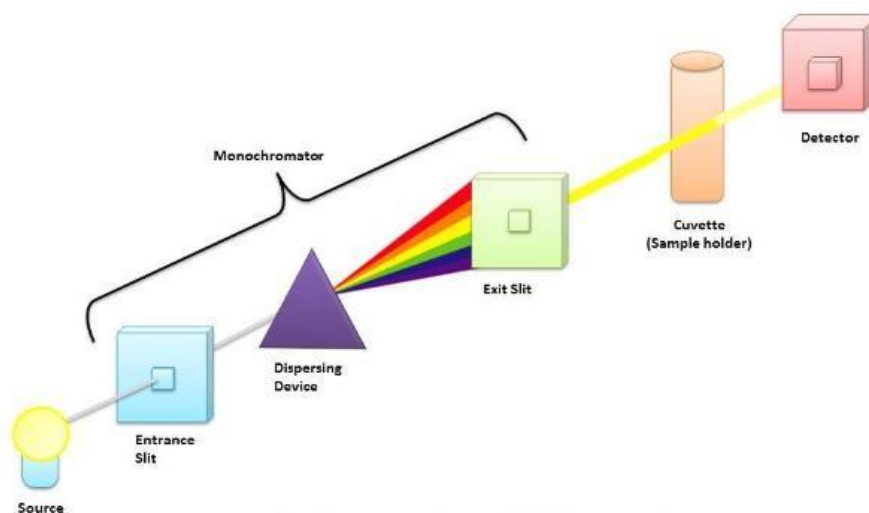
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Etil Piperat	Metil Piperat	Gugus Fungsi
2950-2960	2959	2948	Vibrasi ulur C-H alifatik (-CH ₃ , -CH ₂)
1735-1740	1738	1741	Vibrasi ulur C-O dari gugus ester
1635-1640	1636	1637	Vibrasi ulur C=C (ikatan rangkap pada cincin piperat)
1600-1500	1585, 1508	1588, 1511	Vibrasi ulur C=C aromatik
1250-1170	1235	1242	Vibrasi ulur C-O-C (ester)
1030-1010	1020	1025	Vibrasi ulur C-O (alkoksi)
750-700	734	737	Vibrasi deformasi C-H aromatik

Data pada Tabel 3 menunjukkan spektrum FTIR menunjukkan bahwa metil piperat dan etil piperat memiliki gugus fungsi yang sama, meliputi C-H alifatik, C=O ester, C=C, dan C-O. Perbedaan kecil terlihat pada pergeseran bilangan gelombang, di mana etil piperat umumnya memiliki nilai lebih rendah akibat pengaruh rantai etil yang lebih panjang dibandingkan gugus metil.

2.16. Spektrofotometer UV-Visible

Spektrofotometer UV-Visible adalah instrumen analitik yang digunakan untuk mengukur absorbansi cahaya ultraviolet (190–400 nm) dan cahaya tampak (400–800 nm) oleh molekul dalam larutan. Ketika cahaya dengan panjang gelombang tertentu melewati sampel, sebagian energi akan diserap sehingga intensitas cahaya berkurang, dan penurunan intensitas tersebut dimanfaatkan untuk kuantisasi analit (Ríos dan Azcarate, 2023). Penyerapan radiasi menyebabkan elektron tereksitasi dari keadaan dasar ke keadaan energi yang lebih tinggi, membentuk spektrum serapan yang khas bagi setiap senyawa. Besarnya energi transisi dipengaruhi oleh struktur molekul, sehingga setiap senyawa memiliki panjang gelombang

maksimum (λ maks) yang spesifik. Kuantifikasi dilakukan berdasarkan hukum *Lambert Beer* ($A = a \cdot b \cdot c$), yang menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan dan panjang lintasan cahaya. Instrumen *UV-Visible* umumnya terdiri atas sumber cahaya (lampu deuterium untuk daerah UV dan tungsten-halogen untuk daerah tampak), monokromator, kuvet kuarsa, detektor, serta sistem pengolah sinyal. Instrumen tipe *double-beam* memungkinkan pengukuran sampel dan blanko secara simultan sehingga lebih stabil, sedangkan sistem *photodiode array* mampu merekam seluruh spektrum secara bersamaan dan mempercepat proses analisis (Andure dan Tiwari, 2022). Skema spektrofotometer *UV-Visible* dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Skema Spektrofotometer *UV-Visible*
(Andure dan Tiwari, 2022)

Instrumen *UV-Visible* tersusun atas beberapa komponen utama yang meliputi sumber cahaya, monokromator, kuvet, dan detektor. Sumber radiasi yang digunakan umumnya adalah lampu deuterium untuk pengukuran pada daerah ultraviolet serta lampu tungsten-halogen untuk daerah cahaya tampak. Monokromator berperan dalam menyeleksi panjang gelombang tertentu dengan memanfaatkan kisi difraksi atau prisma. Kuvet berfungsi sebagai tempat sampel dan biasanya terbuat dari bahan kuarsa agar tetap transparan pada wilayah panjang gelombang UV. Detektor yang digunakan antara lain *photomultiplier tube* (PMT) yang sensitif terhadap intensitas cahaya rendah serta *photodiode array* (PDA)

yang mampu merekam spektrum secara bersamaan. Sistem *single-beam* memiliki konstruksi yang lebih sederhana namun mudah terpengaruh oleh fluktuasi intensitas cahaya, sedangkan sistem *double-beam* menawarkan kestabilan yang lebih baik karena dapat mengukur sampel dan blanko secara simultan (Salsabiila *et al.*, 2024).

Penggunaan spektrofotometri UV-Visible sangat beragam dan mencakup bidang farmasi, kimia, serta lingkungan. Metode ini digunakan untuk analisis kadar obat dan pengujian stabilitas zat aktif dalam bidang farmasi, sedangkan pada penelitian material dimanfaatkan untuk karakterisasi nanopartikel logam maupun oksida. Spektrofotometri UV-Visible dalam bidang lingkungan digunakan dalam analisis zat warna tekstil, kompleks logam, serta polutan organik dalam perairan. Keunggulan teknik ini meliputi prosedur yang sederhana, waktu analisis yang singkat, biaya yang relatif rendah, serta kemampuannya dalam analisis kualitatif dan kuantitatif. Metode ini juga memiliki keterbatasan karena hanya efektif untuk senyawa yang memiliki kromofor, serta hasil pengukuran dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti pH, suhu, jenis pelarut, dan kondisi kebersihan kuvet (Junaidi, 2017).

2.17. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Seiring dengan semakin pesatnya peningkatan resistensi bakteri dan perlunya upaya berkelanjutan dalam membatasi serta mengurangi penyakit akibat resistensi, maka perlu dikaji tentang perkembangan penelitian sintesis. Kondisi ini menimbulkan urgensi untuk menemukan dan mengembangkan agen antibakteri baru yang efektif dalam mengatasi infeksi bakteri yang telah resisten (Handayani *et al.*, 2021). Senyawa-senyawa antibakteri adalah zat kimiawi yang dapat berasal dari sumber alami maupun hasil sintesis buatan, yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan serta aktivitas bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020). Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan melalui beberapa metode, seperti metode dilusi, metode difusi pada media agar, serta metode kombinasi antara difusi dan dilusi. Metode difusi menjadi pilihan yang paling sering digunakan dalam pengujian efektivitas penghambatan mikroba. Metode difusi dikenal

memiliki tiga bentuk utama teknik pelaksanaannya, yaitu metode cakram, sumuran, dan silinder (Pratiwi, 2005).

Konsep dasar dari metode difusi terletak pada pergerakan senyawa antibakteri melalui media padat yang telah diinokulasi dengan mikroba target. Observasi dilakukan untuk mendeteksi terbentuknya zona bening di sekitar area tempat senyawa diaplikasikan, yang menandakan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri (Balouiri *et al.*, 2016). Cakram tersebut terlebih dahulu dijenuhkan dengan senyawa uji, lalu diletakkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Proses inkubasi dilakukan selama 18 hingga 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, zona jernih di sekitar cakram diamati sebagai indikasi efektivitas antibakteri. Kelebihan utama dari teknik ini adalah efisiensinya dalam proses persiapan dan pelaksanaan uji, sehingga banyak digunakan dalam pengujian cepat (Listari, 2009).

Penentuan konsentrasi hambat minimum menggunakan metode dilusi yaitu konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. *Minimum inhibitory concentration* (MIC) adalah konsentrasi minimum sebagai antibakteri yang dapat menghambat mikroorganisme sesudah 18 sampai dengan 24 jam setelah masa inkubasi. Prinsipnya dilakukan dengan membuat seri pengenceran senyawa uji dalam medium cair atau padat, kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri dan diinkubasi pada kondisi optimal. Setelah inkubasi, pertumbuhan diamati berdasarkan kejernihan medium atau adanya koloni, sehingga dapat diketahui konsentrasi terkecil yang efektif. Metode ini berguna untuk membandingkan potensi antimikroba (Soelama *et al.*, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober 2025 - Februari 2026, di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Karakterisasi FTIR dan analisis spektrofotometer UV- *Visible* dilakukan di Institut Teknologi Bandung (ITB), serta uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia 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 *blender*, Erlenmeyer berbagai ukuran, pH meter, labu bundar, alat gelas, pipet tetes, pipet volume berbagai ukuran, termometer, plat KLT dalam berbagai ukuran, tabung reaksi, *rotary evaporator*, alat refluks, alat ekstraksi soklet, timbangan digital (*Optika Italy*), *hot plate* yang dilengkapi dengan *magnetic stirrer*, *heating mantle*, pompa vakum, pompa sirkulasi, penangas air, oven, alat penentu titik leleh merk *Fiesher-John*, autoklaf, pembakar Bunsen, *cottonbud*, mortar alu, jarum ose, cawan petri, mikro pipet, pinset, *Laminar Air Flow (Airtech)*, inkubator, cakram, spektrofotometer inframerah (IR) merk *Perkin Elmerseri* FTIR-1600, dan spektrofotometer UV-*Visible (Agilent Technologies 84530)*.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk lada hitam (*Piper nigrum* L.), etanol teknis, asam klorida, kalium hidroksida, n-heksana, petroleum eter, etil asetat, diklorometana, 4-dimetilaminopiridin (DMAP), metil piperat, disikloheksilkarbodiimida (DCC), *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Broth* (MHB), *ciprofloxacin*, agar (*Swallow Globe Brand*), alkohol, spirtus, plat KLT (silika gel 60 GF₂₅₄), *molecular sieves*, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negatif), bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram-positif), indikator pH universal, dan akuades.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pengambilan dan Persiapan Sampel

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

3.3.2. Isolasi Piperin

50 g serbuk lada hitam, dibungkus dengan kertas saring, dibentuk silinder yang besarnya disesuaikan dengan ukuran soxhlet. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan etanol hingga larutan dalam soxhlet tampak bening (4 jam). Hasil ekstraksi dipisahkan menggunakan alat *rotary evaporator* kemudian didinginkan hingga suhu kamar. Setelah dingin, sampel ditambahkan larutan KOH etanolat 10% sebanyak 3/5 dari volume ekstrak dan diaduk, lalu dituangkan akuades hingga terbentuk awan putih dalam larutan kemudian didiamkan selama 3 jam hingga *crude* piperin mengendap yang menandakan resin telah terpisah. Endapan disaring dengan menggunakan corong Buchner. Selanjutnya, *crude* piperin direkristalisasi dengan alat refluks selama 30 menit dan dilanjutkan 15

menit terakhir dengan penambahan 0,2 g norit dalam larutan untuk memisahkan zat pengotor. Larutan hasil rekristalisasi disaring untuk menghilangkan sisa norit dan zat pengotor, dilanjutkan dengan penumbuhan kristal dalam lemari es selama 2 pekan. Setelah itu, terbentuk piperin yang berbentuk kristal jarum berwarna kuning.

3.3.3. Hidrolisis Piperin

Asam piperat disintesis sebagai tahap awal melalui hidrolisis piperin murni berdasarkan literatur (Choochana *et al.*, 2015), yang dimodifikasi, sebanyak 0,5 g piperin direfluks pada suhu 70°C selama 12 jam menggunakan 30 ml larutan KOH etanolat 20%, kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Larutan kemudian diasamkan dengan menggunakan HCl 1 M hingga mencapai pH 3. Hasil larutan selanjutnya dipindahkan ke dalam corong pisah. Diklorometana sebanyak 30 ml ditambahkan ke dalam corong pisah dan lapisan air diekstraksi. Proses ekstraksi diulangi sebanyak dua kali, kemudian lapisan fasa diklorometana dikumpulkan dan diuapkan untuk memperoleh asam piperat mentah. Asam piperat mentah kemudian direkristalisasi menggunakan campuran metanol : air (8:2) hingga diperoleh kristal asam piperat.

3.3.4. Sintesis Etil Piperat

Asam piperat sebanyak 0,0903 g dimasukkan ke dalam labu leher bulat 50 ml dalam diklorometana 15 ml. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan etanol 1 ml, 4-dimetilaminopiridin (DMAP) 0,044 g, dan disikloheksilkarbodiimida (DCC) 0,114 g. Campuran reaksi diaduk selama 24 jam dalam kondisi dingin dan perkembangan reaksi dipantau menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Campuran reaksi kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh larutan pekat. Fase gerak yang digunakan berupa campuran n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 1:1. Produk dikumpulkan dan diperoleh padatan berwarna kuning pucat dengan titik leleh 117–118 °C (Choochana *et al.*, 2013).

3.4. Karakterisasi dan Uji Kemurnian Senyawa

Sampel hasil isolasi dan sintesis dianalisis untuk menentukan kemurnian dan identitas senyawa melalui beberapa metode pengujian. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan dengan sampel dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda untuk menentukan nilai R_f , diikuti pengamatan noda di bawah sinar ultraviolet serta disemprot menggunakan pereaksi serium sulfat. Apabila sampel menunjukkan satu noda tunggal (*single spot*) pada KLT dan memiliki nilai titik leleh (*melting point*) yang sesuai, maka karakterisasi senyawa dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-*Vis* dan Spektrofotometer FTIR yang dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik Institut Teknologi Bandung (ITB).

3.5. Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.1. Preparasi Uji

Uji aktivitas antibakteri diawali dengan tahapan preparasi dengan mensterilkan seluruh alat dan bahan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang dipakai terbuat dari campuran *Mueller Hinton Broth* (MHB) sebanyak 3 g dengan tambahan 1,5 g agar dalam 100 ml akuades. Media dihomogenkan dan disterilisasi kembali dalam autoklaf selama 20 menit untuk memastikan tidak terdapat kontaminasi mikroba. Setelah proses sterilisasi selesai, media dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat.

Larutan standar uji disiapkan dengan konsentrasi 1 mg/ml sebagai kontrol positif (*ciprofloxacin*), larutan sampel metil piperat, larutan sampel etil piperat dan metanol 12,5% digunakan sebagai kontrol negatif. Metanol 12,5% digunakan sebagai kontrol negatif karena pada konsentrasi rendah, pelarut tidak menunjukkan aktivitas antibakteri dan tidak mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi rendah seperti 12,5% menunjukkan aktivitas penghambatan yang tidak terdeteksi,

sehingga konsentrasi tersebut dianggap berada di bawah ambang efek antibakteri dan sesuai digunakan sebagai kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Utami *et al.*, (2021). Uji bioaktivitas dilakukan terhadap bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negatif). Isolat *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* diremajakan pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam hingga terbentuk koloni tunggal yang siap digunakan sebagai inokulum dalam pengujian difusi agar.

3.5.2. Uji Difusi Agar

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar (*disc diffusion method*) yang telah dimodifikasi berdasarkan prosedur Balouiri *et al.*, (2016). Kultur bakteri patogen diinokulasikan ke dalam media cair *Mueller Hinton Broth* (MHB) dan diinkubasi kembali selama 1–2 jam hingga mencapai tingkat kekeruhan sesuai standar McFarland 0,5 (setara dengan konsentrasi sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Standar McFarland digunakan untuk memastikan keseragaman kepadatan sel bakteri sebelum dilakukan proses inokulasi ke media padat.

Suspensi bakteri yang telah distandarisasi kemudian diratakan di atas permukaan media padat menggunakan kapas steril (*cotton bud*) hingga seluruh permukaannya tertutup secara merata oleh inokulum. 4 buah cakram kertas steril masing-masing direndam dalam larutan sampel etil piperat, metil piperat, *ciprofloxacin* sebagai kontrol positif, dan metanol 12,5% sebagai kontrol negatif, lalu diletakkan di atas permukaan media tersebut. Semua cawan petri yang telah diperlakukan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Adanya zona bening di sekitar cakram menunjukkan kemampuan senyawa etil piperat dan metil piperat dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ukuran zona bening yang terbentuk digunakan sebagai acuan untuk menentukan potensi antibakteri senyawa terhadap masing-masing bakteri uji.

3.5.3. Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Pengamatan zona hambat dilakukan setelah inkubasi dengan terbentuknya zona bening sebagai indikator aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dan diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter sehingga hasilnya akurat serta dapat dibandingkan antarperlakuan. Hasil pengukuran zona hambat kemudian dianalisis untuk menilai kekuatan aktivitas antibakteri dari senyawa uji yang digunakan. Berdasarkan penjelasan Balouiri *et al.*, (2016), diameter zona bening yang lebih besar menandakan kemampuan antibakteri yang lebih kuat, karena menunjukkan luas area di mana pertumbuhan bakteri berhasil dicegah. Hubungan antara ukuran zona hambat dan aktivitas antibakteri bersifat langsung, di mana peningkatan diameter zona bening berbanding lurus dengan peningkatan efektivitas senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri target.

3.5.4. Uji Metode Dilusi

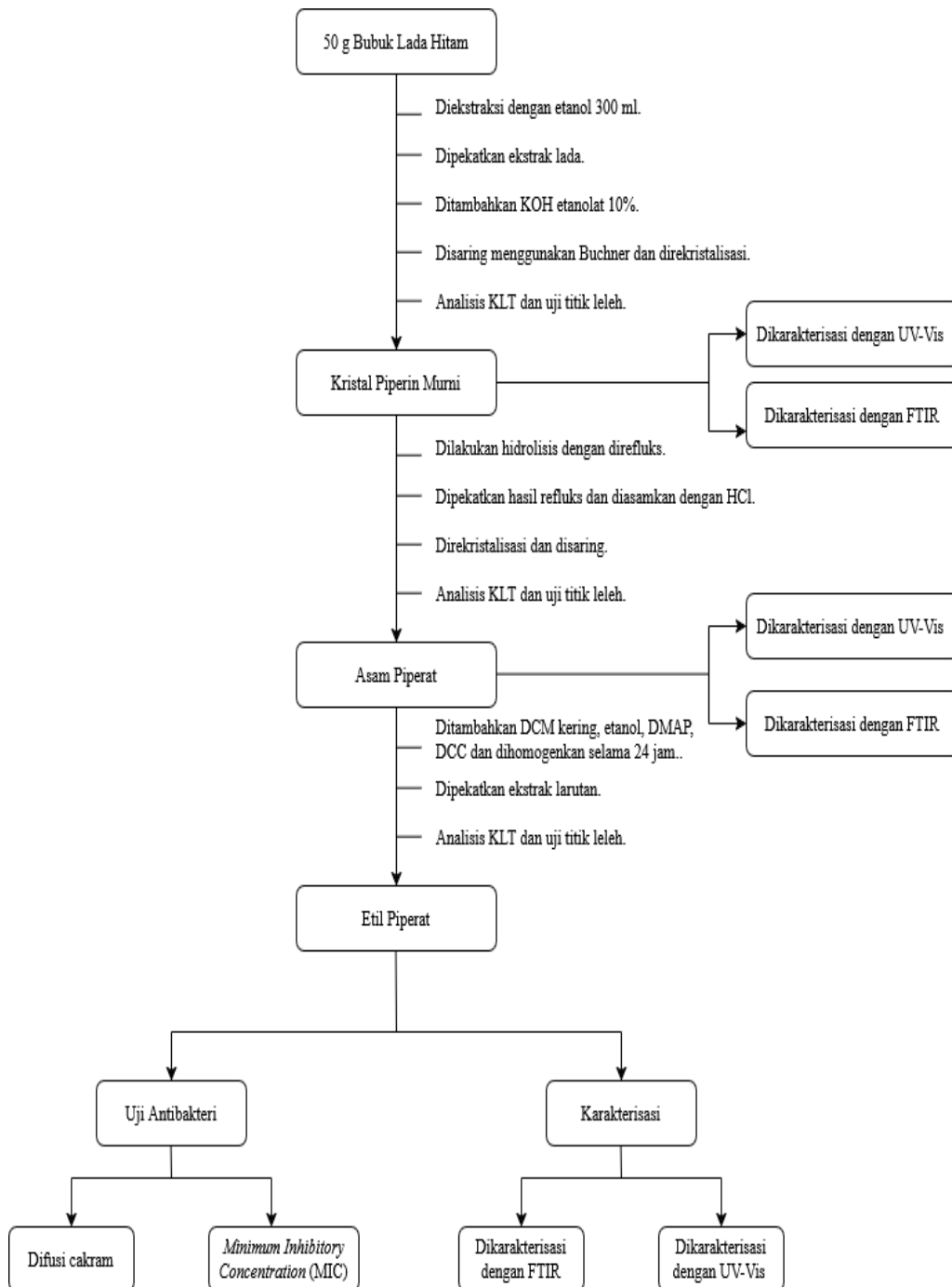
Uji antibakteri dengan metode dilusi, larutan senyawa metil piperat dan etil piperat dibuat dalam beberapa konsentrasi berbeda melalui pengenceran bertingkat menggunakan media cair. Metode dilusi mengacu pada studi penelitian Daris *et al.*, (2023), kultur bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan terlebih dahulu diinkubasi pada media NA selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kultur bakteri tersebut diinokulasikan ke dalam media cair *Mueller Hinton Broth* (MHB) dan diinkubasi kembali selama 1–2 jam.

Pengujian aktivitas antibakteri dibandingkan dengan larutan kontrol positif (K+) dan larutan kontrol negatif (K-). Larutan kontrol positif (K+) dibuat dengan menambahkan 3,8 ml MHB, 0,1 ml suspensi bakteri Gram positif dan Gram negatif, dan 0,1 ml *ciprofloxacin*. Selanjutnya, larutan kontrol negatif (K-) dibuat dengan menambahkan 3,8 ml MHB, 0,1 ml suspensi bakteri Gram positif dan Gram negatif, dan 0,1 ml metanol 12,5%. Tabung reaksi 1 ditambahkan 4 ml metanol dan 4 mg metil piperat. Tabung reaksi ke-2 dan ke-5 ditambahkan dengan 1 ml MHB dan 1 ml larutan secara berurutan dari tabung 1, tabung 2,

tabung 3, tabung 4, dan campuran kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, suspensi bakteri patogen *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* ditambahkan ke tabung 1-5 sebanyak 0,1 ml. Prosedur yang sama diulang dengan mengganti senyawa metil piperat menjadi senyawa etil piperat. Setiap tabung reaksi kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri yang sudah disesuaikan kekeruhannya, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati berdasarkan kejernihan media tabung reaksi yang tetap jernih menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri. MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah dari senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Analisis data zona hambat dan nilai MIC dilakukan secara deskriptif dan perbandingan.

3.6. Diagram Alir

Diagram alir pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 14.



Gambar 14. Diagram Alir

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa etil piperat berhasil disintesis dari asam piperat melalui metode esterifikasi Steglich dengan rendemen sebesar 76,01%, yang ditunjukkan oleh titik leleh etil piperat sebesar 117,4°C serta hasil KLT yang menunjukkan satu noda (*single spot*) dengan nilai *R_f* sebesar 0,83.
2. Hasil karakterisasi senyawa etil piperat UV-Visible menunjukkan adanya puncak serapan pada panjang gelombang 205 nm, 260 nm, dan 346 nm yang mengindikasikan keberadaan sistem terkonjugasi pada struktur etil piperat.
3. Spektrum FTIR etil piperat memperlihatkan pita serapan O–H dan N–H yang seharusnya tidak ada, kemungkinan berasal dari sisa etanol dan produk samping *dicyclohexylurea* (DHU) yang belum terpisah karena tidak dilakukan pemurnian lanjutan.
4. Pengujian difusi cakram menunjukkan bahwa etil piperat menghasilkan zona hambat sebesar 10 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan 9,8 mm terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, lebih besar dibandingkan metil piperat yang masing-masing sebesar 7,1 mm dan 8,1 mm.
5. Pengujian awal metode dilusi menunjukkan penghambatan pada tabung pengenceran ke-3 (250 ppm) pada *Staphylococcus aureus* untuk kedua senyawa ester serta pada tabung pengenceran ke-4 (125 ppm) untuk etil piperat dan tabung pengenceran ke-3 (250 ppm) untuk metil piperat terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, sehingga dapat disimpulkan bahwa etil piperat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan metil piperat.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan tahap pemurnian tambahan terhadap senyawa etil piperat hasil sintesis agar diperoleh nilai rendemen yang lebih tepat serta tingkat kemurnian produk yang lebih tinggi.
2. Pengujian dapat diperluas terhadap jenis bakteri lain sehingga dapat diketahui spektrum aktivitas antibakteri dari etil piperat dan metil piperat secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes. 2009. *Teknologi Bahan Alam Edisi Revisi*. ITB Press. Bandung.
- Agustin, R., Oktaviantari, D. E., dan Feladita, N. 2021. Identifikasi Hidrokuinon dalam Sabun Pemutih Pembersih Wajah di Tiga Klinik Kecantikan dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Analitik Farmasi*. 2(1):95-101.
- Ahmad, N., Fazal, H., Haider Abbasi, B., Farooq, S., Ali, M., dan Ali Khan, M. 2012. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black Pepper): A Review Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1(1):1–10.
- Andure, S. D., dan Tiwari, N. 2022. A Complete Review On UV-Visible Spectroscopic Technique. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*. 7(6):2456–4494.
- Ani, E. A., Doudin, K., McBain, A. J., Ahmad, Z., dan Freeman, S. 2026. Alkyl Chain Length Governs Structure, Conformation and Antimicrobial Activity in Poly (alkylene biguanide). *Journal of Polymers*. 18(1):1-9.
- Arfani, N. 2021. *Identifikasi Bakteri Staphylococcus aureus Pada Kulit*. KBM Indonesia. Yogyakarta.
- Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M. K., Pandian, A., dan Warkentin, T. D. 2021. Phytochemistry and Therapeutic Potential of Black Pepper [*Piper nigrum* (L.)] Essential Oil and Piperine: A Review. *Clinical Phytoscience*. 7(1):1-11.
- Azahari, D. H., Purba, H. J., Erwidodo, Darwis, V., Dabukke, F. B. M., Hestina, J., dan Yusuf, E. S. 2021. The Competitiveness of Indonesia's Pepper Export and Its Challenges. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 89(1):1-8.
- Bahri, S., Ambarwati, Y., Iqbal, M., and Baihaqy, A. A. 2019. Synthesis 4-Piperilmorpholine from Piperine. *Journal of Physics: Conference Series*. 1338(1):1-7.

- Bahri, S., Annisa, D. N., Ambarwati, Y., Marlina, L., Sutiarno., Wahyuningrum, D., dan Andhulangi, G. 2025. In Silico Evaluation of Novel 3 Piperoylindole Compounds Synthesized from Piperine (*Piper Nigrum* Linn.) for Potential Anti-Cancer. *Trends in Sciences*. 22(12):1-11.
- Balouiri, M., Sadiki, M., dan Ibsouda, S. K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Botelho, J., Grosso, F., dan Peixe, L. 2019. Antibiotic Resistance In *Pseudomonas aeruginosa* Mechanisms, Epidemiology and Evolution. *Drug Resistance Updates*. 44(1):640-647.
- Brooks, G. F., S. J. Butel, dan A. S. Morse. 2001. *Medical Microbiology*. International Edition. 22nd ed. McGraw-Hill Co. New York.
- Chaluvaraju, C. K., Manjunatha, T. O., Khot, B. S., dan Unakalla, B. S. 2024. Melting Point of Organic Compounds: A Comprehensive Guide. *International Journal of Creative Research Thoughts (IJCRT)*. 12(9):87–100.
- Chaudhri, V. K. 2017. Isolation and Evaluation of Piperine From Black Pepper and White Pepper. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, August 2017*. 3(1):1424–1430.
- Choochana, P., Lhinhatrakool, T., dan Tanguenyongwatana, P. 2013. Highly Efficient Preparation of Ethyl Piperate from Piperine Isolated From *Piper Nigrum*. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*. 38(1):1–3.
- Choochana, P., Mounjaroen, J., Jongkon, N., Gritsanapan, W., dan Tangyuenyongwatana, P. 2015. Development of Piperic Acid Derivatives From *Piper Nigrum* as UV Protection Agents. *Pharmaceutical Biology*. 53(4):477–482.
- Daniswara, E. F., Rohadi, T. I., Kimia, D. T., dan Mahfud. 2017. Ekstraksi Minyak Akar Wangi dengan Metode Microwave Hydrodistillation dan Soxhlet Extraction. *Jurnal Teknik ITS*. 6(2):1–4.
- Daris, S. U., Syam, H., dan Sukainah, A. 2023. Uji Daya Hambat serta Penentuan Minimum Inhibitor Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Ekstrak Daun Bidara Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. 9(2):223-234.
- Depkes RI. 1980. *Materia Medika Indonesia Jilid IV*. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta.
- Dewi, L. K., Setyawati, S. D., Pamuji, A. N. F., Indrayana, S., dan Cahyani, C. 2023. The Effect of Various Solvent in Soxhlet Extraction on The Characteristics of Basil Oil (*Ocimum americanum* L.). *Jurnal Bahan Alam*

Terbarukan. 12(1): 63–69.

- Dwipa, I. B. M. A., Nurlita, F., dan Tika, I. N. 2014. Optimasi Proses Esterifikasi Asam Salisilat dengan n-Oktanol. *Jurnal Wahana Matematika dan Sains*. 8(1):1–11.
- Emeka NWOPIA, G., Kelechukwu, C., dan Nwofia, B. K. 2013. Nutritional Composition of Some *Piper nigrum* (L.) Accessions From Nigeria. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 3(2):2249–4340.
- Febriyanti, A. P., Iswarin, S. J., dan Susanti, S. 2018. Penetapan Kadar Piperin dalam Ekstrak Buah Lada Hitam (*Piper Nigrum* Linn.) Menggunakan Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (Lc–Ms/Ms). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 1(2):69–79.
- Ferreira, C., Soares, D. C., Barreto-Junior, C. B., Nascimento, M. T., Freire-de-Lima, L., Delorenzi, J. C., Atella, G.C., Folly, E., Carvalho, T.M.U., Saraiva, E.M., dan Pinto-da-Silva, L. H. 2011. Leishmanicidal Effects of Piperine, Its Derivatives, and Analogues on *Leishmania Amazonensis*. *Phytochemistry*. 72 (17):2155-2164.
- Gherardi, G. 2023. *Staphylococcus aureus* Infection: Pathogenesis and Antimicrobial Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9):1-3.
- Gorgani, L., Mohammadi, M., Najafpour, G. D., dan Nikzad, M. 2016. Piperine The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation To Medicinal Formulations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16 (1):124-140.
- Hammad, A. S., Ravindran, S., Khalil, A., dan Munusamy, S. 2017. Structure Activity Relationship of Piperine and Its Synthetic Amide Analogs For Therapeutic Potential To Prevent Experimentally Induced ER Stress In Vitro. *Cell Stress and Chaperones*. 22(3):417–428.
- Hammouti, B., Dahmani, M., Yahyi, A., Ettouhami, A., Messali, M., Asehrou, A., Bouyanzer, A., Warad, I., dan Touzani, R. 2019. Black Pepper, the “King of Spices”: Chemical Composition To Applications. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*. 6 (1):12-56.
- Han, J., Zhang, S., He, J., dan Li, T. 2023. Piperine: Chemistry and Biology. *Journal Toxins*. 15(1):1–20.
- Handayani, N. C., Shafira, P. N., dan Fadhilah, S. G. 2021. Potensi Pengembangan Agen Antibakteri dari Senyawa Kompleks Logam Transisi di Indonesia. *The Indonesian Green Technology Journal*. 2(1): 9–20.

- Haq, I. U., Imran, M., Nadeem, M., Tufail, T., Gondal, T. A., dan Mubarak, M. S. 2021. Piperine: A Review of Its Biological Effects. *Phytotherapy Research*. 35(2):680-700.
- 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.
- Jalan, R., Fernandez, J., Wiest, R., Schnabl, B., Moreau, R., Angeli, P., Stadlbauer, V., Gustot, T., Bernardi, M., Canton, R., Albillos, A., Lammert, F., Wilmer, A., Mookerjee, R., Vila, J., Garcia-Martinez, R., Wendon, J., Such, J., Cordoba, J., Ginès, P. 2014. Bacterial Infections In Cirrhosis: A Position Statement Based On The EASL Special Conference 2013. *Journal of Hepatology*. 60(6):1310–1324.
- Junaidi. 2017. Spektrofotometer UV-Vis untuk Estimasi Ukuran Nanopartikel Perak. *Jurnal Teori Dan Aplikasi Fisika*. 5(1):97–102.
- Jimenez, P.N., Koch, G., Thompson, J. A., Xavier, K. B., Cool, R. H., dan Quax, W. J. 2012. The Multiple Signaling Systems Regulating Virulence In *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 76(1):46–65.
- Karageorgis, G., Tomasi, S., Farrar, E. H. E., Tarrago, M., dan Malik, T. 2025. A Digital Tool for Liquid-Liquid Extraction Process Design. *Digital Discovery*. 4(1):1763-1771.
- Karthika, B. R., Nishad, V. M., dan Prasobh, G. R. 2022. An Overview on Infrared Spectroscopy. *International Journal of Research Publication and Reviews*. 3(4):526–552.
- Kolhe, S. R., Borole, P., dan Patel, U. 2011. Extraction and Evaluation of Piperine from *Piper nigrum* Linn. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2(2):144–149.
- Konoralma, K. 2019. Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Umum GMIM Pancaran Kasih Manado. *Jurnal KESMAS*. 8(1):23–35.
- Kowalska, T. 2022. Botanicals Its Versatile Potential and Selected Applications. *Molecules*. 27(19):66-70.

- Li, H., Wu, X., Li, X., Cao, X., Li, Y., Cao, H., dan 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.
- Li, T., Lv, M., Wen, H., Wang, Y., Thapa, S., Zhang, S., Xu, H. 2022. Synthesis Of Piperine-Based Ester Derivatives With Diverse Aromatic Rings and Their Agricultural Bioactivities Against *Tetranychus Cinnabarinus* Boisduval, *Aphis Citricola* Van Der Goot, and *Eriosoma Lanigerum* Hausmann. *Insects*. 14(40):1-13.
- Lintang, R., Losung, F., Menajang, F. I. S., dan Sumilat, D. A. 2024. Optimizing Thin Layer Chromatography (TLC) Eluent Composition for Compound Content Separation the Ethanolic Extract of Sponge and Ascidia. *Jurnal Ilmiah Platax*. 12(2):132–138.
- Listari, Y. 2009. *Efektivitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat Streptomyces Dari Rizosfer Familia Poaceae Terhadap Escherichia coli*. UMS Press. Surakarta.
- Loo, T. 1987. *Ikhtisar Ringkas dari Dasar-Dasar Farmakognosi*. Bunda Karya. Jakarta.
- Mirwan, A. 2013. Keberlakuan Model HB-GFT Sistem n-heksana MEK-Air Pada Ekstraksi Cair-Cair Kolom Isian. *Jurnal Konversi*. 2(1):32-39.
- Moradali, M. F., Ghods, S., dan Rehm, B. H. A. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 7(2):39-48.
- Nair, K. P. 2011. *Agronomy and Economy of Black Pepper and Cardamom*. The King and Queen of Spices. Elsevier press. Amsterdam.
- Ningrum, F. S., Hanum, C., dan Purba, E. 2018. Karakteristik Morfologi Lada Perdu (*Piper nigrum* L.) Varietas Natar 1 dan Natar 2 Toleran Cekaman Naungan. *Jurnal Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara*. 6(4):708–714.
- Noorhamdani, A. 2018. *Infeksi Bakteri MRSA pada Kulit dalam Buku: Skin Infection: It's Must Know Disease*. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Noviyani, P. S. R. E. P. 2023. Hubungan Motivasi Ibu Dukungan Keluarga dan Peran Bidan Terhadap Kunjungan Nifas di Puskesmas Maripari Kabupaten Garut Tahun 2023. *Jurnal Riset Ilmiah*. 2(4):1275-1289.
- Nurfawardani., Rante, H., Sulaiman, S. A. S., Perwitasari, D. A., dan Arifin, B. 2024. An Indonesian Version of The Instrument for Measuring Knowledge and Attitudes Toward Antibiotic Among the Population in The Whole Country. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 35(2):363-374.

- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., dan Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2):41–46.
- Pagarra, H., Saalino, E., dan Hartati. 2024. Antibacterial Activity of Pegagan (*Centella asiatica*) Leaf Extract and Fractions Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Sainsmat: Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam*. 13(2):245-253.
- Pang Z., Raudonis R., Glick B. R., Lin, T. J., dan Cheng, Z. 2019. Antibiotic Resistance In *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and Alternative Therapeutic Strategies. *Biotechnology Advances*. 37(1):177–192.
- Papajk, J., Mezerová, K., Uvízl, R., Štosová, T., dan Kolář, M. 2021. Clonal Diversity of *Klebsiella Sp.* and *Escherichia Sp.* Strains Isolated From Patients With Ventilator-Associated Pneumonia. *Antibiotics*. 10(6):1–9.
- Parija. 2009. *Textbook of Microbiology dan Immunology*. Elsevier. New Delhi.
- Patil, U. K., Singh, A., dan Chakraborty, A. K. 2011. Role of Piperine as a Bioavailability Enhancer. *International Journal Recent Adv Pharmac Res* 4. 1(1):1-23.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., dan Engel, R. G. 2015. *A Small Scale Approach to Organic Laboratory Techniques Fourth Edition*. Cengage Learning. Boston.
- Pratiwi, R. 2005. Perbedaan Daya Hambat Terhadap Streptococcus Mutans dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal. *Dental Journal*. 38(2):64–67.
- Putra, G. D. S., Khairullah, A. R., Efendi, M. H., Lazuardi, M., Kurniawan, S. C., Afrani, D. A., Silaen, O. S. M., Waruwu, Y. K. K., Millannia, S. K., Widodo, A., Ramadhani, S., Farizqi, M. T. I., Riwu, K. H. P. 2023. Detection of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated From Dairies Milk in Medowo Village of Kediri District, Indonesia. *Biodiversitas*. 24(1):423-430.
- Putri, N. I. C. A., Ramadhani, R., dan Wasito, E. B. 2021. Gram Negative Bacteria (*Escherichia coli*) Win Against Gram Positive Bacteria (*Staphylococcus aureus*) in The Same Media. *Biomolecular and Health Science Journal*. 4(2):114-117.
- Qin, S., Xiao, W, Zhou, C, Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., dan Wu, M. 2022. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenesis, Virulence Factors, Antibiotic Resistance, Interaction with Host, Technology Advances and Emerging Therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*.

7(1):199-208.

- Ramirez, C. T., Martel, C. R., dan Cabanillas, B. 2024. Actividad Antioxidante De Los Ésteres Del Ácido Pipérico Sintetizados A Partir Del *Piper nigrum*. *Rev Soc Quím Perú*. 90(1):1-9.
- Rasdianah, N., Akuba, J., dan Djuwarno, E. N. 2023. Knowledge and Beliefs About The Use of Antibiotics in Society: A Questionnaire Study of Gorontalo Province, Indonesia. *Jurnal Sains Farmasi dan Kimia*. 10(3):359-367.
- Rasyid, M. I. A., Suri, N., Iqbal, M., dan Junando, M. 2025. Article Review: Faktor Penyebab Perilaku Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep Pada Masyarakat. *Jurnal Farmasi Syifa*. 3(1):58-65.
- Ríos-Reina, R., dan Azcarate, S. M. 2023. How Chemometrics Revives The UV-Vis Spectroscopy Applications As An Analytical Sensor For Spectralprint (Nontargeted) Analysis. *Chemosensors*.11(1):7-16.
- Romero, J. C. L., Rios, H. G., Borges, A., dan Simoes, M. 2015. Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1(5):1-9.
- Rusdi, H. O., Kusumaningrum, I. K., Nareswari, T. J., Fauziah, P. N., Maharani, R. N., dan Natasya, S. 2024. Separation and Determination of Free Fatty Acids In Corn Oil and Palm Oil By Liquid-Liquid Extraction and Acidi-Alkalimetric Titration. *Walisongo Journal of Chemistry*. 7(1):98-106.
- Sabina, E. P., Nasreen, A., VEDI, M., dan Rasool, M. 2013. Analgesic, Antipyretic and Ulcerogenic Effects of Piperine: An Active Ingredient of Pepper. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(10):203–206.
- Salsabiila, F., Rahmawati, L. N., Kholidah, H. M., dan Shidiq, A. S. 2024. Portable and Inexpensive Blue LED Based UV-Vis Spectrophotometer With Smartphone Detector As A Chemistry Learning Innovation. *International Journal of Pedagogy and Teacher Education*. 7(2):119-126.
- Samreen, Ahmad, I., Malak, H. A., dan Abulreesh, H. H. 2021. Environmental Antimicrobial Resistance and Its Drivers: A Potential Threat To Public Health. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 27(2):101–111.
- Sanjiwani, S. M. N., dan Sudiarsa, W. 2021. Analisis Gugus Fungsi Obat Sirup Batuk dengan Fourier Transform Infrared. *Jurnal Emasains: Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains*. 11(2):339–345.

- Sari, N. W., Fajri, M. Y. dan Wilapangga, A. 2018. Analisis Fitokimia dan Gugus Fungsi dari Ekstrak Etanol Pisang Gorocho Merah (*Musa acuminata* L.). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2(1):31-34.
- 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 Nasional UNIMUS*. 5(1):795–806.
- Shamina, A. 2001. *Secondary Metabolites in Black Pepper and Their Effect on The Foot-Rot Pathogen Phytophthora capsici*. India Book House. New Delhi.
- Sinuraya, R. K., Wulandari, C., Amalia, R., dan Puspitasari, I. M. 2023. Understanding Public Knowledge and Behavior Regarding Antibiotic Use in Indonesia. *Infection and Drug Resistance*. 1(16):6833-6842.
- Soares, A., Alexandre, K., Etienne, M. 2020. Tolerance and Persistence of *Pseudomonas aeruginosa* In Biofilms Exposed To Antibiotics. *Frontiers in Microbiology*. 11(5):2057-2065.
- Soelama, H. J. J., Kepel, B. J., dan Siagian, K. V. 2015. Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Euclima cottonii*) sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi*. 3(2):374-379.
- Takooree, H., Aumeeruddy, M. Z., Rengasamy, K. R., Venugopala, K. N., Jeewon, R., Zengin, G., dan Mahomoodally, M. F. 2019. A Systematic Review On Black Pepper (*Piper nigrum* L.): From Folk Uses To Pharmacological Applications. *Critical reviews in food science and nutrition*. 59(1):210-243.
- Thi, M. T. T., Wibowo, D., dan Rehm, B. H. A. 2020. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(22):8671-8677.
- Tiwari, A., Mahadik, K. R., dan Gabhe, S. Y. 2020. Piperine: A Comprehensive Review of Methods of Isolation, Purification, and Biological Properties. *Medicine in Drug Discovery*. 7(1)7:1-21..
- Tong, S. Y. C., DaVis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., dan Fowler, V. G2015. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*. 28(3):603–661.
- Trindade, E. O., Dutra, T. F., Brandao, M. C. R., Neto, H. D., Lima, E. O., Lira, B. F., Filho, P. F. D. A., dan Filho, J. M. B. 2020. Synthesis, In Silico Study and Antimicrobial Activity of New Piperine Derivatives Containing Substituted δ Esters. *Journal Brazil Chemistry Sociedade*. 31(12):2590-2602.

- 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.
- Vasavirama, K., dan Upender, M. 2014. Piperine: A Valuable Alkaloid From Piper Species. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(4):34-38.
- Wulandari, W. 2021. Review: Black Pepper (*Piper Nigrum* L.) Botanical Aspects, Chemical Content, Pharmacological Activities. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine*. 6(1):83–91.
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Ben Salem, N., Gargouri, Y., dan Sayari, A. 2013. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Various Solvent Extracts, Piperine and Piperic Acid From *Piper nigrum*. *Journal Lwt*. 50(2):634–641.
- Zhai, W. J., Zhang, Z. B., Xu, N. N., Guo, Y. F., Qiu, C., Li, C. Y., Deng, G. Z., dan Guo, M. Y. 2016. Piperine Plays an Anti-Inflammatory Role in *Staphylococcus aureus* Endometritis by Inhibiting Activation of NF-Kb and MAPK Pathways in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1(3):1-10.