

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

(Skripsi)

Oleh

**MUTIARA ALFIANTI
NPM 1917011017**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

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

Oleh

MUTIARA ALFIANTI

Tumbuhan Kenangkan (*Artocarpus rigida* Blume) adalah salah satu spesies dalam genus *Artocarpus* dari famili Moraceae. Bahan penelitian bersumber dari Desa Keputran, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung. Proses isolasi dilakukan dengan maserasi metanol, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan partisi dan kromatografi cair vakum, serta pemurnian menggunakan kromatografi kolom. Kemurnian senyawa ditentukan dengan kromatografi lapis tipis. Karakterisasi menggunakan spektroskopi UV-Vis dan IR. Uji bioaktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. Penelitian ini berhasil mengisolasi senyawa flavonoid golongan flavon yang berupa padat amorf berwarna kuning dan diidentifikasi sebagai artokarpin sebanyak 14 mg. Hasil uji bioaktivitas antibakteri terhadap *Salmonella* sp. dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/disc menunjukkan aktivitas penghambatan pada kategori sedang. Penelitian ini memberikan kontribusi terhadap pemahaman komponen bioaktif pada akar kayu tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume) yang berpotensi diaplikasikan dalam antibakteri.

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

ABSTRACT

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

By

MUTIARA ALFIANTI

Kenangkan plant (*Artocarpus rigida* Blume) is one of the species in the genus *Artocarpus* of the Moraceae family. The research material was sourced from Keputran Village, Pringsewu Regency, Lampung Province. The isolation process was carried out by methanol maceration, followed by fractionation using partition and vacuum liquid chromatography, and purification using column chromatography. The purity of the compound was determined by thin layer chromatography, characterization using UV-Vis and IR spectroscopy, antibacterial bioactivity test using agar diffusion method. This study successfully isolated flavonoid compounds of flavone group with yellow amorphous solid form and identified as artocarpin as much as 14 mg. Antibacterial bioactivity test results against *Salmonella* sp. and *Staphylococcus aureus* at concentrations of 0.3; 0.4; and 0.5 mg/disc showed inhibitory activity in the medium category. This study contributes to the understanding of bioactive components in the root wood of kenangkan plant (*A. rigida* Blume) which has the potential to be applied in antibacterial.

Keywords: *Artocarpus rigida* Blume, flavonoids, artocarpin, antibacterial, *S. aureus*, *Salmonella* sp.

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

Oleh

Mutiara Alfianti

Skripsi

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

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

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

Nama : **Mutiara Affianti**

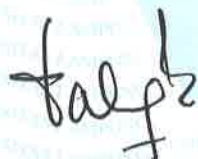
NPM : **1917011017**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing

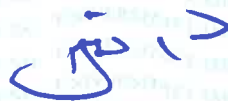


Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
NIP 195405101988032001



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

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA



Mulyono, Ph.D.
NIP 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



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



**Penguji
Bukan Pembimbing : Syaiful Bahri, S.Si, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 24 Januari 2024

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Mutiara Alfianti
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011017
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “**Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Kenangkan (*Artocarpus rigida* Blume)**” adalah benar hasil karya sendiri dan tidak pernah digunakan dan diterima sebagai syarat penyelesaian studi pada universitas lain. Saya tidak keberatan jika data dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Bandar Lampung, Februari 2024
Menyatakan



Mutiara Alfianti
NPM 1917011017

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil 'alamin, puja-puji atas karunia dan kesempatan yang Allah SWT berikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida* Blume)"** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Unila, hal itu tentu tidak luput dari doa, dukungan, bimbingan, serta bantuan dari berbagai pihak.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta: Bapak Muchtar dan Ibu Suratmi, yang selalu mendoakan, mendukung, dan memotivasi penulis baik berupa materi maupun moril. Semoga Allah membalas kebaikan dengan berkali-lipat kebaikan dan semoga Allah menyatukan keluarga kita di surga-Nya kelak.
2. Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku pembimbing I yang menjadi orang tua kedua penulis yang sangat amat sabar membimbing, memotivasi, dan memberikan dukungan yang terbaik serta mengarahkan dalam penelitian ini.
3. Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S., selaku pembimbing II yang memberikan dan mengingatkan untuk selalu semangat dalam mengerjakan penelitian serta membimbing dengan baik penulis, sehingga penelitian ini dapat selesai.
4. Prof. Drs. Jhon Hendri, M.S., Ph.D. selaku Pembimbing akademik, yang begitu sabar dan penuh ketulusan dalam membimbing, mendidik, memberikan motivasi, serta nasihat yang bermanfaat sehingga penelitian dan penulisan skripsi dapat terselesaikan.

5. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., selaku pembahas yang banyak memberikan motivasi dan masukan positif serta membangun, sehingga penelitian dan penulisan skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Seluruh dosen jurusan kimia atas ilmu dan pengajaran yang diberikan sehingga menunjang penulis untuk menyelesaikan masa pendidikan di universitas Lampung.
7. 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.
8. Ahmad Suhelmi Alfian, sebagai kakak kandung penulis dengan segudang pengorbanannya, terimakasih sudah lahir dan menjadi kakak ku, terimakasih tidak menyerah dikala duka melanda, terimakasih atas segala dukungan verbal maupun materi, terimakasih sudah menjadi kakak ku di kehidupan ini, semoga kita dipersatukan di surga-Nya kelak.
9. Jurgi Sya Alfidan, sebagai adik kandung yang selalu menyemangati, menghibur, dan mendengarkan keluh dan kesah penulis, terimakasih sudah lahir dan menjadi adikku dikehidupan ini, semoga kita dipersatukan di surga-Nya kelak.
10. Siti Maisyaroh, Nafisa Hidayaturrahma, Khoiriyah Dea, Xie Lian Freny, Rose D. Pawat, Ajeng Rianti, Devi Liana, Yesica Sitorus, dan Siti Solehati yang selalu ada saat senang maupun susah dan selalu menyemangati untuk pantang menyerah.
11. Teman-teman online ku dari jepang (*Kazehaya, Kurosawa, Ryuji, Nanami, Shintaro, Kaburagi, Hira, Ida dan Ritsu*) dan china (*Hong-er, A-Lian, Xue-ya, dan A-Ran*) yang menginspirasi dan memotivasi penulis untuk menjadi lebih baik, *see you on top!*

12. Seperbimbingan, Mba Rinda, Mba Mentari, Mba Kartika, Mba Armi, Mba Antin, Kak Andi, Mba Farah, Kania, Rizky, Akmal, Mella, Sisil, Yuwan, Zidan dan lainnya atas bantuan, motivasi, dan kebersamaan selama penelitian dan penulisan skripsi.
13. Keluarga besar "Lab. Organik", khususnya Mbak Wiwit atas segala kebaikan dan bantuan selama melaksanakan penelitian ini.
14. Teman-teman Kimia 19'A dan rekan seperjuangan perkuliahan 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, atas segala motivasi dan bantuan, semoga Allah mempermudah segala urusan dan memberikan karir terbaik kepada kalian.
15. Kakak-kakak dan adik-adik tingkat di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, terima kasih atas segalanya.
16. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.
17. *Untuk Ara, percayalah rencana Allah adalah rencana yang paling indah, paling baik dan paling dapat dipercaya. Pena sudah diangkat dan kertas sudah kering, takdirmu tidak akan tertukar dan porsimu tidak akan kurang. Hiduplah dengan baik, jadilah rendah hati dan selalu utamakan sholat tepat waktu. Terimakasih sudah bertahan hingga akhir dan hiduplah lebih lama.*

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, Februari 2024

Mutiara Alfianti

MOTTO

**"YOU SHALL NOT KILL YOURSELF, SURELY ALLAH IS EVER
COMPASSIONATE TO YOU"
[QS. AN-NISA': 29]**

"Indeed, with hardship [will be] easy"
[QS. Asy-Syarah: 5]

**"IT IS NOT ALLOWABLE FOR THE SUN TO REACH THE MOON, NOR DOES
THE NIGHT OVERTAKE THE DAY, BUT EACH, IN AN ORBIT, IS SWIMMING"
[QS. YASIN: 40]**

"And there was for him no company to aid him other than Allah, nor
could he defend himself"
[QS. Al-Kahf:43]

**"There will always be people who look down on those who work
hard, so believe in yourself"
[Sho Nishigaki]**

"Even though I'm unable to write to you in person, I hope that only
good things always happen"
[Kang Yeosang]

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa selalu menyertai, semoga penyusunan skripsi ini menjadi salah satu ujung tombak langkahku untuk mewujudkan cita-cita.

Kupersembahkan karya ilmiah ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawab kepada:

Kedua orang tua terhebat dalam hidupku,

Ibu dan Bapak

yang tak henti-hentinya selalu memberikan doa, kasih sayang, motivasi, semangat dan dukungan dalam keberhasilanku.

Serta rasa hormatku teruntuk,

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

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

Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M, Si.

Terimakasih atas ilmu, nasehat, saran, dedikasi, motivasi dan kesabaran dalam membimbing penulis selama ini.

Bapak dan Ibu dosen Kimia atas segala bimbingan, nasehat dan ilmu yang telah diberikan.

Seluruh sahabat dan rekan-rekan tersayang, yang selalu mendengarkan keluh kesahku, mendukung, menyemangati, berbagi pengalaman, kebahagiaan dan keceriaan kepada penulis.

**Almamater Kebanggaanku,
"Universitas Lampung"**

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Mutiara Alfianti dilahirkan di Krui, Pesisir Tengah pada 10 Maret 2002, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Muchtar dan Ibu Suratmi. Penulis pernah menempuh pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Muhammadiyah Krui dan diselesaikan pada tahun 2013. Pada tahun 2016, penulis selesai menempuh pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 1 Pesisir Tengah, dan pada tahun 2019 selesai menempuh pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Pesisir Tengah.

Pada tahun 2019, Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten dosen mata kuliah Kimia Organik I dan asisten praktikum Kimia Organik III Jurusan Kimia FMIPA Unila. Penulis memiliki pengalaman organisasi di Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Unila sebagai anggota Biro Penerbitan dan Ikatan Mahasiswa Muslim Pesisir Barat (IKAMM PESBAR) sebagai anggota keagamaan. Penulis juga telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia Organik dan telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Selama 40 hari di desa Kedaung. Dalam bidang penelitian, penulis melakukan penelitian dengan Judul "Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida* Blume)" sebagai tugas akhir Jurusan Kimia FMIPA Unila.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	5
1.3 Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Moraceae.....	6
2.2 <i>Artocarpus</i>	7
2.3 Kenangan (<i>A.rigida</i>)	9
2.4 Metabolit Sekunder.....	10
2.5 Flavonoid	11
2.6 Isolasi Senyawa Flavonoid	13
2.6.1 Ekstraksi	13
2.6.2 Kromatografi.....	15
2.7 Spektrofotometri	20
2.7.1 Spektrofotometri UV-Visible (UV-Vis).....	20
2.7.2 Spektrofotometri Infrared (IR)	22
2.8 Infeksi	24
2.9 Bakteri.....	24
2.9.1 <i>Salmonella</i> sp	25
2.9.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	27
2.10 Antibakteri	28
2.11 Uji Antibakteri	29
2.11.1 <i>Ciprofloxacin</i>	29
2.11.2 <i>Chloramphenicol</i> (CAP)	30
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	Ekstraksi	32
3.3.3	Partisi	33
3.4	Kromatografi	33
3.4.1	Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	33
3.4.2	Kromatografi Cair Vakum (KCV)	34
3.4.3	Kromatografi Kolom (KK)	34
3.5	Analisis Kemurnian	35
3.6	Analisis Struktur	35
3.6.1	Spektrofotometri UV-Visible (UV-Vis)	35
3.6.2	Spektrofotometri Infrared (IR)	36
3.7	Pengujian Bioktivitas Antibakteri	36
IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1	Isolasi Senyawa Flavonoid	38
4.1.1	Ekstraksi Sampel	38
4.1.2	Fraksinasi Ekstrak	39
4.1.3	Kromatografi Cair Vakum (KCV)	40
4.1.4	Kromatografi Kolom (KK)	43
4.2	Analisis Kemurnian	47
4.3	Analisis Struktur	48
4.3.1	Spektrofotometri UV-Vis	48
4.3.2	Spektrofotometri IR	50
4.4	Uji Bioaktivitas Antibakteri	53
V	SIMPULAN DAN SARAN	56
5.1	Simpulan	56
5.2	Saran	56
	DAFTAR PUSTAKA	58
	LAMPIRAN	66
1.	Diagram Alir Penelitian Kayu Akar Tumbuhan Kenangkan (<i>A.rigida</i>)	67
2.	Diagram Alir Analisis Kemurnian Senyawa Hasil Isolasi dan Uji Bioaktivitas Antibakteri	69
3.	Perhitungan absorptivitas molar	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan kepolaran pelarut dalam kromatografi (Gritter dkk., 1991).....	17
2. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan elusi senyawa pada kromatografi (Braith <i>and</i> Smith, 1995).....	18
3. Spektrum serapan sinar UV- <i>Vis</i> pada flavonoid (Sastrohamidjojo, 2002).	22
4. Serapan sinar tampak dan zat warna (Day dan Underwood, 2001).....	22
5. Bilangan gelombang beberapa gugus fungsi (Litani <i>et al.</i> , 1997).	23
6. Bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif (Campbell <i>et al.</i> , 2003).....	25
7. Penggabungan fraksi hasil KCV.....	42
8. Perbandingan panjang gelombang UV- <i>Vis</i> isolat E2A ₂ dengan artokarpin (Suhartati, 2001).....	51
9. Perbandingan kemiripan puncak serapan spektrum IR isolat E2A ₂ dan artokarpin (Suhartati <i>et al.</i> , 2021)	52
10. Ukuran zona hambat senyawa isolat E2A ₂ terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	53
11. Ukuran zona hambat senyawa isolat E2A ₂ terhadap bakteri <i>Salmonella</i> sp. ...	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur dasar metabolit sekunder yang terdapat dalam genus <i>Artocarpus</i> ...	8
2. Pohon Kenangan (<i>A. rigida</i>).	9
3. Tiga jenis flavonoid (Achmad, 1986).	11
4. Biosintesis Flavonoid (Parwata, 2016).	12
5. Bakteri <i>S. typhi</i> (Brands, 2006).	26
6. Bakteri <i>S. aureus</i> (Holt, 1994).	27
7. Struktur kimia <i>ciprofloxacin</i> (Sharma <i>et al.</i> , 2010)	30
8. Struktur kimia <i>chloramphenicol</i> (Balbi, 2004).	30
9. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) UV 254 nm (b) visualisasi dengan serum sulfat	40
10. Kromatogram KLT fraksi metanol (M), aseton (A), dan <i>n</i> -heksana (H) menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) UV 254 nm (b) UV 366 nm (c) visualisasi dengan serum sulfat	41
11. Proses KCV fraksi aseton	41
12. Kromatogram KLT hasil KCV dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (fraksi 1a-8d) dan etil asetat: <i>n</i> -heksana 6:4 (fraksi 7e-11e)	41
13. Kromatogram KLT fraksi A-G dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) UV 254 nm (b) visualisasi dengan serum sulfat	42
14. Kromatogram KLT hasil kromatografi kolom fraksi E dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6	44
15. Kromatogram KLT penggabungan fraksi E1-E6 dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) UV 254 nm (b) visualisasi dengan serum sulfat ...	44
16. Kromatogram KLT hasil kromatografi kolom fraksi E2 dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6	45

17.	Hasil KLT penggabungan fraksi E2A dan E2B dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) UV 254 nm (b) visualisasi dengan serium sulfat.....	45
18.	Kromatogram KLT hasil kromatografi kolom fraksi E2A dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) UV 254 nm (b) visualisasi dengan serium sulfat	46
19.	Padatan amorf E2A ₂ setelah didekantasi	46
20.	Kromatogram hasil KLT padatan amorf E2A ₂ (a) UV 254 nm (b) visualisasi dengan serium sulfat	46
21.	Kromatogram hasil KLT isolat sistem 3 eluen	47
22.	Spektrum UV- <i>Vis</i> isolat E2A ₂ dalam pelarut metanol (MeOH).	48
23.	Spektrum UV- <i>Vis</i> isolat E2A ₂ (a) dalam pelarut MeOH dan (b) MeOH+NaOH.....	50
24.	Perbandingan spektrum IR (a) senyawa isolat E2A ₂ dan (b) senyawa artokarpin (Suhartati <i>et al.</i> , 2021).....	51
25.	Struktur senyawa artokarpin (Suhartati <i>et al.</i> , 2021).	52
26.	Hasil uji antibakteri isolat E2A ₂ terhadap <i>S. aureus</i> dengan konsentrasi 0,3-0,5 mg/ <i>disc</i>	53
27.	Hasil uji antibakteri isolat E2A ₂ terhadap <i>Salmonella</i> sp dengan konsentrasi 0,3-0,5 mg/ <i>disc</i>	54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil, yang memiliki 30.000 jenis tanaman dan 7.000 jenis diantaranya telah diketahui memiliki khasiat herbal atau tanaman obat (Saifuddin dkk., 2011). Salah satunya tanaman yang bermanfaat sebagai obat dan jumlahnya relatif besar yaitu Moraceae. Moraceae dikenal sebagai pohon sukun, yang terdiri dari sekitar 50 spesies, yang berasal dari Asia Selatan, Asia Tenggara, Selandia Baru, dan Pasifik Selatan. Tumbuhan dari famili Moraceae ini dilaporkan mengandung banyak senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid ialah senyawa metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan hijau kecuali alga, senyawa ini memiliki beragam kegunaan dan aktivitas biologis (Achmad, 1986). Famili Moraceae dengan tiga genus utamanya, *Ficus*, *Artocarpus*, dan *Morus* ini juga berhabitat di Indonesia, dengan banyak spesies yang digunakan sebagai obat (Somashekhar *et al.*, 2013). Ciri dari spesies *Artocarpus* adalah pohon yang selalu hijau atau gugur daun kecil hingga besar, dengan semua bagian mengandung lateks putih. Genus dari *Artocarpus* telah digunakan sebagai obat tradisional seperti obat peradangan, demam malaria, dan untuk mengobati bisul, dan diare.

Flavonoid banyak terdapat pada tumbuhan *Artocarpus* dan merupakan senyawa alami yang menunjukkan aktivitas farmakologis yang tinggi. Keunikan struktur flavonoid pada *Artocarpus* menghasilkan efek fisiologis yang luas, seperti artonin E, artobilosanton, dan heterofilin menyebabkan terhambatnya kerja enzim yang memberikan aktivitas sebagai antitumor (Khan *et al.*, 2003), antijamur

(Jayasinghe *et al.*, 2008), antimalaria (Widyawaruyanti *et al.*, 2007) dan sitotoksik (Ko *et al.*, 2005). Berdasarkan analisis fitokimia yang telah dilakukan, maka disimpulkan bahwa senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan *Artocarpus* terdiri dari tanin, alkaloid, fenol, saponin, protein, karbohidrat, flavonoid, sterol (Poojitha dan Devarakonda, 2017), asam amino, terpenoid, glikosida, xantoprotein (Bhat *et al.*, 2017), senyawa fenolik, arilbenzofuran, stilbenoid (Ojwang *et al.*, 2017), minyak biji, pektin (Mariod, 2019), steroid, polisakarida (Liu *et al.*, 2018), morin, artokarpin, dihidromorin, *cynomacurin*, isoartokarpin, sikloartokarpin, artokarpesin, artokarpetin, artokarpanon, *oxydihydroartocarpesin*, *norartocarpetin*, sikloartenol (Utari dan Warly, 2020), artostenon (Samrot dan Tan, 2021), dan moracin (Le *et al.*, 2017).

Studi farmakologi *Artocarpus* telah banyak dilakukan untuk mengetahui kandungan flavonoid di dalamnya, salah satu fungsinya yaitu sebagai antibakteri. Antibakteri adalah senyawa atau zat yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri dan mampu menginaktivasi bakteri. Inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) bahkan dapat membunuh bakteri (bakterisida) (Brock and Main, 1994). Berdasarkan penelitian terhadap tumbuhan *Artocarpus heterophyllus* menunjukkan tumbuhan ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa patogen makanan seperti *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *S. enterica*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, dan *Staphylococcus aureus* (Thombre *et al.*, 2012). Penelitian terhadap tumbuhan *A. altilis* terhadap pertumbuhan *S. epidermidis* menunjukkan daya hambat pada nilai berturut-turut yaitu 4,39 mm, 5,37 mm, dan 6,59 mm (Randa dan Hasnawati, 2017). Senyawa hasil isolasi dari tumbuhan *A. rigida* menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dan aktivitas antiplasmodial terhadap *Plasmodium falciparum* (Namdaung *et al.*, 2006).

Infeksi merupakan kondisi ketika masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, berkembang biak dan menyebabkan reaksi biologis yang merugikan tubuh. Infeksi dapat terjadi diberbagai bagian tubuh dan dapat berkisar dari ringan hingga parah. Keadaan ini dapat ditinjau sebagai jenis parasitisme yang terjadi

apabila satu organisme hidup dengan merugikan organisme lain yaitu inangnya, parasit berkembang biak dan aktif secara metabolik di dalam tubuh inang.

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama, yaitu bakteri, jamur, virus, protozoa dan cacing (Simanjuntak dan Rahmiati, 2021).

Beberapa gejala umum infeksi diantaranya yaitu demam, sakit tenggorokan, pembengkakan, rasa sakit, dan gangguan fungsi organ.

Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh masyarakat di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Bakteri merupakan salah satu penyebab penyakit menular. Menurut WHO dan UNICEF, terjadi sekitar 2 milyar kasus diare dan 1,9 juta anak balita meninggal karena diare di seluruh dunia setiap tahun, dari semua kematian tersebut, 78% terjadi di negara berkembang terutama di wilayah Afrika dan Asia Tenggara. Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menyebutkan prevalensi diare untuk semua kelompok umur sebesar 8% dan angka prevalensi untuk balita sebesar 12,3%, sementara pada bayi, prevalensi diare sebesar 10,6%. Selain diare infeksi juga masuk dalam penyakit dengan pasien terbanyak, dengan prevalensi penyakit kulit infeksi diseluruh dunia dilaporkan sekitar 300 juta kasus pertahun. Prevalensi penyakit kulit di Indonesia sebesar 4,60% - 12,95%, menduduki urutan ketiga dari sepuluh penyakit terbanyak (Kementerian Kesehatan Indonesia, 2020).

Bakteri penyebab infeksi diantaranya yaitu *Salmonella* sp. dan *S. aureus*. Infeksi *S. aureus* dapat menghemolisis darah dan plasma, pembentukan bisul, infeksi piogenik sampai septikimia yang fatal. *Salmonellosis* merupakan penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri *Salmonella* sp. pada tubuh manusia *salmonellosis* akan terjadi apabila mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi *Salmonella* sp. Gejala dari penyakit ini yaitu demam yang timbul secara akut, nyeri abdominal, diare, mual, dan muntah (Yuswananda, 2015). Umumnya masyarakat yang terkena *Salmonellosis* akan mengkonsumsi antibiotik seperti golongan ampisillin, kloramfenikol, kotrimoksazol, dan lainnya.

Antibiotik merupakan obat sintetik sebagai penghambat ataupun pembunuh bakteri penyebab infeksi. Konsumsi antibiotik juga memiliki dampak negatif seperti bakteri yang resisten terhadap obat antibiotik itu sendiri, hal ini dikarenakan kandungan dari obat antibiotik ikut menghilangkan bakteri baik dalam tubuh. Penggunaan obat herbal yang berasal dari alam bisa menjadi salah satu alternatif dalam mengurangi dampak negatif dari penggunaan antibiotik, alasan penggunaan obat herbal selain karena efek samping yang lebih ringan juga karena pengobatan herbal sering mengambil pendekatan holistik terhadap kesehatan. Penggunaan obat herbal masih sangat diminati di Indonesia karena pengobatan tradisional telah diwariskan secara turun temurun dalam proses yang sederhana. Pengembangan obat herbal terus dilakukan, salah satunya pengembangan obat dengan tumbuhan *A. rigida*.

Beberapa bagian dari tumbuhan *A. rigida*, telah dijadikan objek penelitian di antaranya kayu akar, kulit akar, kulit cabang, dan kayu cabang. Dewick (2011) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid tidak hanya terdapat pada bagian tertentu dari tumbuhan, melainkan ditemukan di seluruh bagian tumbuhan dengan masing-masing bagiannya memiliki kadar yang berbeda. Sehingga pada penelitian ini, isolasi senyawa flavonoid dilakukan pada kayu akar tumbuhan *A. rigida* dengan harapan dapat ditemukannya senyawa baru atau senyawa yang sama dengan aktivitas antibakteri yang lebih baik.

Metode isolasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Fraksinasi senyawa dilakukan dengan metode partisi dan Kromatografi Cair Vakum (KCV), serta pemurnian senyawa menggunakan metode Kromatografi Kolom (KK). Analisis kemurnian ditentukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Karakterisasi struktur senyawa hasil isolasi pada penelitian ini dilakukan dengan spektroskopi UV-Vis dan Inframerah (IR). Selanjutnya untuk mengetahui bioaktivitas senyawa hasil isolasi dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan senyawa flavonoid murni dari kayu akar tumbuhan Kenangan (*A. rigida* Blume) yang dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan Inframerah (IR), serta menguji bioaktivitas antibakterinya.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa flavonoid yang terkandung dalam kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*). Informasi tersebut diharapkan dapat memperkaya pengetahuan tentang senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan *Artocarpus*, khususnya tumbuhan *A. rigida*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

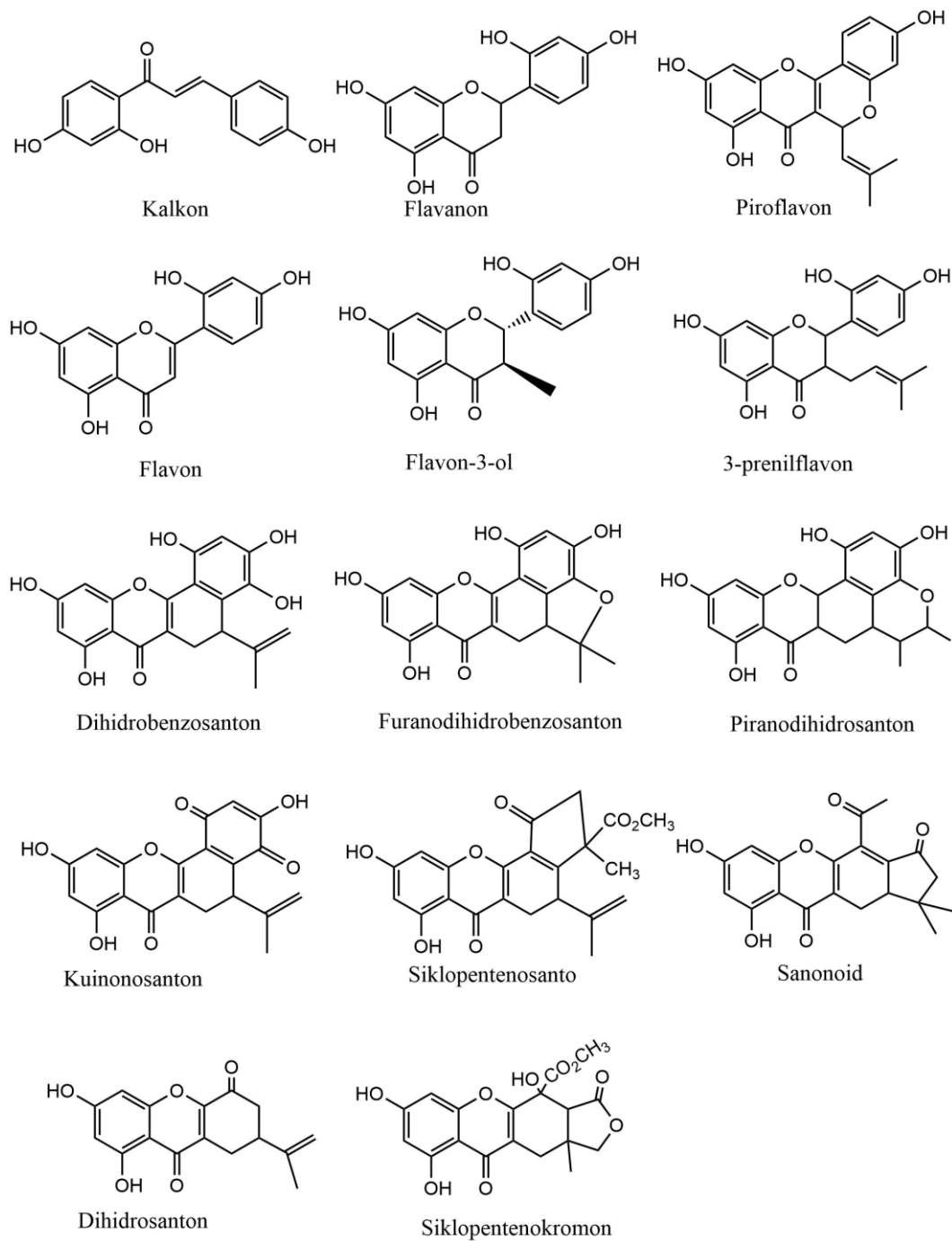
2.1 Moraceae

Moraceae atau yang sering disebut dengan famili murbei atau famili fig adalah famili dari tanaman berbunga yang terdiri dari sekitar 40 genus dan lebih dari 1.000 spesies. Nama generik spesies berasal dari kata Yunani 'artos' yang berarti roti dan 'karpos' yang berarti buah, sehingga diartikan sebagai buah roti karena tekstur buahnya mirip roti (Patil *et al.*, 2002). Pada umumnya, tumbuhan Moraceae adalah pohon dan semak *monoecious* atau *dioecious*, dan dapat beradaptasi dengan berbagai habitat hutan tropis yang selalu hijau lembab seperti hutan terra firma, hutan yang didominasi liana serta hutan tergenang musiman dan riparian (Killeen *et al.*, 2003).

Ficus, *Artocarpus*, dan *Morus* merupakan tiga genus utama famili Moraceae. Sebagian besar tersebar di daerah tropis dan subtropis (Somashekhar *et al.*, 2013), termasuk Indonesia dengan genus terbanyak yaitu *Artocarpus*. Tumbuhan ini dikenal sebagai nangka-nangkaan dan sebagian menghasilkan buah yang dapat dikonsumsi, diantaranya *A. heterophyllus* (nangka), *A. champeden* (cempedak), dan *A. altilis* (sukun). Genus *Artocarpus* adalah tanaman yang kaya akan senyawa fenolik termasuk flavonoid, yang mengandung gugus prenil pada C-3 merupakan senyawa utama yang ditemukan pada semua spesies *Artocarpus*. Struktur unik dari metabolit sekunder yang ada pada *Artocarpus* memiliki efek yang sangat luas, seperti sitotoksitas sel leukemia P-388 (Suhartati dan Yandri, 2007).

2.2 *Artocarpus*

Genus *Artocarpus* dari famili Moraceae yang terdiri dari kurang lebih 50 spesies, tersebar luas di daerah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia (Amarasinghe *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2007). Studi fitokimia ekstensif pada spesies *Artocarpus* telah menunjukkan bahwa tanaman dari genus ini kaya akan banyak kelas sekunder metabolit termasuk triterpen, stilben dan arilbenzofuran (Hakim *et al.*, 2006; Jayasinghe *et al.*, 2008). Kulit, kayu, daun, buah, dan akar dari beberapa spesies dilaporkan memiliki khasiat obat dan digunakan untuk pengobatan penyakit seperti diare, demam, sirosis, hipertensi, radang, malaria, bisul, koreng, dan infeksi cacing pita (Khan *et al.*, 2003; Patil *et al.*, 2002; Su *et al.*, 2002). Secara umum, senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada genus *Artocarpus* adalah terpenoid, steroid, flavonoid, santon, kromon, stilbenoid, 2-arilbenzofuran, dan senyawa tipe *adduct Diels Alder* (Nomura *et al.*, 1998). Gambar 1 menunjukkan struktur dasar senyawa metabolit sekunder dalam genus *Artocarpus*.



Gambar 1. Struktur dasar metabolit sekunder yang terdapat dalam genus *Artocarpus* (Nomura *et al.*, 1998).

2.3 Kenangkan (*A. rigida*)

Tanaman ini termasuk tanaman hutan yang mempunyai batang yang kokoh, dengan tinggi dapat mencapai 18-20 m, daunnya tidak lebar, menjalar dan berbulu kasar, berkayu keras, dan kulit kayunya yang berserat kasar dan menghasilkan getah yang banyak. *A. rigida* memiliki buah yang berwarna kuning pucat bila masih muda, dan menjadi warna lembayung jika sudah masak, buah ini umumnya memiliki rasa yang masam dan kurang enak untuk dimakan (Rukmana, 1997). Pohon Kenangkan (*A. rigida*) ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pohon Kenangkan (*A. rigida*).

Ditinjau dari taksonominya, maka diklasifikasikan sebagai berikut.

Superregnum	: Eukaryota
Regnum	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Famili	: Moraceae
Sub Family	: Artocarpeae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Spesies	: <i>A. rigida</i> atau <i>A. rigidus</i>

(Tjitrosoepomo, 1993).

Penelitian terhadap bagian kulit batang *A. rigida* telah dilakukan diperoleh beberapa derivat flavonoid seperti artonin E, sikloartobilosanton, dan artobilosanton (Nomura *et al.*, 1990). Selain itu, diketahui pula adanya kandungan derivat flavonoid lain yang memiliki aktivitas antibakteri (Hernawan, 2008). Pada kulit akar tumbuhan *A. rigida* telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi senyawa flavonoid yang merupakan senyawa berjenis flavon terprenilasi yaitu senyawa Artonin E (Febriansyah, 2018) dan Artonin O (Khomsiah, 2016). Senyawa Artonin E telah berhasil diisolasi dari fraksi polar, sedangkan senyawa Artonin O berhasil diisolasi dari fraksi non polar.

Penelitian lain dari akar *A. rigida* telah berhasil didapatkan senyawa dengan struktur senyawa fenolik mencakup dua senyawa baru dengan struktur flavonoid yang dimodifikasi yaitu 7-demitoartonol E dan kromon artorigidus, bersama dengan beberapa senyawa fenolik yang termasuk santon ortonol B, flavonoid sikloartobilosanton, dan santon artoindoesianin C. Senyawa santon artoindoesianin C memiliki aktivitas terhadap *P. falciparum* sebagai antiplasmodial. Senyawa-senyawa ini menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *M. tuberculosis* dari *A. rigida* (Namdaung *et al.*, 2006).

2.4 Metabolit Sekunder

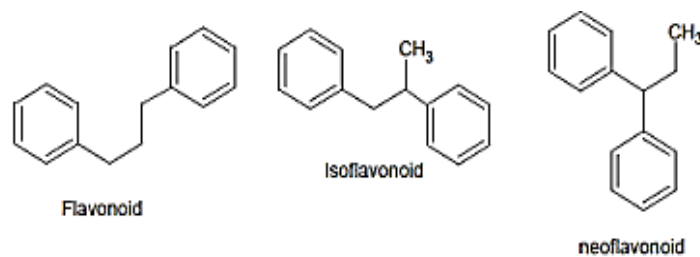
Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi untuk mempertahankan diri dari lingkungan yang kurang menguntungkan seperti suhu, iklim, gangguan hama, penyakit tanaman, dan dapat juga digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit pada manusia (Agustina dkk., 2016). Metabolit sekunder juga termasuk zat aktif biologis yang berkaitan dengan kandungan kimia pada tumbuhan, sehingga tumbuhan banyak digunakan sebagai obat. Tanpa senyawa bioaktif tersebut, tanaman tidak dapat digunakan sebagai obat (Adikara, 2013). Hasil berbagai penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, dan quinon. Semuanya merupakan senyawa-senyawa yang mampu bertindak sebagai

antioksidan, antibiotik, antikanker, antikoagulan darah, dan menghambat efek karsinogenik (Ramadenti dkk., 2017).

2.5 Flavonoid

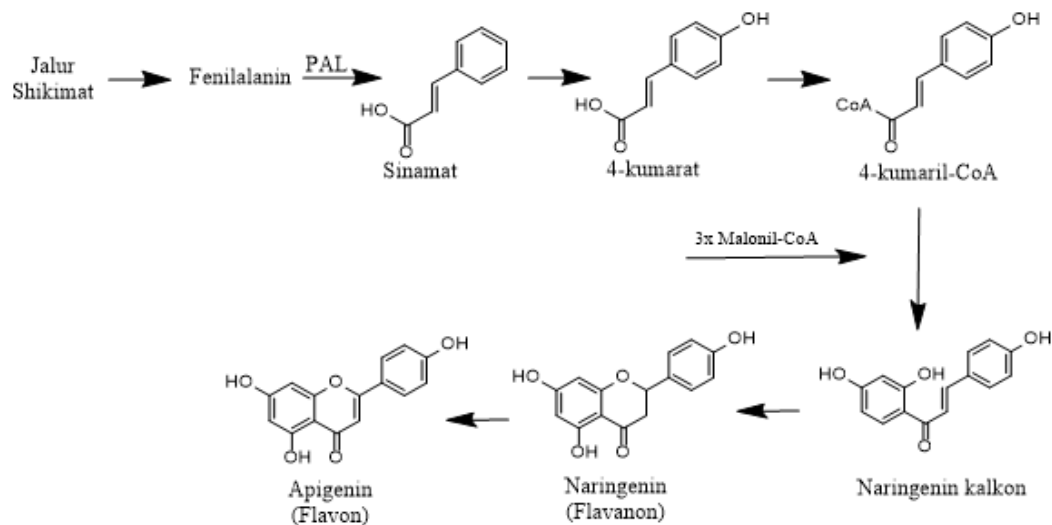
Flavonoid merupakan kelompok metabolit sekunder yang ditemukan dalam jumlah besar di jaringan tanaman, dan senyawa ini dapat ditemukan di semua bagian tanaman seperti batang, daun, kulit kayu, bunga dan buah. Flavonoid juga memiliki potensi bioaktivitas dan antioksidan sebagai obat yang memiliki efek baik bagi kesehatan manusia. Flavonoid memiliki kerangka dasar yang terdiri dari dua gugus yang digabungkan oleh rantai karbon ($C_6-C_3-C_6$) (Redha, 2010).

Susunan ini menghasilkan tiga struktur flavonoid yaitu flavonoid neoflavonoid (1,1-diaril propana), isoflavonoid (1,2-diaril propana) dan (1,3-diaril propana) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



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

Jalur sintesis flavonoid dimulai dari produk glikolisis, yaitu fosfoenolpiruvat. Selanjutnya produk akan memasuki jalur shikimat untuk menghasilkan fenilalanin sebagai bahan awal jalur metabolit fenilpropanoid. Jalur ini akan menghasilkan 4-kumaril-CoA, yang akan bergabung dengan malonil-CoA untuk menghasilkan struktur flavonoid (Parwata, 2016). Flavonoid pertama yang terbentuk dalam biosintesis ini adalah kalkon. Jalur biosintesis flavonoid disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Biosintesis Flavonoid (Parwata, 2016).

Flavonoid adalah senyawa alami yang memiliki potensi sebagai antibakteri karena kemampuannya mengganggu integritas membran sel bakteri dan menghambat enzim-enzim kunci yang diperlukan untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Penghambatan pada membran sel dilakukan oleh senyawa flavonoid dan fenol. Senyawa flavonoid bersifat lipofilik yang akan merusak membran bakteri (Nuria dkk., 2009). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri melibatkan beberapa aksi yang dapat menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Berikut adalah beberapa mekanisme utama yang terlibat:

a. Gangguan membran sel

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk., 2009).

b. Inhibisi enzim

Flavonoid dapat menghambat enzim-enzim yang diperlukan untuk berbagai proses metabolik dalam sel bakteri, termasuk enzim-enzim yang terlibat dalam produksi energi (misalnya, ATP), sintesis asam nukleat, dan reaksi oksidatif yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Senyawa flavonoid mempunyai kerja menghambat enzim topoisomerase II pada bakteri yang dapat merusak struktur DNA bakteri (Yudistira, 2013).

- c. Kemampuan antimikroba langsung
Flavonoid memiliki kemampuan antimikroba yang langsung merusak sel bakteri mencakup kerusakan dinding sel bakteri dan membran sel, sehingga membunuh bakteri (Rijayanti dkk., 2014).
- d. Menghambat pembelahan sel
Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Hendra *et al.*, 2011).
- e. Modulasi respon kekebalan tubuh
Flavonoid dapat memengaruhi respon kekebalan tubuh terhadap infeksi bakteri. Flavonoid juga dapat meningkatkan kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk melawan bakteri atau mengurangi peradangan yang terkait dengan infeksi.

2.6 Isolasi Senyawa Flavonoid

2.6.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Komara (1991) menjelaskan bahwa ekstraksi dipengaruhi oleh jenis bahan, jenis pelarut, dan kondisi ekstraksi. Kondisi ekstraksi meliputi metode, waktu, jenis pelarut, perbandingan bahan dengan pelarut, suhu, dan derajat kehalusan bahan. Pemilihan pelarut meliputi toksisitas, ketersediaan, harga, sifat tidak mudah terbakar, rendahnya suhu kritis, dan tekanan kritis untuk meminimalkan biaya operasi serta reaktivitas (Kurniawati, 2017). Pelarut yang umumnya digunakan terdiri dari tiga sifat yaitu polar, semi polar, dan non-polar. Pelarut bersifat polar yang biasanya digunakan yaitu air, metanol, etanol dan sebagainya, pelarut semi polar yaitu etil asetat, diklorometana, dan sebagainya, serta pelarut nonpolar yaitu *n*-heksana, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Sulit untuk memisahkan ekstrak primer dengan teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal, oleh karena itu ekstrak awal harus dipisahkan menjadi fraksi dengan polaritas yang sama (Mukhriani, 2014).

Maserasi, perkolasi, sokletasi, refluks dan destilasi uap adalah berbagai macam metode yang digunakan dalam ekstraksi. Penelitian ini menggunakan metode maserasi dan ekstraksi cair cair. Prinsip maserasi yaitu pengikatan atau pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolve like*), langkah kerjanya adalah dengan merendam simplisia yang sudah dihaluskan dalam pelarut yang sesuai selama tiga hari pada tempat yang terlindung dari cahaya dan temperatur kamar. Suatu pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Proses ini terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Peristiwa terjadi dengan proses difusi yaitu partikel zat bergerak secara acak dari daerah dengan konsentrasi tinggi menuju daerah yang memiliki konsentrasi lebih rendah melalui membran sel (Markham, 1988).

Metode maserasi adalah metode yang paling sederhana yang paling banyak digunakan. Setelah maserasi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kelemahan metode maserasi yaitu membutuhkan waktu yang lama, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan kemungkinan besar beberapa senyawa itu hilang namun, di sisi lain metode maserasi ini dapat mencegah kerusakan senyawa yang bersifat termolabil (Agoes, 2007). Ekstraksi cair-cair atau yang dikenal dengan ekstraksi *solvent* merupakan proses pemisahan fasa cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang akan dipisahkan antara larutan asal dan pelarut pengeksrak (*solvent*) (Mirwan, 2013). Ekstraksi cair-cair didasari oleh hukum distribusi Nernst yaitu dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur dimasukkan solut yang dapat larut dalam kedua pelarut tersebut, maka akan terjadi pembagian kelarutan. Ekstraksi cair-cair yang digunakan pada penelitian ini adalah partisi. Partisi merupakan salah satu metode ekstraksi cair-cair yang dilakukan menggunakan corong pisah. Metode partisi ini bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran (Anggraeni dan Saputra, 2018).

2.6.2 Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi senyawa dalam fasa gerak dan fasa diam. Penelitian ini menggunakan beberapa metode kromatografi yaitu kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom (KK).

2.6.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode untuk memisahkan komponen berdasarkan proses adsorpsi. Pemilihan pelarut yang dikembangkan sangat dipengaruhi oleh jenis dan polaritas bahan kimia yang dipisahkan (Mulja dan Suharman, 1995). Prinsip dari metode KLT adalah sampel ditotolkan pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya (Fried *and* Schirmer, 1994).

Beberapa alasan penggunaan KLT antara lain kemudahan penggunaan, dapat digunakan secara luas pada sampel yang berbeda, sensitivitas tinggi, kecepatan pemisahan, dan biaya yang relatif rendah. KLT dapat digunakan untuk menentukan kemurnian suatu senyawa, untuk memisahkan dan mengidentifikasi komponen dalam campuran, dan untuk analisis kuantitatif satu atau lebih komponen yang ada dalam sampel.

Metode KLT memiliki beberapa keuntungan yaitu metode yang sederhana, ekonomis dan efisiensi apabila dibandingkan dengan metode KLT lain. Metode ini merupakan salah satu teknik yang membutuhkan waktu analisis yang cepat dan daya pisah yang baik (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Secara umum KLT didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut melalui proses migrasi dalam sistem dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam berfungsi sebagai zat penyerap atau bertindak dalam melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak, sedangkan fase gerak berfungsi sebagai pembawa zat terlarut melalui media, hingga terpisah dari zat

terlarut lainnya. Fase diam yang sering digunakan yaitu silika gel, alumunium oksida (alumina), dan selulosa, sedangkan fase gerak yang digunakan umumnya memiliki perbedaan polaritas dengan fase diam (Sastrohamidjojo, 2002). Pada KLT, hasil pengujian ditentukan oleh nilai faktor penghambat (Rf) yang merupakan perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak pelarut dari titik awal (Khopkar, 2002).


$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh analit}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}} \dots\dots\dots(1)$$

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi gerakan dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi nilai Rf yaitu ukuran partikel, derajat keaktifan lapisan adsorben, kemurnian dan komposisi pelarut, kejenuhan ruang elusi, cara penotolan, ketebalan adsorben, dan temperatur (Stahl, 1985).

2.6.2.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) adalah metode kromatografi vakum khusus yang menggunakan silika gel sebagai adsorben. KCV bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa didalam ekstrak. Sampel tersebut bermigrasi terhadap fasa diam dan fasa gerak dengan cepat karena berada dalam suasana vakum. Prinsip kerja KVC yaitu partisi dan adsorpsi komponen senyawa yang pemisahannya dibantu dengan tekanan dari alat vakum. Kondisi vakum adalah alternatif untuk mempercepat aliran fase gerak dari atas ke bawah. Penggunaan pelarut dengan kepolaran bertingkat bertujuan agar setiap pelarut dapat melarutkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya (Mutmainnah dkk., 2017). Urutan kepolaran pelarut yang sering digunakan dalam KCV dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Urutan kepolaran pelarut dalam kromatografi (Gritter dkk, 1991).

Nama Pelarut	Kepolaran	
<i>n</i> -heksana	Non Polar	
Sikloheksana		
Karbon tetraklorida		
Benzena		
Toluena		
Metil klorida		
Kloroform		
Etil asetat		
Aseton		
<i>n</i> -propanol		
Etanol		
Asetonitril		
Metanol		
Air		Polar

Pemilihan sistem pelarut dapat dilakukan dengan tiga pendekatan seperti studi pustaka, penerapan data KLT pada pemisahan dengan kolom dan pemakaian elusi dari pelarut non polar yang tidak menggerakkan zat terlarut sampai pelarut polar yang menggerakkan zat terlarut. Sistem elusi dapat dilakukan dengan sistem isokratik atau dengan metode gradien pelarut. Elusi isokratik adalah proses pemisahan yang perbandingannya campuran fase geraknya diatur konstan, sedangkan gradien pelarut dilakukan dengan campuran fase gerak yang perbandingannya berubah-ubah dalam waktu tertentu (Gritter dkk., 1985).

2.6.2.3 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah metode pemisahan senyawa kimia dari campuran. Kromatografi kolom dapat dilakukan untuk memisahkan zat senyawa berdasarkan perbedaan adsorpsi campuran terhadap cairan penyerap. Campuran bergerak dengan kecepatan yang berbeda dalam kolom, sehingga akan terbagi menjadi

beberapa bagian (Salahuddin, 2022). Pemisahan kromatografi berdasarkan pada kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang terserap pada fasa diam dan fasa gerak. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan elusi dapat dilihat pada Tabel 2, karena tingkat adsorpsi tergantung pada polaritas molekul dan fasa gerak, serta aktivitas adsorben.

Tabel 2. Urutan kekuatan adsorben, kepolaran eluen, dan elusi senyawa pada kromatografi (Braithwaite *and* Smith, 1995).

Adsorben	Polaritas	
	Eluen	Senyawa
Selulosa	Petroleum Eter	Hidrokarbon Jenuh
Gula	Heksana	Alkena
Asam Silika (Silika Gel)	Karbon Tetraklorida	Hidrokarbon Aromatik
Florisil (Magnesium Silikat)	Benzena	Eter
Aluminium Oksida (Alumina)	Kloroform	Aldehida, Keton, Ester
	Dietil Eter	Alkohol
	Etil Asetat	Asam Karboksilat
	Aseton	
	Etanol	
	Metanol	
	Air	

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

Pemilihan fase gerak tergantung pada kemampuan pelarut untuk menggerakkan suatu senyawa, yang berhubungan dengan kekuatan elusi pelarut. Stahl (1985), menyatakan bahwa prinsip dari kromatografi kolom adalah adanya perbedaan daya serap dari masing-masing komponen yang akan diuji. Pemilihan jenis silika gel yang sesuai adalah faktor penting untuk menghasilkan pemisahan yang baik, silika gel dengan ukuran partikel kecil mengakibatkan lambatnya proses elusi (Septiyaningsih, 2010). Pengemasan adsorben (fasa diam) pada metode kromatografi kolom dilakukan dengan dua cara yaitu:

a. Cara Basah

Metode pengemasan dilakukan dengan melarutkan terlebih dahulu fasa diam dalam fasa gerak yang digunakan, kemudian memasukkan kedua campuran tersebut ke dalam kolom secara merata dan fasa gerak dibiarkan mengalir hingga fasa diam menjadi padat dan rata.

b. Cara Kering

Metode pengemasan dilakukan dengan memasukkan fasa diam ke dalam kolom kromatografi dan menuangkan pelarut yang digunakan. Urutan eluen yang digunakan diawali dengan eluen yang mempunyai tingkat kepolaran rendah kemudian ditingkatkan secara perlahan-lahan (Hostettmann *et al.*, 1995).

Pengisian kolom harus dilakukan secara hati-hati dan sepadat mungkin agar rata sehingga terhindar dari gelembung-gelembung udara. Adsorben (fasa diam) dilarutkan dalam sedikit pelarut, dituangkan melalui bagian atas kolom dan dibiarkan mengalir ke bawah. Sampel diimpregnasikan terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi melalui bagian atas kolom.

Komponen-komponen dalam campuran diadsorpsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada permukaan atas kolom, dengan penambahan pelarut (eluen) secara terus menerus, masing-masing komponen akan bergerak turun melalui kolom dan pada bagian atas kolom akan terjadi kesetimbangan baru antara bahan penyerap, komponen campuran dan eluen.

Setiap zona yang keluar dari kolom dapat ditampung dengan sempurna sebelum zona yang lain akan ikut keluar dari kolom (Yazid, 2005).

Teknik kromatografi kolom pada dasarnya sama dengan kromatografi cair vakum yaitu kromatografi cair-adsorpsi, tetapi kromatografi kolom tidak menggunakan vakum untuk mengalirkan eluen. Waktu yang digunakan juga lebih lama, namun diharapkan akan mendapatkan hasil yang lebih murni.

2.7 Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah ilmu yang mempelajari tentang spektrofotometer dan penggunaannya. Spektrofotometri merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang yang terdiri dari spektro dan fotometer. Penelitian ini menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan IR.

2.7.1 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran interaksi antara radiasi elektromagnetik, dengan molekul atau atom suatu zat kimia. Hal ini didasarkan pada fakta bahwa molekul selalu menyerap cahaya elektromagnetik jika frekuensi cahaya sama dengan frekuensi getaran molekul. Elektron terikat dan elektron tidak terikat akan tereksitasi dalam rentang frekuensi, yang sesuai dengan sinar ultraviolet dan cahaya tampak (Henry dkk., 2002). Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk memperoleh informasi analisis kualitatif dan kuantitatif. Secara kuantitatif, radiasi yang dipancarkan oleh larutan sampel dan intensitas radiasi yang dipancarkan diukur (Gandjar dan Rohma, 2007). Perhitungan kuantitatif didasarkan pada hukum Lambert-Beer, yang menetapkan hubungan empiris antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dan kerapatan larutan (hukum Lambert), serta hubungan antara kerapatan dan konsentrasi suatu zat (hukum Beer). Persamaan untuk menghitung serapan atau absorbansi (A) yang dikenal dengan hukum Lambert-Beer, yaitu sebagai berikut:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan:

A : besarnya serapan/absorbansi

ϵ : absorbtivitas molar ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

b : tebal sel (cm)

c : konsentrasi larutan (mol L^{-1}) (Satiadarma dkk., 2004).

Panjang gelombang yang digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif suatu zat biasanya adalah panjang gelombang zat tersebut memberikan serapan maksimum (λ maks), karena akurasi pengukuran akan lebih besar. Hal ini terjadi karena panjang gelombang maksimum dari kumparan serapan umumnya miring sedemikian rupa sehingga perubahan besar pada kurva serapan tidak menyebabkan kesalahan pembacaan yang sangat besar. Penyerapan optimal yang digunakan untuk pengukuran menggunakan spektrofotometer UV berada pada kisaran 0,2-0,8 (Henry dkk., 2002). Spektrum absorpsi daerah UV-Vis sekitar 220-800 nm. Spektrum bagian daerah sinar ultraviolet sekitar 190-380 nm, sementara spektrum sinar tampak 380-780 nm (Sastrohamidjojo, 2002). Rentang spektrum serapan sinar UV-Vis pada senyawa flavonoid disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Spektrum serapan sinar UV-Vis pada flavonoid (Sastrohamidjojo, 2002).

Pita I (nm)	Pita II (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	310-330	Isoflavon
275-295	300-390	Flavanon dan Dihidroflavon
230-270	340-390	Chalkon
270-280	465-560	Antioksidanidin dan Antosianin

Menurut Markham (1988), spektrum khas flavonoid terdiri dari dua panjang gelombang maksimal yaitu pada rentang 240-285 nm (pita I) dan 300-550 nm (pita II). Pita I adalah serapan maksimum yang menunjukkan adanya gugus sinamoil pada cincin B dan pita II menunjukkan adanya gugus benzoil pada cincin A. Letak serapan pita tepat dan serapan pita tersebut akan memberikan informasi yang berguna mengenai sifat flavonoid. Dengan menggunakan data yang diperoleh dari analisis berdasarkan spektrofotometer UV-Vis, dapat diketahui absorptivitas molar senyawa yang diperoleh. Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk sampel berwarna dan tidak berwarna yang berbeda serapan pada setiap zat warnanya yang dapat dilihat pada Tabel 4 (Day dan Underwood, 2001).

Tabel 4. Serapan sinar tampak dan zat warna (Day dan Underwood, 2001).

Serapan Sinar Tampak (nm)	Warna yang Diteruskan	Warna yang Diserap
499-435	Ungu	Hijau-Kekuningan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru-Kehijauan	Jingga
490-500	Hijau-Kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu-Kemerahan
560-580	Hijau-Kekuningan	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Biru-Kehijauan
610-750	Merah	Hijau-Kebiruan

Senyawa flavonoid banyak mengandung gugus hidroksil yang keterikatannya pada flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser. Pereaksi geser yang digunakan diantaranya Natrium hidroksida (NaOH), Aluminium triklorida ($AlCl_3$), dan Asam klorida ($AlCl_3/HCl$). Pereaksi geser NaOH digunakan untuk mendeteksi keberadaan gugus hidroksil yang lebih asam dan tidak tersubstitusi. Pereaksi geser $AlCl_3$ dan $AlCl_3/HCl$ digunakan untuk mendeteksi gugus hidroksil pada posisi C5 yang membentuk kompleks tahan asam dengan keton serta mendeteksi gugus *o*-dihidroksil pada cincin B yang membentuk kompleks tak tahan asam (Markham, 1988).

2.7.2 Spektrofotometri *Infrared* (IR)

Spektrofotometer IR adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa. Prinsip IR berasal dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel organik, selanjutnya pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel (blanko) sebagai fungsi panjang gelombang. Prinsip analisis IR adalah interaksi materi dengan sinar inframerah, interaksi ini menghasilkan absorbansi sinar IR oleh senyawa yang dapat meningkatkan vibrasi dari ikatan-ikatan dalam molekul senyawa organik (Stuart, 2004). Hasil interaksi materi dengan sinar inframerah

diplot sebagai intensitas fungsi energi dan panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}) (Anam dkk., 2007). Setiap senyawa organik memiliki gugus fungsinya masing masing dan menunjukkan bilangan gelombang yang khas pada spektrum IR. Bilangan gelombang beberapa gugus fungsi disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Bilangan gelombang beberapa gugus fungsi (Litani *et al.*, 1997).

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Vibrasi ikatan
3750 – 3000	Regangan O–H dan N–H
3000 – 2700	Regangan $-\text{CH}_3$, C–H, dan C–H aldehyd
1900 – 1650	Regangan C=O (asam, aldehyd, keton, amida, ester, dan anhidrida)
1675 – 1500	Regangan C=C (aromatik dan alifatik) dan C=N
1475 – 1300	C–H <i>bending</i>
1000 – 6500	C=C–H dan Ar–H <i>bending</i>

Daerah panjang gelombang yang digunakan pada alat spektrofotometri IR adalah pada daerah inframerah pertengahan yaitu pada panjang gelombang 2,5 - 50 μm atau pada bilangan gelombang 4.000–200 cm^{-1} . Daerah inframerah 400–100 cm^{-1} , umumnya disebut sebagai daerah sidik jari yang memiliki karakteristik unik untuk suatu senyawa tertentu dan memungkinkan untuk identifikasi yang spesifik (Litani *et al.*, 1997). Senyawa flavonoid pada spektrum IR menunjukkan puncak-puncak absorpsi pada bilangan gelombang 3750–3000 cm^{-1} , puncak spesifiknya yaitu pada bilangan gelombang 3400 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus OH, bilangan gelombang 1050 –1250 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus C–O alkohol, bilangan gelombang 3010 – 3040 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus dari C–H, bilangan gelombang 1621 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus dari C=C aromatik dan pada bilangan gelombang 1650–1750 cm^{-1} menunjukkan serapan gugus dari C=O (Ee *et al.*, 2011).

2.8 Infeksi

Infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama baik di negara maju maupun negara berkembang. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa penyakit ini merupakan penyebab utama kematian pada anak-anak. Data *World Health Organization* tahun 2012 melaporkan bahwa angka kematian anak di atas 5 tahun di Indonesia disebabkan oleh penyakit infeksi sebesar 1-20%. Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh masuknya dan berkembang biaknya mikroorganisme, yaitu suatu kelompok luas mikroorganisme yang terdiri dari satu atau beberapa sel seperti bakteri, jamur, parasit, dan virus. Infeksi akan terjadi saat mikroba berinteraksi dan menyebabkan kerusakan pada tubuh dan kerusakan tersebut menimbulkan berbagai gejala dan tanda klinis (Novard dkk., 2019). Penyebab infeksi disebabkan oleh sejumlah mikroorganisme seperti bakteri yang bersifat patogen yang biasa dikenal dengan kuman penyakit. Sejumlah bahan anti mikroorganisme yang digunakan untuk menghambat kuman penyakit penyebab infeksi telah lama dikembangkan pada tingkat organisme, baik seluler maupun molekuler (Pratiwi, 2017).

2.9 Bakteri

Bakteri merupakan organisme yang berukuran mikroskopis dan tidak memiliki membran inti sel (nukleus) sehingga diperlukan alat bantu mikroskop untuk mengidentifikasi jenis dan bentuknya. Secara umum, keberadaan bakteri masih dianggap patogen penyebab berbagai penyakit infeksi pada manusia, tumbuhan, dan hewan. DNA (asam deoksiribonukleat) adalah materi genetik utama yang menyimpan informasi genetik yang diperlukan untuk mengontrol aktivitas dan perkembangan sel, termasuk sel bakteri. DNA berperan dalam mengatur sintesis protein, reproduksi, dan fungsi seluler lainnya. Bakteri memiliki struktur tubuh yang terdiri dari lapisan luar hingga bagian dalam yang berupa flagela, dinding sel, membran sel, mesosom, lembaran fotosintetik, sitoplasma, DNA, plasmid, ribosom, dan endospore (Idrus, 2020).

Bakteri berdasarkan pewarnaan dalam pewarnaan Gram terbagi atas bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, memiliki ciri umum yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif (Campbell *et al.*, 2003).

Ciri	Bakteri Gram-Positif	Bakteri Gram-Negatif
Struktur Dinding Sel	Dinding sel tebal yang mengandung peptidoglikan	Dinding sel tipis yang mengandung peptidoglikan dan lipopolisakarida (LPS)
Pewarnaan dalam Pewarnaan Gram	Pewarnaan positif; tetap ungu	Pewarnaan negatif; berubah merah
Membran Selubung Luar	Tidak memiliki membran selubung luar	Memiliki membran selubung luar yang mengandung LPS
Reaksi Etanol dalam Pewarnaan Gram	Tidak bereaksi terhadap etanol atau aseton	Bereaksi terhadap etanol atau aseton, menghilangkan warna pewarnaan
Respons terhadap Antibiotik	Umumnya lebih mudah ditembus oleh antibiotik	Umumnya lebih tahan terhadap antibiotik
Potensi Patogenitas	Bisa menyebabkan penyakit; beberapa patogen Gram-positif adalah <i>S. aureus</i> dan <i>S. pyogenes</i>	Bisa menyebabkan penyakit; beberapa patogen Gram-negatif adalah <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , dan <i>Neisseria gonorrhoeae</i>

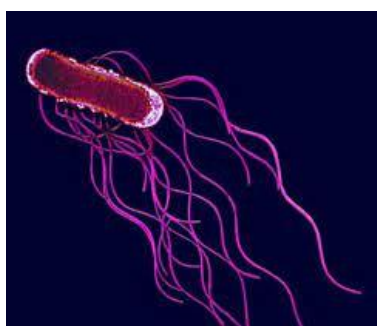
2.9.1 *Salmonella* sp.

Salmonella sp. merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat motil, Gram bakteri berwarna merah muda (Gram negatif), bakteri ini berukuran 2-5 mikrometer, mempunyai flagel (kecuali *S. gallinarum* dan *S. pullorum*) serta tidak berspora.

Salmonella adalah agen penyebab *salmonellosis* yaitu penyakit endemis dan menimbulkan kerugian yang besar di Indonesia. Suhu optimum pertumbuhan *Salmonella* sp. ialah 37°C pada pH 6-8 (Jawetz *et al.*, 2010). Klasifikasi bakteri *Salmonella* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma Proteobacteria
Ordo : Enterobacterales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : 1. *S. enteric*
 2. *S. bongori*

Spesies *S. enteric* dibagi lagi menjadi 6 subspecies yaitu subspecies *enteric* atau subspecies I; subspecies *salamae* atau subspecies II; *arizonae* atau IIIa; *diarizonae* atau IIIb; *houtenae* atau IV; *indica* atau VI (Lubis, 2015; Jorgensen *et al.*, 2010; Ryan and Ray, 2014). Spesies *Salmonella* memiliki flagela yang memungkinkan mereka bergerak. Flagela ini membantu bakteri berenang dan bergerak menuju sumber makanan atau melarikan diri dari lingkungan yang tidak sesuai. *Salmonella* sp. yang memiliki flagela peritrik adalah *S. typhi*. *S. typhi* memiliki flagela peritrik, yang berarti flagela tersebut terdapat di seluruh permukaan selnya (disajikan pada Gambar 5).



Gambar 5. Bakteri *S. typhi* (Brands, 2006).

2.9.2 *Staphylococcus aureus*

S. aureus memiliki bentuk kokus atau bulat, merupakan bakteri Gram positif, tidak berspora, dan tidak motil. Bakteri *S. aureus* dapat tumbuh secara aerobik atau anaerobik (fakultatif) pada suhu antara 18°C dan 40°C serta tumbuh baik pada NaCl hingga 10% dengan dua pernapasan dan metabolisme fermentatif (Vandepitte *et al.*, 2003). Bakteri *S. aureus* disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Bakteri *S. aureus* (Holt, 1994).

Klasifikasi bakteri *S. aureus* yaitu sebagai berikut (Soedarto, 2015):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillaceae
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>S. aureus</i>

S. aureus adalah salah satu infeksi bakteri yang paling umum pada manusia dan merupakan agen penyebab berbagai infeksi pada manusia, termasuk bakteremia, endokarditis infektif, infeksi kulit dan jaringan lunak (misalnya impetigo, folikulitis, furunkel, karbunkel, selulitis, sindrom kulit melepuh, dan lain-lain), osteomielitis, artritis septik, infeksi alat prostetik, infeksi paru (misalnya pneumonia dan empiema), gastroenteritis, meningitis, sindrom syok toksik, dan infeksi saluran kemih. Beberapa antibiotik yang sering digunakan untuk menghambat infeksi dari bakteri *S. aureus* yaitu ampisilin, tetrasiklin, kloksasilin, sefalosporin, vankomisin dan metisilin (Tong dkk., 2015).

2.10 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang termasuk ke dalam antimikroba yang dipergunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan metode mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Antibakteri hanya dapat dipergunakan jika mempunyai sifat toksik selektif, manfaatnya yaitu dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun untuk penderitanya. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya adalah menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat (Madigan *et al.*, 2000).

Menurut Radji (2011), berdasar pada mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme, antibakteri dapat di golongkan meliputi:

a. Antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri, oleh karena itu zat yang dapat merusak dinding sel akan melisis dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut.

b. Antibakteri yang dapat mengganggu atau merusak membran sel

Membran sel memiliki peran dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang dapat keluar masuk sel, selain itu juga sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel.

c. Antibakteri yang dapat mengganggu biosintesis asam nukleat

Proses dari replikasi DNA dalam sel adalah siklus yang penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu metabolisme asam nukleat tersebut sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri.

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein

Sintesis protein ialah rangkaian proses yang meliputi proses transkripsi dan proses translasi. Proses transkripsi ialah DNA ditranskripsi menjadi mRNA, dan proses translasi ialah mRNA yang ditranslasi menjadi protein.

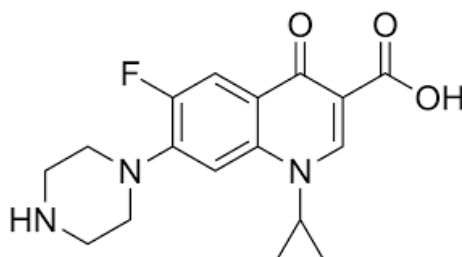
2.11 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri adalah metode yang dilakukan untuk menguji efektivitas sebuah zat atau senyawa dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan difusi dan metode pengenceran (dilusi). Penelitian ini metode difusi, dimana metode difusi ini menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear-zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam ekstrak (Pratiwi, 2008). Hasil dari uji ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi antibiotik potensial, menguji keefektifan produk-produk pembersih atau desinfektan, serta memahami mekanisme kerja senyawa antibakteri. Penggunaan kontrol dalam uji antibakteri sangat penting karena kontrol membantu memastikan hasil uji yang valid dan terpercaya. Kontrol digunakan untuk membandingkan hasil pengujian sampel dengan kondisi yang diketahui dan dikendalikan. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah *ciprofloxacin* dan *chloramphenicol* (CAP).

2.11.1 *Ciprofloxacin*

Ciprofloxacin adalah sejenis antibiotik yang termasuk dalam kelas obat yang disebut fluoroquinolon. Mekanisme *ciprofloxacin* dalam antibiotik adalah dengan mengikat DNA girase dan topoisomerase IV. *Ciprofloxacin* bekerja dengan mengikat enzim DNA girase yang berfungsi untuk membantu membuka dan mereplikasi rantai ganda DNA sel bakteri. *Ciprofloxacin* akan mengganggu kemampuan sel bakteri untuk mereplikasi DNA mereka sendiri sehingga sel bakteri tidak dapat memperbanyak diri. *Ciprofloxacin* juga menghambat topoisomerase IV, yang berperan dalam pemisahan dan pemotongan rantai DNA sel bakteri selama proses replikasi. *Ciprofloxacin* akan menyebabkan kerusakan pada rantai DNA dan mencegah sel bakteri untuk membagi diri (Pratiwi, 2017).

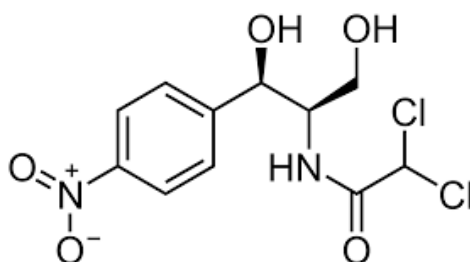
Ciprofloxacin memiliki struktur kimia yang terdiri dari inti kuinolon, yang merupakan sistem cincin bisiklik, menyatu dengan gugus asam karboksilat terfluorinasi. Rumus kimia *ciprofloxacin* adalah $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ (Sharma *et al.*, 2010). Struktur kimia *ciprofloxacin* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur kimia ciprofloxacin (Sharma *et al.*, 2010).

2.11.2 *Chloramphenicol* (CAP)

Chloramphenicol (CAP) adalah antibiotik yang digunakan untuk mengobati infeksi bakteri. Antibiotik ini memiliki mekanisme kerja yang berbeda dari antibiotik lainnya. *Chloramphenicol* bekerja dengan menghambat sintesis protein dalam sel bakteri. *Chloramphenicol* menghambat aktivitas enzim ribosom bakteri, yang diperlukan untuk sintesis protein menghentikan pertumbuhan bakteri dan membunuh mereka. *Chloramphenicol* menjadi antibiotik yang efektif dalam mengatasi berbagai jenis infeksi bakteri (Mery, 1995). Penggunaan *chloramphenicol* harus dipantau dengan ketat karena dapat menyebabkan efek samping yang serius. Salah satu efek sampingnya adalah anemia aplastik, yang merupakan penurunan jumlah sel darah merah, sel darah putih, dan platelet dalam darah. Rumus molekul *chloramphenicol* adalah $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ (Balbi, 2004). Struktur kimia *chloramphenicol* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur kimia *chloramphenicol* (Balbi, 2004).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Oktober 2023 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi yang digunakan adalah Inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Analitik Institut Teknologi Bandung dan analisis spektroskopi UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Anorganik/Fisik Jurusan Kimia Universitas Lampung. Uji bioaktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat-alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum (*rotary evaporator*), satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), satu set alat Kromatografi Cair Vacum (KCV), satu set alat Kromatografi Kolom (KK), lampu UV, pipa kapiler, neraca analitik, botol vial, *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), jarum *ose*, cawan petri, Bunsen, mikropipet, spektrofotometer FT-IR *Prestige 21 Shimadzu* dan spektrofotometer UV-Vis *Cary 100 Series UV-Vis Agilent Technologies*.

3.2.2 Bahan-bahan yang Digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) yang telah dikeringkan dan dihaluskan yang diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi berkualitas teknis yang telah didestilasi dan pelarut yang digunakan untuk spektroskopi merupakan pelarut pro analisis (p.a).

Bahan kimia yang digunakan meliputi metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C₆H₁₄), etil asetat (EtOAc), aseton (C₃H₆O), serium sulfat (Ce(SO₄)₂) 1,5% dalam asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, diklorometana (CH₂Cl₂), akuades, silika gel Merck G 60, silika gel Merck 60 (70-230 Mesh), silika gel Merck Kiesegal 60 GF₂₅₄ 0,25 mm untuk KLT. Pereaksi geser untuk analisis spektroskopi UV-Vis adalah NaOH 2M (0,8 gram NaOH dalam 10 mL akuades). Bahan-bahan uji aktivitas antibakteri meliputi akuades, media *Nutrient Agar* (NA), bakteri *S. aureus* dan bakteri *Salmonella* sp., *chloramphenicol* dan *ciprofloxacin*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel berupa kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*.) yang diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu dipisahkan antara kulit akar dan kayu akarnya, kemudian dibersihkan dari pengotor yang menempel, dipotong-potong sampai berukuran kecil, kemudian sampel dikeringkan. Kayu yang sudah dikeringkan lalu digiling hingga menjadi serbuk halus.

3.3.2. Ekstraksi

Ekstraksi sampel kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*) menggunakan metode maserasi. Serbuk halus kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida*.) sebanyak 1,5 kg dimaserasi menggunakan metanol selama 3x24 jam. Ekstrak

kasar yang diperoleh disaring dan digabungkan, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat.

3.3.3. Partisi

Ekstrak kasar metanol kayu akar yang sudah di pekatkan kemudian di partisi. Ekstrak kasar di partisi menggunakan *n*-heksana untuk memisahkan komponen nonpolar dan polar, partisi diulangi sebanyak 3 kali pengulangan. Fraksi yang dihasilkan berupa fraksi metanol dan fraksi heksana yang kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Fraksi metanol dilakukan partisi lebih lanjut dengan melarutkannya dalam aseton yang bersifat semi polar sehingga fraksi yang diperoleh ialah sebanyak 3 fraksi yaitu fraksi metanol, aseton, dan *n*-heksana. Identifikasi flavonoid pada masing-masing fraksi dilakukan menggunakan KLT, dan fraksi yang menunjukkan hasil positif flavonoid selanjutnya di Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Kromatografi Kolom (KK).

3.4. Kromatografi

3.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraksi ekstrak metanol, aseton, dan *n*-heksana dimonitoring dengan KLT untuk melihat pemisahan senyawanya. KLT dilakukan dengan menotolkan larutan sampel pada plat KLT yang dielusikan dengan fase gerak etil asetat: *n*-heksana dengan rasio perbandingan 4:6. Setelah dilelusi pada plat KLT, noda dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Selanjutnya kromatogram yang dihasilkan dari KLT disemprot dengan menggunakan larutan serum sulfat $Ce(SO_4)_2$ untuk menampakkan bercak (noda). Setiap fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama pada kromatogram, dilakukan penggabungan dan dipekatkan. Kemudian dilakukan fraksinasi lebih lanjut hingga diperoleh isolat murni yang ditunjukkan dengan bercak (noda) tunggal pada plat KLT.

3.4.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) ini bertujuan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder. Silika gel G 60 sebagai fase diam dan pelarut etil asetat: *n*-heksana sebagai fase gerak (eluen). Penggunaan pompa vakum dalam KCV bertujuan untuk mempermudah turunnya eluen dari fasa diam. Fase diam silika gel G 60 sebanyak 8 kali berat sampel dalam keadaan kering dimasukkan ke dalam kolom lalu ditutup dengan kertas saring kemudian di vakum dengan alat vakum. Elusi KCV dilakukan dengan berbagai perbandingan pelarut saat elusi gradien yang dilengkapi pompa vakum agar memudahkan terjadinya elusi. Eluen *n*-heksana dituangkan ke permukaan silika gel terlebih dahulu kedalam kolom kemudian divakum hingga kering agar memperoleh kerapatan maksimum dan kolom siap digunakan.

Ekstrak kasar pekat dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasi pada silika gel kasar yang ukurannya partikelnya lebih besar (2 kali berat sampel), digerus hingga homogen dan kering, kemudian dimasukkan pada bagian atas fasa diam secara merata dan ditutup dengan kertas saring serta divakum. Impregnasi dilakukan untuk memperluas permukaan silika gel agar sampel yang akan dielusi dapat tersebar secara merata. Kolom dielusi secara perlahan-lahan berurutan dari polaritas terendah ke polaritas tertinggi (0:100%-100:0%). Setiap kali elusi dilakukan kolom dihisap ke dalam vakum hingga kering dan hasil elusi ditampung dalam botol. Fraksi-fraksi yang di dapatkan di KLT dan fraksi-fraksi dengan R_f yang sama kemudian digabungkan. Fraksinasi sampel dilakukan dengan menggunakan teknik KCV secara berulang dengan perlakuan yang sama seperti tahap KCV awal.

3.4.3 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom (KK) dilakukan setelah KCV dengan fraksi yang lebih sedikit. Pada KK menggunakan silika gel G 60 sebagai fase diam (adsorben). Fasa diam ditambahkan pelarut yang akan digunakan pada proses elusi hingga membentuk bubur (*slurry*). Bubur tersebut dimasukkan ke dalam kolom hingga

kerapatannya maksimum (tidak terdapat rongga) dan rata. Selanjutnya, sampel yang telah diimpregnasi ditempatkan pada kolom yang telah berisi fase diam, pada saat sampel dimasukkan usahakan agar kolom tidak kering atau kehabisan pelarut agar tidak mempengaruhi kerapatan fase diam yang telah terkemas rapat sehingga proses elusi tidak terganggu.

3.5. Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian senyawa dilakukan dengan uji KLT. Analisis kemurnian secara KLT dilakukan dengan menggunakan berbagai campuran fase gerak (eluen). Kemurnian senyawa ditunjukkan dengan adanya bercak atau noda pada plat KLT setelah dielusi dengan eluen. Monitoring bercak atau noda dilakukan di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm, kemudian disemprot dengan larutan serium sulfat $Ce(SO_4)_2$ untuk menampakkan bercak atau noda komponen senyawa flavonoid dari komponen senyawa tersebut. Isolat dapat disebut relatif murni secara KLT jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal, hal ini karena isolat tersebut mengandung satu jenis senyawa.

3.6 Analisis Struktur

Analisis struktur dilakukan dengan tujuan mengetahui struktur isolat murni yang berhasil diisolasi. Analisis dilakukan dengan menggunakan beberapa alat spektroskopi sebagai berikut.

3.6.1 Spektrofotometer UV-Vis

Pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan metode Markham (1988). Sampel berupa kristal murni 0,1 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai persediaan untuk beberapa kali pengukuran. Sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol, jika nilai absorbansi sampel lebih besar dari rentang 0,2-0,8 maka sampel harus diencerkan terlebih dahulu dengan pelarutnya hingga nilai absorbansi serapan masuk dalam rentang tersebut. Selanjutnya, larutan persediaan dibagi menjadi beberapa bagian

dan pada pengukuran spektrofotometer UV-Vis digunakan beberapa pereaksi geser untuk menentukan kedudukan gugus hidroksi fenol pada senyawa flavonoid. Pereaksi-pereaksi geser (*shift reagents*) tersebut seperti natrium hidroksida (NaOH) 2 M (0,8 gram NaOH dilarutkan dalam 10 mL akuades). Kemudian masing-masing larutan diukur serapan maksimumnya.

3.6.2. Spektrofotometri Inframerah (IR)

Sampel berupa kristal murni dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah. Kristal yang telah murni dibebaskan dari air kemudian digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Gerusan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan berkekuatan 8-10 ton cm^2 , kemudian pelet tersebut diukur puncak serapannya (Paiva *et al.*, 2010).

3.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pada uji bioaktivitas antibakteri disiapkan semua alat dan bahan untuk disterilisasi selama 15 menit. Uji ini menggunakan media *Nutrient Agar* (NA), sebanyak 4,2 gram NA dilarutkan ke dalam 150 mL akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit sampai homogen. Kemudian, media agar dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL/tabung reaksi. Media sebanyak 5 mL/tabung reaksi dan 1 mL akuades/tabung reaksi juga disiapkan. Media agar 15 mL/tabung reaksi dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah media keras, dimasukkan media agar 5 mL yang sudah ditambahkan dengan akuades berisi bakteri sebanyak 1 ose.

Sampel berupa kristal murni hasil isolasi sebanyak 3 mg dilarutkan dalam 3 mL metanol, selanjutnya dibuat variasi tiga konsentrasi 0,5; 0,4; dan 0,3 mg/*disc*, dan kemudian diambil 30, 40, dan 50 μL untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram. Pada uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* digunakan kontrol positif berupa *chloramphenicol*, sedangkan uji antibakteri terhadap bakteri *Salmonella* sp. digunakan kontrol positif berupa *ciprofloxacin*. *Chloramphenicol* dan *ciprofloxacin* dibuat tiga variasi konsentrasi 0,5; 0,4; dan 0,3 mg/*disc*. *Chloramphenicol* diambil sebanyak 1,5 mg dan dilarutkan dalam 150 μL metanol.

Ciprofloxacin diambil sebanyak 1,5 mg dan dilarutkan dalam 150 μ L metanol. Selanjutnya diambil 30, 40, dan 50 μ L untuk ditotolkan ke kertas cakram. Kemudian, kertas cakram yang berisi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan di atas permukaan media bakteri. Cawan petri ditutup dengan *plastic wrap* dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk dalam satuan milimeter (mm) (Tokasaya, 2010).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

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

1. Telah berhasil diisolasi senyawa murni flavonoid dari kayu akar tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume.) dan telah diidentifikasi berdasarkan KLT, spektroskopi UV-Vis dan IR merupakan senyawa artokarpin.
2. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa senyawa artokarpin hasil isolasi mempunyai kemampuan daya hambat dengan kategori sedang terhadap *Salmonella* sp. dan *S. aureus* pada konsentrasi 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/disc.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan maserasi dengan 3 jenis pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda sehingga mempermudah isolasi senyawa target dan melakukan uji bioaktivitas antidiabetes menggunakan enzim α -glukosidase.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta.
- Adikara, I. P. 2013. Studi Histopatologi Hati Tikus Putih (*Ratus novergicus*) yang diberi Ekstrak Etanol Daun Kedondong (*Spondias dulcis*) Secara Oral. *Buletin Veteriner Udayana*. **5**(2).
- Agustina, S., Ruslan, dan Wiraningtyas, A. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*. **4**(1): 1-6.
- Agoes. G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press. Bandung.
- Amarasinghe, N.R., Jayasinghe, L., Hara, N. and Fujimoto, Y. 2008. Chemical constituents of the fruits of *Artocarpus altilis*. *Biochem. Syst. Ecol.* **36**(4): 323–325.
- Anam, C., Sirojudin, dan Firdausi, K. 2007. Analisis gugus fungsi pada sampel uji, bensin dan siritus menggunakan metode spektroskopi FTIR. *Berkala Fisika*. **10**(1): 79-85.
- Anggraeni, R. dan Saputra, D. 2018. Physicochemical characteristics and sensorial properties of dry noodle supplemented with unripe banana flour. *Food Research*. **2**(3): 270–278.
- Balbi, H.J. 2004. Chloramphenicol: a review. *Pediatr Rev.* **25**(8):284-288.
- Bhat V., Ashmita M., and Myrene R.D. 2017. Pharmacognostic and physiochemical studies of *Artocarpus heterophyllus* seeds. *Int. J. Chem. Tech.* **10**(9): 525-536.
- Braithwaite, A. and Smith, F. J. 1995. *Chromatographic Methods*. Kluwer Academic Publishers. London.
- Brands, D. 2005. *Salmonella*. Chelsea House. New York.
- Brock, J.A. dan Main, K.L. 1994. A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus Vannamei*. *RAS*. **14**(3):251-257.

- Campbell., Neil A., Jane, B., Reece., dan Lawrence G. M. 2003. *Biologi Jilid 2*. Erlangga. Jakarta.
- 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.
- Day, R.A dan Underwood, A. L. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi Keenam*. Erlangga. Jakarta.
- Dewick, P.M. 2011. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach 2nd Edition*. Jhon Wiley. Chichester.
- Ee, G.C.L., Teo, S.H., Rahmani, M., Lim, C.K., Lim, Y.M. and Go, R. 2011. Artomandin, a new xanthone from *Artocarpus kemando* (Moraceae). *Nat Prod Res.* **25**(10): 995–1003.
- Febriansyah, R. 2018. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Fraksi Polar Kulit Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*) dan Uji Bioaktivitas. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Fried, B. and Shirmer, J.1994. *Thin Layer Chromatography Techniques and Application 3rd edition revised and expanded*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Gandjar, I.G. dan Rohma, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., dan Schwarting, A.E. 1985 *Pengantar Kromatografi*. ITB Press. Bandung.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., dan Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata*. ITB Press. Bandung.
- 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.
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M.Y. dan Oskoueian, E. 2011. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *Int J. Mol Sci.* **12**(6):3422–3431.
- Henry, A., Suryadi. dan Yanuar, A. 2002. Analisis Spektrofotometri UV-Vis pada obat influenza dengan menggunakan aplikasi sistem persamaan linier. *J. Comp science.* **2**(1): 120-132.

- Hernawan. 2008. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Kulit Batang *Artocarpus rigida*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Holt, J.G. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore.
- Hostettmann, K., Hostettman, M. dan Marston M.D. 1995. *Cara kromatografi preparatif: Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*. ITB. Bandung.
- Idrus, H.H. 2020. *Buku Demam Tifoid Hasta*. Universitas Muslim Indonesia. Makassar.
- Irawan, A. 2022. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes serta Antibakteri Senyawa Flavonoid Kayu Akar Tanaman Puda (*Artocarpus kemando* Miq.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Jawetz, E., Melnick. and Adelberg. 2010. *Medical microbiology*. 25th Edition. *Terjemahan*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jayasinghe, U.L.B., Samarakoon, T.B., Kumarihamy, B.M.M., Hara, N. and Fujimoto, Y. 2008. Four new prenylated flavonoids and xanthenes from the root bark of *Artocarpus nobilis*. *Fitoterapia*. **79**(1): 37–41.
- Jorgensen, J.H., Pfaller M.A., and Carroll K.C. 2010. *Medical Microbiology 25th edition chapter 15*. Mc Graw-Hill Company. New York.
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Situasi Diare di Indonesia*. <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/>. Diakses pada tanggal 12 Oktober 2023.
- Kementerian Kesehatan RI. 2020. *Profil Kesehatan Indonesia*. <https://infeksiemerging.kemkes.go.id/>. Diakses pada tanggal 12 Oktober 2023.
- Khomsiah, I., 2016. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Fraksi Non-Polar Kulit Akar Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Khan, M.R., Omoloso, A.D. and Kihara, M. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*. **74**(5): 501–505.
- Khopkar. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Killeen, T.J., Siles, T.M., Grimwood, T., Tieszen, L.L., Steininger, M.K., Tucker, C.J., and Panfil, S. 2003. *Ecological Studies*. Springer Verlag. Berlin.

- Ko, H.H., Lu, Y.H., Yang, S.Z., Won, S.J. and Lin, C.N. 2005. Cytotoxic prenylflavonoids from *Artocarpus elasticus*. *J. Nat Prod.* **68**: 1692–1695.
- Komara. 1991. Mempelajari Ekstraksi Oleoresin dan Karakteristik Mutu Oleoresin dari Bagian Cabe Rawit (*Capsium frutescens*). *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Kristanti, A.N., Nanik, S. A., Mulyadi, T. dan Bambang, K. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kurniawati, A. 2017. Pengaruh jenis pelarut pada proses ekstraksi bunga mawar dengan metode maserasi sebagai aroma parfum. *J. Creat. Student.* **2**(2):1-10.
- Le, T.H., Hai, X. N., Truong, V. N. D., Nhan T.N. and Mai, T.T.N. 2017. Moracin VN, a new tyrosinase and xanthine oxidase inhibitor from the woods of *Artocarpus heterophyllus*. *NPC.* **12**(6): 925-927.
- Lisiyana, N. 2016. Isolasi Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Pada Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L) dengan Variasi Kecepatan Laju Alir Menggunakan Kromatografi Kolom. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Litani B, I., Sela, I., Butalov, V., Zilberman, I. and Schechter, I. 1997. Online remote prediction of gasoline properties by combined optical method. *ACA.* **339**: 193-199.
- Liu, Y.Y., Ting, W., Rong, X.Y., Hao, X T., Lei, Q. and Yan, P.L. 2018. Anti-inflammatory Steroids from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. *J. Nat Prod.* **6**(2):186-191.
- Lubis, P. A. H. 2015. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* serta *Salmonella* sp. yang diisolasi dari soto ayam. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Madigan, M.T., Martinko, J. M., and Parker, J. 2000. *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall Inc. New Jersey.
- Mariod, A.A. 2019. *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*. Springer.
- Markham, 1988. *Cara Identifikasi Flavonoid, Alih bahasa Kosasih Padmawinata*. ITB. Bandung.
- Mery. 1995. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*. Widya Medika. Yogyakarta.
- Mirwan, A. 2013. Keberlakuan model HB-GFT sistem *n*-heksana-mek-air pada ekstraksi cair-cair kolom isian. *J. Konv.* **2**(1): 32-39.

- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *J. Kes.* **7**(2): 1-8.
- Mulja, M. dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Mutmainnah, P. A., Hakim, A., Savalas, L.R.T. 2017. Identifikasi senyawa turunan hasil fraksinasi kayu akar *Artocarpus Odoratissimus*. *JPPIPA*. **3**(2): 26-32.
- Namdaung, U., Aroonrerk, N., Suksamrarn, S., Danwisetkanjana, K., Saenboonrueng, J., Arjchomphu, W., Suksamrarn, A. 2006. Bioactive constituents of the root bark of *Artocarpus rigidus*. *Chem Pharm Bull.* **54**: 1433-1436.
- Nomura, Y., Hano, S. and Inami, R. 1990. Components of the bark of *Artocarpus rigida* Bl. I, structures of two new isoprenylated flavones, Artonins G and H. *Heterocycles*. **31**(12): 2173-2179.
- Nomura, T., Hano, S. and Aida, M. 1998. Isoprenoid-Substitued Flavonoid from *Artocarpus* Plants (Moraceae). *Heterocycles*. **47**(2): 1179-1205.
- Novard, M.F.A., Suharti, N. dan Rasyid, R. 2019. Gambaran bakteri penyebab infeksi pada anak berdasarkan jenis spesimen dan pola resistensinya di Laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2014-2016. *J. Kes Andalas*. **8**(26): 1-7.
- Nuria, M.C., Faizatun. A. dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *JHIP*. **5**(2): 26-37.
- Ojwang, R.A., Edward K.M., Betty M., Benson M. and Dorington O.O. 2017. comparative analysis of phytochemical composition and antioxidant activities of methanolic extracts of leaves, roots and bark of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) from Selected Regions in Kenya and Uganda. *J. Adv. Bio. Biotech*. **6**(1): 1-13.
- Pankey, F. D. 2023. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Flavonoid dari Kayu Akar Tumbuhan Kenangkan (*Artocarpus rigida* Blume). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Parwata, I. M. O. A. 2016. *Flavonoid*. Udayana Press. Denpasar.
- Paiva, P., Gomes, F., Napoleao, T., Sa, R., Correia, M., and Coelho, L. 2010. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *J. Micro. Biotec*. **1**: 396-406.

- Patil, A.D., Freyer, A.J., Killmer, L., Offen, P., Taylor, P.B., Votta, B.J. and Johnson, R.K. 2002. A new dimeric dihydrochalcone and a new prenylated flavone from the bud covers of *Artocarpus altilis*: Potent inhibitors of cathepsin K. *J. Nat Prod.* **65**(4): 624–627.
- Poojitha, V. and Devarakonda, R. 2017. Preliminary phytochemical tests, physicochemical parameters and antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Bio. Sci.* **6**(4): 624–626.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *J. Pro-Life.* **4**(3): 1–12.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Ramadenti, F., Sundaryono, A. dan Handayani, D. 2017. Uji fraksi etil asetat daun *Peronema canescens* terhadap *Plasmodium berghei* pada *Mus musculus*. *J. Alotrop.* **1**(2): 89–92.
- Randa, W. dan Hasnawati. 2017. uji daya hambat ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Warta Farmasi.* **6**(2): 90–99.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak, Jalan Ahmad Yani Pontianak 78124. *Jurnal Belian.* **9**(2): 196–202
- Rijayanti, P.R., Luliana S, F. dan Trianto H. 2014. Uji aktivitas ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *J Mhs PSPD FK Univ Tanjung pura.* **1**(1):1–18.
- Rukmana, R. 1997. *Botani Tanaman*. ITB Press. Bandung.
- Ryan, K.J. dan Ray, C.G. 2014. *Sherris Medical Microbiology 6th edition*. McGraw-Hill. New York.
- Saifudin, A., Rahayu, V., Teruna, dan Yuda, H. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam. Edisi Pertama*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Salahuddin, N. 2022. Sistem monitoring pengukur ketinggian zat cair pada hasil kromatografi kolom menggunakan HC-SR04 yang dimodifikasi. *J. Econom. Stud.* **13**(1): 83–103.

- Samrot, A.V. and Tan, C.S. 2021. Investigating the antioxidant and antimicrobial activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jackfruit) Latex. *Biointerface*. **16**(5):2531-2536.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kimia Organik (Stereokimia, Karbohidrat, Lemak dan Protein)*. UGM Press. Yogyakarta.
- Septiyaningsih, D. 2010. Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sharma, N., Garg, V. dan Arpita, P. 2010. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidative potential of *Prosopis cineraria* bark. *J. Clin. Biochem*. **25**(2): 193-200.
- Simanjuntak, H.A dan Rahmiati. 2021. Pengaruh suhu dan lama pemanasan jus buah semangka merah (*Citrullus vulgaris* (Schard.) Fursa terhadap kandungan vitamin C. *J. Herb. Med*. **4**(2) :1-12.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Sagung Seto. Jakarta.
- Somashekhar, M., Nayeem, N. and Sonnad, B. 2013. A review on family Moraceae (mulberry) with a focus on *Artocarpus* Species. *WJPPS*. **3**(1): 2614–2626.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Alam secara Kromatografi dan Mikroskopi*. ITB. Bandung.
- Stuart, B. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamental and Applications*. John Wiley and Sons. New York.
- Su, B.N., Cuendet, M., Hawthorne, M.E., Kardono, L.B.S., Riswan, S., Fong, H.H.S., Mehta, R.G., Pezzuto, J.M. and Kinghorn, A.D. 2002. Constituents of the bark and twigs of *Artocarpus dadah* with cyclooxygenase inhibitory activity. *J. Nat Prod*. **65**(2): 163–169.
- Suhartati, T. dan A, S, Yandri. 2007. Sikloartobilosanton dari kulit batang dan flavonoid dalam beberapa bagian tumbuhan *Artocarpus dadah* yang tumbuh di Lampung. *J. Sains MIPA*. **13**(2): 82-86.
- Suhartati, T., Wulandari, Z., Wulandari, M., A. S. 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.

- Satiadarma, K., Mulja, M., Tjahjono, D. H., dan Kartasasmita, R. E. 2004. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis. Edisi Pertama*. Airlangga. Surabaya.
- Thombre, R., Parekh, F., Lekshminarayanan, P. dan Francis G. 2012. Studies on antibacterial and antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using *Artocarpus heterophyllus* leaf extract. *Biotechnol. Bioinf. Bioeng.* **2**(1): 632-637.
- Tjitrosoepomo, G. 1993. *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tokasaya, P. 2010. *Sponge Associated Bacteria Producing Antimicrobial Compounds and Their Genetic Diversity Analysis*. Bogor Argicultural University. Bogor.
- Tong, S.Y., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T. L dan Fowler, V. G. 2015. Infeksi *Staphylococcus aureus* epidemiologi, patofisiologi, manifestasi, dan manajemen. *Clun Microbial Rev.* **28**(3):603-631.
- Touchstone, J.C. and Dobbins, M.F. 1983. *Practise of Thin layer chromatography 2nd edition*. Jhon Wiley and Sons Inc. Newyork.
- Utari, A. and Warly, L. 2020. Tannin content of Jackfruit laves (*Artocarpus heterophyllus*) extract and Moringa leaves (*Moringa oleifera*) extract as functional additive feed in ruminant livestock. *International Conference on Sustainable Agriculture and Biosystem.* **757**: 603-631.
- Volk, A. W.dan Wheeler, F.M. 1988. *Mikrobiologi Dasar. (S. Adisoemarto, Ed.) (Edisi 5)*. Erlangga. Jakarta.
- Vandepitte, J. J., Verhaegen, K., Engbaek, P., Rohner, P., Piot. and Heuck, C.C. 2003. *Basic laboratory procedures in clinical bacteriology 2nd ed.* World Health Organization. Geneva.
- Wang, Y., Kedi, X., Lin, L., Pan, Y. and Zheng, X. 2007. *Phytochemistry.* **68**(9): 1300–1306.
- Widyawaruyanti, A., Subehan., Kalauni, S.K., Awale, S., Nindatu, M., Zaini, N.C., Syafruddin, D., Asih, P.B.S., Tezuka, Y. and Kadota, S. 2007. New prenylated flavones from *Artocarpus champeden* SPRENG and their antimalarial activity in vitro. *J. Nat. Med.* **61**: 410-413.
- World Health Organization. 2010. *The world health report: health systems financing: the path to universal coverage*. <https://www.who.int/>. Diakses pada 10 Agustus 2023.
- Yazid, E. 2005. *Kimia Fisika Untuk Para Medis*. ANDI. Yogyakarta.

- Yudistira, A. F. 2013. Potensi antimikroba ekstrak air daun kelor (*moringa oleifera*) terhadap *Salmonella enteritidis* (sp-1-pkh) secara *in vitro*. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Yuswananda, N.P. 2015. Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp. pada Makanan Jajanan di Masjid Fathullah Ciputat Tahun 2015. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.