

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA
FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN
(*Artocarpus rigida* Blume)**

(Skripsi)

Oleh

**FARAH DANISHA PANGKEY
1817011086**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida* Blume)

Oleh

FARAH DANISHA PANGKEY

Diabetes termasuk masalah kesehatan global yang penting karena dampak seriusnya. Penderita diabetes lebih rentan terkena infeksi dibandingkan masyarakat umum yang tidak menderita diabetes. Dengan adanya infeksi yang semakin parah dan munculnya bakteri penyebab infeksi yang resisten, dibutuhkan antibiotik dengan konsentrasi yang semakin besar dan obat antibakteri baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, serta menguji bioaktivitas antidiabetes dan antibakteri senyawa flavonoid hasil isolasi dari kayu akar tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume). Isolasi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol, dilanjutkan fraksinasi dan pemurnian ekstrak menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom (KK). Identifikasi dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT), spektroskopi UV-Vis, dan spektroskopi IR yang dibandingkan dengan senyawa standar. Uji bioaktivitas antidiabetes dilakukan secara *in vitro* melalui penghambatan enzim α -amilase dan pengujian antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp. Hasil penelitian diperoleh senyawa flavonoid artokarpin berupa kristal berwarna kuning sebanyak 71,5 mg. Hasil uji antidiabetes menunjukkan bahwa artokarpin mampu menghambat enzim α -amilase dengan persen inhibisi sebesar 30,96%, lebih rendah dari akarbosa sebagai kontrol positif yang memiliki persen inhibisi 99,97% pada konsentrasi 2500 ppm. Uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp., senyawa artokarpin memiliki daya hambat kategori kuat pada konsentrasi 0,5 mg/disc.

Kata Kunci: *Artocarpus rigida* Blume, artokarpin, antidiabetes, antibakteri, *S. aureus*, *Salmonella* sp.

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND BIOACTIVITY TEST OF FLAVONOID COMPOUND FROM THE ROOT WOOD OF KENANGKAN PLANT (*Artocarpus rigida* Blume)

By

FARAH DANISHA PANGKEY

Diabetes is one of the major global health issues because of its severity. Diabetic patients are more susceptible to developing infections compared to non-diabetic patients. With the increased risk of infection and the emergence of resistant bacteria, greater concentrations of antibiotics and new antibacterial drugs are required. The aims of this research are to isolate, identify, and examine the antidiabetic and antibacterial activity of flavonoid compound isolated from the root wood of the kenangkan plant (*A. rigida* Blume). The isolation was carried out by maceration method using methanol solvent, followed by fractionation and purification of the extract using vacuum liquid chromatography (VLC) and column chromatography (CC). Identification was carried out with thin layer chromatography (TLC), UV-Vis and IR spectroscopy compared with standard compounds. Antidiabetic test was carried out in vitro through inhibition of α -amylase enzymes. Antibacterial test was carried out with disc diffusion method against *S. aureus* and *Salmonella* sp. This research resulted in 71.5 mg yellow crystals of artocarpin. The antidiabetic test showed that artocarpin was able to inhibit the α -amylase enzyme with 30.96% inhibition, lower than acarbose as a positive control which had a 99.97% inhibition at a concentration of 2500 ppm. Antibacterial test against *S. aureus* and *Salmonella* sp., showed that artocarpin had a strong category of inhibition at 0.5 mg/disc concentration.

Key words: *Artocarpus rigida* Blume, artocarpin, antidiabetic, antibacterial, *S. aureus*, *Salmonella* sp.

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA
FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN KENANGKAN
(*Artocarpus rigida* Blume)**

Oleh

FARAH DANISHA PANGKEY

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS
SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU AKAR TUMBUHAN
KENANGKAN (*Artocarpus rigida* Blume)**

Nama Mahasiswa : **Farah Danisha Pangkey**


NPM : **1817011086**


Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

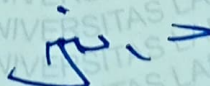


1. Komisi Pembimbing


Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
NIP. 195405101988032001


Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.
NIP. 195609051992031001

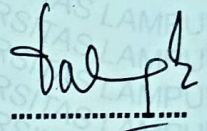
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


Mulyono, Ph.D.
NIP. 19740611 200003 1 002

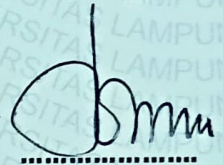
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

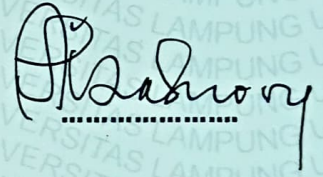
Ketua : Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.



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



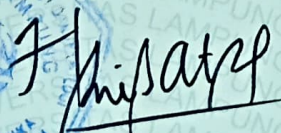
**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Noviany, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 2 Agustus 2023

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Farah Danisha Pangkey
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011086
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul “Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida* Blume)” adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2023

Yang menyatakan,



Farah Danisha Pangkey
NPM. 1817011086

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Farah Danisha Pangkey, yang dilahirkan di Bandar Lampung, Lampung pada hari Minggu, 23 April 2000. Penulis berdarah Lampung, Jawa, dan Manado ini adalah anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Yopie Pangkey dan Ibu Rahmawatie, S.H. Penulis mengawali sekolah formalnya di SD Negeri 2 Sumur Batu Bandar Lampung, SMP Negeri 23 Bandar Lampung, dan SMA Tri Sukses Serbajadi, Lampung Selatan. Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung dengan jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN)

Sejak menempuh pendidikan SD, SMP, dan SMA, penulis aktif mengikuti berbagai Lomba Olimpiade Matematika dan Biologi, Lomba Cepat Tepat Fisika, dan Lomba Komik Matematika. Penulis juga pernah meraih capaian prestasi pada beberapa kompetisi, seperti Lomba Desain Putri Tingkat Kabupaten Lampung Selatan dan Lomba Da'i Daiyah. Selama menjalani perkuliahan penulis pernah menjadi Asisten Praktikum Kimia Organik I di Jurusan Kimia FMIPA Unila pada tahun 2021/2022. Aktivitas organisasi penulis diawali pada tahun 2018 menjadi Kader Muda Himaki FMIPA Unila, pada tahun 2019 penulis menjadi anggota Biro Penerbitan Himaki FMIPA Unila, dan pada tahun 2020 penulis diamanahkan menjadi sekretaris Biro Penerbitan Himaki FMIPA Unila.

Di luar kegiatan kampus penulis juga pernah menjadi relawan World Cleanup Day Lampung dalam membersihkan sampah-sampah di beberapa lokasi yang ada di Bandar Lampung. Sebagai bentuk aplikasi ilmu pengetahuan dan

penerapan Tri Dharma Perguruan Tinggi, penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Tematik pada tahun 2021 di Desa Pesawahan, Teluk Betung Utara, Bandar Lampung, kemudian pada tahun yang sama penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Unila dengan judul “Uji Bioaktivitas Ekstrak Bagian Daun Tumbuhan Puda (A. *Kemando* Miq.) Sebelum dan Sesudah Eterifikasi Menggunakan Diazometana”.

MOTTO

“... boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(Q.S. Al-Baqarah: 216)

“Barangsiapa yang mencari ridho Allah saat manusia tidak suka, maka Allah akan cukupkan dia dari beban manusia. Barangsiapa yang mencari ridho manusia namun Allah itu murka, maka Allah akan biarkan dia bergantung pada manusia.”

(HR. Tirmidzi)

“Do not let what you cannot do interfere with what you can do”

(John Wooden)

“Other people liking you is a bonus, you liking yourself is the real prize”

(Alex Elle)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya

Penulis mempersembahkan karya ini teruntuk:

Kedua orang tua, Yopie Pangkey dan Rahmawatie, S.H.

Yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan, memberikan kasih sayang dan
memberi dukungan kepada penulis

Alm. Zuari Tamami, Almh. Sepian Suri, dan Daliessia Ngadi

Yang telah merawat, mendidik, mendo'kan, memberikan kasih sayang dan
dukungan kepada penulis

Saudara dan keluarga besar penulis

Yang telah memberikan dukungan dan semangat

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. dan Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.

Yang telah sabar membimbing, memberikan ilmu, serta saran dan masukannya
kepada penulis selama menempuh pendidikan dan penelitian di kampus

Para sahabat-sahabat

Yang sabar menemani, memberikan keceriaan, motivasi dan semangat kepada
penulis

Almamater Tercinta

Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji bagi Allah SWT. atas rahmat, ridha, dan hidayah-Nya lah penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Senyawa Flavonoid Dari Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida* Blume)" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Shalawat beriring salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman nanti.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Bersamaan dengan telah selesainya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Lusmeilia Afriani, D.E.A. I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung
3. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
5. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku Dosen Pembimbing I, yang begitu sabar membimbing, memberikan banyak ilmu, arahan, do'a, dan motivasi kepada penulis. Terima kasih ibu telah memberikan waktu selalu menanyakan kabar dan kemajuan penelitian kepada penulis, serta

memberikan masukan dan solusi selama proses penelitian hingga penulisan skripsi ini dapat selesai. Semoga Allah membalas beliau dengan kebaikan di dunia dan akhirat.

6. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S., selaku Dosen Pembimbing II, yang telah sabar mengarahkan, memberikan dukungan dan waktunya kepada penulis untuk menanyakan kemajuan penelitian penulis, serta memberikan arahan dan solusi hingga penulisan skripsi ini dapat selesai. Semoga Allah membalas beliau dengan kebaikan di dunia dan akhirat.
7. Ibu Prof. Noviany, M.Si. Ph.D. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan banyak saran dan masukan positif kepada penulis. Semoga Allah membalas beliau dengan kebaikan di dunia dan akhirat.
8. Ibu Rinawati S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Pembimbing Akademik, yang sabar membimbing, memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis selama masa perkuliahan.
9. Bapak/Ibu Dosen dan Kepala Laboratorium Jurusan Kimia atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung.
10. Para Staf dan Laboran Jurusan Kimia FMIPA Unila, Pak Rudi, Bu Endang, Mba Yuni, Mas Nomo, Mba Wit, Mba Della, dan Mba Liza atas segala bantuan yang diberikan kepada penulis.
11. Bapak Yopie Pangkey dan Ibuku Rahmawatie, S.H. yang telah mendidik, merawat, mendo'kan, memberikan kasih sayang, motivasi dan dukungannya kepada penulis. Alhamdulillah jaza kumullahu khoiro. Semoga Allah selalu memberikan kesehatan, keselamatan, rezeki yang halal, lancar, barokah, dan kebahagiaan dunia akhirat, serta diberikan umur panjang sehingga dapat menemani anak-anaknya hingga sukses.
12. Saudara-saudaraku Kak Aan, Darrel, Derly, dan keluarga besar: Oma, Inan Nia, Mamak Ming, Alak Herda, Alak Mustaufid, Uncu, Kisti, Bila, Dodo Egar, dan Uwo Dira. Alhamdulillah jaza kumullahu khoiro atas dukungan dan motivasinya kepada penulis.
13. Rekan-rekan penelitianku Armi, Antin, dan Andi. Terima kasih atas kebersamaan dan ilmunya.

14. Kakak-kakak Lab. Kimia dan “Saudara Seperkayuan”: Mba Rinda, Mba Kartika, Kak Hendri, Kak Arif, Kak Alya, Kak Nurvita, Kak Fitri, Mba Aul, Kak Ramy, Kak Jere, Kak Ilham, Mba Novita, dan Mba Astriva yang telah banyak membantu penulis. Terimakasih atas ilmu, dukungan, dan semangatnya.
15. Teman-teman Lab. Kimia Organik: Age, Ofri, Reni, Rista, Dika, Ramah Nia, Eni, Hendriko, Bang Ican, Rizky, Kania, Akmal, Ara, dan Jihan. Lab. Biokimia: Ecan, Nurmay, Dwi. Lab. Anorganik/Fisik: Ketrin, Ester, Ninid, Grace, Iin, dan teman-teman lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu. Terimakasih atas bantuan, ilmu, dan dukungannya kepada penulis.
16. Teman-teman semangatku Memei dan Rahayu. Lancar barokah untuk kalian berdua, semoga cepat menyusul. Semoga kita bisa kumpul bertiga lagi ya.
17. Kabirku, Armyy. Terima kasih atas dukungan dan motivasinya. Kebaikanmu sangat berarti. Semoga Allah membalasmu dengan kebaikan di dunia dan akhirat. Sehat selalu dan semangat untuk S2 nya.
18. Teman-temanku Ecan, Aca, Ketrin, Ester, April, dan Anggun. Teman belajar dan ngambis pada masanya. Terima kasih sudah menemaniku selama perkuliahan.
19. Teman-teman Kimia’18 kelas A, Andi, Alya, Aluni, Aliv, Aul, Acha, Afra, Anggun, Aryani, Alfi, Anggi, Antin, Armi, April, Atika, Chasya, Cipta, Chetrine, Chori, Dedeh, Dika, Dinara, Dira, Dwi, Ecan, Eliza, Eni, Ester, Icha, Mutiq, Noni, dan Zira, atas kebersamaan, keceriaan, dan semangat kepada penulis.
20. Kimia’18 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, atas motivasi, kebersamaan, dan semangatnya kepada penulis selama masa perkuliahan.
21. Keluarga Besar Himaki 2020: Indra, Nurmay, Savol, Fauzan, Anes, Lanang, Nisa, Randi, Indah, Aan, Kana, Armi, Dira, Noni, dan para pengurus atas kebersamaan dan pengalamannya bersama penulis.
22. Keluarga KKN Desa Pesawahan, Dewi, Noni, Grace, Fatur, Ridho, dan Sepryan atas kebersamaan dan pengalamannya bersama penulis.

23. Kakak-kakak dan adik-adik tingkat di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, terima kasih atas segalanya.
24. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis memohon maaf kepada semua pihak apabila masih terdapat kesalahan dan kekeliruan dalam penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan kebermanfaatan bagi kita semua.

Bandar Lampung, Agustus 2023

Farah Danisha Pangkey

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Moraceae	5
2.2 Artocarpus	5
2.3 Tumbuhan Kenangan (<i>A. rigida</i>).....	6
2.4 Metabolit Sekunder	7
2.5 Flavonoid.....	8
2.6 Ekstraksi Senyawa Flavonoid	11
2.6.1 Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	12
2.6.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)	12
2.7 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi.....	13
2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	13
2.7.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)	16
2.7.3 Kromatografi Kolom (KK).....	16
2.8 Identifikasi Spektrofotometri	17
2.8.1 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible (UV-Vis).....	17
2.8.2 Spektrofotometri Inframerah atau <i>Infrared</i> (IR)	19
2.9 Antibakteri.....	21
2.9.1 Bakteri	22
2.9.2 Uji Antibakteri.....	24
2.10 Antidiabetes.....	27
2.10.1 Diabetes Melitus.....	27
2.10.2 Uji Antidiabetes.....	28
III. METODE PENELITIAN	31
3.1. Waktu dan Tempat	31
3.2. Alat dan Bahan	31

3.2.1. Alat-Alat yang Digunakan	31
3.2.2. Bahan-Bahan yang Digunakan	32
3.3. Prosedur Penelitian	32
3.3.1. Persiapan Sampel	32
3.3.2. Isolasi Menggunakan Metode Maserasi	33
3.3.3. Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)	33
3.3.4. Kromatografi	34
3.3.5. Analisis Kemurnian	36
3.3.6. Analisis Struktur	36
3.3.7. Uji Bioaktivitas	37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Isolasi Senyawa Flavonoid	40
4.1.1 Ekstraksi	40
4.1.2 Fraksinasi dan Pemurnian Ekstrak	41
4.2 Analisis Kemurnian	48
4.3 Analisis Spektrofotometri	49
4.3.1 Analisis Spektrofotometri UV-Vis	49
4.3.2 Analisis Spektrofotometri IR	53
4.4 Uji Bioaktivitas Senyawa Hasil Isolasi	56
4.4.1 Uji Antidiabetes	56
4.4.2 Uji Antibakteri	59
V. SIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Simpulan	62
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	70
1. Diagram alir penelitian	71
2. Data hasil pengukuran absorbansi uji bioaktivitas antidiabetes senyawa AR ₂₃ .	73
3. Perhitungan persen inhibisi pada uji bioaktivitas antidiabetes senyawa AR ₂₃	74
4. Pembuatan larutan uji biaktivitas antibakteri.	77

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rentangan serapan panjang gelombang maksimum UV-Vis pada senyawa flavonoid (Markham, 1988)	19
2. Daerah serapan khas IR (Dachriyanus, 2004).....	20
3. Penggabungan fraksi-fraksi hasil KCV.....	44
4. Perbandingan data absorbansi panjang gelombang (λ_{maks}) UV-Vis standar artokarpin dan senyawa hasil isolasi (AR ₂₃).	52
5. Perbandingan absorbansi bilangan gelombang IR (a) senyawa hasil isolasi dengan (b) senyawa artokarpin berdasarkan literatur (Suhartati <i>et al.</i> , 2021).	55
6. Persen inhibisi aktivitas enzim α -amilase oleh senyawa hasil isolasi AR ₂₃ dan kontrol positif akarbosa.	56
7. Hasil uji bioaktivitas antibakteri senyawa hasil isolasi terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>Salmonella</i> sp.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan Kenangan (<i>A. rigida</i>)	7
2. Kerangka C ₆ – C ₃ – C ₆ flavonoid (Wang <i>et al.</i> , 2018).....	9
3. Struktur kimia dan klasifikasi flavonoid (Wang <i>et al.</i> , 2018).....	9
4. Beberapa contoh senyawa flavonoid (Suhartati <i>et al.</i> , 2001;.....	11
5. Diagram KLT (Meyers <i>and</i> Meyers, 2008).	14
6. Hasil KLT (A) Spot memiliki R _f 0,0 (B) Spot memiliki R _f 0,94 (C) Pelat menunjukkan dua senyawa dengan eluen yang sesuai dengan R _f 0,29 dan 0,67 (Meyers <i>and</i> Meyers, 2008)	15
7. Beberapa istilah perubahan spektrum UV-Vis yang berkaitan dengan panjang gelombang dan intensitas absorpsi (Suhartati, 2017).....	18
8. Contoh senyawa yang mengalami eksitasi bila disinari dengan sinar UV ketika adanya perubahan pelarut (Suhartati, 2017).....	18
9. <i>Salmonella</i> sp. (Bano <i>et al.</i> , 2020)	22
10. <i>S. aureus</i> (Bano <i>et al.</i> , 2020).....	24
11. Struktur kimia <i>ciprofloxacin</i> (Sharma <i>et al.</i> , 2010).	25
12. Struktur kimia <i>chloramphenicol</i> (Balbi, 2014)	26
13. Skema uji antidiabetes berdasarkan metode Fuwa (Elzagheid, 2018).....	29
14. Struktur akarbosa (Rosak <i>and</i> Mertes, 2012).....	29
15. Pengikatan enzim oleh akarbosa (Aisyah <i>et al.</i> , 2020)	30
16. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	41

17. Kromatogram KLT fraksi metanol, aseton, dan <i>n</i> -heksana menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) di bawah lampu UV 254 nm (b) di bawah lampu UV 366 nm (c) setelah disemprot serum sulfat.....	42
18. Proses pengelusian sampel pada KCV	43
19. Kromatogram hasil KCV menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (fraksi 1a-8d) dan etil asetat: <i>n</i> -heksana 6:4 (fraksi 7e-11e)	43
20. Kromatogram KLT fraksi A-G hasil KCV menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -4:6 (a) di bawah lampu UV 254 nm (b) setelah disemprot serum sulfat	44
21. Proses pengelusian sampel pada KK.....	45
22. Kromatogram KLT hasil KK fraksi C menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	45
23. Kromatogram KLT (a) hasil KK fraksi CC (b) fraksi gabungan CC ₂ , CC ₃ , CC ₄ , dan senyawa standar artokarpin menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	46
24. Kristal CC ₃ setelah didekantasi	46
25. Kromatogram KLT hasil KK fraksi CC ₂ menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	47
26. Kristal CC _{2a} setelah didekantasi	47
27. Kromatogram KLT CC ₃ dan CC _{2a} dengan senyawa standar artokarpin, sikloartokarpin, dan sikloartobilosanton menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	48
28. Kromatogram KLT kristal CC ₃ dan CC _{2a} menggunakan 3 sistem eluen bersama senyawa standar artokarpin (a) etil asetat: <i>n</i> -heksana 3:7 b) aseton:diklorometana 1:9 (c) etil asetat:diklorometana 4:6	48
29. Spektrum UV kristal AR ₂₃ dalam pelarut metanol.	49
30. Spektrum UV kristal AR ₂₃ dalam (a) MeOH dan (b) MeOH+NaOH.....	50
31. Spektrum UV kristal AR ₂₃ dalam (a) MeOH (b) MeOH+AlCl ₃ dan (c) MeOH +AlCl ₃ +HCl	51
32. Spektrum UV kristal AR ₂₃ dalam (a) MeOH dan (b) MeOH+ NaOAc dan (c) MeOH+ NaOAc+ H ₃ BO ₃	52
33. Perbandingan spektrum IR (a) senyawa hasil isolasi dengan (b) senyawa artokarpin berdasarkan literatur (Suhartati <i>et al.</i> , 2021)	54

34. Struktur senyawa artokarpin (Suhartati <i>et al.</i> , 2021).	55
35. Grafik perbandingan konsentrasi (ppm) dan persen inhibisi senyawa artokarpin AR ₂₃ dan akarbosa	57
36. Interaksi turunan aglikon kurkuligosida pada sisi aktif enzim α -amilase (Nursamsiar dkk., 2020).....	58
37. Interaksi senyawa flavonoid pada sisi aktif enzim α -amilase (Hussain <i>et al.</i> , 2021)	59
38. Hasil uji bioaktivitas antibakteri senyawa artokarpin (AR ₂₃) terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dengan konsentrasi 0,5-0,3 mg/disc	60
39. Hasil uji bioaktivitas antibakteri senyawa artokarpin (AR ₂₃) terhadap bakteri <i>Salmonella</i> sp. dengan konsentrasi 0,5-0,3 mg/disc	61

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus termasuk salah satu masalah kesehatan global yang penting karena dampaknya yang serius. Diabetes merupakan suatu gangguan metabolisme kompleks yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia yang diakibatkan gangguan kerja insulin dan/atau sekresi insulin (Banday *et al.*, 2021). Penderita diabetes dicatat mencapai 463 juta (umur 20-79 tahun) pada tahun 2019 menurut *International Diabetes Federation* (IDF). Indonesia menduduki posisi ketujuh sebagai jumlah pengidap diabetes terbanyak, yaitu 10,7 juta penderita diabetes (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020).

Diabetes diketahui dapat menyebabkan penyakit kronis, termasuk penyakit ginjal kronis (*chronic kidney disease* atau CKD), retinopati, serta dapat meningkatkan risiko infeksi, seperti infeksi pada ulkus kaki yang bahkan dapat mengharuskan penderitanya untuk amputasi. Hubungan antara diabetes dan infeksi telah diteliti menunjukkan bahwa peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia) pada penderita diabetes dapat merusak neutrofil dan respons limfosit-T terhadap infeksi sehingga penderita diabetes lebih rentan terkena infeksi dibandingkan masyarakat umum yang tidak menderita diabetes (Kim *et al.*, 2019; Carey *et al.*, 2018). Penelitian di Amerika Serikat memperkirakan bahwa 10% dari kunjungan Unit Gawat Darurat pada pasien diabetes disebabkan oleh infeksi dan pasien dengan diabetes dua kali lebih mungkin dirawat di rumah sakit dengan infeksi dibandingkan pasien tanpa diabetes (Pearson-Stuttard *et al.*, 2016).

Penyakit infeksi sudah dikenal sejak zaman dahulu dan angka penderita infeksi dilaporkan semakin meningkat setiap tahunnya. Hal ini menjadi salah satu faktor penyebab tingginya angka kematian di Indonesia dan dunia. Infeksi dapat disebabkan oleh mikroba patogen yang berbahaya bagi sel inangnya sehingga menyebabkan penyakit akut yang mematikan (Romas *et al.*, 2015). Infeksi dapat diobati dengan menggunakan antibiotik. Antibiotik merupakan obat sintetis sebagai penghambat ataupun pembunuh bakteri penyebab infeksi. Penyakit infeksi yang semakin parah harus digunakan antibiotik dengan konsentrasi yang semakin besar, hal ini menyebabkan resisten tubuh terhadap antibiotik sehingga dari hal tersebut dapat digunakan alternatif bahan alam sebagai pengganti obat untuk meredakan dan menghilangkan infeksi (Guilfoile, 2007).

Sedangkan pengobatan untuk diabetes adalah dengan mengkonsumsi insulin dan antidiabetes oral. Obat antidiabetes oral sintetis sudah banyak tersedia di pasaran, seperti akarbosa, miglitol, sulfonilurea, metformin, dan tiazolidindion. Efektivitas penggunaan obat ini dapat terbatas karena biaya dan efek samping yang tinggi, seperti gangguan gastrointestinal (diare dan flatulensi), gangguan hati, resistensi obat, perut kembung, pusing, mual, dan muntah. Oleh karena efek merugikan tersebut, ada kebutuhan besar untuk mengembangkan produk alternatif antidiabetes yang alami dengan keamanan tinggi, misalnya obat yang berasal dari ekstrak tanaman (Ak *et al.*, 2019; Etsassala *et al.*, 2019).

Obat-obatan yang beredar tercatat pada rentang tahun 1981-2014, sebesar 4,4% dari 1.355 obat-obatan berasal dari pemurnian bahan alam dan 43% merupakan senyawa alami yang dimodifikasi (Newman *and* Cragg, 2012). Selain itu, khusus pada obat kanker, 74% obat yang digunakan secara klinik berasal dari ekstraksi atau modifikasi senyawa alami. Bahan alam yang digunakan jika digabungkan dengan senyawa tiruan, vaksin, dan ekstrak, maka kontribusi bahan alam dalam obat-obatan lebih dari 50%. Dari hal ini, terlihat jelas peran metabolit sekunder dalam penyediaan obat (Saifudin, 2014).

Salah satu famili tanaman obat yang potensial adalah Moraceae yang terdiri dari kurang lebih 38 genus dan 1180 spesies. Salah satu genus utama dari Moraceae adalah Artocarpus. Artocarpus telah banyak dilakukan penelitian dan diketahui kaya akan metabolit sekunder terutama senyawa-senyawa flavonoid terpenilasi dan turunannya (Hakim *et al.*, 2006). Flavonoid yang diisolasi dari spesies Artocarpus menunjukkan aktivitas biologis yang menarik, termasuk antidiabetes (Aisyah *et al.*, 2020), antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan antimalaria (Jagtap *and* Bapat, 2010). Salah satu spesies Artocarpus adalah *A. rigida* yang menghasilkan berbagai senyawa flavonoid. Beberapa senyawa yang berhasil diisolasi dari *A. rigida* adalah prenilflavon: artonin E dan artokarpin, turunan santon: artonin O dan artobilosanton, flavon dengan cincin oxepin: artokarpol A dan artokarpol C-E, serta flavon dengan cincin oksepina: artokarpol B, artokarpol I dan J (Suhartati *et al.*, 2016; Jagtap *and* Bapat, 2010; Ko *et al.*, 2000; Lu *et al.*, 2003).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavonoid dapat digunakan sebagai antidiabetes. Komponen bioaktif pada ekstrak tanaman seperti flavonoid mampu menghambat kerja enzim α -amilase (Aisyah *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid dapat digunakan sebagai inhibitor α -amilase yang bertujuan untuk menghambat enzim memenuhi fungsinya dalam memecah polisakarida menjadi gula yang lebih sederhana sehingga dengan adanya inhibitor tersebut karbohidrat yang diserap dapat menurun dan kadar gula darah pun akan menurun.

Oleh karena itu, penelitian terhadap kayu akar tanaman *A. rigida* ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya serta melakukan uji bioaktivitas terhadap kemampuan antibiotik dan antidiabetesnya. Isolasi senyawa flavonoid pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemisahan senyawa dilakukan dengan metode partisi dan kromatografi, serta monitoring dan uji kemurnian dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Identifikasi struktur molekul dilakukan menggunakan spektroskopi UV-Vis dan inframerah (IR). Setelah diperoleh senyawa murni akan dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *Salmonella* sp. dan

Staphylococcus aureus serta uji antidiabetes menggunakan metode inhibisi enzim α -amilase.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan senyawa flavonoid pada bagian kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*).
2. Mendapatkan informasi mengenai karakterisasi senyawa flavonoid hasil isolasi pada bagian kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) dengan spektrometri UV-Vis dan IR.
3. Mendapatkan informasi mengenai bioaktivitas antibakteri dan antidiabetes senyawa flavonoid yang ada pada bagian kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*).

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa flavonoid yang terkandung dalam bagian kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) serta bioaktivitasnya sebagai antibakteri dan antidiabetes. Informasi tersebut diharapkan dapat memperkaya pengetahuan mengenai senyawa flavonoid dari tanaman *A. rigida* serta aktivitas biologisnya sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat antibakteri dan antidiabetes.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Moraceae

Moraceae atau juga disebut famili *Mulberry* dan *fig family* merupakan tumbuhan Angiospermae yang terdiri dari kurang lebih 38 genus dan 1180 spesies.

Moraceae dibagi menjadi tujuh suku, yaitu Moreae, Artocarpeae, Dorstenieae, Castilleae, Ficeae, Antiaropsidae, dan Soroceae (Clement *and* Weiblen 2009).

Spesies dari keluarga Moraceae memiliki nilai ekonomi dan pengobatan yang penting. Mereka secara luas diakui sebagai sumber yang kaya akan metabolit sekunder bioaktif, seperti flavonoid, stilben, triterpenoid, dan santon. Sebagian besar spesies Moraceae berupa pohon atau semak yang tersebar luas di daerah tropis dan subtropis. Moraceae memiliki kayu yang keras dengan pori menyebar, daunnya sebagian besar tersusun berseling, baik secara spiral atau *distichous* (berseling dalam dua baris vertikal yang berlawanan), bertulang daun menyirip, bunga berkelamin tunggal, ovula anatrop, buah berbiji atau *achenes* yang teragregasi, dan bergetah seperti susu atau terkadang berair (Rohwer, 1993).

2.2 Artocarpus

Artocarpus termasuk tumbuhan yang memiliki banyak manfaat dengan sekitar 50 spesies tersebar secara luas di daerah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia (Ee *et al.*, 2011). Jenis-jenis Artocarpus biasanya memiliki bagian batang, ranting, dan daun yang menghasilkan cairan khusus seperti susu (*milky sap*). Artocarpus dikenal sebagai tumbuhan “nangka-nangkaan” di Indonesia. Tumbuhan

Artocarpus umumnya berupa pohon tinggi, lembar daunnya agak keras dan tersusun berseling, buah berdaging dengan ukuran kecil sampai besar, berkayu besar, dan berakar tunggang (Heyne, 1987).

Keanekaragaman Artocarpus memberikan banyak manfaat baik dari segi ekonomi maupun farmakologi. Artocarpus banyak dibudidayakan untuk diambil buahnya, seperti *A. integer* (cempedak) dan *A. heterophyllus* (nangka), serta beberapa digunakan sebagai bahan konstruksi karena kayunya yang kuat dan tahan lama (Hashim *et al.*, 2012). Kulit kayu, daun, biji, buah, dan akar beberapa spesies Artocarpus juga dilaporkan memiliki khasiat obat untuk berbagai penyakit seperti diare, demam, anemia, asma, kencing manis, luka, dan infeksi cacing pita (Jagtap *and* Bapat, 2010).

2.3 Tumbuhan Kenangkan (*A. rigida*)

A. rigida merupakan tumbuhan yang memiliki batang kokoh dan keras, kulit kayunya berserat kasar, dan menghasilkan getah. Tinggi pohon *A. rigida* dapat mencapai 35 m dan lebar 0,9 m. Buahnya dapat dimakan yang memiliki cita rasa asam dan manis. *A. rigida* memiliki sinonim *Artocarpus rotundus* (Houtt.) Panz., *Artocarpus varians* Miq., dan *Artocarpus cuspidatus* Griff. Tumbuhannya ini sering disebut “*monkey jackfruit*” dan dikenal dengan nama kenangkan, tampunik, peusar, pujan, dan puyi’an. *A. rigida* hidup di hutan cemara dataran rendah hingga ketinggian 1000 m di habitat aslinya. *A. rigida* merupakan tumbuhan langka yang dapat ditemukan di daerah tropis Asia Tenggara dan Kepulauan Pasifik (Nguyen *et al.*, 2017).

Di Indonesia *A. rigida* dapat ditemukan di beberapa pulau seperti Sumatera, Jawa, Nusa Tenggara, dan Kalimantan. Penelitian telah mengidentifikasi banyak jenis metabolit sekunder termasuk stilben, santon, dan flavonoid terprenilasi yang telah ditemukan pada *A. rigida* dan memiliki aktivitas sitotoksik, antipasmadial, antiinflamasi, dan antibakteri (Nguyen *et al.*, 2017; Jagtap *and* Bapat, 2010).

Beberapa senyawa tersebut adalah sikloartobilosanton dan artonin E yang diisolasi dari kulit batang *A. rigida* yang memiliki bioaktivitas tinggi terhadap sel leukemia murine P-388 (Suhartati *et al.*, 2008), artonin O yang diisolasi dari kayu akar *A. rigida* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis* (Suhartati *et al.*, 2016), artokarpol A, C, I, dan artokarpol J perasetat yang berhasil diisolasi dari kulit akar *A. rigida* yang diperoleh dari Ping-Tung Hsien, Taiwan menunjukkan aktivitas antiinflamasi (Lu *et al.*, 2003). Tumbuhan *A. rigida* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan Kenangan (*A. rigida*)

2.4 Metabolit Sekunder

Tumbuhan sama halnya dengan organisme lain melakukan proses biokimia yang berperan untuk kelangsungan hidupnya, disebut dengan metabolisme.

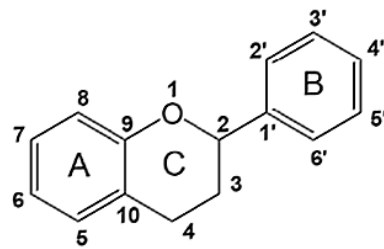
Metabolisme tumbuhan, diantaranya siklus Calvin, glikolisis, dan siklus Krebs menghasilkan metabolit primer seperti karbohidrat, protein, asam nukleat, asam amino, dan lipid yang berperan dalam pertumbuhan dan pembelahan sel, respirasi, penyimpanan, dan reproduksi. Metabolit primer ini dapat ditemukan di seluruh tumbuhan dan memiliki fungsi yang diperlukan untuk bertahan hidup. Selain itu, tumbuhan juga menghasilkan bermacam senyawa organik yang tidak

berpartisipasi langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan, disebut sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder berfungsi dalam pertahanan. Banyak metabolit sekunder bersifat repelan atau beracun bagi organisme herbivora dan patogen sehingga melindungi tanaman dari kemungkinan bahaya. Tidak seperti metabolit primer, ketiadaan metabolit sekunder tidak mengakibatkan kematian langsung pada tumbuhan, namun ketiadaan metabolit sekunder ini dapat menimbulkan gangguan jangka panjang pada kemampuan bertahan hidup tumbuhan. Keberadaan metabolit sekunder dalam setiap pohon belum tentu sama, mereka bervariasi dalam kualitas dan kuantitas untuk spesies tanaman tertentu dan yang tumbuh di lokasi berbeda. Metabolit sekunder biasanya diklasifikasikan menjadi tiga golongan utama, yaitu terpenoid, alkaloid, dan fenolik yang memiliki aktivitas farmakologi yang menarik (Kabera *et al.*, 2014).

2.5 Flavonoid

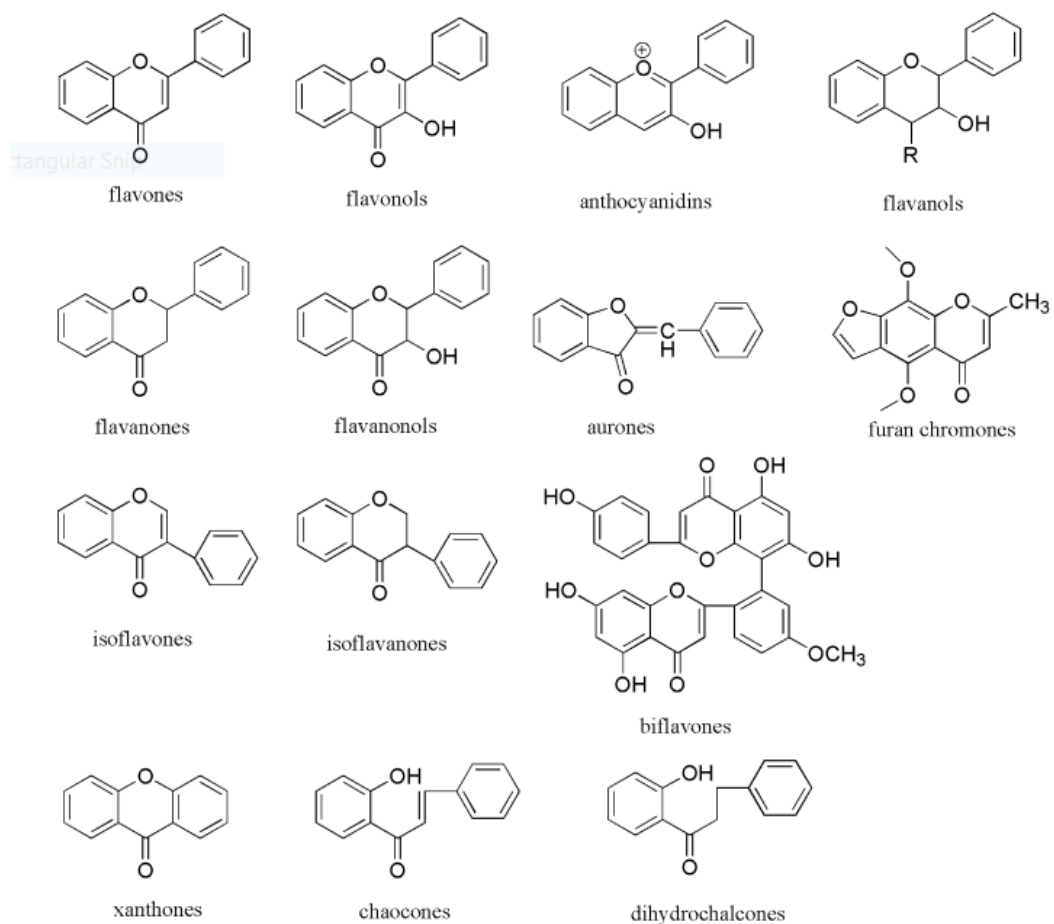
Flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang termasuk golongan fenol terbesar di alam. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan dalam ekstrak tumbuhan. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan air. Sebaliknya, aglikon flavonoid yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol dengan 15 atom karbon dengan sistem C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha, 2010).



Gambar 2. Kerangka C₆ – C₃ – C₆ flavonoid (Wang *et al.*, 2018)

Senyawa flavonoid yang mengandung gugus prenil pada C₃ dan turunannya merupakan salah satu senyawa yang terdapat dalam spesies *Artocarpus* (Suhartati *et al.*, 2008). Flavonoid terbagi menjadi beberapa subkelas, yaitu flavonol, flavanon, flavon, dan isoflavon. Struktur beberapa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia dan klasifikasi flavonoid (Wang *et al.*, 2018)

Berikut merupakan subkelas flavonoid:

a. Flavonol dan Flavon

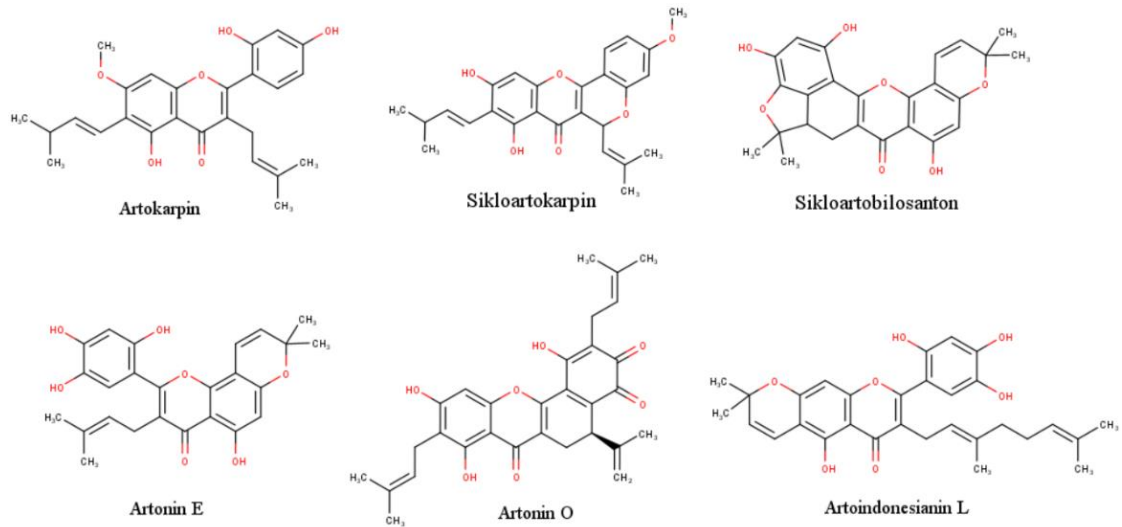
Flavonol dan flavon memiliki kemiripan struktur, perbedaannya pada flavon tidak ditemukannya gugus hidroksil pada atom C₃. Flavon yang sering dijumpai adalah apigenin dan luteolin. Flavon secara signifikan banyak ditemukan pada beberapa bagian tanaman seperti buah dan sayuran yang berperan sebagai neurotropin dalam mamalia, mengurangi angiogenesis, dan sebagai zat antioksidan. Flavonol banyak tersebar dalam tumbuhan baik sebagai pigmen antosianin. Flavonol umumnya terdapat dalam bentuk glikosida dalam bentuk umum seperti kaemferol, kuersetin dan mirisetin. Kuersetin merupakan salah satu flavonol terbaik. Struktur cincin dan konfigurasi aglikonnya dari kelompok hidroksil, menjadikannya salah satu flavonoid yang paling ampuh dalam hal kemampuan antioksidan. Kuersetin banyak ditemukan pada bawang merah, apel merah, anggur merah, teh, kranberi, kangkung, paprika, dan brokoli. Contoh senyawa flavon yang telah berhasil diisolasi pada *Artocarpus* adalah artokarpin, sikloartokarpin, sikloartobilosanton, dan artonin E.

b. Flavanon

Flavanon adalah senyawa tak berwarna yang tidak dapat dideteksi pada pemeriksaan kromatografi kecuali bila menggunakan penyemprom kromogen. Flavanon dan kalkon adalah dua jenis flavonoid yang isomerik dan jenis yang satu mudah diubah menjadi jenis yang lain. Flavanon biasanya lebih mudah terbentuk dalam suasana asam sedangkan kalkon lebih mudah didapatkan dalam suasana basa. Contoh senyawa flavanon yang telah berhasil diisolasi pada *Artocarpus* adalah artokarpanon, artoindonesianin E, dan heteroflavanon A.

c. Isoflavon

Isoflavonoid adalah subkelas flavonoid yang sangat khas terjadi secara signifikan pada kedelai dan tanaman polongan lainnya. Isoflavon dapat memainkan peran penting sebagai prekursor perkembangan fitoaleksin selama interaksi mikro tanaman (Arifin dan Ibrahim, 2018; Hakim *et al.*, 2006).



Gambar 4. Beberapa contoh senyawa flavonoid (Suhartati *et al.*, 2001; Hakim *et al.*, 2006).

2.6 Ekstraksi Senyawa Flavonoid

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak senyawa yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Secara garis besar, proses pemisahan secara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar, yaitu:

1. Penambahan sejumlah massa pelarut untuk dikontakkan dengan sampel, biasanya melalui proses difusi.
2. Zat terlarut akan terpisah dari sampel dan larut oleh pelarut membentuk fase ekstrak.
3. Pemisahan fase ekstrak dengan sampel (Wilson *et al.*, 2000).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Beberapa metode yang dapat digunakan dalam ekstraksi senyawa bahan alam antara lain: maserasi, *ultrasound-assisted solvent extraction*, perkolasi, sokletasi, refluks, dan destilasi uap. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi (Mukhtarini, 2011). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

2.6.1 Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Senyawa aktif flavonoid yang terkandung pada kayu akar *A. rigida* akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan pelarut metanol, karena metanol bersifat semi polar yang dapat dengan mudah melarutkan senyawa aktif baik yang bersifat polar maupun non polar dibandingkan pelarut lain. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan, yaitu terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak (Chairunnisa dkk., 2019).

Prinsip kerja maserasi yaitu proses melarutnya senyawa aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan zat aktif terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif sehingga terjadi ketidak seimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini mengakibatkan terjadinya proses difusi, larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Pengadukan secara terus menerus dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat kesetimbangan konsentrasi larutan di dalam dan di luar sel (Marjoni, 2016).

2.6.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)

Ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan yang didasarkan pada distribusi yang berbeda dari komponen yang akan dipisahkan antara dua fase cair. Hal tersebut tergantung pada perpindahan massa komponen yang akan diekstraksi dari fase

cair pertama ke fase cair kedua. Ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode sederhana untuk melakukan pemisahan suatu komponen dalam suatu larutan dengan menggunakan labu pemisah (*separatory funnel*) dan dipakai pelarut yang tidak dapat bercampur (*immiscible*), biasanya digunakan suatu pelarut organik dan air sebagai parameter dalam ekstraksi (Muller *et al.*, 2008).

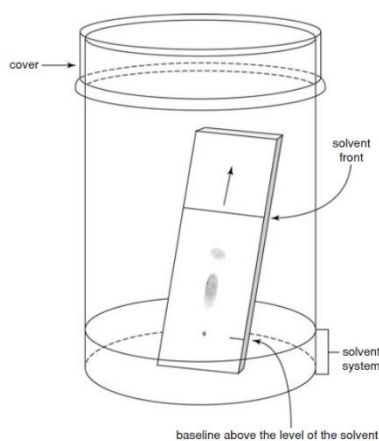
2.7 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi

Kromatografi dapat diartikan sebagai metode pemisahan campuran senyawa dalam suatu sampel berdasarkan perbedaan interaksi sampel dengan fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan yang diletakkan pada permukaan fase pendukung. Fase gerak dapat berupa gas atau cairan. Jenis interaksi yang ada dalam proses kromatografi sangatlah bermacam-macam tergantung pada kombinasi fase diam dan fase geraknya, maka berkembanglah beberapa teknik kromatografi (Dwiwarso, 2016). Pada penelitian ini digunakan beberapa metode kromatografi, yaitu:

2.7.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan kromatografi yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan menentukan kemurnian suatu senyawa. Umumnya KLT digunakan untuk memonitor hasil fraksi dari pemisahan kromatografi lainnya, seperti KCV dan KK. KLT memiliki prinsip kerja pemisahan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa pelat KLT dari aluminium, kertas, kaca, atau plastik, yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben. Adsorben yang umum digunakan meliputi gel silika, selulosa, selulosa DEAE, selulosa PEI, atau pada fase terbalik digunakan C₁₈. Fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang akan dipisahkan dan sesuai pelat KLT yang digunakan (Meyers *and* Meyers, 2008).

KLT dilakukan dengan menotolkan sampel pada salah satu ujung fase diam (*base line*) untuk membentuk zona awal, kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak di dalam *chamber*. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Pemisahan senyawa terjadi karena masing-masing senyawa tertahan berbeda pada adsorben sesuai kepolarannya. Ketika fase gerak telah bergerak sampai batas garis (*end line*), pelat silika diambil dan dikeringkan (Wulandari, 2011). Berikut ini penggambaran KLT di dalam *chamber*:



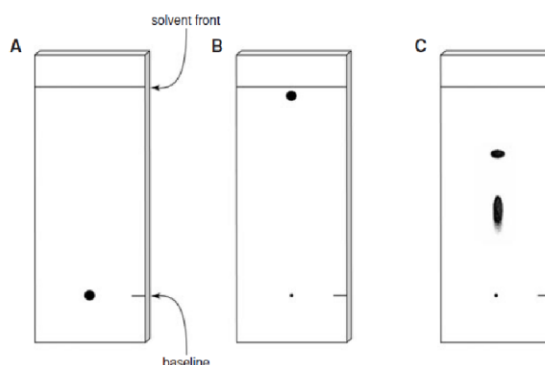
Gambar 5. Diagram KLT (Meyers *and* Meyers, 2008).

Zona yang dihasilkan pada pelat dapat dideteksi secara langsung (*visual*) atau di bawah sinar ultraviolet (UV). Sinar UV dapat digunakan untuk memvisualisasikan senyawa tertentu pada pelat KLT yang mengandung indikator UV dengan panjang gelombang pendek (254 nm) atau panjang gelombang panjang (366 nm). Senyawa yang mengandung kromofor penyerap UV disebut UV-aktif dan dapat divisualisasikan menggunakan metode ini. Senyawa tersebut akan memblokir penyerapan sinar UV oleh indikator *fluorescent*, menciptakan titik gelap dengan latar belakang terang. Semua flavonoid memiliki kromofor aromatik yang dapat ditunjukkan oleh serapan UV pada daerah spektra UV 250 nm. Flavonoid tertentu mengandung kromofor karbonil dan menyerap cahaya pada daerah 300 nm (Meyers *and* Meyers, 2008).

Zona pemisahan dapat dilihat secara langsung dengan menambahkan pereaksi penampak noda yang cocok. Pereaksi penampak bercak yang umum digunakan diantaranya asam sulfat untuk semua golongan senyawa dan serium sulfat untuk golongan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, sapogenin, dan terpenoid (Arnida dan Sutomo, 2008). Parameter yang digunakan pada KLT adalah nilai R_f (*retardation factor*). Dua senyawa dikatakan identik jika memiliki nilai R_f yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama (Kowalska, 2003). Menentukan nilai R_f dapat dilakukan dengan mengukur jarak dari *baseline* ke tengah spot untuk mengukur jarak tempuh sampel, dan mengukur jarak dari *baseline* ke *endline* untuk mengukur jarak tempuh eluen. Nilai R_f dihasilkan dari pengurangan jarak tempuh sampel dan jarak tempuh eluen dengan rentang 0,1-1.

$$R_f = \frac{\text{jarak tempuh sampel}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

Nilai $R_f < 0,2$ atau $> 0,8$ tidak terlalu informatif. Spot yang terlihat mungkin masih mengandung campuran senyawa yang tidak terpisah selama pengelusian di bawah atau atasnya seperti yang digambarkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil KLT (A) Spot memiliki R_f 0,0 (B) Spot memiliki R_f 0,94 (C) Pelat menunjukkan dua senyawa dengan eluen yang sesuai dengan R_f 0,29 dan 0,67 (Meyers and Meyers, 2008).

Spot dengan nilai $R_f < 0,2$ atau $> 0,8$ harus dievaluasi kembali dengan menyesuaikan polaritas eluen untuk mendapatkan nilai R_f dalam kisaran 0,2 sampai 0,8. Misalnya, meningkatkan kepolaran eluen akan meningkatkan nilai R_f senyawa polar pada gel silika (Meyers and Meyers, 2008).

2.7.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (*Vacuum Liquid Chromatography/VLC*) merupakan salah satu metode kromatografi yang berfungsi memisahkan ekstrak bahan alam dengan prinsip kerja yang hampir sama dengan metode kromatografi pada umumnya, dimana senyawa akan terpisah ke dalam beberapa fraksi berdasarkan polaritasnya. Pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fase diam dan aliran fase gerak yang dibantu dengan pompa vakum. Fase diam atau adsorben yang digunakan dapat berupa silika gel (Ghisalberti, 2008). KCV memiliki beberapa keuntungan, yaitu biaya lebih murah, cara pengerjaan yang lebih sederhana, dan waktu pengerjaan lebih singkat (Hu *et al.*, 2007).

Fase diam yang digunakan pada KCV dikemas di dalam kolom. Proses penyiapan fase diam tersebut terbagi menjadi dua macam, yaitu:

a. Cara Basah

Fase diam dilarutkan terlebih dahulu ke dalam fase gerak (eluen) yang akan digunakan. Campuran tersebut akan berbentuk bubur (*slurry*) yang kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Fase gerak dibiarkan mengalir hingga terbentuk fase diam yang tetap dan rata, setelah itu aliran dihentikan.

b. Cara Kering

Fase diam yang akan digunakan dimasukkan ke kolom dalam keadaan kering tanpa dilarutkan fase gerak, kemudian dibasahi dengan pelarut yang akan digunakan (Sarker *et al.*, 2006).

2.7.3 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom adalah kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran. Kolom berupa pipa gelas yang dilengkapi keran di bagian bawah kolom untuk mengendalikan aliran eluen, ukuran kolom tergantung dari banyaknya zat yang akan dipisahkan. Pemisahan pada kromatografi kolom tergantung pada perbedaan distribusi

campuran komponen antara fase diam berupa silika gel dan fase gerak yang dibiarkan untuk mengalir, serta berdasarkan gaya gravitasi. KK dilakukan pada kondisi normal tanpa vakum sehingga waktu yang diperlukan lebih lama, namun dengan kondisi tersebut diharapkan menghasilkan pemisahan yang lebih baik dan murni (Hernawan, 2008).

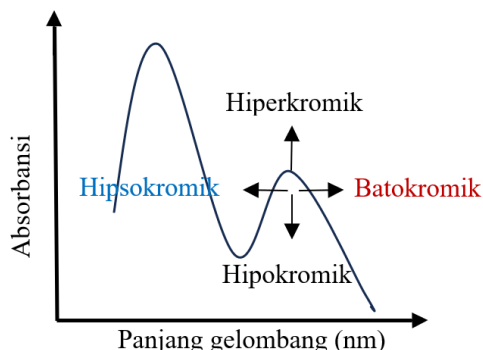
Prinsip yang mendasari kromatografi kolom ialah komponen-komponen dalam zat sampel mempunyai afinitas yang berbeda-beda terhadap adsorben dalam kolom. Apabila kita mengalirkan larutan secara kontinu melalui kolom yang berisi sampel, maka yang pertama-tama dielusi ialah komponen yang paling lemah terikat terhadap adsorben. Komponen lainnya akan dihanyutkan menurut urutan afinitasnya terhadap adsorben sehingga terjadi pemisahan dari komponen-komponen tersebut (Yazid, 2005).

2.8 Identifikasi Spektrofotometri

2.8.1 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

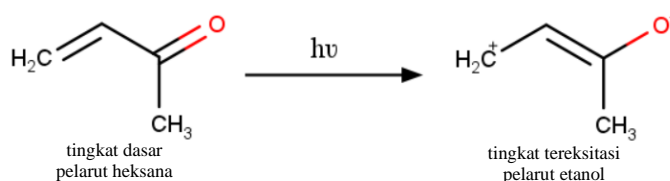
Spektrofotometer UV-Vis merupakan instrumen analisis spektroskopi yang menggunakan gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 200-400 (UV) dan 400-800 (*visible*/tampak). Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan sinar ultra violet dan tampak merupakan salah satu cara yang paling penting dalam mengidentifikasi struktur flavonoid. Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dengan pelarut metanol atau etanol. Spektrum khas terdiri pada rentang 240-280 nm (pita II) dan 300-550 nm (pita I). Kedudukan yang tepat dan kekuatan nisbi maksimum tersebut memberikan informasi mengenai sifat flavonoid dan pola oksigenasinya. Puncak yang relatif rendah pada pita I dalam spektrum merupakan ciri khas flavonoid golongan hidroflavon, dihidroflavon, dan isoflavon. Sementara puncak yang tinggi merupakan ciri khas kalkon, auron, dan antosianin.

Pada spektroskopi UV-Vis dengan adanya penambahan larutan yang biasa disebut dengan pereaksi geser dapat menyebabkan pergeseran batokromik, hipsokromik, hiperkromik, atau hipokromik seperti pada Gambar 7.



Gambar 7. Beberapa istilah perubahan spektrum UV-Vis yang berkaitan dengan panjang gelombang dan intensitas absorpsi (Suhartati, 2017).

Pada efek batokromik terjadi perubahan absorpsi panjang gelombang ke arah panjang gelombang yang lebih besar, yang terjadi karena adanya substituen/auksokrom tertentu pada kromofor atau dapat juga terjadi karena ada perubahan pelarut yang digunakan. Senyawa yang dapat mengalami eksitasi $\pi \rightarrow \pi^*$, misalnya pada senyawa 2-butanon-3-ena yang mula-mula diukur dalam pelarut heksana (non polar), akan terjadi efek batokromik sebesar 10-20 nm bila senyawa diukur lagi, tetapi pelarut yang digunakan diganti dengan etanol (polar). Senyawa 2-butanon-3-ena akan mengalami eksitasi bila disinari dengan sinar UV dan molekul menjadi lebih polar seperti yang ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Contoh senyawa yang mengalami eksitasi bila disinari dengan sinar UV ketika adanya perubahan pelarut (Suhartati, 2017).

Dalam pelarut heksana (non polar), senyawa 2-butanon-3-ena dalam tingkat tereksitasi tidak mengadakan interaksi, tetapi bila pelarut diganti menjadi pelarut polar seperti etanol, maka molekul tereksitasi akan berinteraksi dengan pelarut polar, yang mengakibatkan tingkat energi tereksitasi turun, akibatnya absorpsi

sinar UV akan menghasilkan panjang gelombang yang lebih besar dibandingkan dengan absorpsi bila digunakan pelarut non polar (Suhartati, 2017).

Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan lalu diamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Pereaksi geser yang digunakan pada penelitian adalah NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, dan H₃BO₃. Spektrum NaOH merupakan spektrum flavonoid yang menunjukkan ada atau tidaknya gugus hidroksil bebas pada posisi C4'. Pergeseran terjadi pada pita I sebesar 45-65 nm untuk flavon dan flavonol. Spektrum AlCl₃ dan AlCl₃/HCl dapat mendeteksi adanya gugus o-hidroksi pada C3' atau C4' dan gugus o-hidroksi keton. Spektrum NaOAc mendeteksi ada atau tidaknya gugus 7-OH bebas, dan spektrum NaOAc/H₃BO₃ mendeteksi gugus OH pada o-dihidroksi (Markham, 1988).

Tabel 1. Rentangan serapan panjang gelombang maksimum UV-Vis pada senyawa flavonoid (Markham, 1988)

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis flavonoid
250-280	310-350	Flavon
250-280	330-360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250-280	350-385	Flavonol (3-OH bebas)
245-275	310-320	Isoflavon
275-295	300-330	Flavanon dan dihidro flavonol
230-270	340-390	Chalkon
230-270	380-430	Auron
270-280	465-560	Antosianidin dan antosianin

2.8.2 Spektrofotometri Inframerah atau *Infrared* (IR)

Spektrofotometri IR merupakan suatu metode pengamat interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75-1000 μm (Dachriyanus, 2004). Beberapa daerah serapan yang khas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Daerah serapan khas IR (Dachriyanus, 2004)

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Jenis Ikatan
3750-3000	Regang O-H, N-H
3000-2700	Regang $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$, C-H, C-H aldehid
2400-2100	Regang $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $\text{C}\equiv\text{N}$
1900-1650	Regang C=O (asam, aldehid, keton, amina, ester, anhidrida)
1675-1500	Regang C=C (aromatik dan alifatik), C=N
1475-1300	C-H <i>bending</i>
1000-650	C=C-H, Ar-H <i>bending</i>

Karakterisasi dengan menggunakan spektroskopi IR bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis vibrasi antar atom. IR juga digunakan untuk menganalisa senyawa organik dan anorganik serta analisa kualitatif dan kuantitatif dengan melihat kekuatan absorpsi senyawa pada bilangan gelombang tertentu. Spektrum inframerah dapat digunakan untuk mengetahui gugus fungsi dalam suatu molekul karena setiap ikatan dalam suatu molekul menyerap pada bilangan gelombang yang spesifik. Bilangan gelombang IR berada pada rentang $625\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$. Pada flavonoid, spektrum inframerah memberikan serapan pada bilangan gelombang $3400\text{-}3650\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari vibrasi regangan O-H, dugaan tersebut didukung dengan adanya serapan dari C-O alkohol pada bilangan gelombang $1050\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$, regangan C-H aromatik muncul pada daerah panjang gelombang $3010\text{-}3040\text{ cm}^{-1}$, sedangkan serapan C=C aromatik muncul pada bilangan gelombang 1625 cm^{-1} . Serapan gugus C=O dari senyawa flavonoid dengan bentuk pita serapan tajam biasanya muncul pada bilangan gelombang $1650\text{-}1750\text{ cm}^{-1}$ (Sa'diah, 2019; Suhartati, 2001).

Spektrum IR sangat berguna untuk mengidentifikasi suatu senyawa dengan cara membandingkannya dengan spektrum senyawa standar terutama pada daerah sidik jari. Daerah di sebelah kanan diagram (dari 1500 sampai 500 cm^{-1}) biasanya mengandung bentuk absorban yang sangat kompleks. Hal ini disebabkan karena seluruh jenis vibrasi bending molekul menyerap pada daerah ini. Daerah ini disebut dengan daerah sidik jari. Untuk menganalisa jenis ikatan pada daerah ini sangat sulit. Namun, serapan pada daerah sidik jari setiap senyawa memberikan

pola yang berbeda sehingga sangat berguna untuk mengidentifikasi suatu senyawa (Dachriyanus, 2004).

2.9 Antibakteri

Antibiotik merupakan obat yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri. Namun, saat ini penggunaan antibiotik telah mengalami banyak penyalahgunaan, diantaranya salah guna, salah dosis, ataupun karena kesalahan pasien. Penyalahgunaan antibiotik tersebut dapat mengakibatkan antibiotik mengalami resistensi. Resistensi antibiotik diartikan tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistematis dengan dosis normal. Salah satu penanganan resistensi antibiotik adalah dengan penemuan antibiotik baru baik modifikasi antibiotik yang sudah ada ataupun mencari senyawa baru sebagai antibakteri. Flavonoid termasuk salah satu alternatif sebagai obat antibiotik baru (Cushnie *and* Lamb, 2005).

Meskipun penelitian mengenai mekanisme yang mendasari aktivitas antibakteri flavonoid relatif sedikit, penelitian menunjukkan bahwa flavonoid bersifat bakteristatik, yaitu obat yang mekanisme kerjanya menghentikan aktivitas seluler bakteri tanpa menyebabkan kematian bakteri secara langsung. Mekanisme antibakteri flavonoid dapat berupa menghambat sintesis asam nukleat bakteri, menghambat fungsi membran sitoplasma, atau mengganggu metabolisme energi dengan menghambat penggabungan prekursor radioaktif ke dalam makromolekul (DNA, RNA, dan protein) bakteri. Penelitian juga menunjukkan bahwa senyawa yang berbeda dalam kelas flavonoid, menargetkan komponen dan sel bakteri yang berbeda dalam aktivitas antibakterinya. Kemungkinan besar juga satu senyawa flavonoid dapat menargetkan lebih dari satu sel target (Cushnie *and* Lamb, 2005).

Struktur flavonoid yang berperan dalam aktivitas antibakteri berkaitan dengan gugus hidroksil dan gugus alifatik pada senyawa. Penelitian yang dilakukan oleh Tsuchiya *et al.* menemukan 2', 4'-dihidroksi atau 2',6'-dihidroksi pada cincin B

dan 5,4-dihidroksi pada cincin A berperan dalam aktivitas antibakteri terhadap MRSA (*Methicillin Resistant S. aureus*). Posisi substituen alifatik grup (grenil, prenil, atau lavandulil) berada di posisi C6 atau C8 tidak terlalu berperan. Namun, senyawa dengan gugus lavandulil lebih besar aktivitas antibakterinya terhadap MRSA dibandingkan senyawa dengan gugus prenil (Tsuchiya *et al.*, 1996).

2.9.1 Bakteri

a. *Salmonella* sp.

Salmonella sp., bakteri penyebab salmonellosis adalah bakteri gram negatif yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, berbentuk batang non spora dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. Kebanyakan spesies *Salmonella* sp. adalah motil, kecuali *Salmonella gallinarum* dan *Salmonella pullorum* dengan flagella *peritrichous*. Suhu optimum untuk *Salmonella* sp. adalah 32-37°C, walaupun mampu tumbuh pada suhu 6-46°C. Bakteri ini dapat masuk tubuh manusia melalui rute oral, biasanya dengan makanan atau minuman yang terkontaminasi dan berkolonisasi dalam usus dalam waktu 8-48 jam sampai 7-20 hari. Faktor *host* (keasaman lambung, imunitas usus, dan umur) dapat mempengaruhi resistensi terhadap *Salmonella* sp. (Aktar *et al.*, 2016). Bakteri *Salmonella* sp. dapat dilihat pada Gambar 9.

Bentuk
batang

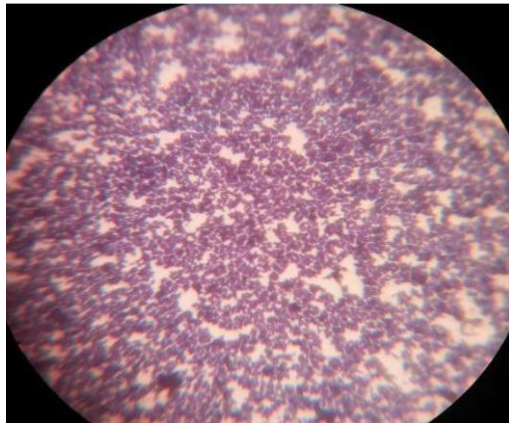


Gambar 9. *Salmonella* sp. (Bano *et al.*, 2020).

Salah satu spesies *Salmonella* sp. adalah *Salmonella typhi* yang dapat menyebabkan demam tifoid. Menurut *World Health Organization* (WHO) penderita demam tifoid memiliki gejala demam tinggi yang berkepanjangan, kelelahan, sakit kepala, mual, sakit perut, konstipasi atau diare, dan beberapa pasien mungkin mengalami ruam. Kloramfenikol, amoksisilin, dan trimetoprim-sulfametoksazol merupakan antibiotik umum untuk pengobatan demam tifoid di wilayah bakteri *S. typhi* masih rentan terhadap antibiotik tersebut. Obat-obatan ini tidak mahal, tersedia secara luas, dan jarang terdapat efek samping. Dengan adanya resisten dari *S. typhi* digunakanlah *ciprofloxacin* atau *ofloxacin* sebagai alternatif. Kuinolon dapat digunakan untuk infeksi berat atau ketika terapi alternatif tidak tersedia. Sefalosporin spektrum luas seperti *ceftriaxone* dapat digunakan jika bakteri resisten terhadap kuinolon. Penggunaan fluorokuinolon, sefalosporin, dan makrolida dapat digunakan pada penderita yang gagal merespons pengobatan standar. Alternatif lain bagi penderita yang terkena *quinolone-resistant Salmonella* adalah *azithromycin* (Parry *et al.*, 2002).

b. Bakteri *S. aureus*

S. aureus adalah spesies dari famili *Micrococcaceae*. Bakteri ini termasuk gram-positif berbentuk kokus. *S. aureus* dapat tumbuh secara aerobik atau anaerobik dan pada suhu antara 18-40°C. Pada manusia, bakteri *S. aureus* sering ditemukan pada kulit dan selaput lendir. Infeksi dimulai ketika adanya permukaan kulit atau penghalang mukosa yang rusak, memungkinkan *S. aureus* masuk ke jaringan tubuh atau aliran darah (Lowy, 1998). Bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. *S. aureus* (Bano *et al.*, 2020).

S. aureus merupakan bakteri penyebab infeksi pada manusia, termasuk bakteremia, endokarditis infeksi, infeksi kulit dan jaringan lunak (misalnya, impetigo, folikulitis, furunkel, karbunkel, selulitis, sindrom kulit melepuh, dan lain-lain), osteomyelitis, infeksi paru (misalnya, pneumonia dan empiema), gastroenteritis, meningitis, *toxic shock syndrome* (TSS), dan infeksi saluran kemih. Pengobatan infeksi *S. aureus* sangat bergantung pada jenis infeksi serta ada tidaknya strain yang resistan terhadap antibiotik. Secara umum, penisilin menjadi obat pilihan untuk strain MSSA (*Methicillin Sensitive S. aureus*) dan vankomisin untuk strain MRSA (*Methicillin Resistant S. aureus*). Pengobatan alternatif juga diperlukan selain terapi antimikroba untuk beberapa kasus, seperti osteomyelitis yang memerlukan operasi (Tong *et al.*, 2015).

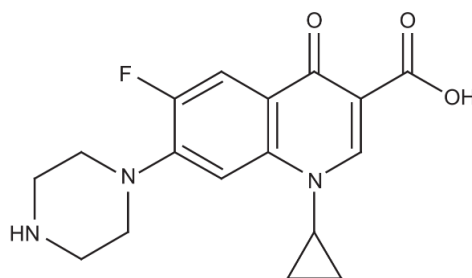
2.9.2 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan suatu metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas tersebut. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi atau metode pengenceran (dilusi). Pada metode difusi digunakan kertas cakram untuk mengukur diameter zona bening (*clear-zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam sampel (Pratiwi, 2008). Pada uji antibakteri digunakan suatu kontrol untuk

memastikan uji yang dilakukan sudah tepat dan menghasilkan efek positif pada variabel tergantung. Kontrol positif yang digunakan adalah *ciprofloxacin* dan *chloramphenicol* (CAP).

a. *Ciprofloxacin*

Ciprofloxacin adalah antibiotik spektrum luas yang termasuk dalam kelas fluorokuinolon. *Ciprofloxacin* adalah fluorokuinolon yang melawan berbagai bakteri, yang paling rentan adalah basil gram negatif aerobik, terutama Enterobacteriaceae dan Neisseria. *Ciprofloxacin* memiliki struktur kimia yang terdiri dari inti kuinolon, yang merupakan sistem cincin bisiklik, menyatu dengan gugus asam karboksilat terfluorinasi. Rumus kimia *ciprofloxacin* adalah $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ (Sharma *et al.*, 2010). Struktur kimia *ciprofloxacin* dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Struktur kimia *ciprofloxacin* (Sharma *et al.*, 2010).

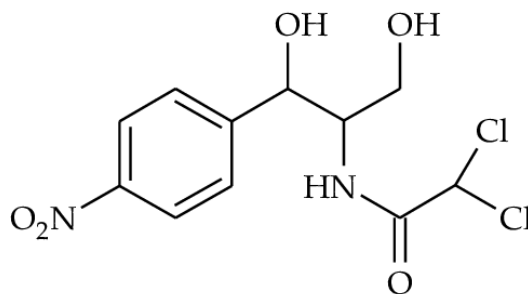
Mekanisme *ciprofloxacin* dalam antibiotik adalah dengan mengikat DNA girase dan topoisomerase IV. *Ciprofloxacin* menghambat kemampuannya untuk meredakan ketegangan dan *supercoiling* DNA selama replikasi, akibatnya DNA bakteri menjadi terfragmentasi dan terjadi pemutusan pada untaian DNA.

Ciprofloxacin efektif dalam berbagai infeksi termasuk yang sulit diobati. Karena aktivitas bakterisidal spektrum luas, kemanjuran oral, dan tolerabilitas yang baik, obat ini banyak digunakan, tetapi tidak boleh digunakan untuk kasus kecil atau untuk infeksi bakteri gram-positif. Dengan beberapa pengecualian, efek samping dari *ciprofloxacin* memiliki konsekuensi yang tidak terlalu parah jika dibandingkan dengan efek menguntungkannya, yaitu toksisitas ringan pada dosis terapi dan umumnya terbatas pada gangguan pencernaan seperti mual, muntah,

dan diare. Meskipun resistensi terhadap antibiotik ini jarang terjadi, namun beberapa laporan menunjukkan bahwa resistensi terhadap *ciprofloxacin* meningkat (Sharma *et al.*, 2010).

b. *Chloramphenicol* (CAP)

CAP adalah antibiotik pertama yang diproduksi secara massal dan terbukti efektif melawan demam tifoid. CAP merupakan antibiotik spektrum luas yang sangat efektif melawan banyak bakteri gram positif dan gram negatif. CAP diproduksi secara sintetik, tetapi awalnya diisolasi dari organisme *Streptomyces venezuelae* yang ditemukan di tanah dan kompos. Struktur kimia CAP terdiri dari cincin nitrobenzena, gugus dikloroasetamida, dan rantai samping *p*-nitrofenol. Rumus molekul *chloramphenicol* adalah $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ (Balbi, 2014). Struktur kimia CAP dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Struktur kimia *chloramphenicol* (Balbi, 2014).

Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibiotik melibatkan kemampuannya dalam menghambat sintesis protein bakteri. CAP menargetkan ribosom bakteri, yang bertanggung jawab untuk sintesis protein, dan mengganggu fase pemanjangan sintesis protein. Dengan mengganggu sintesis protein bakteri, CAP secara efektif menghambat pertumbuhan dan replikasi bakteri. Namun, CAP juga dapat memengaruhi sintesis protein mitokondria dalam sel manusia, oleh karena itu penggunaan CAP dibatasi dan dipantau secara hati-hati karena efek sampingnya. Saat ini CAP tidak lagi menjadi obat pilihan untuk infeksi tertentu. CAP dapat dipertimbangkan dalam pengobatan infeksi serius di negara-negara

berkembang, pada infeksi berat seperti meningitis, pasien alergi penisilin atau jika terinfeksi *S. pneumoniae* yang resistan sefalosporin (Balbi, 2014)

2.10 Antidiabetes

2.10.1 Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia) sebagai akibat dari kekurangan sekresi insulin, gangguan aktifitas insulin atau keduanya. Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau kegagalan beberapa organ tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (Syahid, 2021). Kekurangan insulin pada penderita diabetes dapat terjadi secara relatif maupun absolut. Defisiensi insulin dapat terjadi melalui:

- a. Rusaknya sel-sel β -pankreas karena pengaruh dari luar, seperti virus dan zat kimia.
- b. Desensitasi atau penurunan reseptor glukosa pada kelenjar pankreas
- c. Desensitasi atau kerusakan reseptor insulin di jaringan perifer (Fatimah, 2015).

Secara klinis, diabetes dibedakan atas empat jenis, yaitu:

1. Diabetes tipe 1 sering disebut dengan *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) atau *diabetes mellitus juvenil*. Diabetes tipe-1 adalah diabetes yang terjadi akibat proses autoimun yang merusak sel β -pankreas sehingga produksi insulin berkurang bahkan terhenti.
2. Diabetes tipe 2 atau *non-insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM) yang umumnya terjadi setelah dewasa. Diabetes tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, namun karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai resistensi insulin. Resistensi insulin banyak terjadi akibat obesitas, kurangnya aktivitas fisik serta penuaan. Pada penderita diabetes tipe 2 dapat juga terjadi produksi glukosa hepatic yang berlebihan namun tidak terjadi perusakan sel-sel β -

pankreas secara autoimun, tetapi apabila tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan selanjutnya akan terjadi kerusakan sel-sel β -pankreas yang seringkali akan menyebabkan defisiensi insulin sehingga akhirnya penderita memerlukan insulin eksogen.

3. Diabetes oleh karena penyebab lain, dan

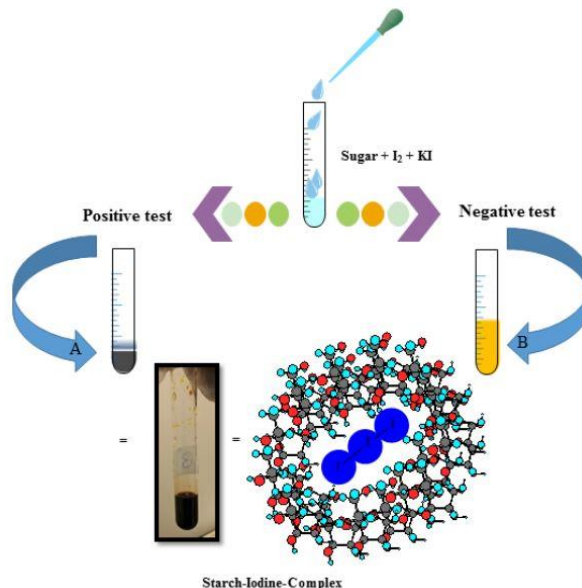
4. Diabetes selama masa kehamilan (Wisman dkk., 2007; Fatimah, 2015).

2.10.2 Uji Antidiabetes

Penderita diabetes harus mengkonsumsi obat antidiabetes oral selama hidupnya. Insulin merupakan obat yang harus selalu tersedia untuk semua kasus diabetes tipe 1 dikarenakan alternatif obat selain insulin masih dalam tahap penelitian. Sementara untuk kasus diabetes tipe 2 dapat mengkonsumsi obat hipoglikemik oral golongan inhibitor enzim α -glukosidase dan α -amilase (Riyanti dkk., 2019).

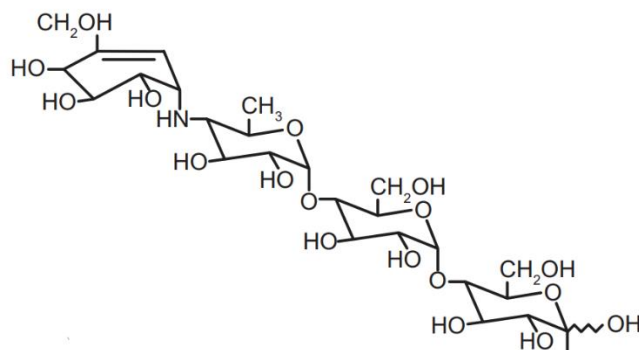
Enzim α -amilase merupakan kelompok enzim endoamilase yang bekerja pada bagian dalam amilosa maupun amilopektin dengan memutuskan ikatan α -1,4 glikosidik. Reaksi hidrolisis di bagian dalam unit amilosa menghasilkan maltosa dan D-glukosa dan di bagian dalam unit amilopektin menghasilkan dekstrin. Uji inhibisi α -amilase dilakukan untuk mengetahui penurunan aktivitas enzim α -amilase dalam pemecahan pati. Semakin banyak maltosa yang dihasilkan dari suatu pati berarti semakin banyak pati yang terhidrolisis menjadi maltosa dan glukosa. Semakin banyak glukosa dalam sampel, maka semakin tinggi nilai absorbansi yang dihasilkan. Artinya, jika aktivitas enzim terhambat, gula yang terbentuk akan lebih sedikit dan terjadi penurunan nilai absorbansi. Sehingga inhibitor α -amilase memiliki mekanisme kerja yang dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, oleh karena itu dapat mengurangi kadar glukosa pada penderita diabetes. (Ak *et al.*, 2019; Riyanti dkk., 2019).

Prinsip uji didasarkan pada perubahan intensitas warna biru yang dihasilkan akibat terbentuknya kompleks pati-iodium dari amilosa dalam pati (Fuwa, 1954) sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 13.



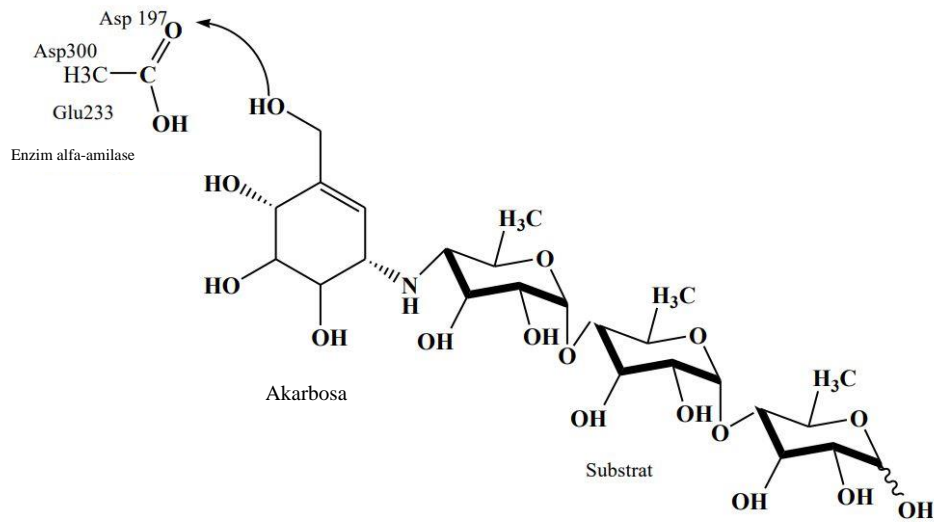
Gambar 13. Skema uji antidiabetes berdasarkan metode Fuwa (Elzagheid, 2018).

Kontrol positif yang digunakan pada uji ini adalah akarbosa, obat antidiabetes yang dihasilkan oleh *Actinoplanes* sp. Akarbosa adalah pseudotetrasakarida dengan siklitol tak jenuh [2,3,4-trihidroksi-5-(hidroksimetil)-5,6-sikloheksena dalam konfigurasi D-glukosa] yang terikat pada nitrogen 4-amino-4,6-dideoksi D-glukopiranos, yang terikat α -1,4 dengan maltosa (Yoon *and* Robyt, 2003). Berikut adalah struktur akarbosa.



Gambar 14. Struktur akarbosa (Rosak *and* Mertes, 2012).

Akarbosa merupakan inhibitor kompetitif terhadap α -amilase; dengan jalur inhibisi yang disebabkan oleh cincin sikloheksena tak jenuh dan ikatan nitrogen glikosidik yang meniru keadaan transisi untuk pembelahan ikatan glikosidik karbohidrat oleh enzim (Yoon *and* Robyt, 2003). Proses pengikatan akarbosa dihipotesiskan pada Gambar 15.



Gambar 15. Pengikatan enzim oleh akarbosa (Aisyah *et al.*, 2020),

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Juni 2023, bertempat di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia Universitas Lampung. Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis spektrofotometri menggunakan spektrofotometer ultra violet-tampak (UV-*Vis*) dilakukan di Laboratorium Anorganik, Jurusan Kimia Universitas Lampung, analisis menggunakan spektrofotometer inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Bandung, serta uji bioaktivitas antibakteri dan antidiabetes dilakukan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat-Alat yang Digunakan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, *rotary vacuum evaporator*, satu paket alat kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), lampu UV, pipet kapiler, neraca analitik, oven, *autoclave*, *laminar air flow/LAF* (9005-FL CrumairTM), jarum *ose*, cawan petri, pinset, penggaris, inkubator (Precistern P' SelectaTM), pembakar Bunsen, mikropipet 10-100 μL dan 100-1000 μL (EppendorfTM), tabung reaksi, pemanas air, termometer (T60HeraeusTM), spektrofotometer FT-IR (*Prestige 21* –

Shimadzu), dan spektrofotometer UV-Vis (*Cary-100 UV-Vis Agilent Technologies*).

3.2.2 Bahan-Bahan yang Digunakan

Kayu akar tanaman kenangan (*A. rigida*) yang diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Lampung yang diambil dan sudah dikeringkan pada Februari 2022. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi dalam penelitian ini berkualitas teknis yang telah didestilasi, sedangkan untuk analisis spektrofotometer berkualitas pro-analisis (p.a). Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C₆H₁₄), etil asetat (EtOAc), aseton (C₂H₆O), diklorometana (CH₂Cl₂), serum sulfat (Ce(SO₄)₂) 1,5% dalam asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, silika gel Merck G 60, silika Gel Merck 60 (70-230 Mesh), pelat KLT silika gel Merck Kiesegal 60 GF₂₅₄ 0,25 mm, pereaksi geser NaOH 2 M (0,8 g NaOH dilarutkan dalam 10 mL akuades), larutan AlCl₃ 5% (0,25 gram AlCl₃ dilarutkan dalam 5 mL metanol), larutan HCl 18,5% (5 mL HCl pekat dilarutkan sampai 10 mL dengan akuades), padatan NaOAc, dan H₃BO₃. Uji Antidiabetes menggunakan enzim α -amilase (Sigma Aldrich), akarbosa (Sigma Aldrich), larutan pati 1%, dimetil sulfoksida (DMSO), larutan iodin (0,2 g I₂ dalam KI 2%), dan larutan HCl 1 N. Untuk uji antibakteri menggunakan kertas Whatman, akuades (H₂O), media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *S. aureus*, bakteri *Salmonella* sp., *chloramphenicol* dan *ciprofloxacin*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel berupa tumbuhan kenangan (*A. rigida*) diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung pada bulan Februari 2022. Sampel terlebih dahulu diidentifikasi atau dideterminasi untuk

mengetahui spesies dari sampel yang akan digunakan. Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Sampel kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) dipisahkan dari kulit lalu dibersihkan dari pengotor yang menempel pada kayu. Kayu akar yang sudah bersih selanjutnya dipotong hingga berukuran kecil, dikeringkan pada suhu ruang, dan digiling hingga menghasilkan serbuk halus.

3.3.2 Isolasi Menggunakan Metode Maserasi

Serbuk halus kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) sebanyak 1,5 kg dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 8,8 L selama 3x24 jam. Pelarut metanol yang digunakan berkualitas teknis yang telah didestilasi. Ekstrak yang diperoleh disaring kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan putaran 100 rpm hingga diperoleh ekstrak pekat.

3.3.3 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)

Hasil ekstrak kasar pekat dipisahkan melalui metode partisi menggunakan corong pisah memakai pelarut *n*-heksana dengan perbandingan volume 1:1 sebanyak tiga kali pengulangan. Fraksi yang dihasilkan berupa fraksi metanol dan fraksi heksana yang selanjutnya dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Fraksi metanol dilakukan partisi lebih lanjut dengan cara melarutkannya dalam aseton yang bersifat semi polar sehingga hasil akhir yang didapat berupa tiga fraksi, yaitu fraksi metanol, fraksi aseton, dan fraksi heksana.

3.3.4 Kromatografi

3.3.4.1 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

KCV dilakukan menggunakan silika gel G 60 sebagai fase diam dan pelarut *n*-heksana : etil asetat sebagai eluen atau fase gerak. Mula-mula fase diam sebanyak 10 kali berat sampel dikemas ke dalam corong Buchner kaca masir yang berada di atas kolom KCV pada keadaan kering. Bagian atas fase diam ditutup menggunakan kertas saring lalu divakum hingga silika rapat dan padat. Fase diam diuji kepadatan dengan melihat apakah terdapat gelembung saat dituangkan eluen (*n*-heksana). Kemudian kolom dihisap sampai kering menggunakan alat vakum dan siap digunakan.

Sampel terlebih dahulu dimpregnasikan menggunakan silika kasar (± 2 kali berat sampel) hingga homogen dan kering. Sampel dimasukkan ke bagian atas kolom yang berisi fase diam lalu ditutup menggunakan kertas saring agar saat memasukkan eluen tidak mengganggu sampel yang telah dikemas, kemudian kolom dihisap dengan alat vakum secara perlahan. Kolom yang telah siap digunakan kemudian dilakukan elusi secara bertahap menggunakan *n*-heksana:etil asetat dimulai dari tingkat kepolaran rendah (*n*-heksana:etil asetat 100:0%) hingga ke polar (*n*-heksana:etil asetat 0:100%). Setiap penambahan eluen, kolom dihisap hingga kering kemudian fraksi-fraksi yang diperoleh digabungkan berdasarkan pola fraksinasinya.

3.3.4.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT dilakukan untuk memonitoring pola pemisahan komponen-komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar serta terhadap fraksi-fraksi hasil KCV dan KK. Berdasarkan hasil monitoring KLT, fraksi-fraksi dengan nilai R_f yang sama pada pelat silika digabung menjadi satu fraksi. KLT dilakukan

menggunakan sistem campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan persentase sesuai yang dilakukan secara “*trial and error*”.

Sampel yang akan dimonitoring dengan KLT terlebih dahulu dilarutkan menggunakan aseton, selanjutnya sampel ditotolkan ke permukaan pelat silika menggunakan pipet kapiler. Setelah dilakukan elusi terhadap pelat KLT, bercak noda dilihat di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Hasil kromatogram yang didapat disemprotkan dengan 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.

3.3.4.3 Kromatografi Kolom (KK)

Hasil fraksinasi dari KCV yang telah dianalisis dengan KLT selanjutnya difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi kolom (KK). Kromatografi kolom menggunakan silika gel Merck (70-230 Mesh) dan silika gel Merck G 60 sebagai fase diam (adsorben), serta fase gerak berupa eluen etil asetat:*n*-heksana dengan perbandingan terbaik. Persentase eluen ditentukan dengan cara sampel di KLT hingga mendapat R_f pada senyawa target sebesar 0,2-0,3.

Kolom sebelum dikemas terlebih dahulu dimasukkan kapas pada bagian dasar kolom untuk menahan silika agar tidak turun dari kolom. Pengemasan kolom pada KK dilakukan dengan cara basah. Silika gel terlebih dahulu dilarutkan dan diaduk dalam eluen yang akan digunakan hingga berbentuk bubur (*slurry*). Campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom hingga kerapatannya maksimum (tidak terdapat rongga) dan rata. Fase diam dalam kolom dibentuk sebanyak 3 lapisan, yaitu dimasukkan silika halus diantara silika kasar dengan perbandingan silika kasar 30-40 kali berat sampel dan silika halus 2 kali berat sampel. Sampel yang akan difraksinasi terlebih dahulu diimpregnasi dalam silika gel Merck G 60

(sebanyak 2 kali sampel) lalu dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi adsorben. 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.

3.3.5 Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode KLT. Indikator kemurnian suatu senyawa saat di KLT adalah timbulnya noda tunggal dengan menggunakan berbagai campuran eluen yang digunakan. Apabila noda tidak berwarna, pelat KLT perlu disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda tersebut.

3.3.6 Analisis Struktur

3.3.6.1 Spektrofotometer UV-Vis

Sampel berupa kristal murni hasil isolasi diambil sebanyak 0,1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol. 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 larutan natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 g NaOH dilarutkan dalam 10 mL akuades), larutan aluminium klorida (AlCl_3) 5% (0,25 gram AlCl_3 dilarutkan dalam 5 mL MeOH), larutan HCl 18,5% (5 mL HCl dilarutkan sampai 10 mL dengan akuades), padatan natrium asetat (NaOAc) dan asam borat (H_3BO_3). Penambahan pereaksi geser digunakan untuk menentukan kedudukan gugus hidroksi fenol pada senyawa flavonoid dengan cara mengamati pergeseran puncak yang terjadi pada pita I dan pita II.

Lalu masing-masing larutan tersebut diukur serapan maksimumnya pada panjang gelombang antara 200 dan 400 nm.

3.3.6.2 Spektrofotometer Infra Merah (IR)

Preparasi sampel pada pengukuran menggunakan spektrofotometer IR dapat menggunakan beberapa metode, diantaranya *thin films*, nujol, KBr *disk*, dan *disposable card*. Pada preparasi dengan metode KBr *disk*, sampel kristal hasil isolasi sebanyak 0,1-2% bobot garam halida anorganik digerus bersama bubuk KBr anhidrat. Gerusan sampel dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm². Kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya.

3.3.7 Uji Bioaktivitas

3.3.7.1 Uji Antibakteri

Pada uji bioaktivitas ini dilakukan dengan metode difusi kertas cakram (Banjara *et al.*, 2012). Terlebih dahulu dilakukan sterilisasi alat menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Pada uji digunakan 4,2 g *Nutrient Agar* (NA) yang dilarutkan dalam 150 mL akuades lalu dipanaskan sampai homogen dan disterilisasi. Kontrol positif yang digunakan pada uji antibakteri terhadap *S. aureus* adalah *chloramphenicol* dan terhadap bakteri *Salmonella* sp. adalah *ciprofloxacin*. Kontrol positif digunakan sebagai pembandingan untuk memastikan uji yang dilakukan sudah tepat dan bahwa sampel menghasilkan efek positif. Kontrol negatif yang digunakan pada uji adalah metanol p.a. untuk mengetahui pengaruh dari pemberian pelarut terhadap zona hambat yang terbentuk.

Sampel dan kontrol positif dibuat tiga konsentrasi berbeda, yaitu 0,5 mg/*disc*, 0,4 mg/*disc*, dan 0,3 mg/*disc*. Sampel sebanyak 3 mg dalam botol vial dilarutkan

dengan 3 mL pelarut metanol p.a. *Ciprofloxacin* sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 200 μ L metanol p.a. dan *chloramphenicol* sebanyak 1,6 mg dilarutkan dalam 160 μ L metanol p.a. Selanjutnya sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif diambil sebanyak 30, 40, dan 50 μ L yang akan ditotolkan pada *paper disc* berdiameter 6 mm. Media yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam cawan petri dalam LAF lalu setelah kering dimasukkan media yang berisi suspensi bakteri (1 ose bakteri dalam 1 mL akuades). Setelah itu dimasukkan *paper disk* berisi sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif di atas media yang telah memadat. Cawan petri dibungkus dengan *plastic wrap*, diinkubasi 1x24 jam, lalu zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur diameter zona beningnya.

3.3.7.2 Uji Antidiabetes

Uji antidiabetes dilakukan melalui inhibisi enzim α -amilase dengan menggunakan metode Fuwa yang telah dimodifikasi (Fuwa, 1954; Mwakalukwa *et al.*, 2020). Larutan sampel dibuat dengan menimbang 6,25 mg sampel lalu dilarutkan dalam 2,5 mL pelarut DMSO untuk memperoleh konsentrasi 2500 ppm, yang selanjutnya diencerkan menjadi 2000 dan 1500 ppm. Larutan pati dibuat dengan menimbang 0,15 gram pati yang dilarutkan ke dalam 15 mL akuades pada labu Erlenmeyer 100 mL lalu dipanaskan di atas *hotplate* dengan suhu 100°C. Uji dilakukan dengan membuat 4 kelompok larutan (A1-A2), yaitu A1 (0,25 mL sampel+0,25 mL enzim α -amilase), A2 (0,25 mL sampel+0,25 mL H₂O), A3 (0,25 mL enzim α -amilase+0,25 mL H₂O), dan A4 (0,5 mL H₂O). larutan dimasukkan di dalam tabung reaksi lalu dibiarkan 10 menit. Kemudian larutan ditambah 0,25 mL pati, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diaduk setiap 10 menit. Setelah itu ditambahkan 0,25 mL HCl untuk menghentikan reaksi enzimatik dan 0,25 mL reagen warna (iodin). Aktivitas α -amilase ditentukan dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi yang dihasilkan dibandingkan dengan larutan blanko dan kontrol. Persen inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \textit{inhibition} = 1 - \frac{A_2 - A_1}{A_4 - A_3} \times 100$$

Keterangan:

A₁ : Absorbansi sampel+pati+enzim

A₂ : Absorbansi sampel+pati tanpa enzim

A₃ : Absorbansi pati+enzim

A₄ : Absorbansi pati tanpa enzim

(Mwakalukwa *et al.*, 2020).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa menggunakan KLT, spektroskopi UV-Vis dan IR, yaitu didapatkan senyawa flavonoid artokarpin berupa kristal berwarna kuning sebanyak 71,5 mg dari fraksi aseton kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume).
2. Hasil uji bioaktivitas antidiabetes senyawa artokarpin hasil isolasi menunjukkan kemampuan penghambatan terhadap enzim α -amilase sebesar 30,96%, lebih rendah dari akarbosa sebagai kontrol positif yang memiliki persen inhibisi sebesar 99,97% pada konsentrasi 2500 ppm.
3. Hasil uji antibakteri senyawa artokarpin hasil isolasi terhadap *Salmonella* sp. dan *S. aureus* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri kategori kuat pada konsentrasi 0,5 mg/disc.

5.2 Saran

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

1. Penelitian lebih lanjut terhadap fraksi lain sampel kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume) sehingga dapat diperoleh informasi lebih luas mengenai kandungan senyawa flavonoid yang ada pada kayu akar *A. rigida* Blume.
2. Menggunakan metode maserasi dengan 3 jenis pelarut yang memiliki kepolaran berbeda sehingga mempermudah isolasi senyawa target yang diinginkan.
3. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan senyawa hasil isolasi untuk dijadikan sebagai obat antidiabetes dan antibakteri yang dapat dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, L. S., Ilfani, D., Lestari, F. P., and Yun, Y. F. 2020. α -Amylase Inhibition Activities by Flavonoid Compounds from Panda Plants (*Kalanchoe tomentosa*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. **23**(3): 96-101.
- Ak, M. D., Juliani, S. and Abrar, M. 2019. α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors from Plant Extracts. *J. Med. Vet.* **13**(2):151-158.
- Aktar, N., Bilkis, R., and Ilias, M. 2016. Isolation and Identification of *Salmonella* sp. from Different Food. *Int. J. Biosci.* **8**(2): 16-24.
- Arifin , B. dan Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah.* **6**(1): 21-29
- Arnida dan Sutomo. 2008. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Kayu Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Juster.* **2**(1): 23-29.
- Balbi, H. J. 2004. Chloramphenicol: a review. *Pediatr. Rev.* **25**(8): 284-288.
- Banday, M. Z., Sameer, A. S. and Nissar, S. 2021. Pathophysiology of Diabetes: An Overview. *Avicenna J. Med.* **10**: 174-88.
- Banjara, R. A., Jadhav, S. K., and Bhoite, S. A. 2012. Antibacterial Activity of Di-2-ethylaniline Phosphate Screened by Paper Disc Diffusion Method. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2**(7): 230-233.
- Bano, S. A., Hayat, M., Samreen, T., Asif, M., Habiba, U. and Uzair, B. 2020. Detection of Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp. from Raw Milk Samples of Different Cities of Pakistan. *Nat. Sci.* **12**(5): 295-306.
- Carey, I. M., Critchley, J. A., DeWilde, S., Harris, T., Hosking, F. J., and Cook, D. G. 2018. Risk of Infection in Type 1 and Type 2 Diabetes Compared With the General Population: A Matched Cohort Study. *Diabetes care.* **41**(3): 513-521.

- 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. Rek. Man. Agroind.* **7**(4): 551-560.
- Clement, W. L. and Weiblen, G. D. 2009. Morphological Evolution in the Mulberry Family (Moraceae). *Syst. Bot.* **34**(3): 530-552.
- Cushnie, T. P., and Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **26**(5): 343-356.
- Dachriyanus. 2004. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri. Andalas University Press. Padang.
- Davis, W. W. and Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. II. Novel Procedure Offering Improved Accuracy. *Appl. Microbiol.* **22**(4): 666-670.
- Dwiarso, R. 2016. Teknik Dasar Kromatografi. Deepublish. Yogyakarta.
- 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 rigida* (Moraceae). *Nat. Prod. Res.* **25**(10): 995-1003.
- Elzagheid, M. I. 2018. Laboratory Activities to Introduce Carbohydrates Qualitative Analysis to College Students. *World J. Chem. Educ.* **6**: 82-86.
- Etsassala, N., Badmus, J. A., Waryo, T. T., Marnewick, J. L., Cupido, C. N., Hussein, A. A., and Iwuoha, E. I. 2019. Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Inhibitory Activities of Novel Abietane Diterpenes from *Salvia africana-lutea*. *Antioxidants.* **8**(10): 421.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes Melitus Tipe 2. *J. Majority.* **4**(5): 93-101.
- Fuwa, H. 1954. A New method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate. *J. Biochem.* **41**(5): 583-603
- Ghisalberti, E. L. 2008. Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structural Determination. Taylor and Francis Group. USA.
- Guilfoile, P. 2007. Antibiotic Resistant Bacteria. Chelsea House Publishers. New York.
- 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**(3): 161-184.

- Hashim, 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. Bandar Lampung.
- Heyne, K., 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid 2. Departemen Kehutanan. Jakarta, Indonesia: 668-683.
- Hu Q., Ren S., Xu D., and Liu S. 2007. The Optimazation of Ultrasonic Wave Extraction and Vacuum Liquid Chromatography for Isolation of Dextruxin, *Res. J. Biol. Sci.* **2**(4): 462-467.
- 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*. **2**: 1–10.
- Irawan, Andi. 2022. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes serta Antibakteri Senyawa Flavonoid Kayu Akar Tanaman Puda (*Artocarpus kemando* Miq.). Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Jagtap, U. B. and Bapat, V. A. 2010. Artocarpus: A review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **129**(2): 142–166.
- Kabera, J. 2014. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *J. Pharm. Pharmacol.* **2**: 377-392.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. Tetap Produktif, Cegah, dan Atasi *Diabetes Mellitus*. Pusdatin Kemkes RI.
- Kim E. J., Ha K. H., Kim D. J., Choi Y. H. 2019. Diabetes and The Risk of Infection: A National Cohort Study. *Diabetes Metab. J.* **43**(6): 804-814
- Ko, H. H., Yang, S. Z., and Lin, C. N. 2000. New Constituents of *Artocarpus rigida*. *Helv. Chim. Acta.* **83**: 3000-3005.
- Kowalska, T. 2003. Encyclopedia of Chromatography. Marcell Dekker Inc. New York.
- Lowy, F. D. 1998. *Staphylococcus aureus* Infections. *N. Engl. J. Med.* **339**(8), 520-532.
- Lu, Y.H., Lin, C.N., Ko, H.H., Yang, S.Z., Tsao, L.T., and Wang, J.P., 2003. Novel anti-inflammatory constituents of *Artocarpus rigida*. *Helv. Chim. Acta* **86**: 2566–2572.

- Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi. Trans Info Media. Jakarta.
- Markham, K. R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Penerjemah: Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung.
- Meyers, C. L. F. and Meyers, D. J. 2008. Thin-Layer Chromatography. Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry, A.3D.1–A.3D.13.
- Mukhtarini. 2011. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Pharm.* **5**: 361.
- Muller, E., Berger, R., Blass, E., Sluyts, D., and Pfennig, A. 2008. Liquid–Liquid Extraction. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim.
- 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**(32): 20070–20079.
- Newman, D. J. and Cragg, G. M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs Over The 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prods.* **75**(3): 311–335.
- 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.
- Nursamsiar, N., Mangande, M. M., Awaluddin, A., Nur, S., dan Asnawi, A. 2020. In Silico Study of Aglycon Curculigoside A and Its Derivatives as α -Amilase Inhibitors. *IJPST.* **7**(1): 29-37.
- Parry, C. M., Hien, T. T., Dougan, G., White, N. J., and Farrar, J. J. 2002. Typhoid fever. *N. Engl. J. Med.* **347**(22): 1770-1782.
- Pearson-Stuttard J., Blundell S., Harris T, Cook D. G., and Critchley J. 2016. Diabetes and Infection: Assessing The Association with Glycaemic Control in Population-Based Studies. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **4**(2): 148-58
- Piparo, E. Lo, Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M., and Chou, C. J. 2008. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. *J. Med. Chem.* **51**(12): 3555-3561.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin.* **9**(2): 196–202.

- Riyanti, S., Ratnawati, J., dan Aprilianti, S. 2019. Potensi Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) sebagai Inhibitor Alfa-glukosidase. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*. **6**(1): 6-10.
- Rohde, M. 2019. The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. *Microbiol. Spectr.* **7**(3): 1-21.
- Rohwer, J. G. 1993. The Families and Genera of Vascular Plants II. Springer Verlag. Berlin: 438-453.
- Romas, A., Rosyidah, D. U., dan Aziz, M. A. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Secara In Vitro. *University Research Colloquium 2015, ISSN 2407-*, 127–132.
- 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. 2019. Isolasi, Karakterisasi, dan Modifikasi Senyawa Artokarpin dari Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*) serta Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Artokarpin dan Hasil Modifikasinya. Tesis. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Saifudin, A. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Deepublish. Yogyakarta.
- Sarker, S.D., Latif, Zahid, dan Gray A.I. 2006. *Methods in Biotechnology: Natural Product Isolation Twenty Edition*. Humana Press. New Jersey.
- 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**(4): 577-589.
- Suhartati, T. 2001. Senyawa Fenol Beberapa Spesies Tumbuhan Jenis Cempedak Indonesia. Disertasi. ITB. Bandung.
- Suhartati, T. 2017. Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Penerbit Aura. Bandar Lampung.
- Suhartati, T., Achmad, S. A., Aimi, N., Hakim, E. H., Kitajima, M., Takayama, H., and Takeya, K. 2001. Artoindonesianin L, a new prenylated flavone with cytotoxic activity from *Artocarpus rotunda*. *Fitoterapia*. **72**(8): 912-918.
- Suhartati, T., Yandri, S. H., and Hadi, S. 2008. The Bioactivity Test of Artonin E from The Bark of *Artocarpus rigida* Blume. *Eur. J. Sci. Res.* **23**, 330-337.

- Suhartati, T., Wulandari, A., Suwandi, J. F., Yandri, and Hadi, S. 2016. Artonin O, a Xanthone Compound from Root Wood of *Artocarpus rigida*. *Orient. J. Chem.* **32**(5): 2777-2784.
- Suhartati, T., Epriyanti, E., Borisha, I., Yandri, Suwandi, J. F., Yuwono, S. D., Qudus, H. I., and Hadi, S. 2020. In Vivo Antimalarial Test of Artocarpin and in vitro Antimalarial Test of Artonin M Isolated from Artocarpus. *Rev. Chim.* **71**(5): 400-408.
- Suhartati, T., Wulandari, Z., Wulandari, M., Yandri, and Hadi, S. 2021. Identification and antibacterial activity of flavonoid compounds from wood branches of the pudau plant (*Artocarpus kemando* Miq.). *J. Phys. Conf. Ser.* **1751**(1): 012095.
- Syahid, Z. M. 2021. Faktor yang Berhubungan dengan Kepatuhan Pengobatan *Diabetes Mellitus*. *JIKSH.* **10**(1): 147-155.
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., and Fowler, V. G., Jr 2015. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin. Microbiol. Rev.* **28**(3): 603-661.
- Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., and Inuma, M. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.* **50**(1): 27-34.
- Wang, T., Li, Q., and Bi, K. 2018. Bioactive Flavonoids in Medicinal Plants: Structure, Activity and Biological Fate. *Asian J. Pharm. Sci.* **13**(1): 12-23.
- Wilson I. D., Michael C., Colin F. P., Edward R. A. 2000. Encyclopedia of Separation Science. Academic Press. 118-119.
- Wisman, H., Siregar, C. D., dan Deliana, M. 2007. Pemberian Insulin pada Diabetes Melitus Tipe-1. *Sari Pediatri.* **9**(1): 48-53
- Wulandari, L. 2011. Kromatografi Lapis Tipis. PT Taman Kampus Presindo. Jember.
- Yazid, E. 2005. Kimia Fisika Paramedis. Andi. Yogyakarta.
- Yoon, S. H. and Robyt, J. F. 2003. Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4IV- α -maltohexaosyl and 4IV- α -maltododecaosyl analogues. *Carbohydr. Res.* **338**(19): 1969-1980.