

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS
ANTIDIABETES SERTA ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID
KAYU AKAR TANAMAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)**

(Skripsi)

Oleh

Andi Irawan



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION AS WELL AS ANTIDIABETIC- AND-ANTIBACTERIAL BIOACTIVITY ASSAY OF FLAVONOID COMPOUNDS OF WOODEN ROOTS OF PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

By

ANDI IRAWAN

Diabetes is a disease that is raising concern around the world, caused by high blood sugar levels in the human body. IDF predicted that there will be a significant yearly increase to 700 million patients by 2045. High blood sugar level causes immune dysfunction, increasing susceptibility to infections and causing medical complications. This study aims to isolate, characterize, and performing antidiabetic and antibacterial assays for flavonoid compounds derived from the root wood of the pudau plant (*A. kemando* Miq). The research process includes sample preparation, extraction by maceration method using methanol, and the separation and purification process of the compounds using vacuum liquid chromatography and gravity column chromatography. Identification of molecular structure and the purity of isolated compounds were determined by using spectroscopic methods (UV-vis and IR). The antidiabetic assay was carried out using Fuwa method with iodine reagent and the antibacterial assay was carried out using the disc diffusion method. The isolated compound obtained is a yellow solid with a melting point of 168.7-173.6°C. Based on the spectroscopic analysis result, the isolated compound was determined to be 10.9 mg of artocarpin. The result of the antidiabetic assay showed that the isolated compound had an inhibition percentage of 43.3% at 750 ppm concentration. All the antibacterial assays against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* with 0.3; 0.4; and 0.5 mg/disk concentrations showed inhibitory power in the moderate category.

Keywords: *A. kemando* Miq., flavonoid, artocarpin, antidiabetic, antibacterial

ABSTRAK

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES SERTA ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID KAYU AKAR TANAMAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)

Oleh

ANDI IRAWAN

Penyakit diabetes disebabkan oleh tingginya kadar gula darah dalam tubuh manusia, yang meningkatkan kekhawatiran di seluruh dunia. IDF memprediksi akan terjadi kenaikan yang signifikan setiap tahun hingga 700 juta jiwa penderita di tahun 2045. Tingginya kadar gula darah menyebabkan disfungsi kekebalan tubuh sehingga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi dan menyebabkan komplikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan melakukan uji antidiabetes serta antibakteri senyawa flavonoid yang berasal dari kayu akar tanaman pudau (*A. kemando* Miq.). Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi persiapan sampel, ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan metanol, serta proses pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom gravitasi. Identifikasi senyawa hasil isolasi ditentukan menggunakan metode spektroskopi (UV-vis dan IR). Uji antidiabetes dilakukan menggunakan metode Fuwa dengan pereaksi iodin sedangkan uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Senyawa hasil isolasi yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning dengan titik leleh 168,7-173,6°C. Dari hasil analisis spektroskopi menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah artokarpin, sebanyak 10,9 mg. Hasil uji antidiabetes menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki nilai penghambatan sebesar 43,3% pada konsentrasi 750 ppm. Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/disk semuanya menunjukkan daya penghambatan pada kategori sedang.

Kata kunci: *A. kemando*, flavonoid, artokarpin, antidiabetes, antibakteri

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS
ANTIDIABETES SERTA ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID
KAYU AKAR TANAMAN PUDAU (*Artocarpus kemando* Miq.)**

**Oleh
Andi Irawan**

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada
Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi

**: ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI
BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES SERTA
ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID
KAYU AKAR TANAMAN PUDAU
(*Artocarpus kemando* Miq.)**

Nama Mahasiswa

: **Andi Irawan**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1817011071

Jurusan

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
NIP 19540510 198803 2 001

Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.
NIP 19560905 199203 1 001

2. Ketua Jurusan Kimia

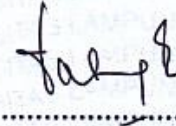
Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

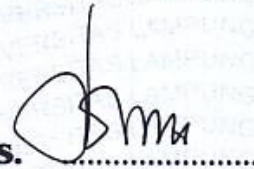
Ketua

: Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.



Sekretaris


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



Penguji

Bukan Pembimbing

: Prof. Dr. Noviany, M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono, M.T.

NIP 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 16 Agustus 2022

PERNYATAAN


Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul "Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes serta Antibakteri Senyawa Flavonoid Kayu Akar Tanaman Puda (*Artocarpus kemandu* Miq.)" adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai etika ilmunan yang berlaku dalam masyarakat atau yang disebut plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya; saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 11 Agustus 2022
Pembuat Pernyataan,




Andi Irawan
NPM. 1817011071

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Liwa, Lampung Barat pada tanggal 17 Juli 2000, Sebagai anak sulung dari tiga bersaudara hasil pernikahan Ayahanda Supriyanto dan Ibunda Sri Kartini.

Riwayat pendidikan penulis dimulai dari SD Negeri 2 Hanakau sampai tahun 2012. Pendidikan SMP Negeri 2 Liwa yang diselesaikan pada tahun 2015. Sedangkan pendidikan tingkat atas di SMA Negeri 1 Liwa. Penulis melanjutkan jenjang perguruan tinggi sebagai mahasiswa jurusan kimia di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2018-2022.

Perjalanan keorganisasian penulisan selama perkuliahan dimulai sebagai anggota biro usaha mandiri himpunan mahasiswa kimia pada tahun 2018-2019. Selanjutnya penulis diamanahkan sebagai ketua umum Unit Kegiatan Mahasiswa Taekwondo Universitas Lampung periode 2021-2022.

Pada tahun 2019 penulis meraih capaian prestasi sebagai juara 3 U-58 kg pada kejuaraan daerah taekwondo saburai cup. Pada tahun 2020 penulis berpartisipasi sebagai finalis pada lomba Business Plan Competition Soil Festival yang diselenggarakan oleh Himpunan Mahasiswa Ilmu Tanah Universitas Diponegoro. Penulis mendapat pendanaan pada Pekan Mahasiswa Wirausaha (PMW) Universitas Lampung pada tahun 2021.

PERSEMBAHAN

Karya tulisan sederhana ini kupersembahkan untuk

Ibunda Sri Kartini serta Ayahanda Supriyanto tercinta

Adik Dwi Apriliani dan Muhammad Alfatih tersayang

Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati yang telah membimbing dan
memberikan dukungan yang luar biasa

Kimia Angkatan 2018

Serta

Almamater Tercinta

MOTTO

“Hiduplah seakan kamu mati besok, belajarlh seakan kamu hidup selamanya”
(Mahatma Gandhi)

“Salah satu pengkerdilan terkejam dalam hidup adalah membiarkan pikiran yang cemerlang menjadi budak bagi tubuh yang malas, yang mendahulukan istirahat sebelum lelah”
(Buya Hamka)

SANWACANA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji dan syukur hanyalah milik Allah SWT, karena atas rahmat, hidayah, dan nikmat-Nya lah penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul:

“Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes serta Antibakteri Senyawa Flavonoid Kayu Akar Tanaman Puda (Artocarpus kemando Miq.)”

Shalawat teriring salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman.

Bersamaan dengan telah selesainya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ayah Supriyanto dan Ibu Sri Kartini tercinta, atas curahan kasih sayang, do'a, bimbingan serta semangat yang tak ternilai harganya.
2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku pembimbing utama atas kesediaannya memberikan ilmu, bimbingan, kritik, dan saran dalam proses perkuliahan maupun penulisan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, masukan dan kritikan dalam proses penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu Prof. Dr. Noviany, M.Si. selaku pembahas yang telah memberikan masukan, kritik, dan saran dalam proses penyelesaian skripsi ini.
5. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan masukan, kritik, saran dan ilmu selama perkuliahan.
6. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono selaku Dekan Fakultas MIPA, Universitas Lampung.
8. Seluruh Dosen Kimia FMIPA Universitas Lampung atas limpahan ilmu dan bimbingan yang diberikan.
9. Adik-adikku yang tercinta, Dwi Apriliani dan Muhammad Alfatih yang selalu menjadi motivasi dan penyemangat.

10. Rekan-rekan kimia angkatan 2018 Andika, Aldo, dan Ojan atas supportnya.
11. Rekan-rekan laboratorium: Kak Arif, Kak Hendri, Antin, Armi, Farah, Raifar, dan Sahrul.
12. Teman-teman UKM: Ikhsan, Deka, Rio, Nada, Didin, dan segenap pengurus UKM Taekwondo UNILA 2021-2022.
13. Laboran Kimia Organik yang dermawan dan baik hati Mbak Wit.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga tesis ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Bandar Lampung, Agustus 2022

Penulis

Andi Irawan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes dan Infeksi.....	5
2.2 <i>Artocarpus</i>	6
2.3 Tanaman pudau	7
2.4 Flavonoid	8
2.4.1 Klasifikasi Flavonoid	10
2.4.2 Biosintesis Flavonoid	11
2.4.3 Manfaat Flavonoid	11
2.4.4 Flavonoid <i>Artocarpus</i>	12
2.4.5 Flavonoid Pudau (<i>Artocarpus kemando</i> Miq.).....	14
2.4.6 Ekstraksi Flavonoid	17
2.5 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi	18
2.5.1 Kromatografi Cair Vakum.....	20
2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	21
2.6 Identifikasi Secara Spektroskopi.....	21
2.6.1 Spektroskopi <i>Ultraviolet-Visible</i> (UV-Vis).....	22
2.6.2 Spektroskopi Inframerah atau Infrared (IR).....	23
2.7 Antidiabetes	24
2.7.1 Akarbosa.....	25

2.8	Antibakteri.....	26
2.8.1.	<i>Salmonella typhi</i>	27
2.8.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	27
2.8.3.	Siprofloksasin	27
2.8.4.	Amoksisilin	28
III.	METODE PENELITIAN	29
3.1.	Waktu dan Tempat Penelitian	29
3.2.	Alat dan Bahan.....	29
3.2.1.	Alat	29
3.2.2.	Bahan	30
3.3.	Prosedur Penelitian	30
3.3.1.	Pengumpulan dan Persiapan Sampel.....	30
3.3.2.	Isolasi Menggunakan Metode Maserasi	31
3.4.	Kromatografi.....	31
3.5.	Analisis Kemurnian	33
3.6.	Analisis Struktural	34
3.7.	Uji Bioaktivitas	34
3.7.1	Uji Antidiabetes.....	35
3.7.2	Uji Antibakteri.....	36
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1.	Isolasi Senyawa Flavonoid	37
4.2.	Uji Titik Leleh.....	48
4.1.	Analisis Spektrofotometri	48
4.2.1.	Analisis Spektrofotometri UV-Vis.....	48
4.2.2.	Analisis Spektrofotometri Inframerah (IR)	52
4.2.	Uji Antidiabetes	55
4.3.	Uji Antibakteri	57
V.	SIMPULAN DAN SARAN	60
5.1.	Simpulan	60
5.2.	Saran	60
	DAFTAR PUSTAKA	61
	LAMPIRAN.....	66
	Lampiran 1. Diagram alir penelitian	66

Lampiran 2. Tabel data uji Antidiabetes	71
Lampiran 3. Perhitungan	71
Lampiran 4. Gambar hasil uji antibakteri	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tanaman Sumber Flavonoid (Kumar <i>and</i> Pandey, 2013).....	9
2. Aktivitas Biologis Flavonoid (Dias <i>et al.</i> , 2021)	12
3. Pita Absorpsi UV Flavonoid (Markham, 1988).....	22
4. Daerah Serapan Khas IR (Dachriyanus, 2017)	23
5. Perbandingan spektrum UV-Vis isolat UA1 dengan senyawa artokarpin	52
6. Perbandingan data IR Artokarpin dengan senyawa hasil isolasi	53
7. Persen inhibisi senyawa hasil isolasi terhadap enzim amilase.....	55
8. Diameter zona hambat senyawa UA1 terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	57
9. Diameter zona hambat senyawa UA1 terhadap bakteri <i>S. typhi</i>	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian tanaman <i>A. kemando</i> Miq. (a) ranting dan perbungaan putik (b) Daun (c) Bunga Putik (d) Staminate (Berg <i>et al.</i> , 2006).....	8
2. Struktur dasar flavonoid (Kumar <i>and</i> Pandey, 2013)	9
3. Klasifikasi flavonoid (Wang <i>et al.</i> , 2018).....	10
4. Biosintesis flavonoid (Wang <i>et al.</i> , 2018).....	11
5. Kelompok khas flavonoid reguler <i>Artocarpus</i>	13
6. Kelompok khas flavonoid termodifikasi <i>Artocarpus</i>	14
7. Kelompok khas santon turunan flavonoid <i>Artocarpus</i>	14
8. Struktur kimia flavonoid hasil isolasi dari kayu akar <i>A. kemando</i> Miq.....	15
9. Struktur kimia flavonoid hasil isolasi dari kayu cabang <i>A. kemando</i> Miq.....	15
10. Struktur kimia flavonoid hasil isolasi dari kulit batang <i>A. kemando</i> Miq.....	16
11. Faktor mempengaruhi migrasi analit (Wulandari, 2011).....	18
12. Mekanisme metode Fuwa (Elzagheid, 2018).....	24
13. Struktur akarbosa dan oligosakarida (Rosak <i>and</i> Mertes, 2012)	25
14. Mekanisme kerja akarbosa (Rosak <i>and</i> Mertes, 2012)	25
15. Struktur siprofloksasin (Sharma <i>et al.</i> , 2010)	28
16. Struktur amoksisilin (Gálico <i>et al.</i> , 2013).....	28
17. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol menggunakan eluen diklorometana/metanol 9:1	38
18. Alat Kromatografi Cair Vakum	38

19. Kromatogram KLT fraksi-fraksi hasil KCV menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	39
20. Kromatogram KLT fraksi utama 3 KKG tahap 1 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 3:7	40
21. Kromatogram hasil KLT fraksi 3a4 KKG tahap 2 menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	41
22. Kromatogram hasil KLT fraksi 3a3 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	41
23. Kromatogram hasil KLT fraksi utama 4 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	42
24. Kromatogram hasil KLT fraksi 4a1 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	43
25. Kromatogram hasil KLT fraksi 4a9 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	43
26. Kromatogram hasil KLT fraksi 4a10 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	44
27. Kromatogram hasil KLT fraksi utama 5 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	44
28. Kromatogram hasil KLT fraksi 5a2 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	45
29. Kromatogram hasil KLT fraksi 5a4 KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	46
30. Kromatogram hasil KLT kristal fraksi 3a311a, 4a11,4a101,5a2k dan 5a4k dibandingkan dengan standar artokarpin menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	46
31. Kromatogram hasil KLT fraksi UA KKG menggunakan eluen etil asetat/ <i>n</i> -heksana 4:6	47
32. Kromatogram hasil KLT kristal fraksi UA1 menggunakan sistem 3 eluen a) etil asetat/ <i>n</i> -heksana 70%, b) <i>n</i> -heksana/aseton 30%, c) etil asetat/diklorometana 80%	47
33. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam MeOH	49
34. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam a) MeOH dan b) dalam MeOH+NaOH	49

35. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam a) MeOH, b) MeOH+AlCl ₃ , dan c) MeOH+AlCl ₃ /HCl	50
36. Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam a) MeOH, b) MeOH+NaOAc, dan c) MeOH+NaOAc/H ₃ BO ₃	51
37. Spektrum IR isolat UA1	53
38. Spektrum IR artokarpin (Arriffin <i>et al.</i> , 2017).....	53
39. Struktur artokarpin	54
40. Grafik perbandingan konsentrasi (ppm) dan % inhibisi senyawa hasil isolasi dengan akar bosa.....	55
41. Interaksi flavonoid-enzim α -amilase (Hussain <i>et al.</i> , 2020).....	56

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

International Diabetes Federation (IDF) memperkirakan jumlah penderita diabetes di dunia pada tahun 2020 mencapai 463 juta orang pada rentang usia 20-79 tahun atau sekitar 9,3% dari total penduduk pada usia yang sama. IDF memprediksi kenaikan jumlah penderita diabetes pada tahun 2030 hingga 578 juta orang dan di tahun 2045 mencapai 700 juta orang. Indonesia menempati urutan ke 7 sebagai negara dengan penderita diabetes terbanyak dengan angka 10,7 juta orang (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

Pada tahun 2012, diabetes menempati urutan kedelapan sebagai penyebab kematian pada pria dan wanita serta menempati urutan kedua sebagai penyebab kematian pada wanita. Terdapat 1,5 juta kematian di seluruh dunia yang secara langsung disebabkan oleh diabetes. Total kematian akibat glukosa darah tinggi pada tahun 2012 diperkirakan mencapai 3,7 juta. Angka ini mencakup 1,5 juta kematian akibat diabetes dan tambahan 2,2 juta kematian akibat penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal kronis, dan tuberkulosis terkait dengan glukosa darah yang lebih tinggi dari optimalnya. Jumlah kematian terbesar akibat glukosa darah tinggi terjadi di negara berpenghasilan menengah ke atas (1,5 juta) dan jumlah terendah di negara berpenghasilan rendah (0,3 juta) (Chan, 2016).

Pada umumnya penyakit infeksi lebih sering dan lebih serius pada penderita diabetes yang berpotensi meningkatkan *morbimortality* penderitanya. Frekuensi infeksi yang lebih besar pada pasien diabetes disebabkan oleh lingkungan

hiperglikemik yang mendukung disfungsi kekebalan (kerusakan fungsi neutrofil, depresi sistem antioksidan, dan kekebalan humoral), mikro dan makroangiopati, neuropati, penurunan aktivitas antibakteri urin, *gastrointestinal* dan *urinary dysmotility*, serta lebih banyak intervensi medis pada pasien ini. Infeksi mempengaruhi semua organ dan sistem. Beberapa dari masalah ini terlihat sebagian besar pada penderita diabetes, seperti infeksi kaki, *malignant external otitis*, *mucormycosis rinoserebral*, dan *gangrenous cholecystitis*. Selain peningkatan morbiditas, proses infeksi mungkin merupakan manifestasi pertama diabetes atau faktor pencetus komplikasi yang melekat pada penyakit, seperti *diabetic ketoacidosis* dan hipoglikemia (Casquero *et al.*, 2012).

Pengobatan Diabetes mellitus tanpa efek samping masih menjadi pertanyaan terbesar bagi para praktisi medis. Menurut dunia etanobotani, 800 tanaman obat digunakan untuk pencegahan diabetes mellitus dan yang terbukti secara klinis hanya 450 tanaman obat yang memiliki sifat antidiabetes dengan 109 tanaman obat memiliki cara kerja yang lengkap. Pada zaman dahulu para dokter menggunakan tanaman obat tradisional dengan kandungan aktif dan khasiatnya untuk pengobatan berbagai penyakit seperti penyakit jantung, kanker dan diabetes. Ada sejarah panjang mengenai tanaman tradisional sebagai pengendali diabetes di India dan Cina (Kasole *et al.*, 2019). Obat herbal telah dipercaya khasiatnya di seluruh dunia. Negara-negara latin banyak memanfaatkan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer. WHO menyarankan penggunaan obat tradisional untuk pemeliharaan kesehatan pada penderita penyakit kronis dan degeneratif karena dinilai lebih aman dan efek samping yang relatif rendah (Sumayyah dan Salsabila, 2017).

Di antara berbagai produk alam, flavonoid menjadi salah satu yang sangat menarik untuk dipelajari karena memiliki banyak manfaat khususnya di bidang kesehatan. Flavonoid termasuk ke dalam kelas penting dari produk alam, umumnya mereka termasuk ke dalam kelas metabolit sekunder tanaman dengan struktur polifenol. Di alam, flavonoid diekstraksi dari tumbuhan dan ditemukan pada beberapa bagian tumbuhan (Panche *et al.*, 2016). Flavonoid diketahui memiliki kemampuan mengobati kanker, sebagai antioksidan, antibakteri,

mengobati radang, disfungsi kardiovaskular (Arifin dan Ibrahim, 2018), antivirus, antiinflamasi, kardioprotektif, antidiabetes, antikanker, antipenuaan (Wang *et al.*, 2018), antijamur, dan antiinflamasi (Munhoz *et al.*, 2014).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber bahan kimia yang memiliki kemampuan bioaktif adalah genus *Artocarpus* dari famili Moraceae. Di Indonesia, *Artocarpus* dikenal sebagai nangka-nangkaan yang seluruh bagian tanamannya mempunyai banyak kegunaan. Berdasarkan studi literatur, diketahui bahwa genus *Artocarpus* banyak menghasilkan senyawa golongan terpenoid, flavonoid, dan stilbenoid dengan keunikan strukturnya (Hakim, 2011). *Artocarpus* menghasilkan efek fisiologis yang luas sebagai antibakteri, antijamur, antiplatelet, antivirus, antidiabetes, antiinflamasi, dan lainnya (Jagtap and Bapat, 2010). Penelitian-penelitian mengenai tanaman dari kelompok *Artocarpus* telah banyak dilakukan, salah satunya terhadap kemampuan antidiabetes dari tanaman *Artocarpus altilis* (Lotulung *et al.*, 2014) dan antibakteri dari tanaman *A. kemando* (Suhartati *et al.*, 2021).

Menyadari potensi yang sangat besar dari anggota genus *Artocarpus*, penulis pada penelitian ini akan mencoba melakukan pengujian antidiabetes dan antibakteri dari tanaman *A. kemando* secara *in vitro*. Pemilihan *A. kemando* berdasarkan pada studi literatur yang memperlihatkan bahwa tanaman ini memiliki potensi kemampuan bioaktivitasnya namun masih sedikit dilakukan penelitian terhadap tanaman ini, khususnya senyawa flavonoid murninya sebagai antidiabetes. Pada penelitian ini, uji antidiabetes menggunakan metode Fuwa berdasarkan penelitian Suganya *et al.*, (2017). Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar berdasarkan penelitian Suhartati *et al.*, (2021) berdasarkan diameter zona hambat.

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan tersebut di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mendapatkan senyawa flavonoid dari kayu akar tanaman pudau (*A. kemandu* Miq.) dan mengetahui karakteristik senyawa flavonoid dari kayu akar tanaman pudau (*A. kemandu* Miq.) berdasarkan spektrometri Uv-Vis dan IR.
2. Mengetahui bioaktivitas antidiabetes dan antibakteri senyawa flavonoid hasil isolasi.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai senyawa flavonoid yang terkandung dalam kayu akar tanaman pudau (*A. kemandu* Miq.) dan bioaktivitasnya sebagai antidiabetes dan antibakteri. Informasi tersebut diharapkan mampu memperkaya pengetahuan tentang senyawa flavonoid dari tanaman *Artocarpus*, khususnya tanaman pudau serta aktivitas biologisnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes dan Infeksi

Diabetes adalah penyakit kronis serius yang terjadi ketika pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur gula darah, dengan cara mengubah glukosa menjadi glikogen), atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang dihasilkan secara efektif. Diabetes merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting, salah satu dari empat penyakit tidak menular prioritas (NCDs) yang ditargetkan untuk ditindak oleh para pemimpin dunia. Jumlah kasus maupun prevalensi diabetes terus meningkat selama beberapa dekade terakhir (Chan, 2016). Diabetes dapat dibedakan menjadi beberapa jenis sebagai berikut:

a. Diabetes tipe 1

Diabetes yang disebabkan oleh adanya kenaikan kadar gula darah karena terjadi kerusakan sel beta pankreas sehingga produksi insulin tidak ada sama sekali. Penderita diabetes tipe ini membutuhkan asupan insulin dari luar tubuhnya.

b. Diabetes tipe 2

Diabetes yang disebabkan kenaikan gula darah karena penurunan sekresi insulin yang rendah oleh kelenjar pankreas

c. Diabetes tipe gestasional

Diabetes tipe ini ditandai dengan kenaikan gula darah pada selama masa kehamilan. Gangguan ini biasanya terjadi pada minggu ke-24 dan kadar

gula darah akan kembali normal setelah persalinan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

Semua tipe diabetes dapat menyebabkan komplikasi di banyak bagian tubuh dan dapat meningkatkan keseluruhan risiko kematian dini. Komplikasi yang mungkin terjadi pada penderita diabetes meliputi serangan jantung, stroke, gagal ginjal, amputasi kaki, kehilangan penglihatan dan kerusakan saraf (Chan, 2016).

Penderita diabetes mungkin memiliki risiko infeksi berikut: *asymptomatic bacteriuria*, infeksi ekstremitas bawah dan sebagainya. Beberapa jenis infeksi saluran kemih lebih sering terjadi pada pasien diabetes. Termasuk dalam meningkatkan keparahan klinis *asymptomatic bacteriuria*, sistitis, *sisititis emfisematous*, *pyeloneprhitis* dan lainnya (Sentochnik and Eliopoulos, 2011).

Penyakit infeksi lebih banyak terjadi pada individu dengan diabetes. Mekanisme patogen utama adalah: lingkungan hiperglikemik meningkatkan virulensi beberapa patogen; produksi interleukin yang lebih rendah sebagai respons terhadap infeksi; penurunan aktivitas kemotaksis dan fagositosis, imobilisasi leukosit polimorfonuklear; glikosuria dan dismotilitas gastrointestinal. Beberapa infeksi hampir selalu hanya menyerang penderita diabetes, seperti otitis eksterna maligna, mukormikosis rinoserebral, dan kolesistitis gangren. Selain berpotensi lebih serius, penyakit infeksi pada diabetes dapat mengakibatkan komplikasi metabolik seperti hipoglikemia, ketoasidosis, dan koma (Casquiereo *et al.*, 2012). Infeksi dikaitkan dengan gangguan toleransi karbohidrat dan berkontribusi sekitar 25% dari kematian yang terkait dengan ketoasidosis. Infeksi unik ini terjadi hampir secara eksklusif pada individu diabetes. biasanya, pasien diabetes usia lanjut (Wheat, 1980).

2.2 *Artocarpus*

Artocarpus merupakan genus terbesar ketiga pada famili Moraceae dengan jumlah anggota sekitar 70 spesies. *Artocarpus* terdiri dari tumbuhan bernilai ekonomi yang tinggi yang merupakan tumbuhan asli dari Asia Tenggara (Zerega *et al.*,

2005). Sebagai kelompok tanaman pohon hutan, spesies *Artocarpus* diketahui menempati berbagai relung ekologi di berbagai habitat dan bersifat beragam dan banyak ditemukan di berbagai ekosistem hutan. Keanekaragaman, status konservasi dan tingkat pengetahuan *Artocarpus* (Moraceae) tidak seragam di seluruh dunia (Jagtap and Bapat, 2010).

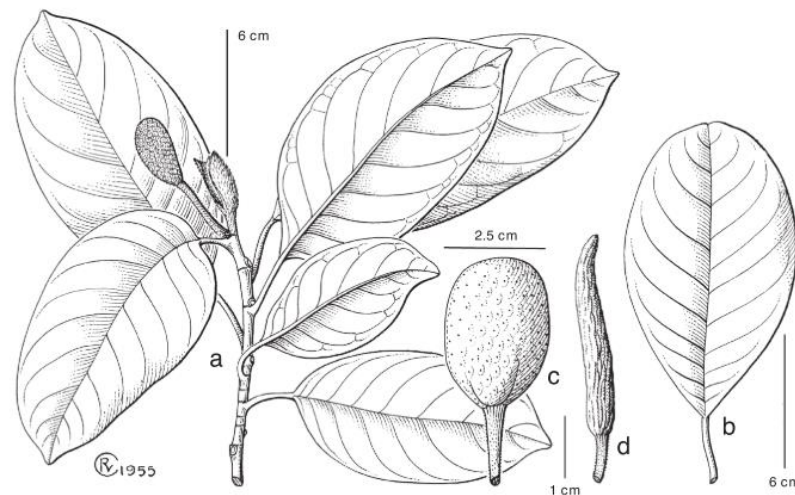
Artocarpus tersebar luas di daerah tropika dan subtropika. Indonesia dilaporkan memiliki sekitar 40 spesies dari genus *Artocarpus*. Lebih dari 60 senyawa fenolik yang telah diteliti dan dikarakterisasi, termasuk 27 senyawa baru dari 13 spesies dari genus *Artocarpus* yang ada di Indonesia yang meliputi: *Artocarpus champeden*, *A. lanceifolius*, *A. teysmanii*, *A. scortechinii*, *A. gomezianus*, *A. reticulatus* dan *A. glaucus* (Hakim *et al.*, 2006).

Sejak dahulu tumbuhan *Artocarpus* telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia. Di beberapa daerah, masyarakat memanfaatkan daun dan kulit pohon sukun (*A. altilis*) sebagai ramuan bahan obat. Daunnya selain efektif mengobati penyakit liver, juga bermanfaat mengobati berbagai penyakit kronis lainnya, diantaranya hepatitis, pembesaran limfa, jantung dan ginjal. Di Ambon, masyarakat menggunakan kulit batangnya untuk obat mencairkan darah bagi wanita yang baru melahirkan (Daenlangi *et al.*, 2016). Studi fitokimia secara ekstensif terhadap spesies *Artocarpus* menunjukkan bahwa tanaman dari genus ini kaya akan metabolit sekunder seperti triterpena, stilbena, dan arilbenzofuran (Ee *et al.*, 2011). Studi farmakologi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak *Artocarpus* baik secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan adanya aktivitas antituberkulosis, antimalaria, antikanker, antioksidan, antiinflamasi dan antibakteri (Hakim, 2010).

2.3 Tanaman pudau

A. kemando Miq. merupakan tumbuhan liar, batangnya mempunyai bulu berwarna coklat, getahnya berwarna putih, memiliki daun berukuran kecil sekitar 3-4 x 1,5-2 cm. Pertulangan daun menyirip dan buahnya berwarna kuning dengan bentuk

lonjong. Tumbuhan ini tersebar pada beberapa pulau di Indonesia, seperti Sumatera, Jawa, dan Kalimantan. Habitat tumbuhan *A. kemando* Miq. yaitu hutan sekunder bersuhu dingin dengan ketinggian 50-80 mdpl, kemiringan tanah 3-9°, pH tanah 5,6-6,2 dan ordo tanahultisol/inseptisol dengan kandungan liat relatif dominan (Lestari, 2009).



Gambar 1. Bagian Tanaman *A. kemando* Miq. (a) Ranting dan Perbungaan putik (b) Daun (c) Bunga Putik (d) *Staminate* (Berg *et al.*, 2006)

Penelitian mengenai fitokimia sebelumnya pada *A. kemando* telah menghasilkan isolasi berbagai jenis flavonoid terprenilasi, yang menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel KB, sehingga tanaman ini merupakan sumber senyawa antikanker yang menjanjikan (Seo *et al.*, 2003). Ee *et al.*, (2011) telah berhasil mengisolasi senyawa artomandin, turunan artoindonesianin, artonol B, artokamin dan β -sitosterol dari tanaman *A. kemando*.

2.4 Flavonoid

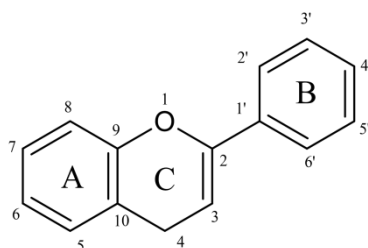
Flavonoid termasuk dalam golongan metabolit sekunder yang umumnya terdapat pada bagian tanaman (daun, bunga, dan batang). Senyawa ini tidak hanya terdapat pada tanaman sebagai agen konstitutif tetapi juga terakumulasi dalam jaringan tanaman sebagai respon terhadap serangan mikroba (sistem pertahanan).

Flavonoid telah diisolasi dari banyak tanaman selama beberapa tahun terakhir dan telah terbukti memiliki aktivitas farmakologis yang signifikan, seperti efek antiinflamasi, antioksidan, dan hepatoprotektif (Wang *et al.*, 2016). Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Hingga saat ini, telah dilaporkan lebih dari 9000 flavonoid. Jumlah kebutuhan flavonoid sangat bervariasi antara 20 mg dan 500 mg. Flavonoid termasuk ke dalam famili polifenol yang larut dalam air (Arifin dan Ibrahim, 2018). Sumber flavonoid dari beberapa tanaman ditunjukkan oleh Tabel 1.

Tabel 1. Tanaman Sumber Flavonoid (Kumar *and* Pandey, 2013)

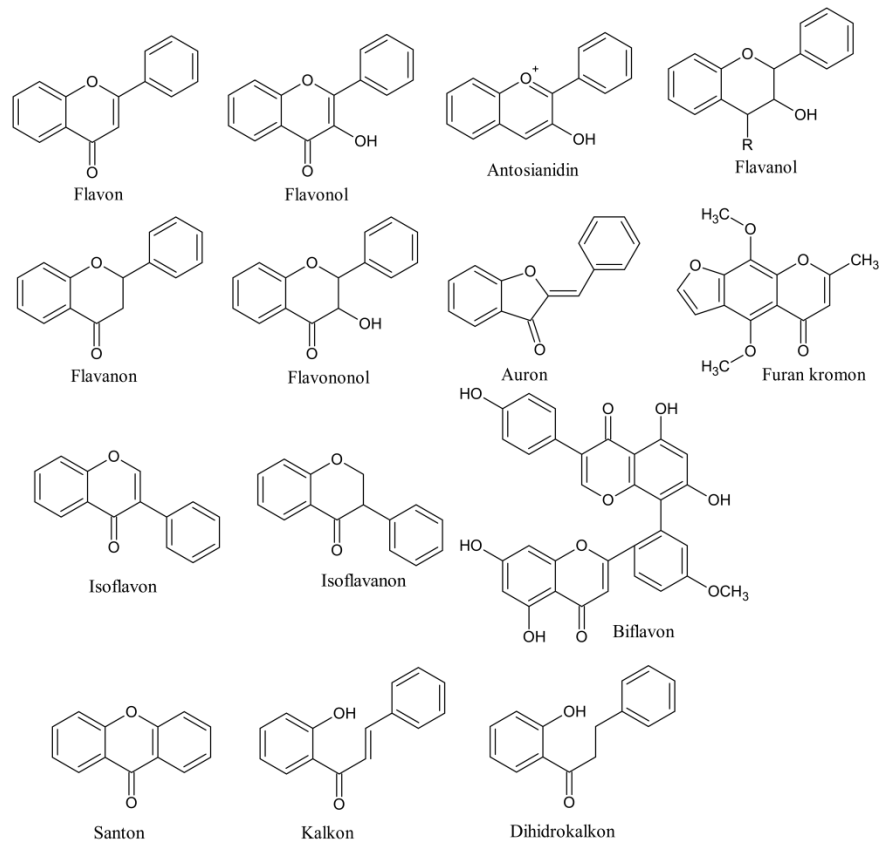
Tanaman	Famili	Flavonoid
<i>Aloe vera</i>	Asphodelaceae	Luteolin
<i>Acalypha indica</i>	Euphorbiaceae	Kaemferol glukosida
<i>Azadirachta</i>	Meliaceae	Kuersetin
<i>Andrographis paniculata</i>	Acanthaceae	5-hidroksi-7,8-dimetoksiflavon
<i>Bacopa moneira</i>	Schropulariceae	Luteolin
<i>Butea monospermea</i>	Fabaceae	Genistein
<i>Bauhinia monandra</i>	Fabaceae	Kuersetin-3-O-rutinosida
<i>Brysonima crassa</i>	Malphigaceae	(+)-Katekin
<i>Calendula officinalis</i>	Compositae	Isorhamnetin
<i>Cannabis sativa</i>	Compositae	Kuersetin
<i>Citrus medica</i>	Rutaceae	Hesperidin
<i>Cleudendrum phlomidis</i>	Verbenaceae	Pektolinarigenin
<i>Clitoria ternatea</i>	Fabaceae	Kaemferol-3-neohesperidosida
<i>Glyccheriza glabra</i>	Leguminosae	Likuiritin
<i>Mimosa pudica</i>	Mimosoideae	Isokuersetin
<i>Limonphila indica</i>	Schropulariceae	3,4-methlenedioksiflavon
<i>Mentha longifolia</i>	Lamiaceae	Luteolin-7-O-glukosida
<i>Momordica charantina</i>	Curcurbitaceae	Luteolin
<i>Oroxylum indicum</i>	Bignoniaceae	Krisin
<i>Pongamia pinnata</i>	Fabaceae	Pongflavonol
<i>Tephrosia purpurea</i>	Fabaceae	Purpurin

Struktur dasar flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Struktur Dasar Flavonoid (Kumar *and* Pandey, 2013)

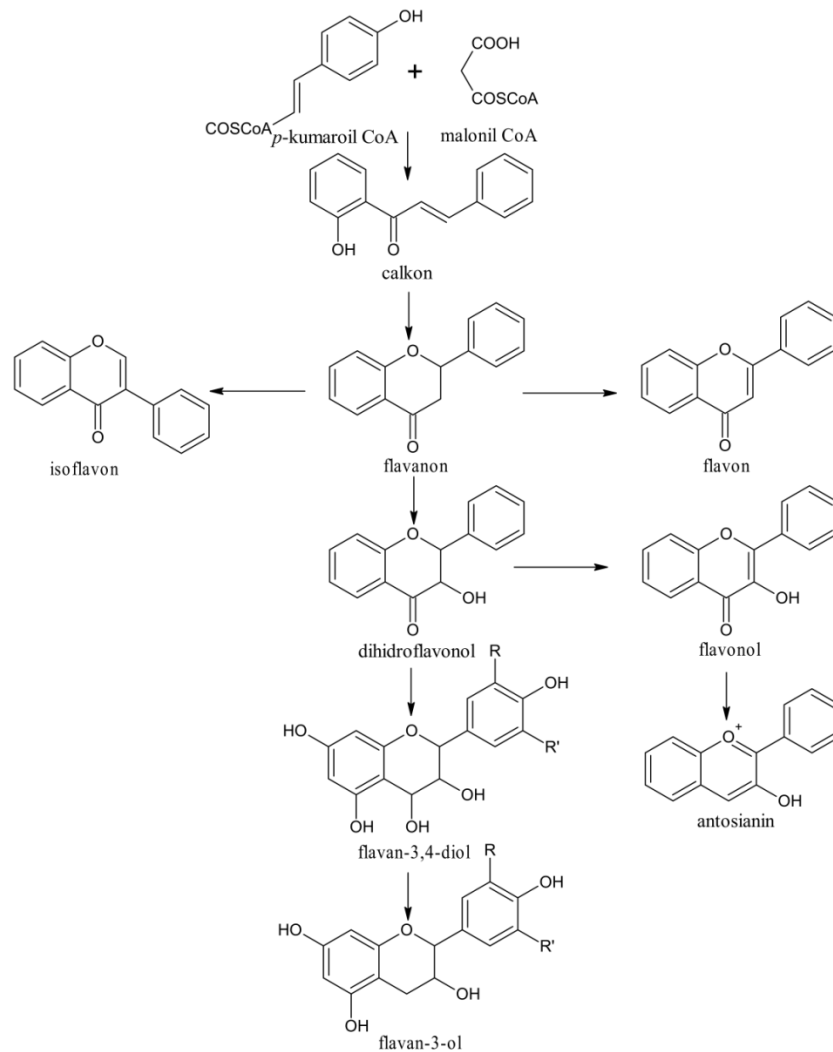
2.4.1 Klasifikasi Flavonoid



Gambar 3. Klasifikasi Flavonoid (Wang *et al.*, 2018)

Secara kimia, flavonoid didasarkan pada kerangka lima belas karbon yang terdiri dari dua cincin benzena (A dan B seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3) yang dihubungkan melalui cincin piran heterosiklik (C). Mereka dapat dibagi menjadi berbagai kelas seperti flavon (misalnya, flavon, apigenin, dan luteolin), flavonol (misalnya, kuersetin, kaempferol, mirisetin, dan fisetin), flavanon (misalnya, hesperetin, dan naringenin), dan lainnya. Antarkelas flavonoid dibedakan oleh tingkat oksidasi dan pola substitusi pada cincin C, sedangkan senyawa individu dalam kelas dibedakan berdasarkan pola substitusi cincin A dan B (Gambar 3) (Middleton, 1998).

2.4.2 Biosintesis Flavonoid



Gambar 4. Biosintesis Flavonoid (Wang *et al.*, 2018)

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa dengan berat molekul rendah, berbasis inti 2-fenil-kromon dengan jalur biosintesis berasal dari turunan asam asetat atau fenilalanin dengan jalur sikimat (Arifin dan Ibrahim, 2018).

2.4.3 Manfaat Flavonoid

Flavonoid memiliki berbagai efek bioaktivitas termasuk antibakteri, hepatoprotektif (Kumar *and* Pandey, 2013), antipenuaan, antioksidan (Munhoz *et*

al., 2014), antivirus, antiinflamasi (Wang *et al.*, 2016), kardioprotektif, antidiabetes dan antikanker (Marzouk, 2016). Flavonoid juga memiliki manfaat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Setiani *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki manfaat lain sebagai antimikroba dan antikanker (Dewi *et al.*, 2018). Aktivitas biologis dari beberapa kelas flavonoid ditunjukkan oleh Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Aktivitas Biologis Flavonoid (Dias *et al.*, 2021)

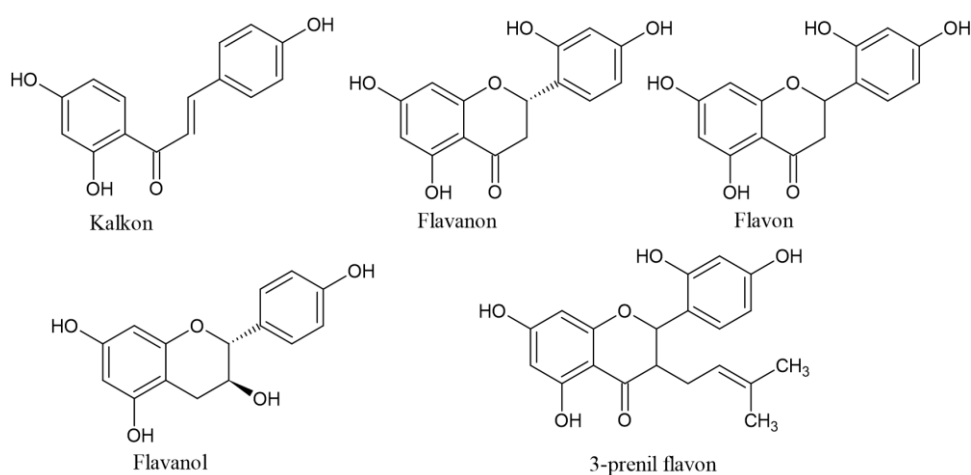
Kelas	Flavonoid	Aktivitas Biologis
Flavonol	Kuersetin, Mirisetin, kaemferol, isorhamnetin	Anti-inflamasi, antikanker, Kardioprotektif, Antijamur, Antibakteri, Antivirus
Flavon	Apigenin, Luteolin, Krisin, Baicalain, Acacetin	Anti-inflamasi, antikanker, kardioprotektif, antibakteri, antijamur, antivirus
Flavonol	Katekin, Epigallokatekin, Epigallokatekin galat	Antikanker, antibakteri, antivirus
Flavonon	Hesperetin, Hesperidin, Naringenin	Anti-inflamasi, antikanker, Kardioprotektif, antijamur
Isoflavon	Genistein, Daidzein, Glabridin	Antikanker, antibakteri, antijamur, antivirus dan kardioprotektif
Antosianin	Sianidin	Anti-inflamasi dan antikanker

2.4.4 Flavonoid *Artocarpus*

Umumnya senyawa fenolik yang ditemukan pada *Artocarpus* merupakan senyawa fenolik yang terisoprenilasi. Hasil kajian mengenai kandungan kimia tumbuhan *Artocarpus* diketahui bahwa terdapat berbagai jenis senyawa fenolik dengan berbagai macam keanekaragaman molekul (*chemodiversity*). Senyawa fenolik yang diperoleh dari tanaman *Artocarpus* meliputi jenis kalkon, flavanoid, flavonoid, santon, stilben, dan Diels-Alder *adduct* (Erwin, 2010). Senyawa flavonoid dari *Artocarpus* memiliki ciri teroksigenasi pada cincin B dan memiliki substituent isoprenil pada C-3 dan atau pada posisi lain. Ciri khas lainnya adalah

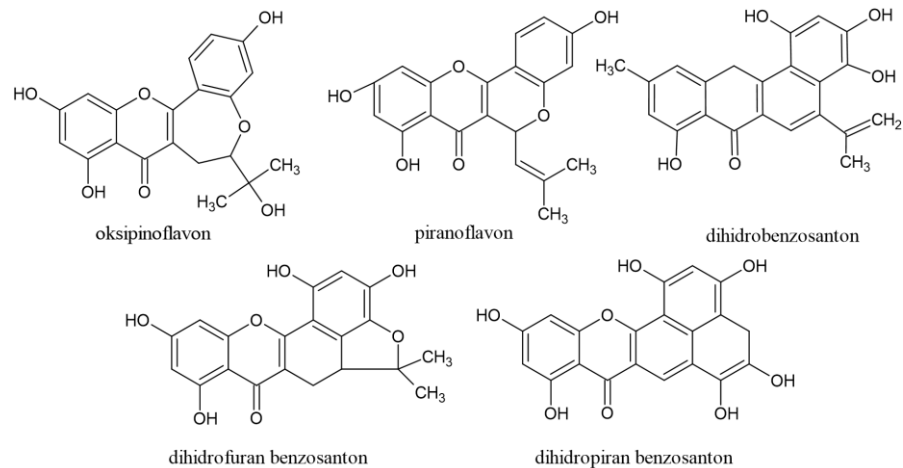
pola oksigenasi cincin B pada posisi C-2' dan C-4' atau C-2', C-4', dan C-5'. Selain itu prenilasi juga dapat terjadi pada posisi C-6, C-8, dan C3. Pola struktur tersebut sangat jarang ditemui selain pada tumbuhan genus *Artocarpus*, hal ini membuat senyawa flavonoid dari tanaman *Artocarpus* memiliki efek fisiologis yang luas seperti artonin E, artobilosanton, dan heterofilin (Hakim, 2010).

Artocarpus mengandung senyawa fenolik, termasuk flavonoid terisoprenilasi, stilbenoid dan 2-aril-benzofuran. Konstituen flavonoid dapat diklasifikasikan lebih lanjut menurut kerangkanya, yaitu kalkon, flavanon, flavan-3-ol, dan 3-isoprenilflavon. Kelas lain termasuk flavonoid termodifikasi yang dalam istilah formal dapat dianggap sebagai turunan siklik dari 3-prenilflavon yang memiliki pola cincin B 2', 4'-dioksigenasi atau 2', 4', 5'-trioksigenasi, yaitu oksipinoflavon, piranoflavon, dihidrobenzosanton, furano dihidrobenzosanton, dan piranohidrobenzosanton. Selanjutnya, ada kelas senyawa tanpa kerangka flavonoid yang dapat dianggap sebagai flavonoid yang disusun ulang, yaitu kuinonobenzosanton, siklopentenosanton, santonolida, dihidrosanton, dan siklopenteno kromon (Hakim *et al.*, 2006). Berikut merupakan struktur kimia dari berbagai kelas flavonoid reguler yang terdapat pada tanaman *Artocarpus* (Gambar 5).



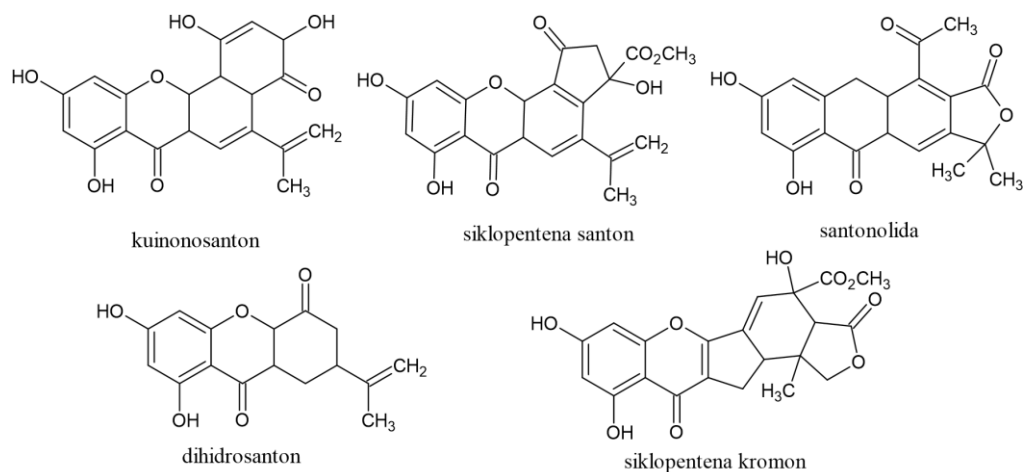
Gambar 5. Kelompok Khas Flavonoid Reguler *Artocarpus* (Hakim *et al.*, 2006)

Berikut merupakan struktur kimia dari senyawa flavonoid termodifikasi yang terdapat pada tanaman *Artocarpus* (Gambar 6).



Gambar 6. Kelompok Khas Flavonoid Termodifikasi *Artocarpus* (Hakim *et al.*, 2006)

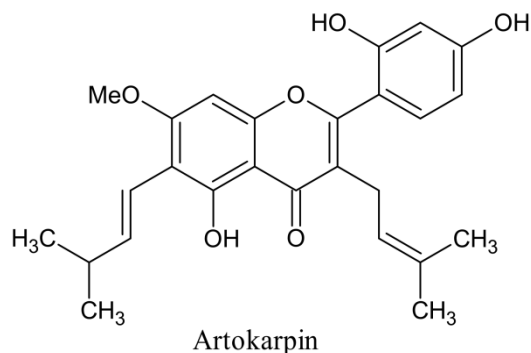
Berikut merupakan struktur kimia dari senyawa flavonoid santon yang terdapat pada tanaman *Artocarpus* (Gambar 7).



Gambar 7. Kelompok Khas Santon Turunan Flavonoid *Artocarpus* (Hakim *et al.*, 2006)

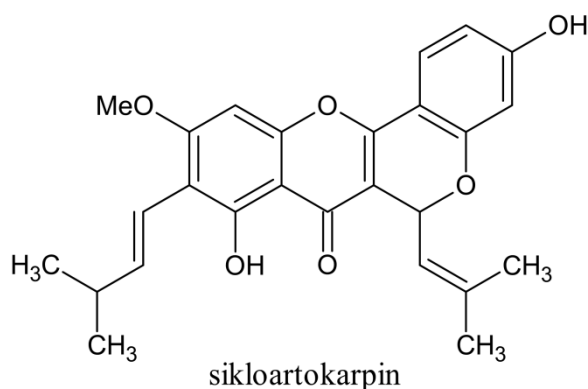
2.4.5 Flavonoid Puda (*Artocarpus kemando* Miq.)

Isolasi senyawa flavonoid dari tanaman puda (*A. kemando* Miq.) telah banyak dilakukan dan diperoleh beberapa senyawa flavonoid. Isolasi flavonoid dari bagian kayu akar tanaman puda yang dilakukan oleh Sa'Diah *et al.* (2020) menghasilkan senyawa artokarpin (Gambar 8).



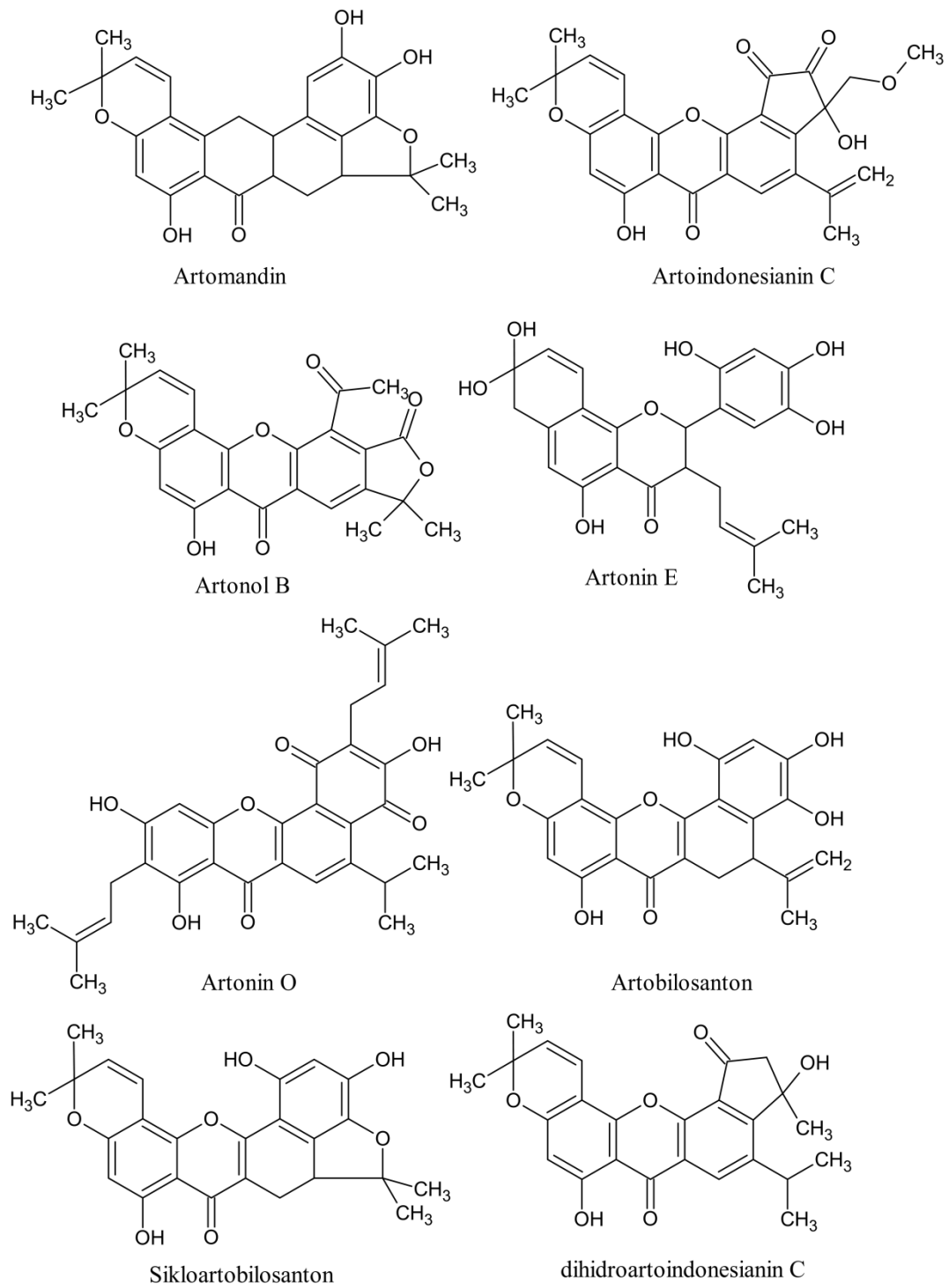
Gambar 8. Struktur kimia flavonoid hasil isolasi dari kayu akar *A. kemando* Miq.

Selain pada bagian kayu akar, isolasi flavonoid pada bagian kayu cabang tanaman pudau juga telah dilakukan oleh Suhartati *et al.* (2021) menghasilkan senyawa sikloartokarpin (Gambar 9).



Gambar 9. Struktur kimia flavonoid hasil isolasi dari kayu cabang *A. kemando* Miq.

Pada bagian kulit batang tanaman pudau telah berhasil diisolasi senyawa artomandin, artoindonesianin C, artonol B, artochamin A, β -sitosterol (Ee *et al.*, 2011), sikloartobilosanton, dihidroartoindonesianin C (Hashim *et al.*, 2011), artobilosanton, artonin E, dan artonin O (Seo *et al.*, 2003). Gambar 10 menunjukkan struktur kimia senyawa flavonoid yang telah berhasil diisolasi dari tanaman pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) pada bagian kulit batang.



Gambar 10. Struktur kimia flavonoid hasil isolasi dari kulit batang *A. kemando* Miq.

2.4.6 Ekstraksi Flavonoid

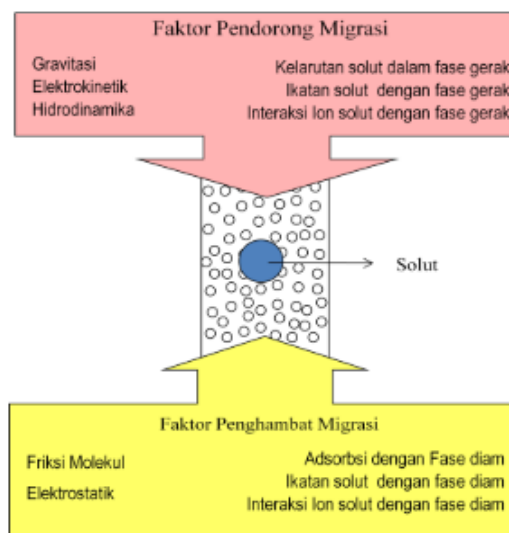
Ekstraksi adalah suatu proses penarikan zat pokok dari suatu bahan (sampel) menggunakan pelarut yang sesuai dengan sifat zat pokok yang akan diekstraksi. Proses ekstraksi dihentikan apabila telah tercapai kesetimbangan konsentrasi antara senyawa dalam pelarut dan bahan (sampel). Pada proses ekstraksi bahan (sampel) yang akan diekstrak akan kontak secara langsung dengan pelarut yang digunakan. Selama ekstraksi akan terjadi proses yang berlangsung secara dinamik yaitu: pelarut akan merusak dinding sel dan jaringan, pelarut masuk ke dalam sel, pelarut akan melarutkan senyawa-senyawa metabolit dan akhirnya pelarut bersama senyawa metabolit yang terlarut dikeluarkan atau dipisahkan dari bahan atau biomassa penghasilnya. Oleh karena itu penggilingan atau pengecilan ukuran dan juga peningkatan temperatur sangat diperlukan untuk mempercepat fase-fase tersebut. Selanjutnya pelarut harus dipisahkan dari senyawa metabolit yang terlarut di dalamnya melalui proses evaporasi untuk menghasilkan ekstrak kasar, baik dalam bentuk cairan kental atau padatan (solid) (Agung, 2017).

Beberapa metode yang dapat digunakan dalam ekstraksi senyawa bahan alam antara lain: maserasi; *ultrasound-assisted solvent extraction*; perkolasi; *soxhlet*; *reflux*; dan destilasi uap. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Setelah ekstraksi dilakukan ekstrak dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan (Mukhtarini, 2011). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi.

Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi senyawa aktif dari bahan alam dengan perendaman bahan (sampel) menggunakan pelarut yang sesuai dengan sifat senyawa aktif yang akan diekstraksi dengan pemanasan rendah atau tanpa proses pemanasan (Chairunnisa *et al.*, 2019). Prosedur ekstraksi menggunakan metode maserasi dimulai dengan merendam bahan baku atau sampel yang telah dipersiapkan (dikeringkan dan digiling) ke dalam pelarut yang sesuai pada suatu wadah (labu bundar). Selanjutnya ditempatkan pada suhu ruang dan ditunggu beberapa waktu. Pengadukan secara terus menerus dapat dilakukan guna mempercepat proses ekstraksi. Ekstraksi dihentikan saat telah tercapai titik

kesetimbangan antara konsentrasi senyawa metabolit pada larutan ekstrak dan senyawa metabolit pada bahan. Setelah proses ekstraksi selesai larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring untuk dipisahkan dari bahan asalnya. Untuk meningkatkan rendemen, prosedur diatas dapat diulang sebanyak 2 atau 3 kali menggunakan ampas hasil ekstraksi pertama (Agung, 2017).

2.5 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi



Gambar 11. Faktor Mempengaruhi Migrasi Analit (Wulandari, 2011)

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) yang menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi dari masing-masing komponen. Faktor-faktor yang menyebabkan perbedaan migrasi komponen-komponen dalam sampel meliputi faktor pendorong migrasi analit dan faktor penghambat migrasi analit seperti ditunjukkan pada Gambar 8. Metode pemisahan pada kromatografi sangat tergantung dari jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan menentukan interaksi yang terjadi antara analit dengan fase diam dan fase gerak (Wulandari, 2011). Metode pemisahan pada kromatografi dapat dibedakan menjadi sebagai berikut:

a) Pemisahan berdasarkan polaritas

Metode pemisahan berdasarkan polaritas, senyawa-senyawa terpisah karena perbedaan polaritas. Afinitas analit terhadap fase diam dan fase gerak tergantung kedekatan polaritas analit terhadap fase diam dan fase gerak (*like dissolve like*). Analit akan cenderung larut dalam fase dengan polaritas sama. Analit akan berpartisipasi diantara dua fase yaitu fase padat-cair dan fase cair-cair. Ketika analit berpartisipasi antara fase padat dan cair faktor utama pemisahan adalah adsorpsi. Sedangkan bila analit berpartisipasi antara fase cair dan fase cair, faktor utama pemisahan adalah kelarutan. Prinsip pemisahan dimana analit terpisah karena afinitas terhadap fase padat dan fase cair biasa disebut dengan adsorpsi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi adsorpsi. Sedangkan prinsip pemisahan dimana analit terpisah karena afinitas terhadap fase cair dan fase cair disebut dengan partisi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi cair.

b) Pemisahan berdasarkan muatan ion

Pemisahan berdasarkan muatan ion dipengaruhi oleh jumlah ionisasi senyawa, pH lingkungan dan keberadaan ion lain. Pemisahan yang disebabkan oleh kompetisi senyawa-senyawa dalam sampel dengan sisi resin yang bermuatan sehingga terjadi penggabungan ion-ion dengan muatan yang berlawanan disebut kromatografi penukar ion. Pemisahan yang terjadi karena perbedaan arah dan kecepatan pergerakan senyawa-senyawa dalam sampel karena perbedaan jenis dan intensitas muatan ion dalam medan listrik disebut elektroforesis.

c) Pemisahan berdasarkan ukuran molekul

Ukuran molekul suatu senyawa mempengaruhi difusi senyawa-senyawa melewati pori-pori fase diam. Pemisahan terjadi karena perbedaan difusi senyawa-senyawa melewati pori-pori fase diam dengan ukuran pori-pori yang bervariasi. Senyawa dengan ukuran molekul besar hanya berdifusi ke dalam pori-pori fase diam yang berukuran besar, sedangkan senyawa dengan ukuran molekul kecil akan berdifusi ke dalam semua pori-pori fase diam, sehingga terjadi perbedaan kecepatan pergerakan molekul melewati fase diam. Senyawa dengan ukuran molekul besar memiliki kecepatan yang lebih besar dibanding

senyawa dengan ukuran molekul kecil. Metode pemisahan ini biasa disebut dengan kromatografi permeasi gel.

d) Pemisahan berdasarkan bentukan spesifik

Pemisahan senyawa berdasarkan bentukan yang spesifik melibatkan ikatan kompleks yang spesifik antara senyawa sampel dengan fase diam. Ikatan ini sangat selektif seperti ikatan antara antigen dan antibodi atau ikatan antara enzim dengan substrat. Pemisahan ini biasa disebut dengan kromatografi afinitas (Wulandari, 2011).

2.5.1 Kromatografi Cair Vakum

Di antara semua teknik kromatografi, Kromatografi Cair Vakum (KCV) paling efisien baik dalam pemisahan kasar maupun halus dari produk sintetis dan alami dalam campuran kompleks. Dalam beberapa dekade terakhir KCV telah semakin diterapkan di bidang produk alami maupun kimia sintetik karena kesederhanaan operasinya. KCV dianggap sebagai preparasi untuk kromatografi lapis tipis atau dikenal dengan *Preparatif Thin Layer Chromatography* (PTLC). Berbagai aplikasi KCV untuk pemisahan dan isolasi diterpen, isobenzofuranon, triterpen glikosida, limonoid, santon, iridoid, flavonoid glikosida, dan alkaloid (Maurya *et al.*, 2018).

Campuran yang akan dipisahkan ditambahkan ke kolom silika dan meningkatkan jumlah pelarut yang lebih polar (CH_2Cl_2 , Et_2O , EtOAc , atau Me_2CO) ditambahkan ke setiap fraksi pelarut yang berurutan. Pecahan awal meningkat perlahan dalam polaritas (1%, 2%, 3%) dengan kenaikan yang semakin cepat (5%, 10%, 20%, 50 %) sampai tercapai 100% komponen yang lebih polar. Pelarut yang lebih polar (misalnya MeOH) kemudian ditambahkan perlahan pada awalnya dan kemudian dalam proporsi yang meningkat sampai elusi selesai. Biasanya 20-25 kolom akan menghilangkan semua komponen. Fraksi yang menarik kemudian dikromatografi ulang pada kolom yang lebih kecil menggunakan kolom yang lebih kecil dan lebih bertahap langkah-langkah polaritas pelarut, terutama di dekat

campuran pelarut yang mengelusi fraksi dari kolom pertama (Coli *and* Bowden, 1986).

2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah kromatografi adsorpsi padat-cair. Pada metode KLT, fase diam yang digunakan adalah zat adsorben padat yang dilapisi pelat. Fase gerak yang digunakan pada metode ini akan bergerak ke atas melalui fase diam secara kapiler. Sampel akan bergerak ke atas dengan laju yang berbeda bergantung pada polaritas bahan, fase padat, dan pelarut yang digunakan sehingga akan terjadi pemisahan. Pada beberapa sampel yang tidak berwarna, digunakan beberapa cara (zat kimia, fluoresensi, atau radioaktivitas) untuk mengidentifikasi posisi sampel pada kromatogram. Pembentukan warna dimonitor di bawah sinar UV, kemudian ditentukan nilai *Retention factor* (Rf) dengan menghitung rasio antara jarak yang ditempuh oleh molekul dan pelarut. (Coskun, 2016).

Pemilihan fasa gerak yang tepat merupakan langkah yang sangat penting untuk keberhasilan analisis dengan KLT. Umumnya fasa gerak dalam KLT ditemukan dengan coba-coba dan jarang sekali yang didasarkan pada pengetahuan yang mendalam. Sifat-sifat pelarut pengembang juga merupakan faktor dominan dalam penentuan mobilitas komponen- komponen campuran. Umumnya kemampuan suatu pelarut pengembang untuk menggerakkan senyawa pada suatu adsorben berhubungan dengan polaritas pelarut (Atun, 2014).

2.6 Identifikasi Secara Spektroskopi

Metode spektroskopi yang biasanya digunakan untuk identifikasi struktur senyawa bahan alam antara lain spektroskopi Ultraviolet (UV), inframerah (IR),

Nuclear Magnetic Resonance (NMR), dan massa. Spektroskopi UV digunakan untuk identifikasi adanya gugus kromofor (fenolik, ikatan rangkap, dan lain-lain). Spektroskopi IR digunakan untuk identifikasi adanya gugus fungsional (hidroksil, aromatik, karbonil, dsb) (Atun, 2014).

2.6.1 Spektroskopi *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar *ultraviolet* dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar UV dan tampak cukup mampu untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Sinar UV berada pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Spektrofotometer UV-Vis biasanya digunakan untuk menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap terkonjugasi dan auksokrom dari senyawa organik serta menjelaskan informasi struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa (Dachriyanus, 2017).

Tabel 3. Pita Absorpsi UV Flavonoid (Markham, 1988)

Jenis Flavonoid	Pita II	Pita I
Flavon	250-280	310-350
Flavanol	250-280	330-385
Isoflavon	250-280	350-385
Flavanon	275-280	300-330
Dihidroflavanon	275-280	300-330
Biflavonoid	270-295	300-320
Kalkon	230-270	340-390
Auron	230-270	380-430
Antosianidin	270-280	465-560

Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan menggunakan pelarut metanol atau etanol. Spektrum khas flavonoid berada pada rentang 230-295 nm (pita II) dan 300-560 nm (pita I) (Heliawati, 2018). Sebanyak 10 mL larutan sampel dipindahkan ke dalam labu takar 25 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan 2 g AlCl_3 dalam 100 mL larutan asam asetat glasial 5% (v/v) (dalam

metanol). Larutan asam asetat glasial 5% (v/v) ditambahkan secukupnya sampai tepat 25 mL. Selanjutnya larutan dikocok dan dianalisis kandungan flavonoid total dengan cara mengukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 370 nm (Heliawati, 2018). Pita absorpsi UV pada flavonoid ditunjukkan oleh Tabel 3.

2.6.2 Spektroskopi Inframerah atau Infrared (IR)

Tabel 4. Daerah Serapan Khas IR (Dachriyanus, 2017)

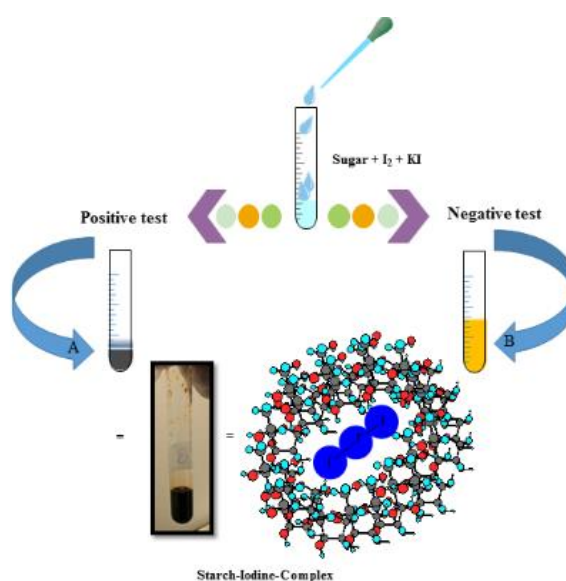
Bilangan Gelombang (ν , cm^{-1})	Jenis Ikatan
3750-3000	Regang O-H, N-H
3000-2700	Regang -CH ₃ , -CH ₂ , C-H, C-H aldehyd
2400-2100	Regang -C≡C, C≡N
1900-1650	Regang C=O, (asam, aldehyd, keton, amida, ester, anhidrida)
1675-1500	Regang C=C, (aromatik dan alifatik), C=N
1475-1300	C-H bending
1000-650	C=C-H, Ar-H bending

Setiap frekuensi cahaya, termasuk inframerah, mempunyai energi tertentu. Apabila frekuensi cahaya yang dilewatkan diserap oleh senyawa yang diinvestigasi, berarti energi tersebut ditransfer pada senyawa. Besarnya energi yang diserap senyawa akan mempengaruhi kondisi molekul senyawa tersebut. Energi radiasi inframerah berhubungan dengan energi yang dibutuhkan untuk terjadinya vibrasi dari suatu ikatan. Identifikasi setiap absorpsi ikatan yang khas dari setiap gugus fungsi merupakan basis dari interpretasi spektrum inframerah. Seperti regangan O-H memberikan pita serapan yang kuat pada daerah 3350 cm^{-1} (Dachriyanus, 2017). Beberapa daerah serapan khas yang dapat digunakan pada interpretasi awal dari spektrum inframerah ditunjukkan pada Tabel 4.

2.7 Antidiabetes

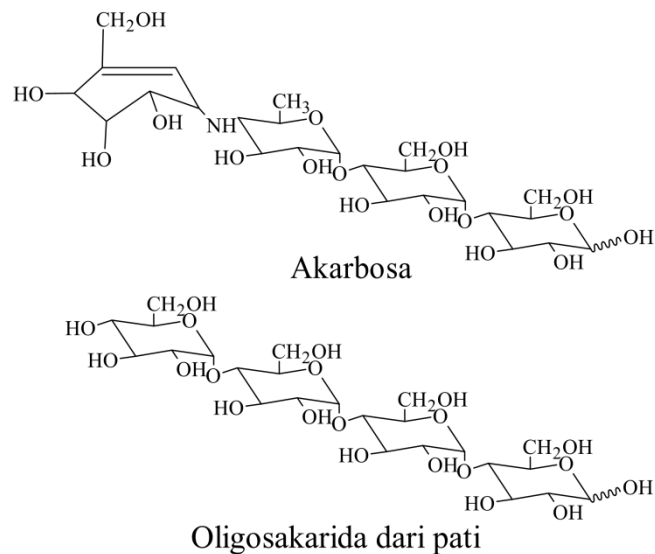
Salah satu pendekatan terapeutik untuk mengobati diabetes adalah dengan mengurangi hiperglikemia postprandial dengan menunda penyerapan glukosa melalui penghambatan enzim yang bertugas dalam menghidrolisis karbohidrat yakni α -amilase di saluran pencernaan. Inhibitor enzim akan menunda pencernaan karbohidrat dan memperpanjang waktu pencernaan karbohidrat secara keseluruhan, menyebabkan penurunan tingkat penyerapan glukosa sehingga dapat menurunkan kenaikan glukosa plasma postprandial (Elya *et al.*, 2015). Pada penelitian ini dilakukan uji antidiabetes terhadap enzim α -amilase.

Inhibisi enzim α -amilase menunda proses pencernaan dengan cara menghambat pemecahan pati (Chakrabarti *et al.*, 2014). Terdapat 2 macam uji yang utama dalam menentukan aktivitas amilase: uji yang pertama didasarkan pada pengukuran jumlah gula pereduksi dengan menggunakan uji asam dinitrosalisilat (DNS) atau metode Nelson Somogyi dan uji kedua didasarkan pada penurunan nilai pewarnaan kompleks pati-iodium biru yang dikembangkan oleh Fuwa (Xiao *et al.*, 2006). Amilosa dalam pati bertanggung jawab dalam reaksi dengan iodine. Heliksnya mengikat atom iodine dalam larutan dan menghasilkan kompleks amilosa-iodine berwarna biru seperti ditunjukkan pada Gambar 9 berikut.

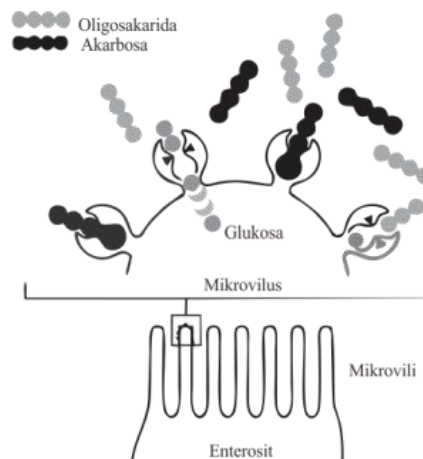


Gambar 12. Mekanisme Metode Fuwa (Elzagheid, 2018)

2.7.1 Akarbosa



Gambar 13. Struktur Akarbosa dan Oligosakarida (Rosak *and* Mertes, 2012)



Gambar 14. Mekanisme Kerja Akarbosa (Rosak *and* Mertes, 2012)

Akarbosa termasuk dalam kelompok antidiabetes oral noninsulinotropik yang memiliki cara kerja yang unik serta memiliki peranan yang sangat penting dalam penyerapan karbohidrat dari makanan ke dalam darah, optimalisasi metabolisme glukosa, dan berkontribusi pada adaptasi sekresi insulin. Secara struktural akarbosa memiliki kemiripan dengan oligosakarida alami (Gambar 11), tetapi akarbosa memiliki afinitas 104 hingga 105 kali lebih tinggi terhadap α -glukosidase, sehingga kompleks enzim tersebut dapat dihambat secara kompetitif dan ketersediaan untuk oligosakarida dari pati makanan berkurang. Dengan

demikian, pembentukan monosakarida menurun dan insulin yang dibutuhkan menjadi lebih sedikit (Rosak *and* Mertes, 2012). Mekanisme kerja akarbosa ditunjukkan pada Gambar 14.

2.8 Antibakteri

Penelitian mengenai flavonoid menyarankan bahwa aktivitas antibakteri secara langsung dari flavonoid mungkin disebabkan dari tiga mekanisme. Mekanisme pertama adalah merusak membran sitoplasma (dapat disebabkan oleh perforasi atau pengurangan fluiditas membran), menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat energi metabolisme (disebabkan oleh penghambatan NADH-sitokrom c reduktase). Flavonol dan flavan-3-ol menunjukkan bahwa mereka merusak membran sitoplasma (dengan menghasilkan hidrogen peroksida), flavan-3-ol dan isoflavon menunjukkan penghambatan sintesis asam nukleat (melalui penghambatan topoisomerase dan atau dihidrofolat reduktase). Selain itu, senyawa dalam flavonol, flavan-3-ol dan kelas flavon telah terbukti menghambat metabolisme energi (melalui penghambatan ATP sintase). Selain itu, mekanisme lainnya adalah penghambatan sel sintesis dinding (disebabkan oleh penghambatan ligase D-alanin) dan penghambatan sintesis membran (Cushnie *and* Lamb, 2011).

Pada penelitian ini digunakan uji antibakteri dengan metode difusi cakram. Cakram kertas digunakan sebagai tempat untuk menampung zat antimikroba yang kemudian akan diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada waktu dan suhu tertentu sesuai dengan kondisi optimum bakteri selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu akan ada zona hambat yang terbentuk. Ada 2 macam zona hambat yang terbentuk yakni *radical zone* atau daerah disekitar cakram yang sama sekali tidak ada pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri berdasarkan *diameter radical zone* ini. Selanjutnya ada *irradical zone* sebagai daerah sekitar cakram yang pertumbuhan bakteri hanya dihambat tidak dimatikan (Ariyani *et al.*, 2018).

2.8.1. *Salmonella typhi*

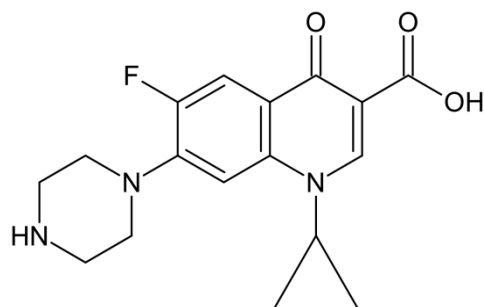
Salmonella sp. merupakan kingdom Bacteria, phylum Proteobacteria, kelas gamma Proteobacteria, ordo Enterobacterial dan merupakan famili dari enterobacteriae dari genus salmonella dan spesies *S. enteric*. *Salmonella sp.* adalah bakteri bentuk batang, pada pengecatan gram berwarna merah muda (gram negatif). *Salmonella sp.* berukuran $2\ \mu\text{m}$ sampai $4\ \mu\text{m} \times 0,6\ \mu\text{m}$, mempunyai flagel (kecuali *S. gallinarum* dan *S. pullorum*), dan tidak berspora. Habitat *Salmonella sp.* adalah di saluran pencernaan (usus halus) manusia dan hewan. Suhu optimum pertumbuhan *Salmonella sp.* ialah 37°C dan pada pH 6-8 (Kasim, 2020).

2.8.2. *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat dan memiliki ukuran antara $0,5\text{-}1,5\ \mu\text{m}$. Dinding sel *S. aureus* terdiri dari beberapa lapisan, terutama bagian luar yang memiliki lapisan kuat dan tebal dari peptidoglikan. *S. aureus* merupakan bakteri komensal dan oportunistik yang berkoloni pada beberapa bagian tubuh, seperti kulit, lubang hidung, askila, dan daerah inuginal (Rasheed and Hussein, 2021).

2.8.3. Siprofloksasin

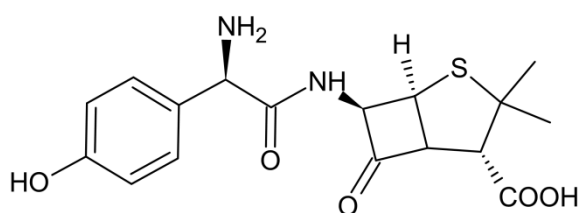
Siprofloksasin adalah fluorokuinolin yang paling kuat untuk melawan berbagai bakteri. Bakteri yang paling rentan terhadap kemampuan siprofloksasin adalah bakteri aerobik basil gram negatif, terutama Enterobacteriaceae dan Neisseria (Sharma *et al.*, 2010).



Gambar 15. Struktur Siprofloksasin (Sharma *et al.*, 2010)

2.8.4. Amoksisilin

Amoksisilin adalah antibiotik β -laktam yang termasuk dalam golongan penisilin. Antibiotik golongan penisilin memiliki cincin β -laktam yang terikat pada cincin penam (C_5H_7NOS) (Gambar 16). Amoksisilin adalah antibiotik spektrum sedang dengan sifat bakteriolitik. Amoksisilin efektif digunakan untuk melawan banyak bakteri termasuk *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Pneumococci* sp, *Streptococci* sp, dan strain *Staphylococci* sp tertentu (Gálico *et al.*, 2013). Penamaan amoksisilin secara IUPAC adalah asam (2S,5R,6R)-6-[[2-(2-Amino-2-(4-hidroksifenil)asetil)amino]-3,3-dimetil-7-oksi-4-tia-1-aza-bisiklo[3.2.0]heptane-2-karboksilat (Kaur *et al.*, 2011).



Gambar 16. Struktur Amoksisilin (Gálico *et al.*, 2013)

III.METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2022 sampai Juni 2022, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Identifikasi atau determinasi sampel dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis spektrofotometri menggunakan spektrofotometer ultra violet-tampak (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung, analisis menggunakan spektrofotometer inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Sentra Inovasi dan Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung sedangkan uji bioaktivitas antibakteri dan antidiabetes dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, *Rotary Vaccum Evaporator*, satu paket alat kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom gravitasi (KKG), pipet kapiler, pengukur titik leleh MP-10 stuart, neraca analitik, *autoclave*, *laminar air flow* (LAF), jarum *ose*, cawan petri, inkubator, pembakar Bunsen, mikropipet, spektroskopi FT-IR *Prestige 21 Shimadzu*, spektroskopi *ultraviolet visible* (UV-Vis) merk *Agilent*

Technologies Cary Series UV-Vis Spechtrophotometer Cary 100 UV-Vis, micropipet, vortex, tabung reaksi, dan pemanas air.

3.2.2. Bahan

Kayu akar tanaman puda (*Artocarpus kemando* Miq.) yang diperoleh dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan. metanol, *n*- heksana, etil asetat, aseton, serium sulfat ($Ce(SO_4)_2$) 15% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 15%, silika gel Merck G 60, silika Gel Merck 60 (35-70 Mesh), plat KLT silika gel Merck kiesegal 60 F254 0,25 mm. Pereaksi geser untuk analisis spektrofotometer UV-Vis adalah $AlCl_3$, HCl pekat, NaOAc, NaOH, H_3BO_3 . Uji antidiabetes menggunakan larutan enzim α -amilase, akarbosa, larutan pati 1%, dimetil sulfoksida (DMSO), pereaksi Fuwa, HCl 1 N, dan aquades. Untuk uji antibakteri menggunakan kertas Whatman, akuades, media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri *Salmonella typhi*, siprofloksasin dan amoksisilin.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pengumpulan dan Persiapan Sampel

Sampel tumbuhan puda (*A. kemando*) diperoleh dari Dusun Karang Anyar, Desa Klaten, Kecamatan Penengahan, Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Sampel terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk mengetahui spesies dari sampel yang akan digunakan. Sampel kayu akar tumbuhan puda (*A. kemando*) dipisahkan dari kulit akarnya agar diperoleh sampel berupa kayu akar, selanjutnya dilakukan pembersihan pengotor yang menempel pada kayu akar. Kemudian kayu akar dipotong-potong hingga berukuran kecil, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Setelah kering kayu akar digiling hingga menghasilkan serbuk halus.

3.3.2. Isolasi Menggunakan Metode Maserasi

Serbuk halus kayu akar tanaman pudau (*A. kemando* Miq.) sebanyak 1,4 kg dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 11,2 L selama 3 x 24 jam. Pelarut metanol yang digunakan berkualitas teknis yang telah didestilasi sebelumnya. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring, untuk menghilangkan pelarutnya, dilakukan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan putaran 120 rpm hingga diperoleh ekstrak pekat.

3.4. Kromatografi

3.4.1. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Pada penelitian ini metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan silika gel 60 GF₂₅₄ sebagai fase diam (*stationary phase*) dan pelarut *n*-heksana: etil asetat sebagai eluen. Mula mula dilakukan persiapan alat KCV, corong Buchner kaca masir yang berada di atas kolom KCV diisi dengan fase diam (silika gel 60 GF₂₅₄ sebanyak 10 kali berat sampel yang dikemas pada keadaan kering selanjutnya bagian atas ditutup menggunakan kertas saring kemudian divakum.

Selanjutnya, dituangkan eluen dengan tingkat kepolaran rendah (*n*-heksana) terlebih dahulu ke permukaan silika gel, kemudian divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering menggunakan alat vakum dan kolom siap digunakan. Langkah selanjutnya adalah memasukkan ekstrak kering yang telah dilarutkan dengan aseton dan telah dimpregnasikan ke bagian atas kolom yang berisi fase diam dan kemudian dihisap dengan alat vakum secara perlahan.

Kolom yang telah siap digunakan kemudian dilakukan elusi secara bertahap dengan menggunakan etil asetat : *n*-heksana, dimulai dari etil asetat 0% yang selanjutnya tingkat kepolaran eluen dinaikkan sampai dengan etil asetat 100%. Setiap penambahan eluen, kolom dihisap hingga kering, kemudian fraksi-fraksi yang terbentuk dikumpulkan berdasarkan pola fraksinasinya. Pemurnian sampel

dengan metode KCV terhadap fraksi target dilakukan berulang kali dengan perlakuan yang sama seperti tahapan KCV awal.

3.4.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk memonitoring pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar, maka dilakukan uji menggunakan metode KLT terlebih dahulu. Selain terhadap ekstrak kasar, uji KLT juga dilakukan terhadap fraksi-fraksi hasil KCV juga dimonitoring dengan KLT untuk melihat pola pemisahannya. Berdasarkan hasil monitoring KLT, fraksi-fraksi dengan nilai R_f sama pada plat silika digabung menjadi satu fraksi.

KLT dilakukan menggunakan sistem campuran eluen berupa pelarut yang sesuai. Eluen yang digunakan adalah pelarut *n*-heksana dan etil asetat dengan presentase yang sesuai. Sampel yang akan diKLT terlebih dahulu dilarutkan menggunakan aseton, selanjutnya sampel ditotolkan ke permukaan plat silika menggunakan pipet kapiler. Setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT, bercak noda dilihat dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm.

Hasil kromatogram yang didapat, selanjutnya disemprotkan larutan serum sulfat dalam lemari asam untuk menampakkan noda hasil KLT. R_f dari setiap noda yang terbentuk diukur, dihitung kemudian dicatat. Fraksi dengan nilai R_f sama, digabungkan dan dipekatkan kemudian difraksinasi lebih lanjut hingga diperoleh isolat murni yang ditunjukkan dengan noda tunggal.

3.4.3. Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Hasil fraksinasi dari KCV dengan analisis KLT selanjutnya difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom gravitasi (KKG) karena jumlahnya menjadi lebih sedikit. Pada KKG digunakan silika gel Merck (35-70 Mesh) sebagai

adsorben (fase diam). Silika gel dilarutkan dan diaduk dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusan hingga berbentuk bubur (*slurry*). Campuran atau *slurry* tersebut dimasukkan ke dalam kolom hingga kerapatannya maksimum (tidak terdapat rongga) dan rata. Kemudian sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi adsorben (fase diam). Pada saat sampel dimasukkan, usahakan agar kolom tidak kering/kehabisan pelarut karena akan mempengaruhi kerapatan fase diam yang telah dikemas rapat sehingga proses elusi tidak akan terganggu.

3.5. Analisis Kemurnian

3.5.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode KLT dan uji titik leleh. Uji kemurnian menggunakan KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Indikator kemurnian suatu senyawa adalah timbulnya noda tunggal dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Apabila noda tidak berwarna, plat KLT disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda tersebut.

3.5.2. Uji Titik Leleh

Analisis kemurnian menggunakan metode titik leleh diawali dengan membersihkan alat pengukur titik leleh dari kotoran yang ada pada alat, karena dengan adanya kotoran pada alat akan mempengaruhi (menaikkan atau menurunkan) temperatur titik leleh padatan. Jika padatan berukuran besar, dilakukan penggerusan terlebih dahulu hingga diperoleh serbuk. Padatan yang akan ditentukan titik lelehnya ditempatkan pada lempeng kaca kemudian diambil sedikit menggunakan pipet kapiler, selanjutnya alat dihidupkan dan titik leleh diamati dengan bantuan *loops* (kaca pembesar).

3.6. Analisis Struktural

3.6.1. Spektrofotometer UV-Vis

Sampel berupa kristal murni hasil isolasi diambil sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol (1000 ppm). Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran. Pada pengukuran spektrofotometer UV-Vis digunakan beberapa pereaksi geser untuk menentukan kedudukan gugus hidroksi fenol pada senyawa flavonoid. Larutan persediaan dibagi menjadi beberapa bagian. Bagian I diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Kemudian masing-masing larutan persediaan ditambah dengan pereaksi-pereaksi geser seperti natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 gr NaOH dilarutkan dalam 10 mL akuades), aluminium klorida (AlCl_3) 0,5% (0,25 gram AlCl_3 dilarutkan dalam 5 mL MeOH), HCl 0,5% (5 mL HCl dalam 10 mL akuades) dan padatan natrium asetat (NaOAc). Lalu masing-masing larutan tersebut diukur serapan maksimumnya.

3.6.2. Spektrofotometer Infra Merah (IR)

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni dibebaskan dari air lalu digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Gerasan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm^2 . Kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya.

3.7. Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas yang dilakukan terhadap senyawa murni dari tanaman *A. kemando* pada penelitian ini adalah uji antidiabetes dengan metode inhibisi aktivitas enzim α -glukosidase dan α -amilase. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri terhadap

bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella styphi* menggunakan metode difusi cakram dengan mengukur zona hambat senyawa terhadap pertumbuhan bakteri.

3.7.1 Uji Antidiabetes

Uji antidiabetes senyawa flavonoid yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan pada kemampuan senyawa menghambat aktivitas enzim α -amilase . Uji inhibisi enzim α -amilase menggunakan metode Fuwa berdasarkan penelitian Suganya *et al.*, (2017). Larutan sampel dalam DMSO dengan variasi konsentrasi (1000 ppm, 750 ppm, 500 ppm dan 250 ppm) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 250 μ L larutan enzim α -amilase, dikocok, dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Setelah diinkubasi selama 10 menit, tambahkan 250 μ L larutan pati 1%, dikocok dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit menggunakan *waterbath*. Setelah 30 menit, campuran dipindahkan dari *waterbath* kemudian ditambahkan 250 μ L HCl 1N untuk menghentikan reaksi enzimatik, selanjutnya ditambahkan 250 μ L pereaksi iodin, amati perubahan warna (positif berwarna biru tua, negatif berwarna kuning) kemudian ditambahkan 4 mL akuades. Selanjutnya dilakukan uji absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dengan cara diambil 1 mL campuran kemudian diencerkan dengan menambahkan 2 mL aquades, kemudian dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm. Setelah diperoleh data absorbansi, dilakukan perhitungan persen inhibisi dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ hambat} = 1 - \left(\frac{A2 - A1}{A4 - A3} \right) \times 100$$

Keterangan:

A1: Absorbansi sampel (Sampel + pati + enzim)

A2: Absorbansi kontrol sampel (Sampel + pati)

A3: Absorbansi enzim (Pati + enzim)

A4: Absorbansi kontrol enzim (Pati)

(Mwakalukwa *et al.*, 2020)

3.7.2 Uji Antibakteri

Pada tahapan uji antibakteri ini, digunakan dua jenis bakteri yakni *S. aureus* dengan kontrol positif amoksisilin dan bakteri *S. typhi* dengan kontrol positif siprofloksasin. Mula-mula dilakukan sterilisasi alat menggunakan *autoclave* selama 15 menit, kemudian sebanyak 4,2 gram *nutrient agar* (NA) dilarutkan menggunakan 150 mL aquades lalu dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya media NA dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/tabung reaksi. Media sebanyak 5 mL/tabung reaksi dan 1 mL aquades/tabung reaksi juga disiapkan, kemudian semua alat dan bahan dilakukan sterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit.

Sampel ekstrak kayu akar *A. kemando* dibuat menjadi tiga variasi konsentrasi : 0,5 $\mu\text{L}/\text{disk}$; 0,4 $\mu\text{L}/\text{disk}$; 0,3 $\mu\text{L}/\text{disk}$. Sampel diambil sebanyak 1,5 mg lalu dilarutkan dalam 150 μL aseton, selanjutnya diambil sebanyak 50 μL ; 40 μL ; 30 μL untuk ditotolkan ke *paper disk*.

Amoksisilin dan siprofloksasin dibuat variasi konsentrasi menjadi 0,5 mg/*disk*; 0,4 mg/*disk*; dan 0,3 mg/*disk*. Padatan kontrol positif sebanyak 150 mg dilarutkan dalam 150 μL metanol teknis yang telah didestilasi. Selanjutnya kontrol positif dipipet sebanyak 15 μL ; 10 μL ; 5 μL menggunakan mikropipet kemudian ditotolkan ke *paper disk* menggunakan *pipette tip*.

Setelah alat dan bahan selesai disterilisasi selanjutnya dimasukan ke dalam *laminar air flow*. Media agar 15 mL/tabung reaksi dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah media keras, dimasukkan media 5 mL/tabung yang sudah ditambahkan aquades yang berisi bakteri sebanyak 1 ose. Selanjutnya *paper disk* yang telah berisi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam media yang telah dibuat. Cawan petri ditutup dengan *plastic wrap* dan diinkubasi selama 1x24 jam di dalam inkubator. Setelah 1x24 jam zona hambat yang terbentuk diukur diameternya.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Dari pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan simpulan sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa flavonoid artokarpin dari kayu akar tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) sebanyak 10,9 mg dan memiliki sifat fisik berupa padatan amorf berwarna kuning dengan titik leleh 168,7-173,6°C.
2. Senyawa hasil isolasi menunjukkan kemampuan penghambatan aktivitas enzim α -amilase sebesar 43,44% (konsentrasi 750 ppm serta kemampuan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* pada kategori sedang pada semua konsentrasi (0,3; 0,4; dan 0,5 mg/disk).

5.2. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Melakukan pengujian antidiabetes dengan variasi konsentrasi lebih banyak dan pengukuran absorbansi secara cermat sehingga nilai IC_{50} dapat dihitung.
2. Meningkatkan konsentrasi sampel dalam kertas cakram pada uji antibakteri agar diperoleh diameter zona hambat yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, N. 2017. *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press, Banjarmasin.
- Arifin, B. dan Ibrahim, S. 2018. Struktur, bioaktivitas, dan antioksidan flavonoid. *J. Zarah* **6**: 21–29.
- Ariyani, H., Nazemi, M. dan Kurniati, M. 2018. Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (*Cytrus hystrix* dc) terhadap beberapa bakteri. *J. Curr. Pharm. Scinences* **2**: 136–141.
- Arriffin, N.M., Jamil, S., Basar, N., Khamis, S., Abdullah, S.A. and Lathiff, S.M.A. 2017. Phytochemical studies and antioxidant activities of *Artocarpus scortechinii* king. *Rec. Nat. Prod.* **11**: 299–303.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktural Senyawa Organik Bahan Alam. *J. Konserv. Cagar Budaya* **8**: 53–61.
- Berg, C.C., Corner, E.J.H. and Jarrett, F.M. 2006. Moraceae (genera other than *Ficus*). *Flora Malesiana, ser. 1* **17** (1): 1–154.
- Breijyeh, Z., Jubeh, B. and Karaman, R. 2020. Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules* **25**: 23. Molecules.
- Casquero, J., Casquero, J. and Alves, C. 2012. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J. Endocrinol. Metab.* **16**: 27.
- Chairunnisa, S., Wartini, N.M. dan Suhendra, L. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *J. Rekayasa Dan Manaj. Agroindustri* **7**: 551.
- Chakrabarti, R., Singh, B., Prakrith, V.N., Vanchhawng, L. and Thirumurugan, K. 2014. Screening of nine herbal plants for in vitro α -amylase inhibition. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **7**: 84–89.
- Chan, M. 2016. Global Report on Diabetes. *WHO Libr. Cat. Data* **978**: 6–86.

- Coli, J.C. and Bowden, B.F. 1986. The application of vacuum liquid chromatography to the separation of terpene mixtures. *J. Nat. Prod.* **49**: 934–936.
- Coskun, O. 2016. Separation Techniques: Chromatography. *North. Clin. Istanbul* **3**: 156–60.
- Cushnie, T.P.T. and Lamb, A.J. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* **38**: 99–107.
- Dachriyanus, D. 2017. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. LPTIK Universitas Andalas, Padang.
- Daenlangi, R., Salempa, P. dan Danial, M. 2016. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak n-heksan kulit batang sukun (*Artocarpus altilis*). *J. Chem.* **65**: 91–97.
- Davis, W.W. and Stout, T.R. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy. *Appl. Microbiol.* **22**: 666–670.
- Dewi, S.R., Argo, B.D. dan Ulya, N. 2018. Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Tek. Pertan.* **11**: 1–10.
- Dias, M.C., Pinto, D.C.G.A. and Silva, A.M.S. 2021. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules* **26**: 1–16.
- Ee, G.C.L., Teo, S.H., Rahmani, M., Lim, C.K., Lim, Y.M. and Go, R. 2011. Artomandin, a new xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Nat. Prod. Res.* **25**: 995–1003.
- Elya, B., Handayani, R., Sauriasari, R., Azizahwati, Hasyati, U.S., Permana, I.T., and Permatasari, Y.I. 2015. Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts from Indonesian plants by inhibition of alpha amylase, alpha glucosidase and dipeptidyl peptidase IV. *Pakistan J. Biol. Sci.* **18**: 273–278.
- Elzagheid, M.I. 2018. Laboratory Activities to Introduce Carbohydrates Qualitative Analysis to College Students. *World J. Chem. Educ.* **6**: 82–86.
- Erwin. 2010. The chemical profile of *Artocarpus*. *Kim. Mulawarman* **8**: 54–62.
- Gálico, D.A., Guerra, R.B., Legendre, A.D.O., Schnitzler, E., Mendes, R.A. and Bannach, G. 2013. Solid state thermal and spectroscopic studies on the antibiotic amoxicillin trihydrate. *Brazilian J. Therm. Anal.* **2**: 45.
- Hakim, A. 2010. A prenylated flavone from the heartwood of *Artocarpus scortechinii* King (Moraceae). *Indones. J. Chem.* **9**: 146–150.
- Hakim, A. 2011. Keanekaragaman metabolit sekunder Genus *Artocarpus*

(Moraceae). *Nusant. Biosci.* **2**: 146–156.

- Hakim, E.H., Achmad, S.A., Juliawaty, L.D., Makmur, L., Syah, Y.M., Aimi, N., Kitajima, M., Takayama, H., and Ghisalberti, E. L. 2006. Prenylated flavonoids and related compounds of the Indonesian *Artocarpus* (Moraceae). *J. Nat. Med.* **60**: 161–184.
- Hashim, N.M., Rahmani, M., Shamaun, S.S., Ee, G.C.L., Sukari, M.A., Manaf Ali, A., and Go, R. 2011. Dipeptide and xanthenes from *Artocarpus kemando* Miq. *J. Med. Plants Res.* **5**: 4224–4230.
- Heliawati, L. 2018. *Kimia Organik Bahan Alam*. UNPAK. Bogor.
- Hussain, N., Kakoti, B.B., Rudrapal, M., Sarwa, K.K., Celik, I., Attah, E.I., Khairnair, S.J., Battacharya, S., Sahoo, R.K., and Walode, S.G. 2021. Bioactive antidiabetic flavonoids from the stem bark of *Cordia dichotoma* forst.: Identification, docking and ADMET studies. *Molbank* **2021**: 1–10.
- Jagtap, U.B. and Bapat, V.A. 2010. *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **129**: 142–166. Elsevier Ireland Ltd.
- Kasim, V.N.A. 2020. *Peran Imunitas Pada Infeksi Salmonella Typhi*, 1st ed. Athra Samudra, Gorontalo.
- Kasole, R., Martin, H.D. and Kimiywe, J. 2019. Traditional medicine and its role in the management of diabetes mellitus: patients and herbalists perspectives. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2019**.
- Kaur, S.P., Rao, R. and Nanda, S. 2011. Amoxicillin: A broad spectrum antibiotic. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **3**: 30–37.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. Tetap Produktif, Cegah Dan Atasi Diabetes Mellitus. *PusDatIn Kemenkes RI*.
- Kumar, S. and Pandey, A.K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci. World J.* **2013**: 1-16.
- Lestari, T. 2009. Dampak Konversi Lahan Pertanian Bagi Taraf Hidup Petani. (Skripsi). IPB. Bogor.
- Lotulung, P.D.N., Mozef, T., Risdian, C. and Darmawan, A. 2014. In vitro antidiabetic activities of extract and isolated flavonoid compounds from *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg. *Indones. J. Chem.* **14**: 7–11.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. 1971. *The systematic identification of flavonoids*. Springer-Verlag. Berlin.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.

- Marzouk, M.M. 2016. Flavonoid constituents and cytotoxic activity of *Erucaria hispanica* (L.) Druce growing wild in Egypt. *Arab. J. Chem.* **9**: 411-415.
- Maurya, A., Kalani, K., Verma, S.C., Singh, R. and Srivastava, A. 2018. Vacuum liquid chromatography: Simple, efficient and versatile separation technique for natural products. *Org. Med. Chem. Int. J.* **7**: 1-3.
- Middleton, E. 1998. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv. Exp. Med. Biol.* **439**: 175–182.
- Mukhtarini. 2011. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *J. Pharm.* **7**(2):361-367.
- Munhoz, V.M., Longhini, R., Souza, J.R.P., Zequi, J.A.C., Mello, E.V.S.L., Lopes, G.C., and Mello, J.C. 2014. Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: Process optimization and screening for biological activity. *Rev. Bras. Farmacogn.* **24**: 576–583. Sociedade Brasileira de Farmacognosia.
- Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M. and Shimizu, K. 2020. Postprandial hyperglycemia lowering effect of the isolated compounds from olive mill wastes - An inhibitory activity and kinetics studies on α -glucosidase and α -amylase enzymes. *ACS Omega* **5**: 20070–20079.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra, S.R. 2016. Flavonoids: An overview. *J. Nutr. Sci.* **5** (47): 1-15.
- Rasheed, N.A. and Hussein, N.R. 2021. *Staphylococcus aureus*: An overview of discovery, characteristics, epidemiology, virulence factors and antimicrobial sensitivity. *Eur. J. Mol. Clin. Med.* **8**: 1160–1183.
- Rosak, C. and Mertes, G. 2012. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: Patient considerations. *Diabetes, Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* **5**: 357–367.
- Sa'Diah, K. 2020. Isolasi, karakterisasi, dan modifikasi senyawa artokarpin dari tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) serta uji bioaktivitas antibakteri senyawa artokarpin dan hasil modifikasi. (Tesis). Universitas Lampung. Lampung.
- Sa'Diah, K., Yuwono, S.D., Qudus, H.I., Yandri and Suhartati, T. 2020. Isolation, characterization, modification of Artocarpin compound from pudau plant (*Artocarpus kemando* Miq.) and bioactivity antibacterial assay of Artocarpin compound and their modification result. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **537** (1): 1-8.
- Sentochnik, D.E. and Eliopoulos, G.M. 2011. Infection and diabetes. *Joslin's Diabetes Mellit. Fourteenth Ed.* 1017–1033.
- Seo, E.K., Lee, D., Young, G.S., Chai, H.B., Navarro, H.A., Kardono, L.B.S., Rahman, I., Cordell, G.A., Farnsworth, N.R., Pezzuto, J.M., Kinghorn, A.D.,

- Wani, M.C., and Wall, M.E. 2003. Bioactive prenylated flavonoids from the stem bark of *Artocarpus kemando*. *Arch. Pharm. Res.* **26** (2): 124–127.
- Setiani, L.A., Sari, B.L., Indriani, L. dan Jupersio, J. 2017. Penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol 70% kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode maserasi dan MAE (microwave assisted extraction). *fitofarmaka J. Ilm. Farm.* **7**: 15–22.
- Sharma, P.C., Jain, A., Jain, S., Pahwa, R. and Yar, M.S. 2010. Ciprofloxacin: Review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **25**: 577–589.
- Suganya, V., Anuradha, V., Ali, M.S., Sangeetha, P. and Bhuvana, P. 2017. in vitro anti-diabetic activity of microencapsulated and non-encapsulated astaxanthin. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* **9**: 90–96.
- Suhartati, T., Wulandari, Z., Wulandari, M., Yandri, and Hadi, S. 2021. Identification and antibacterial activity of flavonoid compounds from wood branches of the puda plant (*Artocarpus kemando* Miq.). *J. Phys. Conf. Ser.* **1751**.
- Sumayyah, S. dan Salsabila, N. 2017. Obat tradisional : Antara khasiat dan efek sampingnya. *Farmasetika.com (Online)* **2**: 1.
- Takahama, U. and Hirota, S. 2018. Interactions of flavonoids with α -amylase and starch slowing down its digestion. *Food Funct.* **9**: 677–687.
- Wang, Q., Jin, J., Dai, N., Han, N., Han, J. and Bao, B. 2016. Anti-inflammatory effects, nuclear magnetic resonance identification, and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*. *J. Food Drug Anal.* **24**: 385–391.
- Wang, T. yang, Li, Q. and Bi, K. shun. 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J. Pharm. Sci.* **13**: 12–23. Elsevier B.V.
- Wheat, L.J. 1980. Infection and diabetes mellitus. *Diabetes Care* **3**: 187–197.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo, Jember.
- Xiao, Z., Storms, R. and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Anal. Biochem.* **351**: 146–148.
- Young, J.C. 2013. True Melting Point Determination. *Chem. Educ.* **18**: 208.
- Zerega, N., Ragone, D. and Motley, T.J. 2005. Systematics and Species Limits of Breadfruit (*Artocarpus*, Moraceae). *Syst. Bot.* **30**.