ISOLASI, UJI ANTIDIABETES DAN ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

(Tesis)

Oleh

RINDA HARIJULIATRI

2027011011

PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023

ABSTRAK

ISOLASI, UJI ANTIDIABETES DAN ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

Oleh

Rinda Harijuliatri

Dari kulit cabang dan kayu akar tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*) yang diambil dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung, Indonesia, telah diisolasi senyawa flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan senyawa flavonoid murni yang memiliki aktivitas antidiabetes dan antibakteri. Isolasi flavonoid dari kulit cabang dilakukan dengan maserasi menggunakan metanol. Hasil ekstraksi dipartisi menggunakan *n*-heksana, dilanjutkan dengan kromatografi cair vakum (KCV), pemurnian senyawa flavonoid menggunakan kromatografi kolom (KK). Fraksi kayu akar yang telah dikerjakan sebelumnya dimurnikan menggunakan KK. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan secara spektrofotometri UV-*Vis* dan inframerah, serta KLT bersama dengan senyawa standar. Uji bioaktivitas antidiabetes berdasarkan penghambatan terhadap aktivitas enzim α-amilase, uji antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Salmonella* sp. dan *S. aureus.* Senyawa hasil isolasi dari kulit cabang (SA1) dan kayu akar (SA2) berwarna kuning masing-masing sebanyak 16,2 mg dan 31,3 mg. Identifikasi struktur secara spektrofotometri UV-*Vis*, *IR* dan KLT bersama dengan senyawa standar, menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa sikloartobilosanton. Uji aktivitas antidiabetes kedua senyawa optimum pada konsentrasi 1000 ppm dengan persen inhibisi masing-masing 50,92% untuk senyawa SA1 dan 50,87% untuk SA2. Uji aktivitas antibakteri kedua senyawa hasil isolasi menunjukkan penghambatan dengan kategori kuat pada konsentrasi 0,5 mg/*disc* dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 17 cm (SA1) dan 13 cm (SA2) terhadap bakteri *Salmonella* sp. dan 14 cm (SA1) dan 12 cm (SA2) terhadap bakteri *S. aureus.* Kedua senyawa ini berpotensi sebagai obat antidiabetes dan antibakteri.

Kata kunci: *Artocarpus rigida*, sikloartobilosanton, antibakteri, *Salmonella* sp., *S. aureus*, antidiabetes, α-amilase.

ABSTRACT

ISOLATION, ANTIDIABETIC AND ANTIBACTERIAL TEST FLAVONOID COMPOUND FROM KENANGKAN PLANT (*Artocarpus rigida*)

By

Rinda Harijuliatri

From the bark of branches and root wood of kenangkan plants (*Artocarpus rigida*) taken from Keputran Village, Sukoharjo District, Pringsewu Regency, Lampung Province, Indonesia, flavonoid compounds have been isolated. The aim of this study was to obtain pure flavonoid compounds that have antidiabetic and antibacterial activity. Isolation of flavonoids from the bark of branches is carried out by maceration using methanol. The extraction results were partitioned using n-hexane, followed by vacuum liquid chromatography (VLC), purification of flavonoid compounds using column chromatography (CC). The fraction of root wood that has been pre-worked is purified using CC. Identification of flavonoid compounds is carried out by UV-Vis and infrared spectrophotometry, as well as TLC along with standard compounds. Antibacterial bioactivity tests were performed against *Salmonella* sp. and *S. aureus* bacteria, antidiabetic tests based on inhibition of the activity of the enzyme α-amylase. The isolated compounds from branch bark (SA1) and root wood (SA2) were yellow as much as 16.2 mg and 31.3 mg, respectively. Identification of structures by UV-Vis spectrophotometry, IR and TLC together with standard compounds, shows that the isolated compounds are cycloartobiloxanthone compounds. Test the antidiabetic activity of both optimum compounds at a concentration of 1000 ppm with inhibition percent 50.92% for SA1 compounds and 50.87% for SA2, respectively. The antibacterial activity test of the two isolated compounds showed inhibition with a strong category at a concentration of 0.5 mg/disc with an inhibitory zone diameter of 17 cm (SA1) and 13 cm (SA2) respectively against *Salmonella* sp. bacteria, and 14 cm (SA1) and 12 cm (SA2) against *S. aureus* bacteria. Both of these compounds have the potential to be antidiabetic and antibacterial drugs.

Keywords: *Artocarpus rigida*, cycloartobiloxanthone, antibacteria, *Salmonella* sp., *S. aureus*, antidiabetic, α-amylase.

ISOLASI, UJI ANTIDIABETES DAN ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)

Oleh

RINDA HARIJULIATRI

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER KIMIA

Pada

Program Studi Magister Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung

PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023

Judul Tesis	: **ISOLASI, UJI ANTIDIABETES DAN ANTIBAKTERI SENYAWA FLAVONOID DARI TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida*)**
Nama Mahasiswa	: Rinda Harijuliarti
Nomor Pokok Mahasiswa	: 2027011011
Program Studi	: Magister Kimia
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.	**Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.**
NIP 1954510 198803 2 001	NIP 19560905 199203 1 001

2. Ketua Program Studi Magister Kimia

Dr. Nurhasanah, M.Si.
NIP 19741211 199802 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

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

Penguji Bukan Pembimbing

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

Anggota : **Dr. Ilim, M.S.** .....

Anggota : **Dr. Yuli Ambarwati, M.Si.** .....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP 19710415 199803 1 005

Tanggal Lulus Ujian Tesis : **6 Februari 2023**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul "Isolasi, Uji Antidiabetes dan Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Tumbuhan Kenangkan (*Artocarpus rigida*) adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai tata etika ilmuan yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata 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, 9 Februari 2023

rnyataan,

METERAI TEMPEL

97C49AKX227132703

Rinda Harijuliatri

NPM. 2027011011

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kotabumi, Lampung Utara pada tanggal 25 Maret 1997, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara, dari pasangan Buyah Haidar Sauri dan Ibu Rosmalayati.

Penulis mengawali pendidikan formal di TK Aisyiyah pada tahun 2009, kemudian melanjutkan SD Negeri 4 Tanjung Aman yang diselesaikan pada tahun 2010, melanjutkan di SMP Negeri 1 Kotabumi yang diselesaikan pada tahun 2013 dan masuk SMA Negeri 1 Kotabumi yang diselesaikan pada tahun 2015 melaui jalur undangan/prestasi. Pada tahun 2015 penulis diterima di jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur tertulis Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) diselesaikan pada tahun 2019. Pada tahun 2020 penulis diberikan kesempatan untuk melanjutkan pendidikan oleh Program Studi Pascasarjana Magister Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Selama menempuh pendidikan di jurusan kimia FMIPA Universitas Lampung, penulis memiliki pengalaman organisasi yaitu, Anggota Muda PSM Unila, Kader Muda Himaki periode 2015-2016, Anggota Biro Kestari Himaki FMIPA Unila periode 2016-2018. Selama menjalani perkuliahan, penulis menjadi salah satu mahasiswa penerima beasiswa PPA periode 2017-2019. Penulis pernah berpartisipasi konser dua tahunan PSM pada tahun 2015. Penulis pernah menjadi presenter oral pada koferensi internasional The ^{5th} SHIELD 2021, The 2nd ICCPM 2021, dan The 4^{th}ICASMI 2022. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Organik I 2018, Kimia Organik II 2016, dan Kimia Organik Biologi pada tahun 2020.

بسم الله الرحمن الرحيم

Puji dan Syukur Kepada Allah SWT Atas Rahmat dan Hidayah-Nya
Penulis mempersembahkan karya sederhana ini teruntuk:

Ibu Rosmalayati, S.Pd. dan Buyah Haidar Sauri

Ajo A.Ridho Britama, S. H. dan Aying Reza Jauhari, S. Kom.
yang memberikan dukungan, saran, dan semangat.

Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. dan Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S. yang telah sabar membimbing dan memberi dukungan penuh.

Seluruh dosen, guru, staf administrasi¸ dan teman-teman yang telah memberikan ilmu, motivasi, saran yang positif

Almamater Tercinta

MOTTO

"Laa Tahzan Innallaha ma'ana"

"We keep moving forward, opening new doors, and doing new things, because we are curious and curiosity keeps leading us down new paths"
(Walt Disney)

"Jangan Menyerah"

SANWACANA

Alhamdulillah segala puji hanya bagi Allah SWT, atas rahmat dan ridho-Nya Sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul

"Isolasi, Uji Antidiabetes, dan Antibakteri Senyawa Flavonoid dariTumbuhan Kenangkan (*Artocarpus rigida*)"

Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Sains Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa penyelesaian tesis ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Rosmalayati dan Buyah Haidar Sauri, kedua orang tua penulis yang selalu mendidik, memberikan kasih sayang, dukungan, doa, motivasi, dan semua yang terbaik kepada penulis hingga saat ini.
2. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. Pembimbing I sebagai orang tua kedua penulis yang telah sabar membimbing, memberikan kasih sayang, motivasi, dukungan yang terbaik, dan mengarahkan penulis dalam penelitian dan penulisan tesis.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S., selaku Pembimbing II, serta sebagai orang tua kedua penulis yang telah sabar membimbing, memberikan kasih sayang, motivasi, dukungan yang terbaik, dan mengarahkan penulis dalam penelitian dan penulisan tesis.
4. Bapak Dr. Sonny Widiarto, M.Sc., selaku Pembahas I penulis yang banyak memberikan saran dan kritik yang bersifat positif dan membangun.
5. Ibu Dr. Ilim, M.S., selaku Pembahas II penulis yang banyak memberikan saran dan kritik yang bersifat positif dan membangun.
6. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, M.S., selaku Pembahas III penulis yang banyak memberikan saran dan kritik yang bersifat positif dan membangun.

7. Ibu Dr. Nurhasanah, M. S., selaku Ketua Kaprodi Magister Kimia FMIPA Universitas Lampung yang selalu memberikan motivasi dan dukungan kepada penulis.
8. Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T, selaku Direktur Program Pascasarjana.
9. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dekan FMIPA Universitas.Lampung.
10. Bapak dan Ibu Dosen beserta staf jurusan, Kimia FMIPA Universitas Lampung.
11. Ajo A. Ridho Britama, S.H. dan Aying Reza Jauhari, S. Kom. yang telah memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.
12. Pandu Tris Mahendra, S.Si yang selalu menemani, memberikan semangat, motivasi, serta bantuan kepada penulis.
13. Ayu Miranda, Rosyidatul, Ariya Desti, Agnes, Ani, Ayu Wahyu, Nida, Gita, Uhti, Zuwita, Ervina, dan lainnya yang telah memberikan bantuan, dukungan, dan motivasi yang terbaik kepada penulis.
14. Chemistry'15, NPM 2020 (kak Fendi, kak Arya, kak Restu, Hanif, Mba Cindy, Mba Della, Mba Ezra, Mba Citra, Rosy, Nafila, Nadya dan Aisyah) dan teman-teman laboratorium (Kak Arif, Aulia, Ofriani, Azizah, Rista, Wulandari Agustin, Eni, dan lainnya) jurusan kimia FMIPA Universitas Lampung, yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan motivasi kepada penulis.
15. Seperbimbingan, Mentari, Mba Ima, Mba Kartika, Hendri, Rizqy, Ilham, Maywulandari, Irfan, Novita, Alya, Isti, Fitri, Nurvita, Armi, Antin, Andi, Farah, Kania, Rizky, Mutiara, Akmal, dan lainnya atas bantuan, motivasi, dan kebersamaan selama penelitian dan penulisan tesis.
16. Universitas Lampung yang telah memberikan kesempatan penulis untuk menuntut ilmu dan semua pihak yang telah membantu menyelesaikan tesis ini.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan mereka. Aamiin.

Terima kasih kepada Rinda Harijuliatri untuk perjuangan dan tidak menyerah selama penelitian dan penulisan tesis ini, semoga Allah SWT memberikan ridho, rahmat, berkah, dan hidayah untuk niat baik selanjutnya, Aamiin.

Dalam penulisan tesis ini, kritik dan saran sangat diharapkan penulis untuk perbaikan dalam penelitian selanjutnya. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat. Aamiin.

Bandar lampung, Februari 2023

Penulis,

Rinda Harijuliatri

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL ..... **iii**

DAFTAR GAMBAR ..... **iv**

DAFTAR LAMPIRAN ..... **vii**

I. PENDAHULUAN **1**

1.1 Latar Belakang dan Masalah 1
1.2 Tujuan Penelitian 3
1.3 Manfaat Penelitian 3

II. TINJAUAN PUSTAKA **4**

2.1 Moraceae 4
2.2 Artocarpus 4
2.3 *Artocarpus rigida* (Tumbuhan Kenangkan) 5
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder 6
2.5 Senyawa Flavonoid 7
2.6 Ekstraksi 9
2.7 Fraksinasi 10
2.8 Kromatografi 11
2.8.1 Kromatografi lapis tipis (KLT) 11
2.8.1 Kromatografi cair vakum (KCV) 13
2.8.2 Kromatografi kolom (KK) 13
2.9 Spektrofotometri 14
2.9.1 Spektrofotometri UV-*Vis* 14
2.9.2 Spektrofotometri *IR* 16
2.10 Diabetes 17
2.11 Amilase 18
2.12 Bakteri 18
2.12.1 *Salmonella* sp. 19
2.12.2 *Staphylococcus aureus (S. aureus)* 19
2.13 Antibakteri 19
2.14 Uji Antibakteri 20

III. METODE PENELITIAN **22**

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 22
3.2 Alat dan Bahan 22
3.3 Prosedur Penelitian 23
3.3.1 Pengumpulan dan persiapan sampel 23
3.3.2 Ekstraksi sampel secara maserasi 23
3.3.3 Fraksinasi ekstrak 24
3.3.4 Uji fitokimia 24
3.3.5 Isolasi 24
3.3.6 Analisis kemurnian 26
3.3.7 Analisis struktur 26
3.3.8 Uji antidiabetes 27
3.3.9 Uji antibakteri 28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN **29**

4.1 Isolasi Flavonoid 29
4.1.1 Ekstraksi dan fraksinasi 29
4.1.2 Pemurnian senyawa flavonoid 34
4.2 Pemurnian Fraksi Kayu Akar Kenangkan (*A. rigida*) 38
4.3 Analisis Spektrofotometri 42
4.3.1 Spektrofotometri UV-*Vis* 42
4.3.2 Spektrofotometri *IR* 46
4.4 Uji Antidiabetes Senyawa Sikoartobilosanton 50
4.5 Uji Antibakteri Senyawa Sikloartobilosanton 52

V. KESIMPULAN DAN SARAN **55**

5.1 Kesimpulan 55
5.2 Saran 55

DAFTAR PUSTAKA **56**

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Urutan kekuatan adsorben, polaritas eluen, dan senyawa organik pada kromatografi kolom (Christian, 1994) 14

2. Serapan sinar tampak dan warna yang diteruskan (Day dan Underwood, 2001) 15

3. Hasil uji fitokimia 30

4. Persen inhibisi α-amilase fraksi *n*-heksana, aseton, metanol, dan akarbosa sebagai kontrol positif (rata-rata ± SD; n = 2; p < 0,05) 31

5. Persen inhibisi α-amilase fraksi aseton dan akarbosa dengan variasi konsentrasi (rata-rata ± SD; n = 2; p < 0,05) 32

6. Perbandingan data absorbsi *IR* dari senyawa CD3b3d, G42 dengan sikloartobilosanton (Prihatin, 2022; Suhartati, 2001) 48

7. Perbandingan data absorbsi UV-*Vis* senyawa CD3b3d, G42 dengan sikloartobilosanton (Prihatin, 2022; Suhartati, 2001) 49

8. Persen inhibisi aktivitas enzim α-amilase oleh senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2), serta kontrol positif akarbosa dengan variasi konsentrasi (rata-rata ± SD; n = 2; p < 0,05) 51

9. Ukuran zona hambat dari senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2), dan *siprofloksasin* (kontrol +) terhadap bakteri *Salmonella* sp. 53

10. Ukuran zona hambat dari senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2), dan amoksisilin (kontrol +) bakteri *S. aureus.* 54

11. Data hasil pengukuran absorbansi uji bioaktivitas antidiabetes dari fraksi *n*-heksana, aseton, metanol dan akarbosa diukur pada panjang gelombang 600 nm. 70

12. Data hasil pengukuran absorbansi uji bioaktivitas antidiabetes dari fraksi aseton dan akarbosa dengan variasi konsentrasi diukur pada panjang gelombang 600 nm. 71

13. Data hasil pengukuran absorbansi uji bioaktivitas antidiabetes dari sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) dan akarbosa diukur pada panjang gelombang 600 nm. 72

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Batang tumbuhan kenangkan (*A. rigida)* (Hasanah, 2016)..... 6

2. Kerangka dasar flavonoid (Robinson, 1995). 7

3. Tiga jenis flavonoid (Achmad, 1986). 8

4. Struktur kimia dari beberapa jenis flavonoid (Tapas *et al*., 2008)..... 8

5. Kromatogram KLT fraksi hasil partisi metanol, aseton, dan *n*-heksana. 29

6. Grafik persen inhibisi fraksi *n*-heksana (HR), aseton (ASR), metanol (MR), dan akarbosa (ACR) (rata-rata ± SD; n = 2; p < 0,05)..... 31

7. Grafik persen inhibisi α-amilase fraksi aseton (ASR) dan akarbosa (ACR) dengan variasi konsentrasi (rata-rata ± SD; n = 2; p < 0,05). 33

8. Kromatogram lapis tipis hasil KCV fraksi hasil aseton di bawah sinar UV 254 nm dan (b) disemprot dengan larutan serium sulfat. 34

9. Kromatogram lapis tipis (a) hasil KCV fraksi C dan (b) hasil KCV fraksi D..... 35

10. Kromatogram lapis tipis hasil gabungan fraksi C dan D. 35

11. Kromatogram lapis tipis hasil KCV fraksi CD3: (a) dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan (b) disemprot dengan larutan serium sulfat.. 36

12. Kromatogram lapis tipis hasil KK fraksi CD3b. 36

13. Kromatogram KLT hasil KK fraksi CD3b3. 37

14. Kromatogram lapis tipis senyawa hasil isolasi CD3b3d menggunakan 3 sistem eluen: (a) MeOH:DCM 20%, (b) Aseton:n-heksana 40%, dan (c) EtOAc:n-heksana 30%. 37

15. Kromatogram KLT fraksi kayu akar *A. rigida* dan CD3b3d di bawah bawah sinar UV-*Vis*: (a) 254 nm dan (b) 366 nm..... 38

16. Kromatogram lapis tipis: (a) hasil kolom A2A dan (b) hasil kolom A2A4..... 39

17. Kromatogram lapis tipis: (a) hasil KK A1B' dan (b) hasil KK A1B'2. 39

18. Kromatogram lapis tipis gabungan fraksi A2A4 (A-C) dan A1B'2 (B-E). 40

19. Kromatogram lapis tipis hasil KK G42. 40

20. Kromatogram lapis tipis dari kanan ke kiri CD3b3d, G42B, dan G42E.41

21. Kromatogram lapis tipis 3 sistem eluen senyawa hasil isolasi G42 dalam: (a) MeOH:DCM 20%, (b) EtOAc:*n*-heksana 40%, dan (c) Aseton:*n*-heksana 20%. 41

22. Spektrum UV-*Vis* senyawa CD3b3d dalam MeOH..... 42

23. Spektrum UV-*Vis* senyawa G42 dalam MeOH. 42

24. Spektrum UV-*Vis* senyawa CD3b3d dalam: (a) MeOH dan (b) MeOH+NaOH. 43

25. Spektrum UV-*Vis* senyawa G42 dalam: (a) MeOH dan (b) MeOH+NaOH. 43

26. Spektrum UV-*Vis* senyawa CD3b3d dalam: (a) MeOH dan (c) MeOH+$AlCl_3$..... 44

27. Spektrum UV-*Vis* senyawa G42 dalam: (a) MeOH dan (c) MeOH+$AlCl_3$..... 44

28. Spektrum UV-*Vis* senyawa CD3b3d dalam: (a) MeOH, (c) MeOH+$AlCl_3$, dan (d) MeOH+$AlCl_3$+HCl..... 45

29. Spektrum UV-*Vis* senyawa G42 dalam: (a) MeOH, (c) MeOH+$AlCl_3$, dan (d) MeOH+$AlCl_3$+HCl..... 45

30. Spektrum *IR* senyawa CD3b3d dan G42. 46

31. Spektrum *IR* senyawa sikloartobilosanton (Prihatin, 2022)..... 47

32. Kromatogram lapis tipis sikloartobiloasanton (Prihatin, 2022), CD3b3d, dan G42 dalam eluen: (a) MeOH:DCM 20%, (b) EtOAc:*n*-heksana 40%, dan (c) Aseton:*n*-heksana 20%.. 47

33. Struktur sikloartobilosanton (Makmur *et al*., 1999). 49

34. Grafik inhibisi (%) senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) dan akarbosa dengan berbagai variasi konsentrasi (rata-rata ± SD; n = 2; $p < 0,05$)..... 51

35. Hasil uji antibakteri senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) terhadap *Salmonella* sp konsentrasi 0,3; 0,4; 0,5 mg/*disc*. 52

36. Hasil uji antibakteri senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) terhadap bakteri *S. aureus* konsentrasi 0,3; 0,4; 0,5 mg/*disc.* 53

37. Bagan alir penelitian isolasi CD3b3d kulit cabang *A. rigida*..... 63

38. Bagan alir penelitian isolasi G42 kayu akar *A. rigida*. 64

39. Bagan alir penelitian analisis spektrofotometri UV-*Vis* dan *IR* dan uji antidiabetes dan antibakteri kedua senyawa hasil isolasi *A. rigida*. . 64

40. Bentuk kristal sikloartobilosanton SA1/CD3b3d hasil isolasi kulit cabang *A. rigida* 69

41. Bentuk kristal sikloartobilosanton SA2/G42 hasil isolasi kayu akar *A. rigida* 69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Bagan alir Penelitian 63

3. Perhitungan koefisien absorpsivitas molar..... 65

4. Bentuk kristal sikloartobilosanton SA1 (senyawa CD3b3d hasil isolasi dari kulit cabang) dan SA2 (senyawa G42 hasil isolasi kayu akar *A. rigida*)… 69

5. Data hasil pengukuran absorbansi uji bioaktivitas antidiabetes dari fraksi *n*-heksana, aseton, metanol dan variasi konsentrasi akarbosa diukur pada panjang gelombang 600 nm. 70

6. Data hasil pengukuran absorbansi uji bioaktivitas antidiabetes dari sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) dan akarbosa diukur pada panjang gelombang 600 nm. 72

7. Perhitungan persen (%) inhibisi uji bioaktivitas antidiabetes enzim α-amilase Fraksi *n*-heksana, aseton, metanol, dan akarbosa pada konsentrasi 2000 ppm dan variasi konsentrasi aseton dan akarbosa. 73

8. Perhitungan persen (%) inhibisi uji bioaktivitas antidiabetes senyawa sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) dan akarbosa. 80

9. Perhitungan konsentrasi senyawa untuk uji antibakteri sikloartobilosanton (SA1 dan SA2) dan kontrol positif..... 87

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Penyakit diabetes merupakan salah satu penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar gula atau glukosa dalam darah. Secara umum, diabetes dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu diabetes tipe satu dan dua. Diabetes tipe satu atau autoimun terjadi akibat sistem kekebalan tubuh penderita menyerang serta menghancurkan sel-sel pankreas yang memproduksi insulin, sedangkan diabetes tipe dua terjadi jika tubuh dapat memproduksi cukup insulin, akan tetapi insulin tidak mampu membantu mengubah glukosa menjadi glikogen (Alam *et al*., 2014). Hal ini mengakibatkan peningkatan kadar glukosa dalam darah, sehingga terjadi kerusakan pada organ-organ tubuh.

Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan dengan pemberian injeksi insulin atau menggunakan obat-obatan modern, seperti antidiabetik oral yaitu sulfonilurea, biguanid, tiazolidindion yang bekerja dengan cara menginhibisi secara reversibel, berkompetisi dengan enzim pencernaan karbohidrat di usus seperti α-amilase, α-glukosidase, sukrase dan maltase. Inhibitor digunakan sebagai obat oral secara tunggal atau dalam kombinasi dengan perawatan lain (Adinortey *and* N'guessan, 2022). Pada pasien diabetes melitus, penghambatan terhadap enzim ini menyebabkan penghambatan terhadap absorbsi glukosa dan menurunkan hiperglikemia (Yuningtyas dan Artianti, 2015).

Pasien dengan diabetes tipe satu, memiliki riwayat diabetes kurang dari 10 tahun, dengan kontrol glikemik yang buruk, dan dengan komplikasi diabetes, terutama penyakit mikrovaskular, memiliki risiko terinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang lebih tinggi dibandingkan dengan pasien tanpa diabetes (Smit *et al*., 2016). Dalam perkembangan saat ini, banyak bakteri yang sudah resisten

terhadap penggunaan obat antibiotik secara umum. Bakteremia merupakan suatu kondisi bakteri yang hadir dalam aliran darah tetapi belum tentu berbahaya, namun bakteri akan terus berkembang biak dan dapat menyebabkan infeksi serius. Beberapa jenis bakteri yang dapat menimbulkan bakteremia adalah *S. aureus, Eschericia coli, Pneumococcus, Streptococcus, Salmonella,* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Salah satu solusi mengurangi dampak negatif dari penggunaan antibiotik adalah dengan obat yang berasal dari alam. Telah dilakukan penelitian dalam beberapa tahun terakhir untuk sifat terapeutiknya seperti sifat antibakteri, antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, hemolitik, antioksidan, larvasida dari tumbuh-tumbuhan, yang menjadikan tumbuhan digunakan sebagai sumber bahan baku obat (Singh *and* Solanki, 2022).

Saat ini pengobatan tradisional berbahan alam masih sangat diminati terutama di Indonesia. Hal ini dikarenakan masyarakat Indonesia cenderung memilih pengobatan tradisional yang telah digunakan secara turun temurun dan dalam proses sederhana, serta efek samping yang disebabkan obat tradisional relatif lebih rendah dibandingkan menggunakan obat sintetik. Beberapa tahun terakhir telah dilakukan penelitian menggunakan tumbuhan untuk pengobatan. Salah satu tumbuhan Indonesia yang bisa digunakan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan kenangkan (*Artocarpus rigida*) (Suhartati *et al.,* 2010) .

A. rigida merupakan tumbuhan endemik Indonesia dan telah banyak diteliti kandungan senyawa kimianya dan telah diketahui pada tumbuhan tersebut kaya akan senyawa flavonoid. Keunikan struktur flavonoid dari Artocarpus adalah terprenilasi pada C3 dalam molekul flavonoid (Nomura *et al.,* 1998). Dari ranting *A. rigida* yang berasal dari Indonesia telah diisolasi artonin O, artobilosanton, dan sikloartobilosanton, empat flavonoid terprenilasi baru dan sembilan senyawa yang sudah diketahui (Ren *et al*., 2010). Pada tahun 2018, telah diisolasi artonin E dari kulit akar *A. rigida* kemudian diesterifikasi menggunakan anhidrida asetat dengan katalis piridin menunjukkan bahwa senyawa ester memiliki aktivitas antikanker

yang hampir sama dengan artonin E terhadap sel kanker murine leukemia P-388 dengan IC_{50} sebesar 2,79 µg/mL dan stabilitasnya lebih baik dibandingkan dengan artonin E (Suhartati *et al*., 2018).

Pada penelitian ini, telah berhasil diisolasi senyawa flavonoid yaitu sikloartobilosanton yang berasal dari kulit cabang dan kayu akar tumbuhan kenangkan (*A. rigida*). Senyawa hasil isolasi telah diidentifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), spektrofotometri UV-*Vis* dan *IR*. Selain itu, juga telah dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp, serta uji antidiabetes menggunakan enzim α-amilase tipe IIA *Bacillus* sp. (dari Sigma).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mendapatkan senyawa flavonoid murni dari kulit cabang dan kayu akar *A. rigida*, dan identifikasi struktur.
2. Melakukan uji bioaktivitas antidiabetes serta antibakteri pada senyawa flavonoid hasil isolasi.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan memperluas pengetahuan mengenai senyawa yang terkandung dalam kulit cabang dan kayu akar tumbuhan kenangkan (*A. rigida*). Selain itu, memberikan informasi mengenai cara mengisolasi senyawa flavonoid, serta uji bioaktivitasnya sebagai antidiabetes dan antibakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Moraceae

Famili Moraceae termasuk dalam famili tumbuhan berbunga dan terdiri dari 38 genus dan lebih dari 1100 spesies. Jenis-jenis dari suku Moraceae tumbuh menyebar terutama di daerah tropika, kemudian di subtropis dan relatif sedikitmenyebar di daerah beriklim sedang (Christenhusz *and* James, 2016).

Karakter yang khas suku Moraceae adanya getah putih (latex) dan stipula yang sering rontok meninggalkan bekas yang jelas seperti kunat cincin (circular scars), kegunaan jenis-jenis Moraceae secara umum, diantaranya sebagai penghasil kayu, sumber pangan, buah, makanan ternak, lalap, tali temali, karet/lateks, ampelas, pakan ulat sutera, tanaman obat, tanaman hias, sarang lebah madu, dan tanaman pelindung dan spesies kunci di alam (marga Ficus) (Sahromi, 2020). Sebagian besar jenis-jenis Moraceae (±600jenis) tumbuh menyebar di hutan campuran tropis Asia dan Australasia, dimana sejumlah besar dari jenis genus Ficus dan diikuti oleh jenis dari genus Artocarpus (Sahromi, 2020). Tumbuhan dari famili Moraceae, khususnya Artocarpus sp. adalah yang paling banyak dipelajari dalam hal komposisi fenolik terprenilasi dan aktivitas antioksidannya yang sesuai (Chang *et al*., 2021).

2.2 Artocarpus

Beberapa spesies dari genus Artocarpus (Moraceae) telah dipelajari di laboratorium selama beberapa dekade terakhir. 13 taksa Artocarpus Indonesia yaitu *A. champeden, A. lanceifolius, A. teysmanii, A. scortechinii, A. rotunda, A. maingayi, A. kemando, A. bracteata, A. altilis, A. fretessi, A. gomezianus, A. reticulatus dan A. glaucus.* (Suhartati *et al*., 2001).

Perbungaan Artocarpus termasuk bunga mejemuk tak terbatas (inflorescentia racemosa), ujung ibu tangkai menebal, berdaging, mempunyai bentuk seperti gada, sedangkan bunga-bunganya terdapat pada seluruh bagian yang menebal tadi, sehingga tercapai bentuk bulat atau silinder (Tjitrosoepomo, 2005). Genus Artocarpus terdiri dari tanaman tropis dibudidayakan di Asia, terutama di Asia Selatan dan Tenggara (Boonyaketgoson *et al*., 2020). Genus ini merupakan sumber yang kaya flavonoid terprenilasi (PF) dan lebih dari 300 PF telah diisolasi (Ye *et al*., 2019). Senyawa flavonoid artonin E dan oxyresveratrol yang diisolasi dari *A. dadah* dan *A. rigida* dari Indonesia memiliki potensi sebagai obat antimalaria (Suhartati *et al.*, 2010).

2.3 *Artocarpus rigida* (Tumbuhan Kenangkan)

Artocarpus rigida (sinonim: *Artocarpus rotundus*) di Indonesia mempunyai banyak nama, yaitu kenangkan, kadodohok, tampunik, keledang, kosar, mandalika, purin, tampunai, tawan, peusar (Gambar 1). Distribusi jenis ini mulai dari Myanmar, Thailand, Sumatera, Semenanjung Melayu, Kalimantan, Jawa, dan Pulau Sunda Kecil. Habitat dari tumbuhan ini terdapat pada: Hutan hujan tropis hingga ketinggian 700-1000 m. Penggunaan penghasil kayu berkualitas untuk konstruksi. Buah matang dan segar bisa dimakan, mempunyai aroma yang khas dan enak dimakan (Sahromi, 2020).

Ranting *A. rigida* dari Indonesia telah diisolasi artonin O, artobiloxanthone, dan cycloartobilosanton, empat flavonoid terprenilasi baru dan sembilan senyawa yang diketahui (Ren *et al*., 2010). Beberapa senyawa tersebut bersifat sitotoksik terhadap sel kanker usus besar manusia HT-29, aktif pada NF-κB p50 dan uji p65. *A. rigida* yang dikenal sebagai buah telah dipelajari sebelumnya dan diperoleh beberapa senyawa turunan flavonoid seperti artonin E (Hernawan, 2008). Artonin E hasil isolasi dari *A. rigida* memiliki sifat sitotoksik tinggi untuk menyerang sel murine leukemia P-388 dan memiliki aktivitas antimalaria. Pada tahun 2017, analisis fitokimia fraksi ekstrak EtOAc dari batang *A. rigida* mengidentifikasi tujuh senyawa 4-chromenones terprenilasi baru, yaitu artocarmins G sampai

dengan M dan sembilan senyawa yang sudah diketahui. Pada uji aktivitas penghambatan tirosinase, norartocarpetin menunjukkan efek terkuat, dengan nilai IC_{50} 0,023 µM (Nguyen *et al*., 2017).

Kulit kayu *A. rigida* Blume telah diisolasi untuk artonin E, sedangkan standar yang digunakan kanamisin sulfat (konsentrasi 240 µg/*disc*), menghasilkan zona bening dengan diameter 2,2 cm, menunjukkan artonin E (konsentrasi 250 µg/*disc*) aktivitas antimikroba terhadap *E. coli* dan *B. subtilis* dan menghasilkan zona bening dengan diameter masing-masing 1,2 dan 0,9 cm, secara berurutan. Akibatnya, zat ini berpotensi untuk digunakan sebagai antibiotik (Suhartati *et al*., 2008).

Gambar 1. Batang tumbuhan kenangkan (*A. rigida)* (Hasanah, 2016).

2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

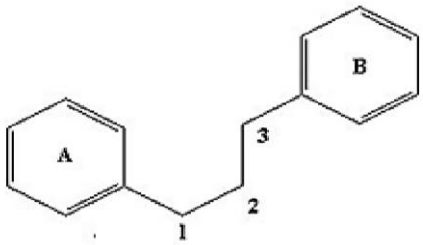
Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pertahanan tumbuhan dari gangguan hama penyakit atau saat berinteraksi dengan lingkungannya. Senyawa metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya (Setiana, 2011).

Kandungan metabolit sekunder dari famili Moraceae telah lama diteliti dan beberapa tahun terakhir, banyak kelompok penelitian yang meneliti metabolit sekunder spesies Artocarpus (Shah *et al*., 2006).

Berdasarkan penelusuran literatur terhadap genus Artocarpus, telah diisolasi berbagai jenis senyawa metabolit sekunder dengan bioaktivitas yang sangat menarik. Hasil penelitian tersebut telah menemukan banyak metabolit sekunder yang tergolong ke dalam kelompok senyawa senyawa terpenoid, flavonoid, stilbenoid, arilbenzofuran, neolignan, dan adisi Diels- Alder (Hakim , 2010).

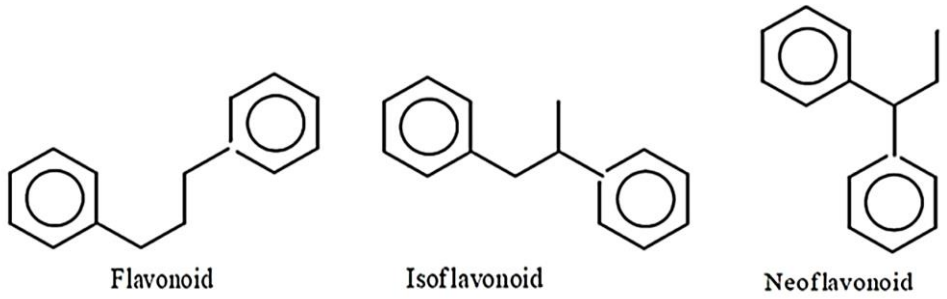
2.5 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok polifenol alami yang ditemukan di banyak sayuran, buah-buahan, biji-bijian dan teh. Flavonoid berperan penting dalam banyak bioaktivitas dan mengatur reaksi terhadap lingkungan tanaman. Flavonoid terdapat dalam makanan manusia yang memiliki efek antioksidan dan sifat bioaktif lainnya (misalnya sifat antimikroba dan antiinflamasi). Bioaktivitas flavonoid tersebut karena adanya gugus hidroksil pada benzena dari cincin C6-C3-C6 dalam struktur flavonoid (Shen *et al*., 2022). Flavonoid memiliki kerangka struktur umum yang terdiri dari dua cincin aromatik (A dan B) yang dihubungkan melalui tiga karbon yang melekat pada cincin-A, membentuk heterosiklik teroksigenasi (cincin C) (Sales *et al*., 2012). Kerangka dasar flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2



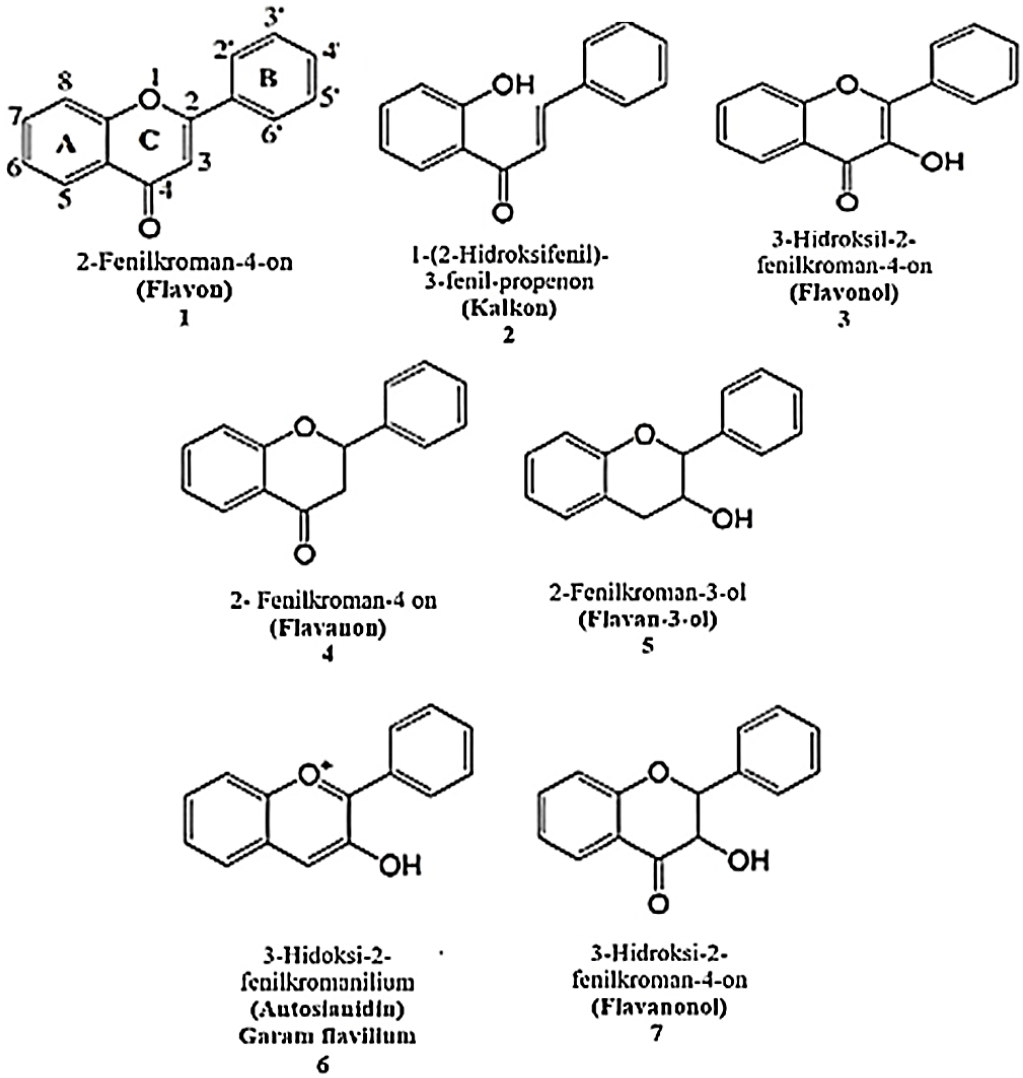
Gambar 2. Kerangka dasar flavonoid (Robinson, 1995).

Susunan kerangka dasar flavonoid ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yaitu flavonoid (1,3-diaril propana), isoflavonoid (1,2-diaril propana), neoflavonoid (1,1-diaril propana) seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Tiga jenis flavonoid (Achmad, 1986).

Senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis, tergantung pada tingkat oksidasi rantai propana (sistem 1,3-diaril propane). Struktur kimia dari beberapa jenis senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis yang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia dari beberapa jenis flavonoid (Tapas *et al*., 2008).

Pada tahun 2018, senyawa flavonoid sikloartobilosanton berhasil diisolasi dari kulit batang *A. gomezianus* Thailand, senyawa ini memiliki aktivitas antikanker, beberapa jenis sel kanker paru-paru melalui induksi apoptosis (Losuwannarak *et al*., 2018). Pada tahun 2012, pirano-sikloartobilosanton berhasil dideteksi dari *A. obtusus* FM Jarrett Malaysia, menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat dan sedang terhadap MRSA dan *Bacillus subtilis* dengan zona penghambatan masing-masing 20 dan 12 mm. Aktivitas lemah diamati untuk senyawa terhadap *E. coli*, *S. aureus* ATCC 6538 dan *Salmonella typhimurium* S865B dengan zona penghambatan kurang dari 10 mm (Hasyim *et al*., 2012).

Mekanisme potensi penghambatan enzim α-amilase dari flavonoid dikorelasikan dengan pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil pada cincin B flavonoid dengan residu katalitik dari tempat pengikatan enzim. Kapasitas penghambatan yang tinggi diamati pada kelompok flavonol dan flavon (Sales *et al*., 2012).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan (sampel) menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi khususnya yang berasal dari bahan tumbuhan dilakukan dengan cara mengelompokkan bagian tumbuhan, pengeringan, penggilingan dan pemilihan pelarut. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Ekstraksi dapat dilakukan dengan tidak bertingkat yaitu hanya digunakan satu pelarut untuk ekstraksi, sedangkan pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut.

Ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan, sedangkan ekstraksi tidak bertingkat menghasilkan senyawa yang terekstrak merupakan ekstrak total yang mampu terekstraksi dengan pelarut tersebut (Sudarmadji, 1989). Pelarut bersifat polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi yaitu air, metanol, etanol dan sebagainya, pelarut semi polar yaitu etil asetat, diklorometana dan sebagainya, sedangkan

pelarut yang bersifat nonpolar yaitu *n*-heksana, petroleum eter, kloroform dan sebagainya. Dalam ekstraksi, hasil ekstrak sulit dipisahkan dengan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa murni, sehingga ekstrak perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas yang sama (Tetti, 2014).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang digunakan baik skala kecil maupun industri, dilakukan dengan memasukkan serbuk simplisia dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Metode maserasi dapat menghindari senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (Tetti, 2014). 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. Setelah proses ekstraksi selesai larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring untuk dipisahkan dari bahan asalnya. Untuk meningkatkan rendemen, prosedur di atas dapat diulang sebanyak 2 atau 3 kali menggunakan ampas hasil ekstraksi pertama (Agung, 2017).

2.7 Fraksinasi

Partisi ekstrak adalah suatu usaha yang dilakukan untuk memisahkan komponen kimia dari ekstrak menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya (Tobo, 2001). Ekstrak (metanol, etanol 70%, atau etanol 96%) yang diperoleh masih sangat kompleks kandungan senyawanya. Untuk itu perlu dilakukan fraksinasi cair-cair atau partisi. Lazimnya untuk ekstrak metanol atau etanol 70% dilarutkan ke dalam air hingga tepat larut. Kemudian dipartisi bertingkat mulai dari *n*-heksana, kloroform, etil asetat, dan butanol (Saifudin, 2014).

Partisi cair-cair biasa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak

dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Untuk partisi cair-cair biasanya dilakukan di dalam corong pisah (Tobo, 2001).

2.8 Kromatografi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan distribusi komponen antara dua fasa, fasa diam (padat atau cair) dan fasa gerak (cair atau gas), sehingga terjadi perbedaan migrasi dari masing-masing komponen. Metode pemisahan kromatografi sangat bergantung pada jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan menentukan interaksi yang terjadi antara analit dengan fase diam dan gerak (Wulandari, 2010). Bahan dari silika paling sering digunakan untuk memisahkan aglikon yang kurang polar, misalnya isoflavon, flavanon, metil flavon, dan flavonol, menggunakan jenis silika: Kieselgel 60, 70-230 mesh (Merck) untuk kromatografi kolom (Markham, 1988).

Untuk mengisolasi senyawa flavonoid digunakan beberapa teknik kromatografi antara lain kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom (KK).

2.8.1 Kromatografi lapis tipis (KLT)

KLT adalah salah satu metode analisis pemisahan yang cepat dan memerlukan bahan yang sedikit. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon. Tetapi pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunannya tidak jauh berbeda, seringkali harga Rf berdekatan satu sama lainnya (Sastrohamidjojo, 2002). Menurut Markham (1988), KLT berguna untuk beberapa tujuan berikut:

a. Mencari eluen yang akan digunakan pada kromatografi kolom;

b. Analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom;

c. Menyelidiki perkembangan reaksi seperti esterifikasi, hidrolisis, atau metilasi;
d. Identifikasi flavonoid secara ko-kromatografi;
e. Isolasi flavonoid murni skala kecil.

KLT berupa plat dari kaca, logam, atau lapisan yang cocok yang menyangga fase diam dari bahan silika atau bahan lainnya yang dilapiskan ke permukaan plat. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada plat yang sudah disiapkan. Setelah itu, plat KLT diletakkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak) (Stahl, 2013). Pemisahan senyawa terjadi berdasarkan perbedaan kekuatan adsorbsi antara senyawa dengan adsorben dan sifat kepolaran yang sama dengan fase geraknya. Selanjutnya, senyawa yang telah dielusi dalam plat KLT dilihat pola pemisahan noda-noda dari senyawa yang dielusi. Untuk senyawa yang tidak berwarna harus direaksikan dengan penampak noda (pada flavonoid dapat digunakan serium sulfat). Noda yang nampak pada plat KLT dapat dihitung nilai Rfnya, yaitu perbandingan jarak yang ditempuh noda dibagi dengan jarak yang ditempuh eluen.

Nilai Rf (*Retordation Factor*) dapat dihitung menggunakan Persamaan (1)

$$\text{Rf} = \frac{\text{Jarak titik noda dari titik awal}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen dari titik awal}} \qquad (1)$$

Nilai Rf beragam mulai dari 0 sampai 1. Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai Rf adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat adsorben, tebal dan kerataan dari lapisan adsorben, pelarut dan derajat kemurniannya, derajat kejenuhan uap pengembang dalam bejana, teknik percobaan, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu, dan kesetimbangan (Sastrohamidjojo, 2002). Identifikasi kemurnian dapat dilakukan dengan metode KLT menggunakan variasi campuran eluen. Suatu senyawa dikatakan murni bila noda dalam plat KLT yang masing-masing telah dielusi dengan berbagai variasi eluen, menunjukkan noda tunggal (Khopkar, 2002).

2.8.1 Kromatografi cair vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) merupakan salah satu metode pemisahan golongan senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan silika gel 60 (silika untuk membuat KLT) sebagai adsorben yang dielusi dengan eluen yang sesuai, dan dilengkapi pompa vakum untuk mempercepat elusi. Urutan eluen yang digunakan dimulai dari eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang rendah yang ditingkatkan secara perlahan. Eluen yang memiliki kepolaran rendah dituangkan ke dalam permukaan penyerap lalu di vakum. Kolom dihisap sampai kering dan siap digunakan (Hostettmann dkk., 1995).

2.8.2 Kromatografi kolom (KK)

Kromatografi Kolom (KK) merupakan proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fasa diam berupa kolom dan fasa gerak yang dibiarkan untuk mengalir. Proses penyiapan fasa diam dalam kolom terbagi menjadi dua macam, yaitu cara basah dan cara kering. Pada cara basah, fasa diam disuspensikan terlebih dahulu ke dalam eluen yang akan digunakan. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom secara merata dan fasa gerak dibiarkan mengalir hingga terbentuk fasa diam yang tetap dan rata. Adapun cara kering, fasa diam atau adsorben yang akan digunakan pada KK dimasukkan ke dalam kolom kromatografi, kemudian dibasahi dengan pelarut atau fasa gerak yang akan digunakan (Hostettmann dkk., 1995).

Pemisahan komponen campuran dengan kromatografi adsorpsi berdasarkan kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang terserap pada fasa diam dan fasa gerak. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan senyawa organik dapat dilihat pada Tabel 1 karena tingkat adsorpsi tergantung pada polaritas molekul dan fasa gerak, serta aktivitas adsorben (Christian, 1994).

Tabel 1. Urutan kekuatan adsorben, polaritas eluen, dan senyawa organik pada kromatografi kolom (Christian, 1994)

Adsorben	Polaritas	
	Eluen	**Senyawa**
Selulosa	*Petroleum Eter*	Hidrokarbon jenuh
Gula	Karbontetra Klorida	Alkena
Asam Silika (Silika Gel)	Benzena	Hidrokarbon Aromatik
Florisil (Magnesium Silikat)	Kloroform	Eter
Aluminium Oksida (Alumina)	Dietil Eter	Aldehida, keton, ester
	Etil Asetat	Alkohol
	Aseton	Asam Karboksilat
	Etanol	
	Metanol	
	Air	

Keterangan: Semakin ke bawah, kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan senyawa pada kromatografi kolom semakin tinggi.

2.9 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan ilmu yang mempelajari tentang spektrofotometer dan penggunaannya. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang yang terdiri dari spektro dan fotometer.

2.9.1 Spektrofotometri UV-*Vis*

Spektrofotometri UV-*Vis* merupakan ilmu yang mempelajari interaksi antara radiasi elektromagnetik sinar UV-*Vis* dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia, diukur menggunakan alat spektrofotometer. Prinsip analisis spektrofotometri UV-*Vis* pada senyawa organik adalah interaksi senyawa organik dengan mengabsorpsi sinar ultra lembayung dan sinar tampak, yang menyebabkan elektron ikatan dan non ikatan senyawa akan mengalami eksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Absorpsi sinar UV-*Vis* yang menyebabkan eksitasi elektron-elektron ini direkam dalam bentuk spektrum yang

dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan elektron-elektron yang terdapat dalam senyawa (Suhartati, 2017). Spektrum absorpsi daerah UV-*Vis* sekitar 220–800 nm. Spektrofotometri UV-*Vis* dapat digunakan baik untuk sampel berwarna maupun tidak berwarna (Day dan Underwood, 2001). Senyawa yang mengabsorpsi pada sinar UV umumnya tidak berwarna, sedangkan senyawa berwarna akan mengabsorpsi sinar tampak yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Serapan sinar tampak dan warna yang diteruskan (Day dan Underwood, 2001)

Serapan sinar tampak (nm)	Warna yang diteruskan	Warna yang diserap
400-435	Ungu	Hijau – Kekuningan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru-Kehijauan	Jingga
490-500	Hijau-Kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu Kemerahan
560-580	Hijau-Kekuningan	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Biru Kehijauan
610-750	Merah	Hijau Kebiruan

Menurut Markham (1988), spektrum khas untuk senyawa flavonoid terdiri atas dua panjang gelombang maksimal yaitu pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Pita I merupakan serapan maksimum yang menunjukkan adanya gugus sinamoil pada cincin B dan pita II menunjukkan adanya gugus benzoil pada cincin A.

Senyawa flavonoid banyak mengandung gugus hidroksil yang keterikatannya pada flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser. Pereaksi geser NaOH digunakan untuk mendeteksi keberadaan gugus hidroksil yang lebih asam dan tidak tersubstitusi. Menurut Markham (1988), pergeseran batokromik dengan rentang +45-65 nm disertai intensitas meningkat di puncak serapan di pita I pada pereaksi NaOH menunjukkan adanya gugus 4’-OH. Pergeseran dengan

intensitas menurun pada pita I menunjukkan adanya gugus 3,4'-OH, *o*-dihidroksil pada cincin A, dan 3-OH yang berdampingan pada cincin B (Markham, 1988).

Penentuan kedudukan gugus hidroksil bebas pada struktur flavonoid selanjutnya dilakukan dengan pengukuran penambahan pereaksi geser $AlCl_3$ dan $AlCl_3$/HCl. Pereaksi ini berfungsi untuk mendeteksi adanya gugus hidroksil pada posisi C5 yang membentuk kompleks tahan asam dengan keton serta mendeteksi gugus *o*-dihidroksil pada cincin B yang membentuk kompleks tak tahan asam, ditandai dengan adanya pergeseran batokromik +35 sampai +55 nm. Pada penambahan HCl ($AlCl_3$/HCl) jika terdapat gugus *o*-dihidroksil pada cincin B maka akan terjadi pergeseran dengan intensitas rendah (menurun) pada pita I sebesar 30-40 nm (Markham, 1988).

2.9.2 Spektrofotometri *IR*

Dua tipe spektrofotometer inframerah biasa digunakan di laboratorium organik: instrumen *dispersive* dan *Fourier Transform* (FT). Keduanya merupakan tipe instrumen yang memberikan spektra dari suatu senyawa dalam pergeseran tertentu dari 4000 cm^{-1} sampai 400 cm^{-1}. Meskipun keduanya memberikan hasil spektrum yang hampir sama pada suatu senyawa, spektrometer FT-IR (*Fourier Transfer-infrared*) memberikan hasil spektrum inframerah lebih cepat dan menghasilkan bentuk spektrum lebih halus dibandingkan instrumen *dispersive* (Pavia *et al.*, 2001). Prinsip spektrofotometer inframerah berasal dari pentransmisian cahaya yang melewati sampel senyawa organik, selanjutnya pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel (blanko) sebagai fungsi panjang gelombang. Prinsip analisis *IR* adalah interaksi materi dengan sinar inframerah, interaksi ini menghasilkan absorbsi sinar *IR* oleh senyawa yang dapat meningkatkan vibrasi dari ikatan-ikatan dalam molekul senyawa organik (Stuart, 2004). Hasil interaksi dihasilkan spektrum inframerah yang diplot sebagai intensitas fungsi energi dan panjang gelombang (µm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam dkk., 2007).

Puncak-puncak absorbsi pada spektrum inframerah dari senyawa yang mengandung flavonoid memberikan petunjuk adanya vibrasi gugus OH di daerah serapan 3400 cm^{-1}, C=O gugus ester pada 1600 cm^{-1} dan C=O gugus keton 1660 cm^{-1}. Vibrasi gugus-gugus tersebut merupakan gugus utama yang terdapat pada kerangka flavonoid (Wijono, 2003). Selain itu, juga terdapat vibrasi gugus hidroksil pada serapan 3451 cm^{-1}, karbonil terkonjugasi pada 1646 cm^{-1} dan adanya serapan pada 1556 dan 1465 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi karbon-karbon pada cincin aromatik benzene (Ee *et al*., 2011).

Spektroskopi IR digunakan juga untuk mengkonfirmasi identitas suatu senyawa. Jika dua sampel murni memberikan spektrum IR yang berbeda pada daerah sidik jari, kedua sampel mewakili senyawa yang berbeda. Tetapi jika dua sampel memberikan spektrum sidik jari, kedua sampel mewakili senyawa yang sama (Yadav, 2005).

2.10 Diabetes

Diabetes dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori besar yaitu diabetes tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 1, yang dikenal sebagai diabetes ketergantungan terhadap insulin, adalah salah satu gangguan metabolisme yang paling umum terjadi pada masa kanak-kanak (Atkinson *et al*., 2014). Patogenesis diabetes tipe 1 melibatkan penghancuran autoimun yang dihubungkan oleh sel T dari sel beta pankreas yang menghasilkan insulin. Selanjutnya, ini menyebabkan defisiensi sekresi insulin dalam tubuh, yang mengakibatkan glukosa tidak bisa diubah menjadi glikogen dan mengakibatkan tingginya kadar glukosa dalam darah (Simmons *and* Michels, 2015).

Salah satu cara untuk mengurangi tingginya kadar glukosa dalam darah yaitu dengan memberikan obat yang bekerja sebagai inhibitor pada enzim α-amilase dan α-glukosidase. Penghambatan terhadap enzim α-amilase dan α-glukosidase dapat menunda dan memperlambat waktu cerna karbohidrat, menyebabkan penurunan laju absorbsi glukosa dan mencegah peningkatan kadar glukosa dalam

darah (Sales *et al*., 2012; Yuningtyas dan Artianti, 2015). Penentuan aktivitas enzim α-amilase menggunakan metode Fuwa (1954), dengan prinsip pengukuran sisa substrat yang tidak terhidrolisis oleh enzim α-amilase yang menghasilkan oligosakarida dan glukosa. Substrat yang tidak terhidrolisis menghasilkan kompleks berwarna biru dengan iodin dan dapat diamati absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-*Vis* pada panjang gelombang 600 nm (Fuwa, 1954; Sudha *et al.,* 2011).

2.11 Amilase

Enzim amilase dibagi menjadi tiga golongan yaitu: α-amilase, β-amilase, dan glukoamilase. α-amilase, merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses degradasi pati, dengan memotong ikatan α-1,4- glikosidik dari bagian dalam pati yang menghasilkan glukosa, maltosa, atau dekstrin. Enzim β-amilase adalah enzim yang memotong ikatan α-1,4-glikosidik pada bagian ujung gula pereduksi menghasilkan maltosa. Glukoamilase adalah enzim amilase yang memotong ikatan α-1,4 -glikosidik menghasilkan glukosa (Xiao *et al.,* 2006).

2.12 Bakteri

Bakteri merupakan salah satu golongan organisme prokariotik yang tidak memiliki membrane sel yang memisahkan antara inti dengan sitoplasma. Bakteri memiliki DNA yang berbentuk sirkuler dan linier yang akan diterjemahkan ke molekul protein (Jawetz *et al.,* 2005).

Bakteri patogen adalah bakteri yang mampu menyebabkan penyakit dan dapat menyebar melalui populasi manusia dalam berbagai cara. Pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri patogen melibatkan penggunaan antibiotik, obat yang telah diformulasikan khusus untuk membunuh bakteri (Hanafiah, 2005).

2.12.1 *Salmonella* sp.

S. aureus merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, tidak bergerak, anaerob fakultatif, tumbuh optimal pada suhu 30-37℃ dan tumbuh baik pada 1-7% NaCl. Koloni biasanya buram, bisa berwarna putih atau keputihan dan terkadang kuning-oranye. Bakteri ini mempunyai enzim katalase dan tidak memiliki enzim oksidase, mampu mengubah nitrat menjadi nitrit. *S. aureus* telah diidentifikasi tidak hanya menyebabkan infeksi kulit tetapi juga menyebabkan limfoma kulit (Fuji, 2022). Beberapa antibiotik dapat digunakan untuk membunuh *S. aureus*, antara lain ampisilin, penisilin, tetrasiklin, kloksasilin, sefalosporin, vankomisin dan metisilin (Tirta, 2010).

2.12.2 *Staphylococcus aureus (S. aureus)*

Salmonella sp adalah mikroorganisme intraseluler fakultatif, bersifat Gram-negatif dan patogen yang menyebabkan 1,3 miliar kasus penyakit setiap tahunnya. *Salmonella* menyebabkan infeksi gastroenteritis dengan gejala: diare, kram, mual, muntah, dan demam. Kontaminasi *Salmonella* pada berbagai makanan menjadi masalah kesehatan masyarakat yang signifikan, baik secara domestik maupun internasional, dengan menginfeksi jutaan orang setiap tahun. Diperkirakan 30,6% kematian disebabkan oleh bakteri yang dikonsumsi dalam makanan (Santus *et al*., 2022). Tiga antibiotik utama yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella* sp. yaitu siprofloksasin, gentamisin, dan amikasin (Susmita *et al*., 2022).

2.13 Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa/zat yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen. Banyak senyawa yang dapat digunakan sebagai agen antibakteri. Agen antibakteri dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu:

a) Agen antibakteri bakteriostatik

Senyawa ini bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri, tidak membunuhnya, jadi itu sangat tergantung pada daya tahan tubuh bakteri, bekerja

menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom(Madigan *and* Martinko, 2006). Agen antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah eritromisin, kloramfenikol, sulfonamida, linmisin, paraaminosalisilat, tetrasiklin dan lain-lain.

b) Agen antibakteri yang membunuh bakteri

Agen antibakteri ini bekerja dengan cara membunuh atau memusnahkannya secara aktif. Antibiotik ini termasuk penisilin, sefalosporin, aminoglikosida dosis tinggi, isoniazid dan lainnya

(c) Agen antibakteri bakteriolitik

Agen antibakteri ini bekerja dengan cara memecah sel bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat dikenal dari penurunan jumlah sel atau kekeruhan setelah menambahkan agen antibakteri bakteriolitik (Madigan *and* Martinko, 2006). Jika bakteri diberi antibiotik dari waktu ke waktu, mereka menjadi kebal atau resisten. Mekanisme resistensi antibiotik (Blair *et al.*, 2015) adalah sebagai berikut:

1) Memblokir antibiotik dengan mengubah dinding sel sehingga tidak bisa ditembus oleh antibiotik. Kelompok bakteri ini pada dasarnya resisten terhadap antibiotik tertentu karena tidak ada tempat pengikatan antibiotik pada membran sel yang bersifat semipermeabel.

2) Perubahan pada tempat target yang mengurangi kemampuan antibiotik untuk berikatan. Dalam hal ini, bakteri mengalami mutasi gen yang mengubah kerja antibiotik dengan cara mengurangi efektivitasnya

3). Menghasilkan enzim yang dapat memecah antibiotik (Blair *et al*., 2015).

2.14 Uji Antibakteri

Uji antibakteri penting dilakukan untuk mengetahui kemampuan senyawa yang bersifat antibakteri dan adanya resistensi pada suatu isolat bakteri (Jorgensen *and* Ferraro, 2009). Uji bioaktivitas antibakteri terdiri dari dua metode utama yaitu:

(a) Metode difusi

Pada metode ini sampel akan berdifusi ke lempeng agar yang telah ditanami bakteri. Teknik ini dilakukan dengan menginokulasikan mikroba secara merata diseluruh permukaan media agar, lalu sampel yang telah diimpregnasikan pada kertas *disc*, diuji dengan cara ditempatkan di atas permukaan agar. Setelah waktu inkubasi selama 18-24 jam akan terbentuk zona hambat di sekeliling *disc* yang mengandung sampel. Pengamatan didasarkan ada atau tidaknya zona hambat pertumbuhan bakteri di sekeliling kertas *disc* (Jawetz *et al*., 2005). Daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat terbagi dalam kategori: sangat kuat (lebih dari 20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm), dan lemah (kurang dari 5 mm) (Davis *and* Stout, 1971).

(b) Metode dilusi

Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) sampel terhadap bakteri. Metode dilusi ini dilakukan dengan mencampurkan zat antibakteri dengan media yang kemudian diinokulasikan dengan bakteri. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan tingkat kekeruhan dan dapat diukur absorbansinya (Lorian, 1980).

Uji antibakteri senyawa flavonoid dengan metoda difusi telah dilakukan. Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan, diketahui senyawa flavonoid artonin E (konsentrasi 250 µg/*disc*) yang diisolasi dari kulit akar *A. rigida* Blume aktivitas antibakteri mempunyai terhadap bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat 12 mm (kategori kuat) dan 9 mm (kategori sedang) (Suhartati *et al*., 2008).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Desember 2022 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah spektroskopi UV-*Vis*, uji bioaktivitas antibakteri dan antidiabetes dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. dan spektroskopi inframerah (*IR*) dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi-Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat–alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, *rotary evaporator* Heidholp, alat kromatografi lapis tipis (KLT), Kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), lampu UV λ 254 dan 366 nm, pipa kapiler, neraca analitik, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF) 9005-FL Crumair Spain, jarum ose, cawan petri, inkubator, Bunsen, mikropipet, spektroskopi *IR* Cary 630 Agilent USA, dan spektroskopi UV- Vis Cary 100 UV-*Vis* Agilent Australia.

Adapun bahan yang digunakan kulit cabang dan kayu akar tumbuhan kenangkan (*A. rigida)* yang diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung, Indonesia.
Serium sulfat ($Ce(SO_4)_2$) 1,5% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 15%, akuades.
Pelarut diklorometana, metanol, aseton, etil asetat, dan *n*-heksana dalam kualitas teknis yang telah didestilasi, kloroform p.a. Pereaksi Mayer (campuran

1,358 g $HgCl_2$ dalam 60 mL akuades +5 g KI dalam 10 mL akuades, yang diencerkan dalam labu takar hingga 100 mL), serbuk Mg, HCl pekat, asam asetat glasial, dan asam sulfat pekat. Silika gel 60 G *for TLC* Merck Germany, silika gel 60 (0,063-0,200 mm) *for column chromatography* Merck Germany, plat KLT silika gel *60* F_{254} Sigma-Aldrich Germany. NaOH 2 M, dan $AlCl_3$ 5%.

Bahan-bahan uji bioaktivitas antibakteri meliputi kertas Whatman no. 42, akuades, media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *S. aureus*, bakteri *Salmonella* sp., *siprofloksasin*, dan amoksisilin. Sedangkan bahan-bahan uji bioaktivitas antidiabetes meliputi sampel, pelarut DMSO, enzim α-amilase tipe II A *Bacillus* sp. dari Sigma, pati 1%, akarbosa, larutan iodin 0,2% dalam larutan kalium iodida 2%.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengumpulan dan persiapan sampel

Sampel berupa kulit cabang tumbuhan kenangkan dipisahkan antara kulit cabang dan kayunya. Kulit cabang kemudian dibersihkan dari pengotor yang menempel, dipotong-potong sampai berukuran kecil, kemudian sampel tersebut dikeringkan dan dihaluskan.

3.3.2 Ekstraksi sampel secara maserasi

Serbuk kulit cabang tumbuhan kenangkan (*A. rigida*) sebanyak 4 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol selama 24 jam sebanyak tiga kali pengulangan. Maserat yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan alat penguap *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan 110 rpm hingga diperoleh ekstrak.

3.3.3 Fraksinasi ekstrak

Setelah mendapatkan ekstrak metanol, dilakukan pemisahan secara partisi menggunakan *n*-heksana dengan perbandingan volume antara pelarut *n*-heksana:ekstrak metanol (1:1) sebanyak tiga kali pengulangan menggunakan corong pisah, kemudian fraksi *n*-heksana dan metanol diuapkan. Fraksi metanol yang telah pekat dilarutkan dalam aseton, dan didapatkan fraksi aseton dan metanol. Masing-masing fraksi diuapkan pelarutnya dan ditimbang beratnya. Fraksi-fraksi yang dihasilkan dilakukan uji fitokimia.

3.3.4 Uji fitokimia

3.3.4.1 Uji saponin

Pada uji saponin 0,5 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL aquades, dan dikocok selama 30 detik.

3.3.4.2 Uji alkaloid

Sebanyak 0,2 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 tetes kloroform, dan ditambahkan 5 tetes pereaksi Mayer.

3.3.4.3 Uji steroid/terpenoid

Pada uji steroid/terpenoid sebanyak 0,5 mL sampel fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,5 mL asam asetat glassial, dan ditambahkan 0,5 mL asam sulfat pekat.

3.3.4.4 Uji flavonoid

Sebanyak 0,5 mL sampel fraksi polar dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 gram serbuk Mg, ditambahkan 5 tetes HCl pekat.

3.3.5 Isolasi

3.3.5.1 Kromatografi cair vakum (KCV*)*

Dari ketiga fraksi, fraksi aseton yang dipartisi lebih lanjut dengan cara KCV, menggunakan adsorben silika gel G 60 (*for TLC*) sebanyak 10 kali berat sampel yang dikemas dalam keadaan kering. Kemudian silika gel yang telah dikemas, divakum dengan alat vakum hingga padat dan rata. Selanjutnya silika gel ditutup

dengan kertas saring dan dituangkan *n*-heksana 100% dalam keadaan divakum. Pengulangan penambahan *n*-heksana dilakukan hingga tidak ada rongga yang nampak dan tetesan pelarut. Setelah itu, kertas saring diambil lalu ditambahkan sampel yang telah diimpregnasi ke silika gel 60 (untuk kromatografi kolom) dan di bagian atas sampel ditutup dengan kertas saring, selanjutnya dielusi. Elusi sampel dimulai dari *n*-heksana yang ditingkatkan kepolarannya menggunakan etil asetat. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari KCV dilakukan KLT. Berdasarkan kromatogram dari KLT, fraksi-fraksi dengan Rf yang sama digabungkan. Fraksi hasil gabungan di KLT kembali, lalu ditentukan fraksi yang berpotensi mengandung senyawa flavonoid dan dimurnikan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom (KK).

3.3.5.2 Kromatografi kolom (KK)

Fraksi hasil KCV dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi kolom. Eluen yang akan digunakan dalam KK ditentukan berdasarkan KLT fraksi yang akan di KK. Eluen dipilih dari KLT tersebut yang memiliki Rf 0,2 sampai 0,3. Pada KK digunakan silika gel 60 (untuk kromatografi kolom) sebagai adsorben dengan eluen yang telah ditentukan.

3.3.5.3 Kromatografi lapis tipis (KLT)

Sampel yang akan dilakukan KLT dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler ke permukaan plat silika. Setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT, plat KLT dikering anginkan pada suhu kamar, bercak/noda dalam plat dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 dan 254 nm. Selanjutnya plat KLT disemprot menggunakan larutan serium sulfat dan dimasukkan ke dalam oven suhu 80 ℃ selama 3 sampai 5 menit untuk menampakkan noda hasil KLT.

3.3.6 Analisis kemurnian

Analisis kemurnian sampel dilakukan menggunakan KLT dengan tiga sistem eluen berbeda yang menghasilkan noda tunggal di bawah sinar UV λ 254 dan 366 nm maupun setelah disemprot dengan serium sulfat. Hasil elusi menggunakan tiga sistem eluen berbeda tersebut memiliki noda tunggal dengan Rf masing-masing 0,2; 0,4; dan 0,8.

3.3.7 Analisis struktur

Senyawa murni yang telah diperoleh dalam bentuk padatan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* dan inframerah (*IR*).

3.3.7.1 Spektrofotometri UV-*Vis*

Senyawa murni sebanyak 0,001 g dimasukkan ke dalam labu takar10 mL dan dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas. Larutan sampel diukur serapannya untuk mendapatkan spektrum absorbsinya. Bila absorban sampel lebih besar dari 0,8, maka dilakukan pengenceran. Setelah itu, dilakukan pengukuran sampel masing- masing spektrum dengan penambahan pereaksi geser mulai dari NaOH, $AlCl_3$, dan $AlCl_3$+HCl.

3.3.7.2 Spektrofotometri IR

Senyawa murni 2 mg dihilangkan airnya dengan menggunakan oven, kemudian digerus bersama-sama dengan halida anorganik (KBr). Hasil gerusan sampel dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm^2 selama 10 menit. Setelah itu, pelet diukur puncak serapannya (Sudjadi, 1983).

3.3.8 Uji antidiabetes

Uji bioaktivitas antidiabetes ditentukan dengan metode iodin yang telah dimodifikasi (Fuwa, 1954). Pada pengujian ini dibuat 4 larutan yang berbeda (A1-A4) dan dilakukan secara duplo.
Larutan inhibitor dibuat dengan melarutkan 5 mg senyawa murni/fraksi dengan DMSO hingga 2,5 mL (2000 ppm).

Larutan A1: sebanyak 250 µL inhibitor senyawa murni/fraksi dan 250 µL larutan α-amilase dicampur sampai homogen dalam tabung reaksi. Larutan A2: 250 µL senyawa murni/fraksi ditambah 250 µL akuades dicampur sampai homogen. Larutan A3: 250 µL larutan α-amilase ditambahkan akuades 250 µL. Larutan A4: larutan pati sebanyak 250µL ditambahkan akuades 250 µL. Kemudian larutan A1-A4 diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, lalu ditambahkan 250 µL larutan pati 1% dan diikubasi kembali selama 30 menit pada suhu 37 ^{o}C. Setelah itu, keempat larutan ditambahkan larutan HCl 1 N (untuk menghentikan reaksi enzim) dan 250µL larutan iodin, lalu masing-masing larutan ditambahkan akuades sebanyak 4 mL. Kemudian, dari larutan ini diambil 1 mL dan diencerkan dengan 2 mL akuades, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada λ_{maks} 600 nm. Data pengukuran absorbansi ini digunakan untuk menghitung persentasi inhibisi.

Persentase inhibisi dihitung menggunakan Persamaan (2) menurut Mwakalukwa *et al.,* 2020.

$$\text{Inhibisi (\%)} = \left\{\left[1 - \frac{(A2-A1)}{(A4-A3)}\right] \times 100\right\} \qquad (2)$$

Keterangan:
A1 : absorbansi larutan yang berisi inhibitor, pati, dan enzim
A2 : absorbansi larutan yang berisi inhibitor dan pati
A3 : absorbansi larutan yang berisi pati dan enzim
A4 : absorbansi larutan pati.

3.3.9 Uji antibakteri

Uji bioaktivitas antibakteri berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bauer *et al*. (1966) menggunakan metode difusi kertas *disc*. Uji antibakteri menggunakan media *Nutrient Agar* (NA). Sebanyak 4,2 gram NA dilarutkan dalam akuades hingga volume akhir 150 mL, kemudian dipanaskan selama 15 menit sampai larut. Setelah itu, media agar dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL sebagai media dasar untuk dituangkan dalam cawan petri, 5 mL media agar dan 1 mL akuades/ tabung reaksi disiapkan untuk suspensi bakteri. Selanjutnya, semua alat dan bahan disterilisasi selama 15 menit dalam *autoclave* dengan tekanan 1 atm. Senyawa hasil isolasi sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150 µL metanol. Larutan ini selanjutnya di-impregnasi ke kertas *disc* yang masing-masing memiliki konsentrasi: 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/*disc*.

Pada uji antibakteri terhadap *S. aureus* digunakan kontrol positif amoksisilin, sedangkan uji antibakteri terhadap *Salmonella* sp. digunakan siprofloksasin. Konsentrasi kontrol positif dibuat sama dengan konsentrasi senyawa hasil isolasi.

Alat dan bahan yang telah disterilisasi ditempatkan ke dalam *Laminar Air Flow*, dan uji antibakteri selanjutnya dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Media agar 15 mL dituangkan ke dalam cawan petri, ditutup, dan permukaannya diratakan dengan cara digoyang. Setelah media memadat, tutup cawan petri dibuka dan dimasukkan media agar 5 mL yang sudah ditambahkan akuades yang berisi bakteri 1 *ose*,dibiarkan memadat kembali. Kemudian kertas *disc* yang berisi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan dipermukaan media yang berisi bakteri pada jarak seperempat media dalam cawan petri. Cawan petri ditutup dan pinggiran cawan petri disegel dengan *plastic wrap*, lalu dibungkus dengan kertas, kemudian diinkubasi ke dalam inkubator selama 1x24 jam. Setelah 1x24 jam, kertas pembungkus dibuka, zona bening yang terbentuk diamati dan diukur diameternya.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan hasil dari penelitian maka dapat disimpulkan:

1. Telah berhasil diisolasi senyawa sikloartobilosanton dari kulit cabang dan kayu akar *A. rigida* dan telah diidentifikasi menggunakan spekrofotometri UV-*Vis*, *IR*, dan KLT bersama senyawa standar.
2. Kedua senyawa sikloartobilosanton memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim α-amilase dengan persen inhibisi pada konsentrasi optimum 1000 ppm, sedangkan pada uji antibakteri terhadap bakteri *Salmonella* sp. maupun *S. aureus* memiliki kemampuan daya hambat dengan kategori kuat pada konsentrasi 0,3; 0,4; 0,5 mg/*disc*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk melakukan uji antidiabetes dengan konsentrasi senyawa sikloartobilosanton yang lebih rendah agar diperoleh hasil yang lebih optimum. Untuk uji antidiabetes, disarankan menggunakan metode lain dengan menggunakan enzim α-glukosidase.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta. Hlm. 39.

Adinortey, M. B. and N'guessan, B.B. 2022. H^+/K^+-ATPase Inhibitors from Plants: A Potential Source for Drug Discovery. In: Maheshwari, V.L., Patil, R.H. (eds) *Natural Products as Enzyme Inhibitors*. Springer. Singapore. Hlm 125-136.

Agung, N. 2017. Buku Ajar: *Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

Alam, U., Asghar, O., Azmi, S., and Malik, R. A. 2014. General aspects of diabetes melitus. *Clini Neuro J.* **126**: 211-221.

Anam, C., Firdausi, K. S., dan Sirojudin, S. 2007. Analisis gugus fungsi pada sampel uji, bensin dan spiritus menggunakan metode spektroskopi FTIR. *Berk. Fis. Indones*. **10**(1): 79–85.

Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., and Michels, A. W. 2014. Type 1 diabetes. *Lancet.* **383**(9911):69-82.

Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, M. J. and Truck, M. 1966. Antibiotic suscepbility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.* **45**(4): 493-6.

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., and Piddock, L. J. V. 2015. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol*. **13**: 42-51.

Boonyaketgoson, S., Du, Y., Valenciano, M. A. L., Cassera, M. B, Kingston, D. G. I., and Trisuwan, K. 2020. Flavanones from the twigs and barks of *Artocarpus lakoocha* having antiplasmodial and anti-TB activities. *Chem. Pharm. Bull*. **68**(7): 671–4.

Chang, S. K., Jiang, Y., and Yang, B. 2021. An update of prenylated phenolics: Food sources, chemistry and health benefits. *Trends. Food. Sci. Technol.* **108**: 197–213.

Christenhusz, M. J. M. and James, W. B. 2016. The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa.* **261**(3): 201-217.

Christian, G. D. 1994. *Analytical Chemistry* Fifth Edition Title. University of Washington John Wiley and Sons. USA.

Davis, W. W. and Stout, T. R. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Appl Microbiol*. **22**(4): 659-665.

Day, R. A dan Underwood, A. L. 2001. *Analisa Kimia Kuantitatif Edisi Keempat*. Erlangga. Jakarta.

Ee, G. C. L., Teo, S. H., Rahmani, M., Lim, C. K., Lim, Y. M. and Go, R. 2011. Artomandin, new xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Nat. Prod. Res*. **25**(10). 995-1003.

Fuji, K. 2022. Patogenesis limfoma sel T kulit: keterlibatan *Staphylococcus aureus*. *Dermatologi*. **49**(2): 202-209.

Fuwa, H. 1954. A new method of micro determination of amylase activity by the use of amylase as the substrate, *J. Biochem*. **41**: 583–603.

Hakim, A. 2010. Diversity of secondary metabolites from Genus Artocarpus (Moraceae). *Nus Biosci*. **2**(3): 146-156.

Hanafiah, K. A. 2005. *Biologi Tanah, Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Raja Grafindo Persada. Jawa Barat.

Hasanah, S. I. 2016. Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi Serta Uji Bioaktivitas Antibakteri dan Antijamur Senyawa Artonin E dari Fraksi Polar Kayu Akar Tanaman Kenangkan (*Artocarpus rigida*). *Skripsi.* Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Lampung.

Hasyim, N. M., Rahmani, M., Ee, G. C. L., Sukari, M. A., Yahayu, M., Amin, M. A. M., Ali, A. M., and Go, R. 2012. Antioxidant, antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of xanthones isolated from *Artocarpus obtusus* F.M. Jarrett. *Molecules*, **17**(5): 6071–6082.

Hernawan. 2008. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang *Artocarpus rigida*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.

Hostettmann, K., Hostettman, M., dan Manson, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 27-34.

Jawetz, E., Melnick, and Adelberg. 2005. *Medical Microbiology*. 23th Edition. Mc Graw Hill Company. USA.

Jorgensen, J. and Ferraro, M. 2009. Antimivrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clin. Infect. Dis.* **49**: 55-1749.

Khopkar, S. N. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.

Losuwannarak, N., Sritularak, B., and Chanvorachote, P. 2018. Cycloartobiloxanthone induces human lung cancer cell apoptosis via mitochondria-dependent apoptotic pathway. *In Vivo*. **32**(1): 71–78.

Lorian, V. 1980. *Antibiotics in Laboratory Medical*. Wiliam and Wilkins Co., Baltimore. London. Hlm. 170-178.

Madigan, M. T. and J. Martinko.2006. *Brock Biology of Microorganisms*. Eleventh Edition. Pearson Education, Inc. USA. Hlm. 641-645.

Makmur, L., Syamsurizal., Tukiran., Syamsu, Y., Achmad, S. A., Aimi, N., Hakim, E. H., Kitajima, M., Mujahidin, D., dan Takayama, H. 1999. Artonol B dan sikloartobilosanton dari Tumbuhan *Artocarpus teysmanii*. *Proc ITB.* **31**(2): 63-68.

Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm 3-49.

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.

Nguyen, M. T. T., Le, T. H., Nguyen, H. X., Dang, P. H., Do, T. N. V., Abe, M., Takagi, R., and Nguyen, N. T. 2017. Artocarmins G-M, Prenylated 4-Chromenones from the Stems of *Artocarpus rigida* and Their Tyrosinase Inhibitory Activities. *J Nat Prod*. **80**(12): 3172–3178.

Nomura, T., Hano S., and Aida, M. 1998. Isoprenoid-substitued flavonoid from Artocarpus plants (moraceae). *Heterocycles*. **47**(2): 1179-1205.

Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., and Vyvyn, J. R. 2001. *Introduction to Spectroscopy*. Brooks Cole. United States of America. Hlm 20-24.

Pinaffi, A. C. D. C., Sampaio, G. R., Soares, M. J., Shahidi, F., de Camargo, A. C., and Torres, E. A. F. S. 2020. Insoluble-bound polyphenols released from guarana powder: Inhibition of α-glucosidase and proanthocyanidin profile. *Molecules*. **25**(3): 679.

Prihatin, A. S. 2022. Isolasi, Karakterisasi, Senyawa Flavonoid dari Kayu Batang Tumbuhan Pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) serta Uji Bioaktivitas Senyawa Hasil Isolasi. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.

Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Tomé, S. M., Oliveira, E. F. T., Viegas, M. F., Araújo, A. N., Ramos, M. J., Silva, A. M. S., Fernandes, P. A., and Fernandes, E. 2019. Evaluation of a flavonoids library for inhibition of

pancreatic α-amylase towards a structure–activity relationship. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem*. **34**(1): 577–588.

Ren, Y., Kardono, L. B. S., Riswan, S., Chai, H., Farnsworth, N. R., Soejarto, D. D., Carcache De Blanco, E. J., and Kinghorn, A. D. 2010. Cytotoxic and NF-κB inhibitory constituents of *Artocarpus rigida*. *J. Nat. Prod*. **73**(5), 949–955.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung

Sahromi, 2020. Konservasi ex situ famili moraceae di kebun Raya Bogor, Jawa Barat. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon*. **6**(1): 530–536.

Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta.

Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., and Silveira, D. 2012. α-Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *J. Pharm. Pharm.* **15**(1): 141–183.

Santus, W., Rana, A. P., Devlin, J. R., Kiernan, K. A., Jacob, C. C., Tjokrosurjo, J., and Behnsen, J. 2022. Mycobiota and diet-derived fungal xenosiderophores promote *Salmonella* gastrointestinal colonization. *Nat. Microbiol*. **7**(12): 2025-2038.

Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta. Hlm 35-36.

Setiana. 2011. *Pengetahuan, Sikap, dan Praktik Mahasiswa Fakultas Kedokteran terhadap Pencegahan Infeksi*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Shah, Y. M., Juliawaty, L. D., Achmad, S. A., s, E.H., and Ghisalberti, E. L. 2006. Cytotoxic prenylated flavones from *Artocarpus champeden*. *J Nat Med*. **60**: 308-312.

Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., and Jin, B. 2022. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food. Chem*. **383**. 132531.

Simmons, K. M. and Michels, A. W. 2015.Type 1 diabetes: A predictable disease. *World J Diabetes*. **6**(3): 380-390.

Singh, A. K. and Solanki, D. S. 2022. Antibacterial activity of ethanol extract of *Calotropis giganatea* leaves against *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogens, Salmonella typhi,* and *Pseudomonas aeruginosa. J Med Plants Stud*. **10**(1): 171–174.

Smit, J., Søgaard, M., Schønheyder, H. C., Nielsen, H., Frøslev, T., and Thomsen, R. W. 2016. Diabetes and risk of community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia: a population-based case-control study. *Eur. J. Endocrinol.* **174**(5), 631–639.

Stahl, E. 2013. *Thin-Layer Chromatography:* A Laboratory Handbook. Springer Science and Business Media. Berlin.

Stuart, B. 2004. *Infrared Spectroscopy Fundamentals and Applications*. John Wiley and Sons. New York.

Sudarmadji, S., Haryono., dan Suhardi, B. 1989. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian, edisi ketiga*. Badan Pengembangan dan Penelitian Industri Surabaya. Surabaya. Hlm. 56-57.

Sudha, P., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., and Kumar, A. R. 2011. Potent α-amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complement Altern. Med*. **11**(1): 1-10.

Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hlm 283

Suhartati, T. 2001. Senyawa Fenol dari Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia. *Disertasi*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.* CV Anugrah Utama Raharja (AURA). Bandar Lampung. Hlm 2-4.

Suhartati, T., Achmad, S. A., Aimi, N., Hakim, H. E., Kitajima, M., Takayama, H., and Takeya, K. 2001. Artoindonesianin L, a new prenylated favone with cytotoxic activity from *Artocarpus rotunda*. *Fitoterapia*. **72**(8): 912–918.

Suhartati, T., Hadi, S., and Yandri, Y. 2008. The bioactivity test of artonin E from the bark of *Artocarpus rigida* Blume. *Eur J Sci Res*. **23**(3): 330-337.

Suhartati, T., Hernawan, H., Suwandi, J. F., Yandri, Y., and Hadi, S. 2018. Isolation of artonin E from the root bark of *Artocarpus rigida*, synthesis of artonin E acetate and evaluation of anticancer activity. *Maced. J. Chem. Chem. Eng.* **37**(1): 35-42.

Suhartati, T., Yandri, Y., Suwandi, J. F., and Hadi, S. 2010. In vitro and in vivo antiplasmodial activity of oxyresveratrol and artonin E isolated from two Artocarpus plants in Indonesia. *Orient. J. Chem*. **26**(3): 825–830.

Susmita, R. C., Zubayed, A., Krishna, R., Abdullah, A. N., Rashid, M. H., and Kamol, C. M. 2022. Emerging threats of antibiotic resistance in *Salmonella*

typhi and *Salmonella paratyphi* A among enteric fever cases of Dhaka, Bangladesh. *J. Bacteriol. Res*. **14**(1), 8-15.

Takahama, U. and Hirota, S. 2018. Interactions of flavonoids with α-amylase and starch slowing down its digestion. *Food Funct*. **9**(2): 677-687.

Tapas, A. R., Sakarkar, D.M., and Kakde, R.B. 2008. Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Trop. J. Pharm. Res*. **7**(3): 1089-1099.

Tetti, M. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. **7**(2): 361-367.

Tirta, A. S. M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap *Propionibacterium acne, S. aureus*, dan *Escherichia coli* serta Uji Bioautobiografi. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Hlm 9.

Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Tobo, F. 2001. *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia*. Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Universitas Hasanudin. Makassar.

Volk, W. A. dan Wheeler, M. F. 1998. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Erlangga. Jakarta.

Wulandari, L. 2010. *Kromatografi Lapis Tipis*. Taman Kampus Presindo. Jember.

Wijono, S. S. W. 2003. Isolasi identifikasi senyawa flavonoid pada daun katu (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Makara Sains*. **7**(2): 51-54.

Xiao, Z., Storms, R., and Tsang, A. 2006. A quantitative starch–iodine method for measuring α-amylase and glucoamylase activities. *Anal Biochem*. **351**(1): 146-148.

Yadav, L. D. S. 2005. *Organic Spectroscopy*. Springer. Science Business Media. Berlin.

Ye, J., Ren, G., Li, W., Zhong, G., Zhang, M., Yuan, J., and Lu, T. 2019. Characterization and identification of prenylated flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* Lam. roots by quadrupole time-of-flight and linear trap quadrupole orbitrap mass spectrometry. *Molecules*. **24**(24): 4591.

Yuningtyas, S. dan Artianti, D. S. 2015. Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase Ekstrak Air dan Etanol Umbi Lapis Bawang Merah (*Allium ascalonicum*). *Fitofarmaka*. **5**(1): 1–7.