

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA
FLAVONOID DARI FRAKSI ETIL ASETAT KAYU CABANG
TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida* Blume)**

(Skripsi)

Oleh

**Mella Oktavia
2017011054**



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

ABSTRAK

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA FLAVONOID DARI FRAKSI ETIL ASETAT KAYU CABANG TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida* Blume)

Oleh

MELLA OKTAVIA

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Antibiotik banyak digunakan untuk melawan infeksi, tetapi penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak terkontrol dapat menyebabkan resistensi, maka dibutuhkan obat antibiotik baru yang memiliki efikasi yang optimal dalam membantu mengurangi penyakit infeksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan menguji bioaktivitas antibakteri senyawa flavonoid hasil isolasi dari kayu cabang tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume). Isolasi senyawa dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat, serta dilakukan dengan maserasi tidak bertingkat menggunakan pelarut metanol. Pemurnian senyawa flavonoid dilakukan dengan kromatografi cair vakum (KCV) dan kromatografi kolom (KK). Karakterisasi senyawa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan IR. Uji bioaktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp.

Hasil penelitian diperoleh dua senyawa flavonoid yaitu senyawa artokarpin berupa kristal berwarna kuning 290,2 mg dan senyawa EE1 yang diduga sebagai senyawa calkon berupa kristal berwarna kuning 2,2 mg. Hasil uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp. menggunakan senyawa artokarpin memiliki daya hambat kategori sedang pada konsentrasi 0,5 mg/disc, sedangkan senyawa EE1 terhadap bakteri *Salmonella* sp. memiliki daya hambat kategori kuat pada konsentrasi 0,3 mg/disc.

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

ABSTRACT

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND BIOACTIVITY TEST OF FLAVONOID COMPOUNDS FROM THE ETHYL ACETATE FRACTION BRANCH WOOD OF THE KENANGKAN PLANT (*Artocarpus rigida* Blume)

By

MELLA OKTAVIA

Infectious diseases are diseases caused by microorganisms. Antibiotics are widely used to fight infections, but excessive and uncontrolled use of antibiotics can cause resistance, so new antibiotic drugs are needed that have optimal efficacy in helping reduce infectious diseases.

This research aims to isolate, identify and test the antibacterial bioactivity of flavonoid compounds isolated from the branch wood of the kenangkan plant (*A. rigida* Blume). Compound isolation was carried out using a multi-stage maceration method using *n*-hexane and ethyl acetate solvents, as well as non-graded maceration using methanol solvent. Purification of flavonoid compounds was carried out using vacuum liquid chromatography (VLC) and column chromatography (CC). Compound characterization was carried out using a UV-Vis and IR spectrophotometer. The antibacterial bioactivity test was carried out using the disc diffusion method against the bacteria *S. aureus* and *Salmonella* sp.

The results of the study obtained two flavonoid compounds, namely the artocarpin compound in the form of yellow crystals of 290.2 mg and the EE1 compound which is suspected to be a chalcone compound in the form of yellow crystals of 2.2 mg. The results of the antibacterial test against *S. aureus* and *Salmonella* sp. using the artocarpin compound have a moderate inhibitory power at a concentration of 0.5 mg/disc, while the EE1 compound against *Salmonella* sp. has a strong inhibitory power at a concentration of 0.3 mg/disc.

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

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA
FLAVONOID DARI FRAKSI ETIL ASETAT KAYU CABANG
TUMBUHAN KENANGKAN (*Artocarpus rigida* Blume)**

Oleh

Mella Oktavia

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 Penelitian

: **ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN UJI
BIOAKTIVITAS SENYAWA
FLAVONOID DARI FRAKSI ETIL
ASETAT KAYU CABANG TUMBUHAN
KENANGKAN (*Artocarpus rigida* Blume)**

Nama Mahasiswa

: **Mella Oktavia**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2017011054

Jurusan

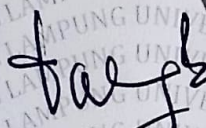
: Kimia

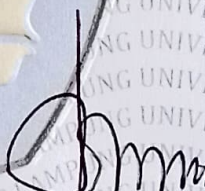
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

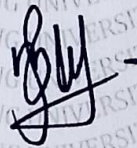
MENYETUJUI

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

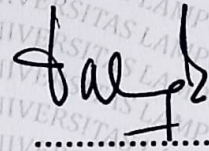

Dr. Mita Rilyanti, M.Si.
NIP. 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

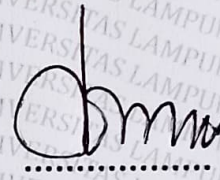
Ketua

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



Sekretaris

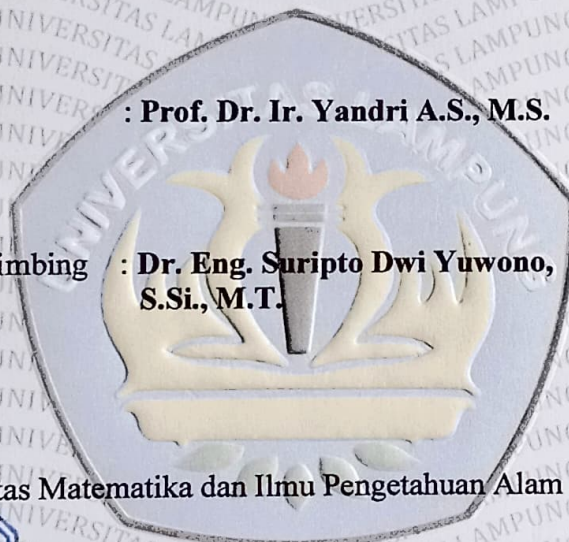
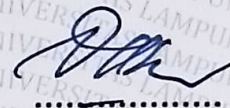
: Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono,
S.Si., M.T.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Juni 2024

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mella Oktavia
Nomo Pokok Mahasiswa : 2017011054
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Pergutuan Tinggi : Universitas Lampung

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

Bandar Lampung, 26 Juni 2024
Menyatakan



Mella Oktavia
NPM 2017011054

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Mella Oktavia, yang dilahirkan di Kagungan Ratu, pada tanggal 15 Oktober 2002. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Tarsikun dan Ibu Rasimah. Penulis menempuh Pendidikan formal pertama kali di TK RA. Ar-Ridho pada tahun 2007-2008, SD Negeri 2 Kagungan Ratu pada tahun 2008-2014, SMPN 4 Tulang Bawang Tengah pada tahun 2014-2017, dan SMAN 1 Tulang Bawang Tengah pada tahun 2017-2020. Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan menerima beasiswa KIP Kuliah yang berjalan selama 8 Semester.

Selama menempuh pendidikan sarjana penulis aktif mengikuti organisasi yang dimulai sejak menjadi anggota Kader Muda Himaki (KAMI) FMIPA Unila periode 2020, menjadi anggota Generasi Muda (Garuda) BEM FMIPA Unila pada tahun 2020, Staf Ahli Dinas Advokasi dan Kesejahteraan Mahasiswa (ADKESMA) BEM FMIPA Unila periode 2021, dan anggota Biro Kesekretariatan Himaki FMIPA Unila periode 2021 dan 2022.

Sebagai bentuk aplikasi ilmu pengetahuan dan penerapan Tri Darma Perguruan Tinggi, penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) tematik pada tahun 2023 di Desa Bandar Agung Kecamatan Bandar Negeri Suoh Kabupaten Lampung Barat, Kemudian pada tahun yang sama penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Unila

dengan judul “Uji Bioaktivitas Antidiabetes Terhadap Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Kayu Cabang Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*)”. Penulis berkesempatan mejadi asisten praktikum Kimia Organik Jurusan Biologi (2023) dan tutor Mata Kuliah Kimia Organik II (2024).

MOTTO

“Allah selalu menitipkan kelebihan disetiap kekurangan, menitipkan kekuatan disetiap kelemahan,”

(Penulis)

"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan."

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

“Kerjakanlah urusan duniamu seakan-akan kamu hidup selamanya dan laksanakanlah urusan akhiratmu seakan-akan kamu akan mati besok.”

(HR. Ibnu Asakir)

“Dunia itu tempat berjuang, istirahat itu di surga.”

(Syekh Ali Jaber)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya, sholawat serta salam kepada suri tauladan terbaik nabi Muhammad SAW.

Penulis mempersembahkan karya ini teruntuk:

Ayah dan ibu tercinta (Bapak Tarsikun dan Ibu Rasimah)

Yang telah mendidik dan membesarkanku dengan penuh kesabaran dan limpahan kasih sayang serta selalu mendo'akan, menguatkan mendukung segala langkahku untuk menuju kesuksesan.

Saudara dan keluarga besar penulis
Yang telah memberikan dukungan dan semangat

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. dan Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.
Yang telah sabar membimbing, memberikan ilmu, serta saran dan masukannya kepada penulis selama menempuh Pendidikan dan penelitian di kampus

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah memberikan ilmunya serta membimbing penulis di Kampus Hijau ini

Sahabat-sahabatku tercinta
Yang telah sabar menemani, memberikan keceriaan, motivasi, dan semangat

Almamater tercinta
Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin. Segala puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Senyawa Flavonoid dari Fraksi Etil Asetat, Kayu Cabang Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida* Blume)”** sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Shalawat beriring salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman anti.

Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan pihak yang telah mendorong dan membimbing penulis, baik tenaga, ide-ide, maupun pemikiran, dan dengan karunia Allah SWT skripsi ini dapat selesai secara bertahap meskipun masih jauh dari kesempurnaan. Dalam kesempatan ini pula dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan Kementrian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi (Kemendikbudristek), yang telah memberikan kesempatan kepada penulis menjadi salah satu penerima beasiswa sehingga penulis bisa menduduki bangku perkuliahan.
2. Kedua orang tua, Bapak Tarsikun dan Ibu Rasimah yang telah mendidik, merawat, mendo'akan, memberikan kasih sayang dan pengorbanan yang tak ternilai harganya, motivasi, serta selalu mendukung setiap langkahku. Tidak ada kata yang cukup untuk berterima kasih atas jasa ibu dan bapak. Semoga Allah selalu memberikan perlindungan, kesehatan, keselamatan, rezeki dan kebahagiaan dunia akhirat serta umur yang panjang sehingga bisa menemani anak-anaknya hingga sukses.

3. Kakakku Marlina, S.Pd.I., adikku Hendra Cahyadi, kakak ipar Dodi Venalosa serta keponakanku Lubna Ayudira Inara terima kasih telah memberi dukungan, do'anya, semangat dan motivasi, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga semua dimudahkan segala urusannya dan sehat selalu.
4. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku Dosen Pembimbing 1 sekaligus Pembimbing Akademik, yang begitu sabar membimbing, memberikan banyak ilmu, arahan, do'a dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah membalas belaiu dengan kebaikan di dunia dan akhirat.
5. Bapak Prof. Dr. Yandri A.S., M.S. selaku Dosen Pembimbing II, yang telah sabar mengarahkan, memberikan saran, dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis, sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dengan baik. Semoga Allah membalas belaiu dengan kebaikan di dunia dan akhirat.
6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan banyak saran dan masukan positif kepada penulis. Semoga Allah membalas belaiu dengan kebaikan di dunia dan akhirat.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerja sama FMIPA Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Mita Riryanti, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak/Ibu Dosen dan Kepala Laboratorium Jurusan Kimia atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia Universitas Lampung.
11. Para Staf dan Laboran Jurusan Kimia FMIPA Unila, Mba Della, Mba yun, Pak Rudi, Pak nomo, Pak Supriyanto atas segala bantuan yang diberikan, dan terkhusus Mba Wit yang sudah sangat baik memberikan bantuan pada penulis saat penelitian di Laboratorium Kimia Organik.
12. Kak Kartika Dewi Rachmawati, M.Si. atas ilmu yang telah di berikan, segala bantuan, saran, motivasi, dan dukungannya kepada penulis, sehingga penulis

bisa menyelesaikan skripsi ini. Semoga kakak selalu dalam perlindungan Allah dan sukses selalu.

13. Rekan-rekan penelitianku, Sisil, Yuwan, dan Zidan atas kebersamaan dan semangatnya.
14. Kakak-kakak sebimbingan Prof. Tati, Kak Armi, Kak Rizki, Kak Kania, Kak Mutiara, Kak Akmal, Kak Farah atas segala ilmu yang diberikan, bantuan, saran dan motivasi kepada penulis. Semoga kakak-kakak senantiasa dilindungi Allah dan sukses selalu.
15. Rekan-rekan Laboratorium Organik: Kak ofri, Kak Rista, Kak Reni, Kak Jihan, Kak Bayu, Kak ikhsan, Vio, Muti, Angel, Dila atas segala bantuan, dukungan, semangat, dan motivasi kepada penulis.
16. Siti Rafera atas segala bantuan, semangat, motivasi dan selalu mendengarkan cerita sedih, senang, susah penulis selama perkuliahan. Semoga selalu dilacancarkan segala urusannya dan sukses selalu.
17. Sahabat-sahabatku Alya, Sindi, Merta atas kebersamaan, motivasi, dan dukungan kepada penulis.
18. Teman-teman “*Chemistry’20*” yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas kebersamaan, kekeluargaan, keceriaan kepada penulis selama perkuliahan.
Chemistry’20, go, go, go live never give up.
19. Almamater tercinta Universitas Lampung.
20. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

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

Bandar Lampung, 13 Juni 2024

Penulis

Mella Oktavia

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Moraceae	5
2.2 <i>Artocarpus</i>	5
2.3 Tumbuhan Kenangan (<i>Artocarpus rigida</i> Blume)	6
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder	8
2.5 Flavonoid	8
2.6 Ekstraksi.....	10
2.7 Fraksinasi	12
2.8 Kromatografi.....	12
2.8.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	13
2.8.2 Kromatografi Kolom (KK)	14
2.8.3 Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	14
2.9 Spektrofotometri	15
2.9.1 Spektrofotometri UV-Vis	15
2.9.2 Spektrofotometri IR	17
2.10 Antibakteri	18
2.10.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri	19
2.10.2 Uji Aktivitas Antibakteri	20
2.10.3 Bakteri	21
2.10.4 <i>Chloramphenicol</i>	23
2.10.5 <i>Ciprofloxacin</i>	24
III. METODE PENELITIAN.....	25
3.1 Waktu dan Tempat	25
3.2 Alat dan Bahan.....	25
3.3 Prosedur Penelitian	26
3.3.1 Persiapan Sampel.....	26

3.3.2	Ekstraksi Sampel	26
3.3.2.1	Maserasi Tidak Bertingkat.....	26
3.3.2.2	Maserasi Bertingkat	27
3.3.3	Fraksinasi Ekstrak.....	27
3.3.4	Kromatografi.....	28
3.3.4.1	Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	28
3.3.4.2	Kromatografi Kolom (KK).....	28
3.3.4.3	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	29
3.3.5	Analisis Kemurnian	29
3.3.6	Analisis Struktur	30
3.3.6.1	Spektrofotometri UV-Vis.....	30
3.3.6.2	Spektrofotometri Inframerah (IR)	31
3.3.7	Uji Antibakteri	31
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Isolasi Senyawa Flavonoid.....	33
4.1.1	Ekstraksi	33
4.1.1.1	Maserasi Tidak Bertingkat.....	33
4.1.1.2	Maserasi Bertingkat	34
4.1.2	Fraksinasi dan Pemurnian Ekstrak	35
4.2	Analisis Kemurnian.....	44
4.3	Analisis Spektrofotometri	45
4.3.1	Analisis Spektrofotometri UV-Vis.....	45
4.3.2	Analisis Spektrofotometri Inframerah (IR)	53
4.4	Uji Bioaktivitas Antibakteri	56
V.	SIMPULAN DAN SARAN	62
5.1	Simpulan	62
5.2	Saran.....	62
	DAFTAR PUSTAKA	62
	LAMPIRAN.....	68
1.	Determinasi tumbuhan kenangan.....	69
2.	Diagram alir penelitian.....	70
3.	Pembuatan larutan uji bioaktivitas antibakteri.	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Serapan sinar UV-Vis pada flavonoid.....	16
2. Daftar bilangan gelombang dari berbagai jenis ikatan dalam spektroskopi IR.....	18
3. Penggabungan hasil KCV dari fraksi etil asetat..	37
4. Penggabungan fraksi-fraksi gabungan BC hasil KCV.....	39
5. Perbandingan data absorbansi panjang gelombang UV-Vis artokarpin dan kristal CC1.	49
6. Perbandingan absorbansi bilangan gelombang IR (a) senyawa hasil isolasi CC1 dan (b) senyawa artokarpin.....	54
7. Hasil uji antibakteri senyawa artokarpin hasil isolasi terhadap bakteri <i>Salmonella</i> sp.	56
8. Hasil uji antibakteri senyawa artokarpin hasil isolasi terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	57
9. Hasil uji antibakteri senyawa EE1 hasil isolasi terhadap bakteri <i>Salmonella</i> sp.	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan <i>A. rigida</i> Blume.	7
2. Struktur umum flavon.....	8
3. Biogenesis turunan senyawa flavonoid dari <i>Artocarpus</i>	10
4. <i>Salmonella</i> sp.....	22
5. <i>S. aureus</i>	23
6. Struktur <i>Chloramphenicol</i>	23
7. Struktur <i>Ciprofloxacin</i>	24
8. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol menggunakan eluen <i>n</i> -heksana: etil asetat 4:6 (a) di bawah lampu UV 254 nm, (b) di bawah lampu UV 365 nm dan (d) setelah disemprot larutan serum sulfat.	34
9. Kromatogram KLT ekstrak etil asetat hasil maserasi (EM) dan fraksi etil asetat (EEM) menggunakan eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat 4:6 (a) di bawah lampu UV 254 nm, (b) di bawah UV 365 nm dan (c) setelah disemprot larutan serum ulfat.	35
10. Proses pengelusan sampel pada KCV.....	36
11. Kromatogram KLT gabungan fraksi ekstrak etil asetat hasil KCV menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	36
12. Kromatogram KLT fraksi A-H hasil KCV menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 6:4 (a) di bawah lampu UV 254 nm (b) Setelah disemprot larutan serum sulfat.....	37
13. Kromatogram KLT fraksi gabungan BC hasil KCV menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) di bawah lampus UV 254 nm dan (b) setelah disemprot dengan larutan serum sulfat.	38

14. Kromatogram KLT fraksi A2-H2 hasil KCV menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6 (a) di bawah lampu UV 254 nm (b) Setelah disemprot larutan serum sulfat.....	39
15. Proses pengelusan sampel pada KK.	40
16. Kromatogram KLT hasil KK fraksi C2 menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 2:8.	41
17. Kristal CC1.	41
18. Kromatogram KLT CC1 dengan senyawa standar artokarpin dan sikloartokarpin menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.....	42
19. Kromatogram KLT hasil KK fraksi E menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 6:4	42
20. Kromatogram KLT fraksi E2 dengan senyawa standar sikloartokarpin (SA), sikloartobilosanton (SAN), artonin E (ARE), artokarpin (A) menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 4:6.	43
21. Kromatogram KLT hasil KK fraksi E2 menggunakan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana 6:4	43
22. Kristal EE1	44
23. Kromatogram KLT kristal CC1 (CC1) dengan standar artokarpin (A) menggunakan tiga sistem eluen (a) etil asetat: <i>n</i> -heksana 3:7 (b) aseton:diklorometana 1:9 (c) etil asetat:diklorometana 4:6	44
24. Kromatogram KLT kristal EE1 menggunakan tiga sistem eluen (a) etil asetat:diklorometana 3:7 (b) etil asetat: <i>n</i> -heksana 6:4 (c) aseton:diklorometana 2:8.....	45
25. Spektrum UV-Vis senyawa CC1 menggunakan pelarut MeOH.	46
26. Spektrum UV-Vis senyawa CC1 dalam (a) MeOH dan (b) MeOH + NaOH	46
27. Spektrum UV-Vis senyawa CC1 dalam (a) MeOH (b) MeOH + AlCl ₃ dan (c) MeOH + AlCl ₃ + HCl.	47
28. Spektrum UV-Vis CC1 dalam (a) MeOH (b) MeOH + NaOAc dan (c) MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	48
29. Spektrum UV-Vis senyawa EE1 menggunakan pelarut MeOH.....	49
30. Spektrum UV-Vis senyawa EE1 dalam (a) MeOH dan (b) MeOH + NaOH	50
31. Spektrum UV-Vis senyawa EE1 dalam (a) MeOH (b) MeOH + AlCl ₃ dan (c) MeOH + AlCl ₃ + HCl.	51

32. Spektrum UV-Vis EE1 dalam (a) MeOH (b) MeOH + NaOAc dan (c) MeOH + NaOAc + H ₃ BO ₃	52
33. Struktur calkon.....	52
34. Perbandingan spektrum IR (a) senyawa hasil isolasi CC1 dengan (b) senyawa artokarpin	54
35. Struktur senyawa artokarpin.	55
36. Hasil uji antibakteri senyawa artokarpin (CC1) terhadap bakteri <i>Salmonella</i> sp. dengan konsentrasi 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/disc.....	57
37. Hasil uji antibakteri senyawa artokarpin (CC1) terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dengan konsentrasi 0,3; 0,4; dan 0,5 mg/disc.	58
38. Hasil uji antibakteri senyawa artokarpin (CC1) terhadap bakteri <i>Salmonella</i> sp. dengan konsentrasi 0,1; 0,2; dan 0,3 mg/disc.....	59

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme. Infeksi terjadi ketika bakteri, virus, dan jamur masuk ke dalam tubuh, berkembang biak, dan menyebabkan penyakit (Abbas dkk., 2016). Menurut World Health Organization (WHO), penyakit infeksi menyebabkan sekitar 10,9 juta penduduk dari 57 juta penduduk di dunia mengalami kematian (Goldstein *et al.*, 2005). Kasus infeksi oleh bakteri patogen banyak disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* (Ramadhanty dkk., 2021).

S. aureus adalah golongan bakteri Gram-positif yang merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri *S. aureus* dapat menginfeksi jaringan tubuh manusia, menyebabkan terjadinya infeksi dengan ciri-ciri peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Sumber infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini dapat berasal dari kontaminasi luka dan infeksi pasca operasi (Fadia dkk., 2020). *Salmonella* adalah jenis bakteri basil berbentuk batang yang tergolong dalam kategori Gram-negatif, sering kali diidentifikasi sebagai penyebab infeksi makanan yang paling umum. Bakteri ini bersifat patogen dan penyebab utama penyakit diare secara global (Nissa *et al.*, 2023).

Upaya pengobatan penyakit infeksi hingga saat ini masih menggunakan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak terkontrol merupakan penyebab kemunculan kelompok mikroorganisme yang resistan terhadap berbagai obat dengan cepat (Harbottle *et al.*, 2006). Lonjakan resistensi bakteri membuat banyak antibiotik yang tadinya efektif menjadi tidak efektif dalam memerangi

infeksi bakteri (Reygaert, 2018). Sehingga menyebabkan tingginya angka kematian dan infeksi yang mengancam jiwa (Lipp *et al.*, 2002). Resistensi antibiotik terjadi ketika suatu obat kehilangan kemampuannya dalam menghambat bakteri, sehingga menjadi resisten dan bakteri terus berkembang biak (Zaman *et al.*, 2017). Oleh karena itu, perlu terus dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan obat antibiotik baru yang memiliki efikasi yang optimal dalam membantu mengurangi penyakit infeksi.

Tanaman obat banyak sekali ditanam oleh masyarakat karena dapat digunakan untuk menjaga kesehatan dan juga memiliki kegunaan lain, seperti dijadikan bumbu masakan, suplemen nutrisi, dan tanaman hias (Parawansah dkk., 2020). Indonesia memiliki peluang sangat besar dalam mengembangkan obat baru berbahan baku tanaman obat, karena Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati dan budaya. Salah satu budaya yang terdapat di Indonesia yaitu penggunaan ramuan obat tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan. Obat tradisional merupakan tanaman berkhasiat obat yang diproses dengan resep warisan secara turun temurun (Supriani dkk., 2022). Masyarakat Indonesia masih banyak yang memanfaatkan tumbuhan sebagai obat tradisional (Fadila dkk., 2020).

Khasiat tanaman obat berasal dari senyawa aktif yang dikandungnya. Senyawa bioaktif merupakan senyawa yang terkandung dalam tubuh hewan maupun tumbuhan. Senyawa ini memiliki berbagai manfaat bagi kehidupan manusia, diantaranya dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antidiabetes, dan antikanker (Firdayani dan Winarni, 2015). Oleh karena itu, senyawa bioaktif ini dapat menjadi alternatif untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antibakteri dari bahan alami tumbuhan.

Moraceae merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai sumber bahan kimia bioaktif. famili Moraceae memiliki 60 genus yang terdiri dari 1.400 spesies. Genus Famili Moraceae antara lain, *Artocarpus*, *Ficus*, *Tregulus*, *Morus*, *Anitaris*, *Antiaropsis*, dan *Sparattosyce* (Maulidina dkk., 2023). *Artocarpus* dari famili Moraceae telah diketahui banyak mengandung senyawa fenolik meliputi

flavonoid, asam fenolik, atau turunan fenolik (Hossain *et al.*, 2016). Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, antidiabetes mellitus (Lutfiyati dkk., 2017). Senyawa aktif ini dapat diperoleh melalui proses isolasi.

Pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa flavonoid dari tumbuhan kenangan (*Artocarpus rigida* Blume). Penelitian sebelumnya menunjukkan beberapa derivat senyawa flavonoid yang telah diidentifikasi dari tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume), seperti pada kayu akar diperoleh senyawa artonin O yang menunjukkan aktivitas antibakteri sedang terhadap *B. subtilis* (Suhartati *et al.*, 2016), pada bagian kulit batang diperoleh senyawa sikloartobiloksanton dan artonin E dengan bioaktivitas tinggi terhadap sel Leukemia murine P-388, dan senyawa artonin E yang diperoleh dari bagian kayu akar menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *E. coli* dan *B. subtilis* (Suhartati *et al.*, 2008), serta pada bagian daun diperoleh senyawa santoangelol yang menunjukkan aktivitas antibakteri kategori kuat terhadap bakteri *B. subtilis* pada konsentrasi 0,3; 0,4; 0,5 mg/disc (Irfan, 2021). Merujuk pada uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa metabolit sekunder khususnya flavonoid dari tumbuhan kenangan *A. rigida* Blume dan dilakukan uji bioaktivitas antibakteri dari senyawa yang flavonoid hasil isolasi.

Metode isolasi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan metanol, *n*-heksana dan etil asetat. Pemisahan dan pemurnian senyawa dilakukan dengan cara kromatografi. Identifikasi kemurnian dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Karakterisasi struktur dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan inframerah (IR). Senyawa hasil isolasi diuji bioaktivitas sebagai antibakteri dengan metode difusi cakram terhadap bakteri *S. aureus* dan *Salmonella* sp.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat kayu cabang tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume)
2. Melakukan karakterisasi senyawa flavonoid hasil isolasi fraksi etil asetat dari kayu cabang tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume) dengan spektrofotometri UV-Vis dan IR.
3. Menentukan bioaktivitas antibakteri dari hasil isolasi fraksi etil asetat dari kayu cabang tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume).

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kandungan senyawa flavonoid yang terdapat dalam fraksi etil asetat dari kayu cabang tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume) dan bioaktivitasnya sebagai antibakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Moraceae

Moraceae merupakan tumbuhan Angiospermae yang memiliki karakter yang khas dengan adanya *latex* atau getah putih, bunga berkelamin tunggal, ovula *anatropous* dan kumpulan buah berbiji atau *achenes*. Keluarga Moraceae mewakili 73 genus dan 1050 spesies yang dikenal sebagai tumbuhan keluarga murbei (Ingrity *et al.*, 2020). Karakter yang khas pada suku Moraceae adalah adanya getah putih (*latex*) dan stipula yang sering rontok meninggalkan bekas yang jelas seperti kunat cincin (*circular scars*) sebagai pembeda suku Moraceae. Daun berseling (*alternate*) atau *alternate distichous*, tunggal, mempunyai satu daun penumpu pada setiap daun. Bunga dalam bulir rapat dan majemuk, ada yang terkurung dalam dasar bunga berbentuk kendi, bunga berkelamin satu (*unisex*), dan berumah 1 atau 2. Jenis-jenis bunga berumah satu (*monoecious*), di antaranya terdapat pada genus *Artocarpus*, *Huilettia*, *Streblus*, *Antiaris*, dan *Castilla*. Jenis-jenis bunga berumah dua (*Diecious*) di antaranya terdapat pada genus *Antiaropsis*, *Broussonetia*, *Maclura*, *Morus*, *Parartocarpus*, *Prainea*, dan *Trophis* (Sahromi, 2020).

2.2 Artocarpus

Genus *Artocarpus* termasuk ke dalam famili Moraceae, yang terdiri dari 50 spesies, dan ditemukan di daerah Asia tropis dan subtropis (Xu *et al.*, 2019). *Artocarpus* adalah jenis tumbuhan utama pada genus Moraceae yang terdiri dari 60 genus yang mencakup lebih dari 1.300 spesies (Hari *et al.*, 2019). Nama

Artocarpus berasal dari bahasa Yunani yaitu ‘*artos*’ yang artinya roti dan buah. Buah ini umumnya dinamakan buah sukun (Hui *et al.*, 2014).

Artocarpus di Indonesia dikenal dengan ciri-ciri seluruh bagian tanamannya memiliki getah putih, pohon berkayu keras, dan buah berdaging dengan banyak biji. Bentuk daun tumbuhan genus *Artocarpus* bertekstur agak keras dengan bulu-bulu halus pada sisi bawah dan ukuran daunnya bervariasi. Beberapa tumbuhan dari genus *Artocarpus* dimanfaatkan sebagai makanan ataupun obat tradisional di India dan negara-negara kawasan Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Buah yang dihasilkan dari beberapa spesies *Artocarpus* umumnya dapat dikonsumsi, seperti *A. heterophyllus* (nangka), *A. altilis* (sukun), *A. camansi* (kluwih), dan *A. integer* (cempedak) (Solichah dkk., 2021). *Artocarpus* memiliki kandungan kimia senyawa metabolit yang beragam, seperti fenolik termasuk flavonoid, stilbenoid, arilbenzofuron, dan neolignan (Solichah dkk., 2021). Golongan flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar yang terdapat pada tumbuhan dan telah diketahui memiliki aktivitas biologis dan farmakologis.

Penelitian pada genus *Artocarpus* seperti pada *A. altilis* didapatkan senyawa sikloartokarpin, artokarpin, caplasin morusin, kudraflavon B, sikloartobiloksanton, artonin E, kudraflavon C, dan artobiloksanton (Silalahi, 2021), *A. heterophyllus* didapatkan senyawa asam askorbat, β -karoten dan likopen (Biworo *et al.*, 2015) dan *A. rigida* didapatkan senyawa sikloartobiloksanton dan artonin E (Suhartati *et al.*, 2008).

2.3 Tumbuhan Kenangkan (*Artocarpus rigida* Blume)

Tumbuhan kenangkan (*A. rigida* Blume) merupakan tumbuhan hutan yang memiliki batang kokoh, tingginya dapat mencapai 20 m, berkayu sangat keras, bergetah, dan memiliki bentuk daun menjari dengan banyak bulu halus, Tumbuhan *A. rigida* Blume dapat dilihat pada Gambar 1. Dalam taksonomi, tumbuhan ini diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Rosales
Famili : Moraceae
Subfamili : Artocarpeae
Genus : *Artocarpus*
Spesies : *Artocarpus rigidus* atau *Artocarpus rigida* (Plantamor, 2023).



Gambar 1. Tumbuhan *A. rigida* Blume.

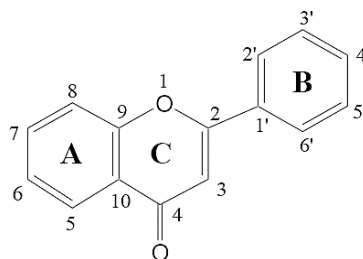
Pada penelitian sebelumnya kandungan kimia dari *A. rigida* Blume pada bagian kulit akar dihasilkan, enam senyawa hasil isolasi, yaitu dua fenolat baru dengan kerangka yang dimodifikasi (flavonoid 7-demetilartonol E dan kromon artorigidusin) bersama dengan empat fenolat yang diketahui dan dimodifikasi secara struktural, (santon artonol B, flavonoid artonin F, flavonoid sikloartobiloksanton, dan santon artoindonesianin C) (Namdaung *et al.*, 2006). Pada bagian kayu akar, dihasilkan isolasi senyawa santon yaitu artonin O (Suhartati *et al.*, 2016) dan pada bagian kulit akar dihasilkan senyawa artonin E (Suhartati *et al.*, 2018).

2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh tumbuhan, mikroba atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan namun tidak vital (jika tidak ada tidak mati) sebagaimana gula, asam amino dan asam lemak. Metabolit ini memiliki aktivitas farmakologi dan biologi (Saifudin, 2014). Beberapa senyawa metabolit sekunder di antaranya flavonoid, steroid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan tanin. Senyawa terpenoid, alkaloid, flavonoid yang telah berhasil diisolasi memiliki aktivitas biologi yang menarik, seperti bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, menghambat pelepasan histamin, antiinflamasi, anti jamur, dan antibakteri (Mulyani dkk., 2013).

2.5 Flavonoid

Flavonoid adalah derivat dari senyawa fenol. Secara umum, flavonoid adalah senyawa yang terdiri atas 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Gambar 2). Dalam flavonoid, hampir selalu ada gugus hidroksil (-OH), khususnya pada cincin B pada posisi 3' dan 4', cincin A pada posisi 5 dan 7, atau cincin C pada posisi 3. Gugus hidroksil adalah tempat menempelnya berbagai gula yang dapat meningkatkan kelarutan flavonoid dalam air (Salisbury dan Ross, 1995).

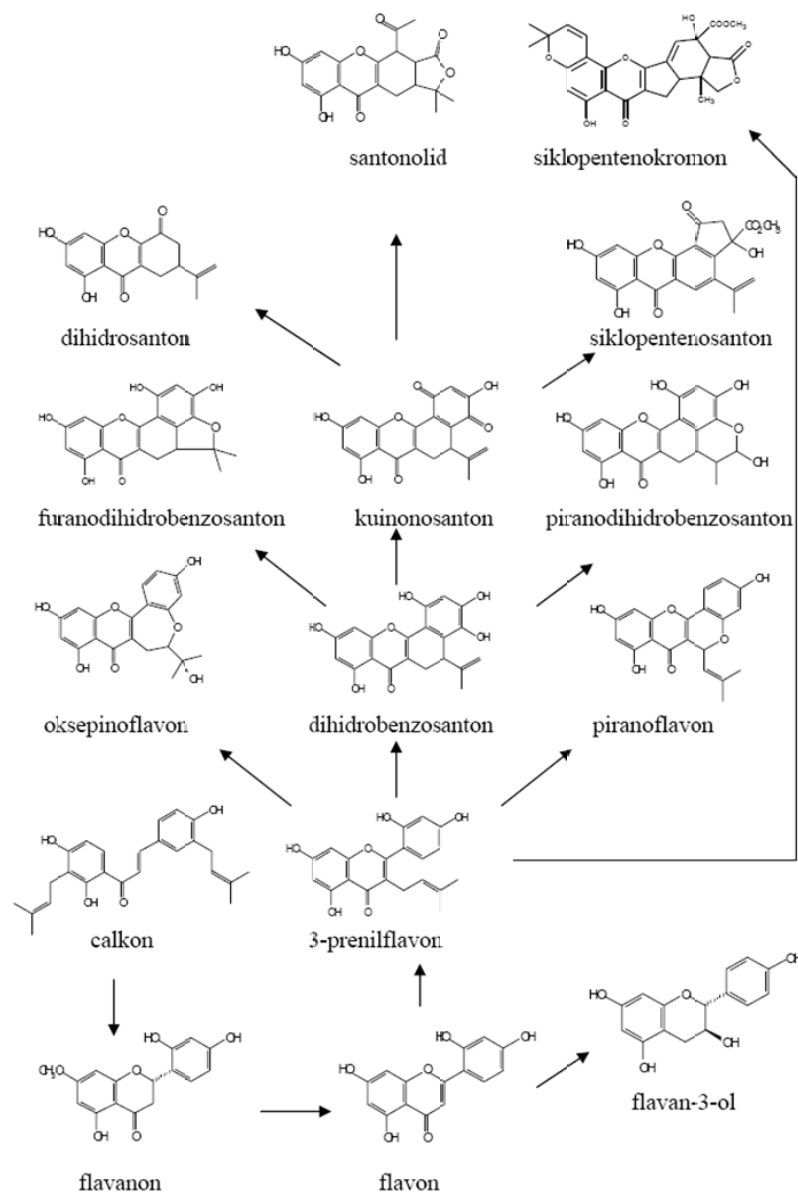


Gambar 2. Struktur umum flavon (Salisbury dan Ross, 1995).

Berdasarkan strukturnya, flavonoid digolongkan dalam enam kelompok, yaitu aglikon yang bersifat optis aktif, aglikon yang tidak bersifat optis aktif (flavonoid tanpa gula terikat), flavonoid-C-glikosida (flavonoid yang terikat gula pada inti benzena), flavonoid-O-glikosida (flavonoid yang terikat gula pada gugus hidroksilnya), biflavonoid (flavonoid biner), dan flavonoid sulfat (flavonoid yang berikatan dengan satu atau lebih gugus sulfat (Pambudi dkk., 2015)).

Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari polifenol yang ditemukan secara luas pada tanaman dan makanan, serta memiliki berbagai efek bioaktif termasuk antivirus dan anti-inflamasi. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Flavonoid dapat ditemukan pada tanaman yang berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Beberapa hipotesis tentang biogenesis dari flavonoid *Artocarpus* ini telah dilaporkan di literatur, mulai dari turunan flavanon seperti artokarpanon yang memiliki pola 2',4'-dioksigenasi pada cincin B, dilanjutkan rangkaian pembentukan kerangka turunan flavon terkait seperti norartokarpetin, serta dilanjutkan reaksi prenilasi dan hidroksilasi. Gambaran umum biogenesis senyawa flavonoid dan turunannya yang ditemukan dalam genus *Artocarpus* terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Biogenesis turunan senyawa flavonoid dari *Artocarpus* (Hakim, 2011).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi disebut ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani

menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Illing dkk., 2017).

Jenis-jenis dari ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, soklet, refluks, dan destilasi. Pada penelitian ini digunakan metode maserasi. Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk menarik atau mengambil senyawa yang diinginkan dari suatu larutan atau padatan dengan teknik perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi dalam suhu ruang. Proses ekstraksi dengan teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Keuntungan cara ini adalah lebih mudah dan tidak perlu dilakukan pemanasan, sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel (Susanty dan Bachmid, 2016). Pelarut-pelarut yang biasanya dipergunakan untuk senyawa-senyawa organik di antaranya adalah eter, etanol, aseton, metanol, *n*-heksana, petroleum eter dan lain sebagainya (Illing dkk., 2017).

Terdapat 2 metode maserasi, maserasi bertingkat dan tidak bertingkat. Maserasi bertingkat merupakan metode ekstraksi bertahap dengan menggunakan pelarut yang berbeda untuk memperoleh ekstrak yang semakin banyak. Maserasi bertingkat menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan, sedangkan maserasi tidak bertingkat merupakan metode ekstraksi menggunakan satu jenis pelarut ekstrak total sampel yang mampu terekstraksi dengan pelarut tersebut.

Jenis pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap senyawa aktif yang ikut terekstraksi. Pelarut polar akan menarik senyawa yang bersifat polar, pelarut non-polar akan menarik senyawa non-polar dan semi polar akan menarik senyawa semi polar. Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, flavonoid, karotenoid, tanin, gula, asam amino, dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid,

alkaloid, aglikon, dan glikosida. Pelarut non-polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid, dan minyak yang mudah menguap.

2.7 Fraksinasi

Fraksinasi adalah memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar sedangkan senyawa non-polar diekstraksi dengan pelarut non-polar. Pada proses fraksinasi, digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut. Kelebihan metode fraksinasi yaitu dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolaran karena senyawa yang bersifat polar larut dalam pelarut polar, senyawa semi polar larut dalam pelarut semi polar, dan senyawa non polar larut dalam pelarut non polar (Putri dkk., 2023).

2.8 Kromatografi

Kromatografi berasal dari kata *chroma* (warna) dan *graphein* (penulisan), yaitu suatu teknik pemisahan fisik dengan memanfaatkan perbedaan kecil sifat-sifat fisik dari komponen-komponen yang akan dipisahkan. Istilah penulisan warna sudah tidak tepat lagi karena pemisahan dengan kromatografi dapat dipakai untuk memisahkan komponen-komponen yang tidak berwarna (Kusuma dkk., 2022). Kromatografi yaitu pemisahan campuran senyawa dalam suatu sampel berdasarkan perbedaan interaksi sampel dengan fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dapat berupa padatan atau cairan yang diletakkan pada permukaan fasa pendukung. Kromatografi terbagi menjadi dua yaitu kromatografi gas dan cair. Kromatografi gas adalah suatu cara untuk memisahkan campuran dengan mengalirkan arus gas melalui fase diam, contohnya yaitu *Gas Liquid*

Chromatography (GLC) dan *Gas Solid Chromatography* (GSC). Kromatografi cair adalah pemisahan kromatografi dengan fase gerak berupa cairan (biasanya pelarut atau campuran biner sederhana pelarut) dan fase diam cair yang harus larut dan tidak larut dalam cairan fase gerak, contohnya yaitu kromatografi kertas, kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis (KLT), dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

2.8.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik analisis yang banyak digunakan untuk memisahkan campuran senyawa kimia berdasarkan distribusinya di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam merupakan bahan pelapis pada lempeng KLT yang biasanya terbuat dari bubuk silika, alumunium oksida, atau selulosa. Fase gerak merupakan pelarut tunggal atau campuran yang menyebabkan ekstrak mengalami pemisahan. Fase gerak berinteraksi dengan fase diam melalui daya kapilaritas yang memungkinkan terjadinya pemisahan beragam komponen berdasarkan kelarutan dan retensinya dalam fase diam dan fase gerak. Pemisahan dicapai melalui kompetisi antara molekul sampel dan fase gerak untuk berikatan atau berinteraksi dengan fase diam (Lade *et al.*, 2014).

Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan cara meneteskan masing-masing fraksi pada plat KLT menggunakan pipa kapiler sehingga berbentuk spot. Plat dimasukkan ke dalam chamber yang telah diisi eluen. Eluen dibiarkan bergerak ke atas dan diakhiri setelah ujung eluen pada plat mencapai kira-kira 3/4 tinggi plat. Plat KLT diambil dan dikeringkan, kemudian spot dilihat dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Spot-spot pada plat KLT dibandingkan dengan menggunakan nilai satuan tertentu yaitu *Retention factor* (Rf). Nilai Rf adalah perbandingan jarak dari titik awal spot hingga sejauh spot itu berada dibandingkan dengan jarak pelarut hingga mencapai titik tertinggi yang dihitung dari titik awal yang sama (titik spot sebelum pengembangan). Rumus Rf perhitungan dapat dilihat pada persamaan (1).

$$\text{Retention factor (Rf)} = \frac{r_1}{r_2} \quad (1)$$

Keterangan:

r1: Jarak yang ditempuh sampel (cm)

r2: Jarak yang ditempuh fase gerak (cm) (Gede dan Dika, 2022).

2.8.2 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan preparatif yang dapat menghasilkan isolat dalam jumlah yang cukup besar. Efisiensi pemisahan menggunakan kromatografi kolom dipengaruhi oleh adsorben, eluen, diameter kolom, dan laju alir. Adsorben berperan penting sebagai fase diam dari suatu kolom kromatografi sebagaimana pengaruhnya dalam efisiensi pemisahan yang berkaitan dengan teori plate dan teori kelajuan. Pemisahan yang efisien menggunakan kromatografi kolom dapat dilakukan salah satunya dengan cara memperkecil jumlah sampel dalam proses elusi serta memperpanjang kolom (adsorben) (Fasya dkk., 2018).

Prinsip kerja kromatografi kolom adalah adanya perbedaan absorbansi dari masing-masing senyawa campuran yang akan dipisahkan. Senyawa polar lebih kuat diserap dalam gel silika, menyebabkannya turun lebih lambat, sedangkan senyawa non polar lebih lemah diserap dan bergerak lebih cepat. Senyawa dalam kolom terpisah membentuk pita serapan sesuai dengan polaritas senyawa dan mengalir keluar kolom dengan pelarut (fase gerak) dengan polaritas yang sama. Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut murni atau campuran dua pelarut yang bersesuaian dengan perbandingan tertentu (Delfira, 2023).

2.8.3 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa di dalam 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. Fasa diam yang digunakan dalam kromatografi cair vakum adalah silika gel G60 ukuran ± 200 mesh, sedangkan fasa geraknya digunakan fasa gerak terbaik pada KLT dengan eluen *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat, etil asetat 100% dan etil asetat:metanol (Mutmainnah dkk., 2017).

2.9 Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah ilmu yang mempelajari tentang penggunaan spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu obyek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Metode spektrofotometri merupakan cara yang sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil, selain itu mudah, cepat dan memiliki ketelitian yang tinggi (Gusnedi, 2013). Pada penelitian ini, digunakan alat spektrofotometer seperti spektroskopi UV-Vis dan IR.

2.9.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis pengukuran konsentrasi suatu senyawa berdasarkan kemampuan senyawa tersebut mengabsorpsi berkas sinar atau cahaya yang menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-400 nm (Dewi, 2019). Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk mendapat informasi baik analisis kualitatif maupun analisis

kuantitatif. Analisis kualitatif dapat digunakan untuk mengidentifikasi kualitas obat atau metabolitnya. Data yang dihasilkan oleh Spektrofotometri UV-Vis berupa panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut (Putri dan Setiawati, 2015).

Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron nonikatan (elektron bebas). Sinar ultralembayung dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Eksitasi elektron-elektron direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah elektron-elektron bereksitasi semakin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi, dan semakin tinggi absorbansi. Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap (Suhartati, 2017). Rentang serapan sinar UV-Vis pada senyawa flavonoid dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Serapan sinar UV-Vis pada flavonoid (Sastrohamidjojo, 2002)

Pita I (nm)	Pita II (nm)	Jenis Flavonoid
310-350	250-280	Flavon
330-360	250-280	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
350-385	250-280	Flavonol (3-OH bebas)
310-330	245-275	Isoflavon
300-390	275-295	Flavonon dan dihidriflavon
340-390	230-270	Chalcon
465-560	270-280	Antosianidin dan Antosianin

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan sinar ultra violet dan tampak merupakan salah satu cara yang paling penting dalam mengidentifikasi struktur flavonoid. Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dengan pelarut metanol atau etanol. Spektrum khas berada pada rentang 240-280 nm (pita II) dan 300-550 nm

(pita I). Kedudukan yang tepat dan kekuatan nisbi maksimum tersebut memberikan informasi mengenai sifat flavonoid dan pola oksigenasinya. Puncak yang relatif rendah pada pita I dalam spektrum merupakan ciri khas flavonoid golongan hidroflavon, dihidroflavon, dan isoflavon. Sementara puncak yang tinggi merupakan ciri khas kalkon, auron, dan antosianin.

Pada spektroskopi UV-Vis, adanya penambahan larutan yang biasa disebut dengan pereaksi geser dapat menyebabkan pergeseran batokromik, hipsokromik, hiperkromik, atau hipokromik. Pada efek batokromik terjadi perubahan absorpsi panjang gelombang ke arah panjang gelombang yang lebih besar karena adanya substituen/auksokrom tertentu pada kromofor atau dapat juga terjadi karena ada perubahan pelarut yang digunakan. Pergeseran hipsokromik adalah pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih pendek disebabkan dan substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran biru).

Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan lalu diamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Pereaksi geser yang digunakan pada penelitian ini adalah NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, dan H₃BO₃. Spektrum NaOH merupakan spektrum flavonoid yang menunjukkan ada atau tidaknya gugus hidroksil bebas pada posisi C4'. Pergeseran terjadi pada pita I sebesar 45-65 nm untuk flavon dan flavonol. Spektrum AlCl₃ dan AlCl₃/HCl dapat mendeteksi adanya gugus *o*-hidroksi pada C3' atau C4' dan gugus *o*-hidroksi keton. Spektrum NaOAc mendeteksi ada atau tidaknya gugus 7-OH bebas, dan spektrum NaOAc/HBO₃ mendeteksi gugus OH pada *o*-dihidroksi (Markham, 1988).

2.9.2 Spektrofotometri IR

Spektrofotometri ini didasarkan pada penyerapan panjang gelombang inframerah. Cahaya inframerah terbagi menjadi inframerah dekat, pertengahan dan jauh. Inframerah pada spektrofotometri adalah inframerah jauh dan pertengahannya yang mempunyai panjang gelombang 2,5-1000 μm . Hasil Analisa yang dihasilkan

berupa signal kromatogram yang menunjukkan hubungan intensitas *IR* terhadap panjang gelombang. Untuk identifikasi, signal sampel akan dibandingkan dengan signal standar. Umumnya spektrofotometer *IR* digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa, terutama senyawa organik. Setiap serapan pada bilangan gelombang menggambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik dan yang khas. Beberapa daerah serapan yang khas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Daftar bilangan gelombang dari berbagai jenis ikatan dalam spektroskopi *IR* (Dachriyanus, 2004)

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

2.10 Antibakteri

Antibakteri merupakan obat yang paling banyak digunakan untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Setiabudy, 2012). Antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan mekanisme kerjanya. Klasifikasi pertama yaitu antibakteri yang menghambat sintesis atau merusak dinding sel, contohnya β -laktam (penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, inhibitor β -laktamase). Klasifikasi yang kedua yaitu antibakteri yang memodifikasi atau menghambat sintesis protein antaralain yaitu aminoglikosid, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida (eritromisin, azitromisin, klaritromisin), klindamisin, dan musiprosin. Antibakteri yang menghambat enzim-enzim esensial dalam metabolisme folat antara lain trimetoprim dan sulfonamid dan mempengaruhi sintesis atau metabolisme folat antara lain kuinolon dan nitrofurantoin (Permenkes, 2011).

Senyawa flavonoid pada beberapa tumbuhan diketahui memiliki sifat antibakteri. Flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri. Mekanisme lainnya gugus hidroksil pada struktur flavonoid yang dapat mengakibatkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi, sehingga menimbulkan efek toksik terhadap bakteri (Manik dkk, 2014). Berdasarkan penelitian Krisnata dkk, (2014) dalam Christabel *et al.*, (2018), flavonoid pada konsentrasi tinggi memiliki efek bakterisidal baik pada bakteri Gram-negatif ataupun bakteri Gram-positif. Mekanisme flavonoid sebagai bakterisidal yaitu dengan cara menyebabkan kerusakan pada membran sitoplasma dan dinding sel bakteri.

2.10.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu bakterisida yang memiliki sifat membunuh bakteri dan bakteriostatika yang memiliki sifat menghambat bakteri. Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut:

1. Merusak sel. Struktur dari sel dirusak dengan cara menghambat proses pembentukan atau setelah proses pembentukan dinding sel.
2. Mengubah permeabilitas sel. Apabila membran sitoplasma mengalami kerusakan maka akan menghambat pertumbuhan suatu sel karena fungsi dari membran sitoplasma adalah untuk mempertahankan bagian-bagian tertentu sel, membentuk integritas komponen selular dan mengatur aktivitas difusi bahan penting.
3. Menghambat kerja enzim. Apabila kerja enzim dihambat menyebabkan aktivitas sel tidak berjalan normal seperti aktivitas sintesis akan terganggu.
4. Menghambat sintesis protein dan asam nukleat. Apabila kerja DNA dan RNA terhambat dapat mengakibatkan kerusakan pada sel karena DNA dan RNA memiliki peran penting dalam pembentukan sel bakteri.
5. Mengubah molekul protein dan asam nukleat. Sel hidup tergantung pada molekul protein dan asam nukleat yang terpelihara dalam keadaan alamiahnya.

Antibakteri mengubah dengan mendenaturasi protein dan asam nukleat sehingga sel mengalami kerusakan secara permanen (Rollando, 2019).

Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid yaitu mengganggu fungsi dinding sel bakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler dan menghambat bakteri. Rusaknya dinding sel bakteri yang terdiri dari lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid sehingga menimbulkan perembesan senyawa tersebut ke dalam inti sel bakteri. DNA yang terdapat di dalam inti sel bakteri akan bereaksi dengan senyawa flavonoid melalui perbedaan kepolaran antara gugus alkohol dan lipid penyusun DNA sehingga menyebabkan inti sel bakteri lisis (Sadiah dkk., 2022).

2.10.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode ini merupakan metode yang digunakan untuk menguji daya antibakteri berdasarkan berdifusinya zat antibakteri pada media padat dengan dilakukan pengamatan pada daerah pertumbuhan bakteri (Rollando, 2019). Metode Cakram (*disc*) / Kirby *Bauer* adalah metode penentuan sensitifitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang memiliki kemungkinan menghambat aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram kertas. Metode difusi agar yaitu metode menggunakan difusi dengan cakram kertas pada beberapa konsentrasi ekstrak yang digunakan. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat yang ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram diukur untuk mengetahui kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, serta faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat (Amalia dkk., 2014).

Zona hambat adalah tempat pertumbuhan bakteri yang terhambat menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri di daerah tersebut. Daya hambat ditunjukkan dengan ada atau tidaknya zona bening di sekitar cakram kertas. Zona bening

tersebut merupakan daerah difusi yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kekuatan zat antibakteri dari ekstrak yang digunakan dilihat dari besar diameter zona hambat yang terbentuk. Penggolongan kekuatan antibakteri berdasarkan daerah hambatan yaitu 20 mm atau lebih tergolong sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm tergolong kuat, daerah hambatan 5-10 mm tergolong sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang tergolong lemah (David *and* stout, 1971).

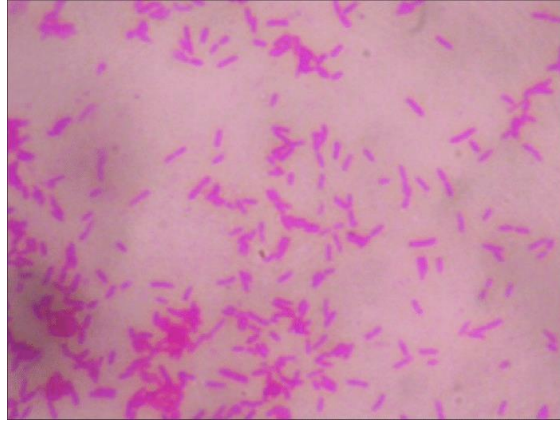
2.10.3 Bakteri

Bakteri merupakan salah satu golongan mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang hidup berkoloni, dan tidak mempunyai selubung inti, dan mampu hidup di mana saja. Bakteri umumnya mempunyai struktur sel, yang terdiri dari dinding sel. Dinding sel berfungsi untuk memberi bentuk sel dan melindungi isi sel dari pengaruh luar sel. Dinding sel tersusun atas makromolekul peptidoglikan yang terdiri dari disakarida dan polipeptida. Susunan pada dinding sel inilah yang membedakan bakteri berdasarkan respon dinding sel terhadap bakteri. Bakteri yang menyebabkan penyakit pada manusia adalah bakteri patogen. Bakteri patogen yang menyebabkan penyakit infeksi pada manusia contohnya adalah *Salmonella sp.* dan *S. aureus*.

a. *Salmonella sp*

Salmonella sp merupakan bakteri batang lurus, Gram-negatif, tidak berspora, dan bergerak dengan flagel peritrik kecuali *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum*. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob yang dapat tumbuh pada suhu dengan kisaran 5–45°C dengan suhu optimum 35-37°C dan pH pertumbuhan sekitar 4,0 - 9,0 dengan pH optimum 6,5 - 7,5, dan akan mati pada pH di bawah 4. *Salmonella* tidak tahan terhadap kadar garam tinggi di atas 9% dan akan mati pada suhu 56°C (Nurmila dan Kusdiyantini, 2018). Bakteri *Salmonella* adalah bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit bagi manusia maupun hewan. Penyakit yang ditimbulkan jika manusia terinfeksi bakteri *Salmonella* adalah

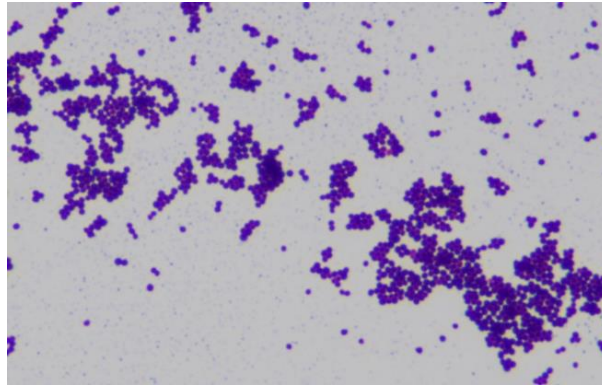
penyakit demam tifus pada manusia, yang menyebabkan demam tinggi dengan efek muntah-muntah (Ihsan, 2021). Bakteri *Salmonella* sp. dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. *Salmonella* sp. (Yanestria et al., 2019).

b. *Staphylococcus aureus*

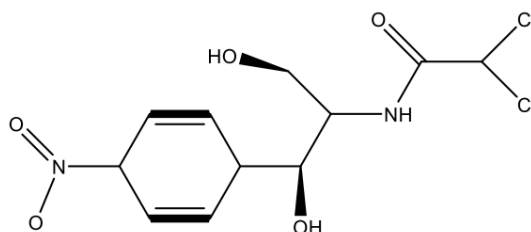
Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat, bersifat Gram-positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur yang berada di selaput lendir dan kulit. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi piogen dan bahkan septikimia yang fatal. *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flaget (Jawetz dan Adelberg, 2005). Gambar bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. *S. aureus* (Rubin, 2020).

2.10.4 *Chloramphenicol*

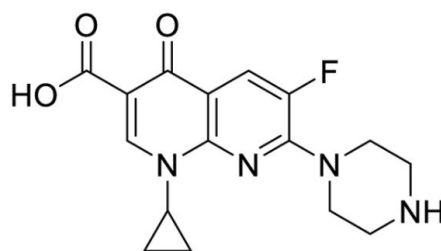
Chloramphenicol merupakan antibiotik dengan spektrum luas karena memiliki efek bakteriosidal terhadap bakteri Gram-positif maupun negatif. Antibiotik ini bekerja dengan cara mengikat protein subunit 50S pada ribosom bakteri sehingga dapat menghambat proses sintesis protein. Antibiotik ini dapat dipakai untuk pengobatan penyakit kolera, tipus dan lain-lain. *Chloramphenicol* mampu mengganggu pengikatan asam amino pada rantai petida dengan cara menghambat enzim *peptidil transferase* yang mengakibatkan terhambatnya sintesis protein dan berkurangnya pembentukan energi dan struktur bakteri yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Hal ini bisa terjadi dikarenakan pada mekanisme kerja *chloramphenicol* yang menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat ribosom. *Chloramphenicol* memiliki interaksi yang mampu mengendapkan beberapa obat dari golongan aminoglikosida sehingga dapat menekan aktivitas antibakteri.



Gambar 6. Struktur *chloramphenicol* (Fransiska dan Sianita, 2021).

2.10.5 Ciprofloxacin

Ciprofloxacin adalah antibiotik untuk mengatasi berbagai penyakit akibat infeksi bakteri, seperti pneumonia, kencing nanah, infeksi saluran kemih, infeksi prostat, atau infeksi mata dan telinga. *Ciprofloxacin* termasuk antibiotik golongan kuinolon. Kinerja antibiotik ini adalah dengan cara menghambat enzim *topoisomerase* II (DNA *gyrase*) dan *topoisomerase* IV yang berperan penting dalam sel bakteri pada proses DNA replikasi, transkripsi, dan lain-lain. Resistensi pada antibiotik ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti peningkatan pompa *efflux*, enzim modifikasi dan protein pelindung target (Aji, 2020). *Ciprofloxacin* efektif dalam melawan bakteri Gram-negatif maupun Gram-positif, seperti *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Neisseria* sp., dan *Pseudomonas aeruginosa*.



Gambar 7. Struktur *Ciprofloxacin* (Sharma *et al.*, 2017).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2023 – Maret 2024, bertempat di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Uji bioaktivitas antibakteri dan analisis spektroskopi UV-Vis dilakukan di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, dan spektrofotometri IR dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Bandung (ITB).

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium, satu set alat destilasi, *vacum rotary evaporator* (heidolph), satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), lampu UV, spektrofotometer UV-Vis *Cary 100 Agilent Technologies*, Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Kolom (KK), neraca analitik, *Laminar Air Flow* (LAF) 9005-FL, jarum ose, pemanas Bunsen, pipa kapiler, cawan petri, *hot plate*, inkubator, oven, autoklaf, penggaris, mikropipet 50 – 1000 μL , dan spektrofotometer FT-IR (*Agilent Technologies FTIR 630 CARY*).

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak etil asetat dari kayu cabang tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume), metanol (CH_3OH),

n-heksana (C₆H₁₄), etil asetat (C₄H₈O₂), aseton (C₃H₆O), akuades (H₂O), larutan serium sulfat (Ce(SO₄)₂) 1,5 % dalam asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, pereaksi geser AlCl₃ 5% (0,25 g dalam 5 mL metanol), HCl 18,5% (5 mL HCl pekat dilarutkan sampai 10 mL dengan akuades), NaOH 2M (0,8 g NaOH dalam 10 mL akuades), padatan natrium asetat (NaOAc), asam borat (H₃BO₃), silika gel merck G 60, silika gel merck 60 (70-700 mesh), plat KLT silika gel merck Kiesegel 60 F₂₅₄ 0,25 mm, media *Nutrient Agar* (NA), *chloramphenicol*, *ciprofloxacin*, bakteri *Salmonella* sp., dan *S. aureus*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel berupa kayu cabang tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume) diperoleh dari Desa Keputran, Kecamatan Sukoharjo, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung. Sampel berupa kayu cabang yang dipotong berukuran kecil-kecil, kemudian sampel tersebut dikeringkan. Sampel kayu cabang yang sudah kering digiling sampai berbentuk serbuk halus.

3.3.2 Ekstraksi Sampel

3.3.2.1 Maserasi Tidak Bertingkat

Serbuk halus kayu cabang tumbuhan kenangan ditimbang sebanyak 2 kg lalu diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 9 L yang telah didestilasi. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan. Ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring lalu dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 100 rpm. Setelah itu, ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang untuk mengetahui berat sampel ekstrak kasar metanol.

3.3.2.2 Maserasi Bertingkat

Serbuk halus kayu cabang tumbuhan kenangan ditimbang sebanyak 1 kg lalu diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan 5 L pelarut *n*-heksana kemudian 5 L pelarut etil asetat yang telah didestilasi. Maserasi pertama menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak 5 L dilakukan selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan. Ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring lalu serbuk kayu dikeringkan pada suhu ruang agar tidak terkena sinar matahari sampai serbuk kering. Setelah serbuk kering dilakukan maserasi kembali menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 5 L yang telah didestilasi. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dan ditimbang untuk mengetahui berat sampel ekstrak kasar etil asetat hasil maserasi dan dilakukan KLT.

3.3.3 Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi ekstrak hasil maserasi tidak bertingkat yaitu ekstrak kasar metanol bagian kayu cabang tumbuhan kenangan dilakukan partisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana. Fraksinasi dilakukan dengan perbandingan ekstrak kasar metanol dengan *n*-heksana 1:1 menggunakan corong pisah dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya residu metanol yang diperoleh dipekatkan hingga kering kemudian dilarutkan menggunakan etil asetat sebanyak 100 mL. Fraksi ekstrak etil asetat diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada temperature 40°C dan putaran 100 rpm. Ekstrak etil asetat yang diperoleh ditimbang dan dilakukan KLT.

3.3.4 Kromatografi

3.3.4.1 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Hasil fraksinasi yang sudah dilakukan KLT dilanjutkan dengan pemisahan fraksi yang menunjukkan noda paling memungkinkan terdapat flavonoid menggunakan metode KCV. Pada Penelitian ini metode KCV menggunakan silika gel G 60 sebagai fase diam dan pelarut *n*-heksana:etil asetat sebagai eluen. Ekstrak kasar yang telah kering dilarutkan dalam metanol dan diimpregnasikan pada silika gel kasar dengan bobot 2 kali sampel dan digerus hingga homogen dan kering. Impregnasi dilakukan untuk memperluas permukaan silika gel sebagai fase diam sehingga sampel yang akan dielusi dapat tersebar secara merata. Corong Buchner kaca masir yang berada diatas kolom KCV diisi dengan fase diam silika gel G 60 sebanyak 10 kali berat sampel dalam keadaan kering, ditutup bagian atas dengan kertas saring lalu divakum dengan alat vakum hingga padat dan rata. Eluen *n*-heksana 100% dituangkan terlebih dahulu serta divakum hingga kering dengan pengulangan sebanyak 2 sampai 3 kali untuk memperoleh kerapatan yang maksimum pada fase diam. Setelah itu, kertas saring diambil dan ditambahkan sampel yang sudah diimpregnasi pada bagian atas secara merata dan diatasnya dilapisi dengan kertas saring lalu dilakukan proses elusi. Selanjutnya sampel dielusi dengan *n*-heksana:etil asetat secara perlahan-lahan mulai dari tingkat kepolaran yang rendah sampai tingkat kepolaran yang tinggi (100:0-0:100%) dengan divakum hingga kering pada setiap penambahan eluen. Fraksi-fraksi yang diperoleh digabungkan berdasarkan pola fraksinasinya.

3.3.4.2 Kromatografi Kolom (KK)

Hasil Fraksinasi dari KCV yang sudah dianalisis dengan KLT selanjutnya dilakukan pemurnian menggunakan KK. Eluen yang digunakan untuk KK dipilih berdasarkan hasil KLT terhadap fraksi yang akan dimurnikan dengan rentang R_f 0,2 - 0,3. Adsorben yang digunakan berupa silika gel merck G 60 dan silika gel

merck 60 (70-700 mesh) sebagai fase diam. Silika gel dilarutkan dan diaduk dalam eluen yang akan digunakan pada proses pengelusan hingga berbentuk bubur (*slurry*). *Slurry* tersebut dimasukkan ke dalam kolom sampai kerapatannya maksimum (tidak berongga) dan rata. Setelah itu, sampel yang telah diimpregnasi pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi adsorben (fase diam). Pada saat sampel dimasukkan, diupayakan agar kolom tidak kering/kehabisan eluen karena dapat mempengaruhi kerapatan fase diam yang telah dikemas rapat sehingga proses elusi dapat terganggu. KK dilakukan dalam kondisi normal tanpa vakum sehingga diharapkan dapat menghasilkan pemisahan yang lebih murni.

3.3.4.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk melihat pola pemisahan yang terkandung di dalam ekstrak kasar maka dilakukan KLT. KLT dilakukan terhadap fraksi-fraksi hasil KCV dan fraksi-fraksi hasil KK. KLT dilakukan dengan cara menotolkan sampel yang telah dilarutkan menggunakan aseton, pada plat KLT menggunakan pipa kapiler dielusi dengan fase gerak. Fase gerak yang digunakan berupa campuran pelarut organik yang sesuai. Setelah dilakukan elusi plat KLT dilihat pola pemisahan senyawanya dengan disinari UV pada panjang gelombang 254 dan 365 nm. Hasil KLT kemudian disemprot menggunakan larutan serum sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) untuk menampakkan noda hasil KLT dan selanjutnya dihitung nilai R_f .

3.3.5 Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian dilakukan dengan metode KLT. Analisis kemurnian secara KLT menggunakan berbagai campuran fase gerak (eluen) seperti *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang diamati di bawah lampu UV

dengan panjang gelombang 254 dan 365 nm. Plat KLT lalu disemprot menggunakan larutan serum sulfat dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 80°C selama 3 menit untuk menampakkan noda dari komponen senyawa tersebut. Isolat yang menunjukkan noda tunggal, menunjukkan bahwa isolat tersebut mengandung satu jenis senyawa yang murni.

3.3.6 Analisis Struktur

Kristal murni yang telah diperoleh dari hasil isolasi kemudian dianalisis strukturnya dengan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui serapan panjang gelombang maksimum dan spektrofotometer inframerah (IR) untuk mengetahui gugus fungsi dari kristal yang didapatkan.

3.3.6.1 Spektrofotometri UV-Vis

Sampel berupa kristal murni hasil isolasi ditimbang sebanyak 0,1 mg dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, dan diencerkan menggunakan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan ini digunakan sebagai persediaan pada beberapa kali pengukuran dengan cara pengenceran larutan secara bertahap. Pertama, sampel diukur serapan maksimumnya dalam metanol. Selanjutnya larutan persediaan dibagi menjadi beberapa bagian. Masing-masing larutan persediaan ditambah dengan pereaksi-pereaksi geser seperti larutan natrium hidroksida (NaOH) 2 M, larutan aluminium klorida (AlCl_3) 5%, larutan HCl 18,5%, padatan natrium asetat (NaOAc) dan padatan asam borat (H_3BO_3). Penambahan pereaksi geser dilakukan untuk menentukan kedudukan gugus hidroksi fenol pada senyawa flavonoid dengan cara mengamati pergeseran puncak yang terjadi pada pita I dan pita II.

3.3.6.2 Spektrofotometri Inframerah (IR)

Sampel kristal hasil isolasi yang telah murni sebanyak 1 mg dibebaskan dari air kemudian digerus bersama-sama dengan padatan halida anorganik yang berupa KBr. Gerasan kristal murni dengan KBr dibentuk menjadi lempeng tipis atau pelet dengan bantuan alat penekan dan diukur puncak serapannya.

3.3.7 Uji Antibakteri

Uji bioaktivitas pada penelitian ini digunakan metode difusi kertas cakram. Pertama dilakukan adalah sterilisasi alat dan media dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Uji antibakteri menggunakan media *Nutrient Agar* (NA). Sebanyak 4,2 gram NA dilarutkan ke dalam 150 mL akuades dan dipanaskan selama 15 menit sampai homogen. Setelah itu, 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. Selanjutnya, semua alat dan bahan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit. Sampel senyawa hasil isolasi dibuat tiga variasi konsentrasi: 0,5, 0,4, dan 0,3 mg/disc. Kristal sebanyak 3 mg dilarutkan dalam 300 μ L metanol p.a, kemudian diambil 50; 40, dan 30 μ L untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram. Pada uji antibakteri terhadap *Salmonella sp.* digunakan kontrol positif berupa *ciprofloxacin*, sedangkan uji antibakteri terhadap *S. aureus.* digunakan kontrol positif berupa *chloramphenicol*. *Chloramphenicol* dan *ciprofloxacin* dibuat tiga variasi konsentrasi: 0,5; 0,4; dan 0,3 mg/disc. Padatan untuk kontrol positif sebanyak 1,5 mg dilarutkan dalam 150 μ L metanol p.a, kemudian diambil 50; 40; dan 30 μ L untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram.

Alat dan bahan yang telah disterilisasi ditempatkan ke dalam *Laminar Air Flow*, dan uji antibakteri selanjutnya dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Media agar 15 mL/tabung reaksi dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah media memadat, dimasukkan media agar 5 mL yang sudah ditambahkan dengan akuades berisi

bakteri sebanyak 1 ose. Kertas cakram yang telah berisi sampel, kontrol positif, dan kontrol negatif diletakkan di atas media yang telah memadat. Cawan petri ditutup disegel dengan plastik wrap, dan dibungkus menggunakan kertas kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 1x24 jam. Setelah 1x24 jam, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur diameter zona beningnya (Halijah *et al.*, 2021).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

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

1. Pada penelitian ini, telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dua senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat kayu cabang tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume). Berdasarkan spektroskopi UV-Vis dan IR, senyawa artokarpin sebanyak 290,2 mg berupa kristal berwarna kuning dan berdasarkan spektroskopi UV-Vis senyawa EE1 yang diduga sebagai senyawa calkon sebanyak 2,2 mg berupa kristal berwarna kuning.
2. Hasil uji bioaktivitas antibakteri senyawa artokarpin hasil isolasi menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang pada konsentrasi 0,5 mg/disc dan senyawa EE1 menunjukkan aktivitas antibakteri kategori kuat pada konsentrasi 0,3 mg/disc.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya yaitu melakukan penelitian lebih lanjut terhadap sampel fraksi etil asetat kayu cabang tumbuhan kenangan (*A. rigida* Blume) sehingga diperoleh informasi lebih tentang jenis senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., dan Pillai, S. 2016. *Fungsi dan Kelainan Sistem Imun*. Elseiver. Singapura.
- Aji, O. R. 2020. Analisis resistensi antibiotik pada bakteri yang berasosiasi dengan lalat (*Musca domestica*). *Diklabio*. **12**(1): 11-16.
- Amalia, S., Wahdaningsih, S., dan Untari, E. K. 2014. Uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksana kulit buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus Britton* dan *Rose*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *JFFI*. **1**(2): 61-64.
- Arifin, B. dan Ibrahim, S. 2018. Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*. **6**(1): 21–29.
- Biworo, A., Tanjung, E., Iskandar, Khairina, and Suhartono, E. 2015. Antidiabetic and antioxidant activity of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) extract. *JOMB*. **4**(4): 318–323.
- Christabel, P. F., Hernando, M.V., Sutanto, K., and Parisihni. 2018. Exploration of *Chlorella* sp. as antibacterial to aggregatibacter atinomycetemcomitans biofilm. *IOP Publishing*. **217**(1): 1-5.
- Dachriyanus, 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. LPTK Universitas Andalas. Sumatra Barat.
- Davis, W.W. and Stout, T.R. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *J. Microbiol*. **22**(1): 659-665.
- Delfira, N. 2023. Pemanfaatan silika gel 70-230 mesh bekas sebagai pengganti fase diam kromatografi kolom pada praktikum kimia organik. *JLM*. **6**(1): 45–51.
- Dewi, A. P. 2019. Penetapan kadar vitamin C dengan spektrofotometri Uv-Vis pada berbagai variasi buah tomat. *JOPS*. **2**(1): 9–13.
- Fadia, Nurlailah, Herlina, T. E., dan Lutpiatina, L. 2020. Efektivitas ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L) sebagai antibakteri *Salmonella Typhi* dan *Staphylococcus Aureus*. *JRKI*. **2**(3): 158–168

- Fadila, M. A., Ariyanti, N. S., dan Walujo, E. B. 2020. Etnomedisin tetumbuhan obat tradisional suku Serawai di Seluma, Bengkulu. *IJSE*. **4**(2): 79–84.
- Fasya, A. G., Tyas, A. P., Mubarakah, F. A., Ningsih, R., and Madjid, A. D. R. 2018. Variasi diameter kolom dan rasio sampel-silika pada isolasi steroid dan triterpenoid alga merah *Eucheuma cottonii* dengan kromatografi kolom basah. *Alchemy*. **6**(2): 1-57.
- Firdayani, F. dan Winarni, A. T. 2015. Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami spirulina platensis segar dengan pelarut yang berbeda. *JPHPI*. **18**(1): 28–37.
- Fransiska, E. A. dan Sianita, M. M. 2021. Pengaruh suhu pada sintesis *Molecularly Imprinted Polymer* (MIP) terhadap kemampuan adsorpsi kloramfenikol. *UNESA J. Chem*. **10**(3): 209-219.
- Gede, N. L. dan Dika, I. W. 2022. Fraksinasi komponen aktif ekstrak kasar rimpang jeringau sebagai fungisida terhadap jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis (KLT). *JEMS*. **11**(1): 54–62.
- Goldstein, B., Giroir, B., and Randolph, A. 2005. International pediatric sepsis conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr. Crit. Care Med*. **6**(1): 2–8.
- Gusnedi, R. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*. **2**(1) 76–83.
- Hakim, A. 2011. Keanekaragaman metabolit sekunder genus *Artocarpus* (Moraceae). *Nusantara Bioscience*. **2**(1): 146–156.
- Halijah, Mutiah, H., and Syam, F. N. 2021. Anti-bacterial effectiveness test of basil leaf extract (*Ocimum basilicum* L.) against *Escherichia coli*. *JBSE*. **3**(1): 38-46.
- Harbottle, H., Thakur, S., Zhao, S., and White, D. G. 2006. Genetics of antimicrobial resistance. *Anim. Biotechnol*. **17**(2): 111–124.
- Hari, A., Revikumar, K., and Divya, D. 2019. Artocarpus, a review of its phytochemistry and pharmacology. *J.Pharm. Sci*. **9**(1):7–12.
- Hossain, M. F., Islam, M. A., Akhtar, S., and Numan, S. M. 2016. Nutritional value and medicinal uses of monkey jack fruit (*A. lacucha*). *Int. Res. J. Biol. Sci*. **5**(1): 60–63.
- Hui, M., Subramaniam, K., Valeisamy, B., KYean, L., and Balaji, K. 2014. A Review on *artocarpus altilis* (parkinson) fosberg (breadfruit). *J Appl Pharm Sci*. **4**(1): 91–97.

- Ihsan, B. 2021. Identifikasi bakteri patogen (*Vibrio* spp. dan *Salmonella* spp.) yang mengontaminasi ikan layang dan bandeng di pasar tradisional. *JPHPI*. **24**(1): 89-96.
- Illing, I., Safitri, W. dan Erfiana. 2017. Uji fitokimia ekstrak buah degen ilmiati. *Dinamika*. **8**(1): 66–84.
- Ingrity, Neves, K. O. G., Guimarães, A. C., Silva, F. M. A., and Nunomura, R. C. S. 2020. Chalcones and flavans from the bark of *Brosimum acutifolium* subsp interjectum (Moraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **93**(1): 1-6.
- Irawan, Andi. 2022. *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes serta Antibakteri Senyawa Flavonoid Kayu Akar Tanaman Pudau (Artocarpus kemando* Miq). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Irfan, M. 2021. *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Kenangkan (Artocarpus rigida)*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Jawetz dan Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Kusuma, M. N., Muharamin, A., Darma, D. W. S., Syafitri, E. D., Ardhana, I. M., Shobriyah, H. H., Sholihah, M., dan At-Thayyibi, M. H. 2022. Pendayagunaan limbah buah sebagai pupuk organik cair dengan metode fermentasi em4. *Ritektra*. **1**(1): 1–9.
- Lade, B., Patil, A., Paikrao, H., and Khire, A. K. 2014. A comprehensive working, principles and applications of thin layer chromatography. *RJPBCS*. **5**(1): 486–503.
- Lipp, E. K., Huq, A., and Colwell, R. R. 2002. Effects of global climate on infectious disease: the cholera model. *CMR*. **15**(4): 757–770.
- Lutfiyati, H., Yulastuti, F., Hidayat, I. W., Pribadi, P., Putri, M., dan Pradani, K. 2017. Skrining fitokimia ekstrak etanol brokoli (*Brassica Oleracea L Var Italica*). *ICONETSI*. **1**(145): 93–98.
- Manik, D. F., Hertiani, T., dan Anshory, H. 2014. Analisis korelasi antara kadar flavonoid dengan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah: JM*. **6**(2): 1–12.
- Maulidina, I., Azizah, I. D. M. N., Supriyatna, A., Sunan, U. I. N., dan Djati, G. 2023. Identifikasi tumbuhan yang tergolong dalam famili Moraceae di lingkungan kampus 1 Uin Sunan Gunung Djati Bandung. *JURRIT*. **2**(1): 1-9.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung.

- Mulyani, Y., Bachtiar, E., dan Kurnia, M. U. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *J. Akuatika Indones.* **4**(1): 1–9.
- Mutmainnah, P. A., Hakim, A., dan 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., and Suksamrarn, A. 2006. Bioactive constituents of the root bark of *Artocarpus rigidus*. *Chem. Pharm. Bull.* **54**(10): 1433–1436.
- Nissa, L. I. K., Rahayu, Y. P., Mambang, D. E. P., and Daulay, A. S. 2023. Prevalence of bacteria *Salmonella* sp. on chicken meat in traditional markets, market modern, and famous brands in Medan city. *J. of Pharm. and Sci.* **6**(4): 1842–1853.
- Nugraha, S. E., Achmad, S., and Sitompul, E. 2019. Antibacterial activity of ethyl acetate fraction of passion fruit peel (*Passiflora edulis* Sims) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *IDJPCR.* **2**(1): 7–12.
- Nurmila, I. O. dan Kusdiyantini, E. 2018. Analisis cemaran *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* sp. pada makanan ringan. *JBBI.* **1**(1): 6-11.
- Pambudi, A. S., Noriko, N., Azhari, R., dan Azura, P. R. 2015. Identifikasi bioaktif golongan flavonoid tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Al-Azhar Indonesia STT.* **2**(3): 168-178
- Parawansah, P., Ezzo, A., dan Saida, S. 2020. Sosialisasi pemanfaatan tanaman obat keluarga sebagai upaya untuk meningkatkan imunitas tubuh ditengah pandemi di Kota Kendari. *JCEH.* **3**(2): 2018–2021.
- Pertaturan Menteri kKsehatan Republik IndonesiaI Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011.
- Plantamor. 2023. *PINTAU (Artocarpus rigidus)*. [Http://Plantamor.Com/Species/Info/Artocarpus/Rigidus#gsc.Tab=0](http://Plantamor.Com/Species/Info/Artocarpus/Rigidus#gsc.tab=0). Diakses pada 19 juni 2023.
- Putri, F. E., Diharmi, A., dan Karnila, R. 2023. Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada rumput laut coklat (*Sargassum plagyophyllum*) dengan metode fraksinasi. *JTIP.* **15**(1): 40–46.
- Putri, M. P. dan Setiawati, Y. H. 2015. Analisis kadar vitamin C pada buah nenas segar (*Ananas comosus* L. Merr) dan buah nenas kaleng dengan metode spektrofotometri UV-VIS. *J. Wiyata.* **2**(1): 1-3.

- Ramadhanty, A. M., Tri Lunggani, A., dan Nurhayati. 2021. Isolasi bakteri endofit asal tumbuhan mangrove *Avicennia marina* dankemampuannya sebagai antimikroba patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* secara in vitro. *J. of Trop. Bio.* **4**(1): 16–22.
- Reygaert, W. C. 2018. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol.* **4**(3): 482–501.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Seribu Bintang. Malang.
- Rubin, J. 2020. *Staphylococcus aureus* Gram-stain. <https://www.flickr.com/photos/therubinlab/50044882852/in/photostream/>. diakses pada hari Selasa tanggal 6 Februari 2024 pukul 07.38 WIB.
- Sadih, H. H., Cahyadi, A. I., dan Windria, S. 2022. Kajian daun sirih hijau (*Piper betle* L) sebagai antibakteri. *JSV.* **40**(2): 128-138.
- Sa'diah, K. 2020. Isolasi karakterisasi dan modifikasi senyawa artokarpin dari tumbuhan pudau (*Artocarpus kemando* Miq.) serta uji bioaktivitas antibakteri senyawa artokarpin dari hasil modifikasai. Tesis Univeritas Lampung. Lampung. 78-80.
- Sa'diah, K., Yuwono, S. D., Qudus, H. I., Yandri, and Suhartati, T. 2020. Isolation, characcterzation, modification of artocarpin compound from pudau plant (*Artocarpus kemando* Miq) and bioactivity antibacterial assay of artocarpin compound and their modification result. *Eart. Envi. Sci.* **537**(1): 1-8.
- Sahromi. 2020. Konservasi ex situ famili Moraceae di Kebun Raya Bogor, Jawa Barat. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon.* **6**(1): 530–536.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder (Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian)*. Deepublish. Yogyakarta.
- Salisbury, F. B. dan Ross, C. W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. ITB. Bandung.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *Spektroskopi, Edisi Kesatu*. Liberty. Yogyakarta.
- Setiabudy, R. 2012. *Farmakologi dan Terapi* Edisi 5. BPFKUI. Jakarta.
- Setiawan, M.H., Mursiti, s., dan Kusumo, E. 2016. Aisolasi dan uji antimikroba ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr). *J. MIPA.* **39**(2): 128-134.
- Sharma, D., Patel, R. P., Zaidi, S. T. R., Sarker, M. R., Lian, Q. Y., and Ming, M. C. 2017. Interplay of the quality of *Ciprofloxacin* and antibiotic resistance in developing countries. *Front. Pharmacol.* **8**(1): 1-7.
- Silalahi, M. 2021. Pemanfaatan sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai obat tradisional dan bahan pangan alternatif. *BEST.* **4**(1): 9–18.

- Solichah, A. I., Anwar, K., Rohman, A., dan Fakhrudin, N. 2021. Profil fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa tumbuhan genus *Artocarpus* di Indonesia. *J. Food. Pharm. Sci.* **9**(2): 443–460.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung.
- Suhartati, T., Hernawan, Suwandi, J. F., Yandri, and Hadi, S. 2018. Isolation of artonin E from the root bark of *artocarpus rigida*, synthesis of artonin E acetate and evaluation of anticancer activity. *MJCCE*. **37**(1): 35–42.
- Suhartati, T., Wulandari, A., Suwandi, J. F., Yandri, and Hadi, S. 2016. Artonin O, a xanthone compound from root wood of *Artocarpus rigida*. *OAJI*. **32**(5): 2777–2784.
- Suhartati, T., Yandri, and Hadi, S. 2008. The bioactivity test of artonin E from the bark of *Artocarpus rigida* Blume. *EJOR*. **23**(2): 330–337.
- Supriani, Sari, W. Y., dan Ramadhan, M. F. 2022. Studi etnomedisin tumbuhan berkhasiat obat pada masyarakat Desa Karangjengkol di masa pandemi Covid-19. *J. Farm.* **11**(3): 189–194.
- Susanty, S. dan Bachmid, F. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). *KONVERSI*. **5**(2): 80-87.
- Usman, H., Jalaluddin, M. N., Harlim, T., H Hakim, E., Achmad, S., Syah, Y. M., Latip, J., dan Said, I. M. 2006. Senyawa calkon baru bersifat anti-bakteri dari tumbuhan *Cryptocarya costata* (Lauraceae). *Berkala MIPA*. **16**(1): 37–40.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., and Ren, L. 2015. Antibacterial activities of flavonoids: Structure-activity relationship and mechanism. *Curr. Med. Chem.* **22**(1): 132–149.
- Xu, L., Liu, X., Lin, Q., Yong, W. X. H., and Zhou, Z. 2019. Prenylflavanones and lignans from the twigs of *Artocarpus pithecolobus*. *Wil. Anal. Sci.* **57**(1): 506–511.
- Yanestria, S. M., Rahmani, R. P., Wibisono, F.J., and Effendi, M.H. 2019. Detection of in gene of *Salmonella* from milkfish (*Chanos chanos*) at Sidoarjo wet fish market, Indonesia, using polymerase chain reaction technique. *Vet. World*. **12**(1): 170-175
- Zaman, S. B., Hussain, R., Nye, V., Metha, K. T., and Hossain, M. A. 2017. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. *Cureus*. **9**(6): 1-9.