

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI TUMBUHAN DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

(Skripsi)

Oleh

Reni Yulian Dani



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI TUMBUHAN DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Oleh

Reni Yulian Dani

Tumbuhan sebagai alternatif obat telah menjadi fokus penelitian, salah satunya adalah tumbuhan daun sungkai (*Peronema canescens* Jack). Tumbuhan ini memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, antivirus dan antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan daun sungkai, menguji aktivitas antibakteri pada ekstrak hasil partisi dan senyawa hasil isolasi.

Penelitian ini melalui tahap persiapan sampel, ekstraksi menggunakan metode maserasi dan partisi cair-cair, uji aktivitas antibakteri ekstrak hasil partisi, fraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum dan Kromatografi Kolom, analisis kemurnian senyawa hasil isolasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis, identifikasi senyawa hasil isolasi menggunakan spektroskopi ¹H-NMR dan ¹³C-NMR dan uji antibakteri senyawa hasil isolasi.

Hasil dari penelitian ini yang efektif bersifat antibakteri adalah fraksi *n*-heksana dengan kadar zona hambat sebesar 15 mm dengan konsentrasi 0,5 mg/disk, 9 mm konsentrasi 0,3 mg/disk pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan 9 mm dengan konsentrasi 0,5 mg/disk, 8 mm konsentrasi 0,3 mg/disk pada bakteri *Salmonella sp.* Isolasi senyawa dari fraksi *n*-heksana didapatkan senyawa dari subfraksi FH5₂ yang diberi kode NV33 dengan sifat fisik berupa jarum kristal berwarna putih dan berat sebesar 27,7 mg. Hasil analisis menggunakan KLT dan spektroskopi ¹H-NMR dan ¹³C-NMR senyawa NV33 diidentifikasi sebagai senyawa stigmasterol golongan steroid. Uji aktivitas antibakteri senyawa NV33 memiliki aktivitas antibakteri yang kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 12 mm konsentrasi 0,5 mg/disk, 10 mm konsentrasi 0,3 mg/disk. Bersifat sedang pada bakteri *Salmonella sp* dengan zona hambat sebesar 8 konsentrasi 0,5 mg/disk, dan 7 mm konsentrasi 0,3 mg/disk.

Kata kunci : *Peronema canescens* Jack., stigmasterol, antibakteri.

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM THE SUNGKAI LEAF PLANT (*Peronema canescens* Jack.) AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST

By

Reni Yulian Dani

Plants as alternative medicines have become the focus of research, one of which is the sungkai leaf plant (*Peronema canescens* Jack). This plant has antibacterial, antioxidant, antiviral and antimalarial activity. This research purpose to isolate and identify secondary metabolite compounds from sungkai leaf plants, test the antibacterial activity of the partitioned extracts and isolated compounds.

The research was carried out through the sample preparation stages, extraction using maceration and liquid-liquid partition methods, testing the antibacterial activity of the partitioned extract, fractionation using Vacuum Liquid Chromatography and Column Chromatography, analysis of the purity of the isolated compound using Thin Layer Chromatography, identification of the isolated compound using spectroscopy $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ and antibacterial test of isolated compounds.

The results of this research which are effective antibacterial are the *n*-hexane fraction with an inhibitory zone content of 15 mm with a concentration of 0.5 mg/disc, 9 mm with a concentration of 0.3 mg/disc on *Staphylococcus aureus* bacteria and 9 mm with a concentration of 0.5 mg/disc, 8 mm concentration of 0.3 mg/disc in *Salmonella sp.* Isolation of compounds from the *n*-hexane fraction resulted in compounds from the FH5₂ subfraction coded NV33 with physical properties in the form of white crystal needles and a weight of 27.7 mg. The results of analysis using TLC and $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ spectroscopy, the NV33 compound was identified as a stigmasterol compound in the steroid class. The antibacterial activity test for compound NV33 has strong antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* bacteria with an inhibition zone of 12 mm with a concentration of 0.5 mg/disc, 10 mm with a concentration of 0.3 mg/disc. Medium in nature in *Salmonella sp* bacteria with an inhibition zone of 8, the concentration is 0.5 mg/disc, and at 7 mm, the concentration is 0.3 mg/disc.

Key words: *Peronema canescens* Jack., stigmasterol, antibacterial.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI TUMBUHAN DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

Oleh

Reni Yulian Dani

Skripsi

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

Pada

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



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

Judul Penelitian : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER DARI TUMBUHAN
DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.)
SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Nama Mahasiswa : Reni Yulian Dani

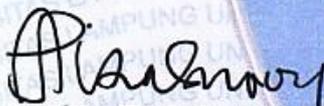
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011083

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

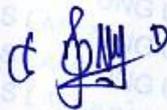


Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP. 19731119 199802 2 001



Prof. Dr. Sutopo Hadi S.Si., M.Sc.
NIP. 19710415 199512 1 001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila

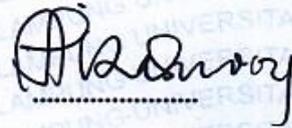


Dr. Mita Rilyanti, M.Si.
NIP. 19720530 200003 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

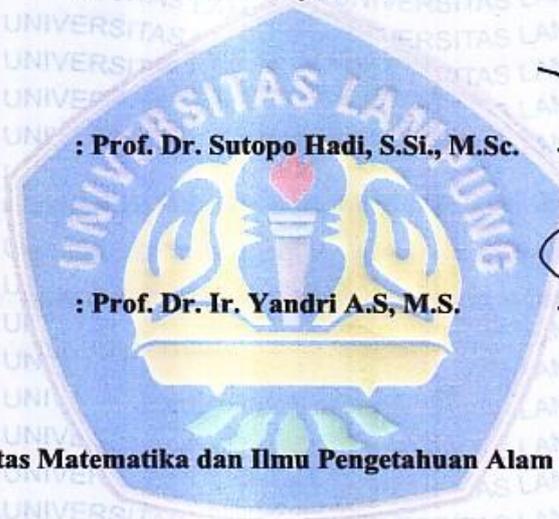
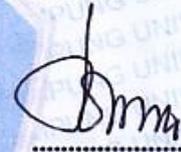
Ketua : Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.

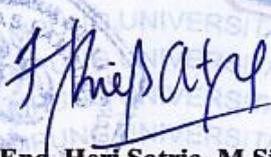


Anggota : Prof. Dr. Ir. Yandri A.S., M.S.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 19711001 200501 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 19 Juli 2024

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Reni Yulian Dani
NPM : 1817011083
Jurusan : Kimia
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari
Tumbuhan Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack.)
Serta Uji Aktivitas Antibakteri

Menyatakan bahwa skripsi ini merupakan hasil dari penelitian yang dikerjakan oleh saya pribadi. Apabila dikemudian hari terdapat bukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan dan dikerjakan orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi-sanksi akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 20 Juli 2024

Yang menyatakan



Reni Yulian Dani
NPM. 1817011083

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Reni Yulian Dani yang lahir di Kampung Goras Jaya Kecamatan Bekri, Lampung Tengah pada tanggal 12 Juli 2000. Anak kedua dari 3 bersaudara, putri tercinta bapak Umar Dani dan Ibu Tuter Lestari. Riwayat pendidikan penulis dimulai dari TK Harapan Bunda yang lulus pada tahun 2005 kemudian melanjutkan tingkat Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Kesumadadi Tahun 2006 – 2012, Sekolah Menengah Pertama di Madrasah Tsanawiyah Guppi 1 Kesumadadi Tahun 2012 – 2015 dan melanjutkan ke Jenjang Sekolah Menengah Atas di Madrasah Aliyah Walisongo Sukajadi Tahun 2015 – 2018, Kemudian diterima sebagai Mahasiswa di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Pada Tahun 2018 Melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam kegiatan organisasi, menjadi kader muda Himaki dan menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) pada tahun 2019. Selain itu penulis juga Lolos mengikuti Seleksi pendanaan Kewirausahaan di internal Unila antara lain Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) Tahun 2020 dan 2021, Program Pendanaan Mahasiswa Bisnis (PPMB) Start-UP Unila Tahun 2023, kemudian ditahun yang sama penulis menambah pengalaman dengan menjadi anggota divisi Data dan Informasi Panitia Pemungutan Suara (PPS) Kelurahan Goras Jaya, Kecamatan Bekri Kabupaten Lampung Tengah. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik Tahun 2021 Jurusan Biologi, dan asisten Praktikum Kimia Organik 2 Jurusan Kimia Tahun 2022 – 2023.

MOTTO

Man Jadda Wa Jadda (Barang siapa yang bersungguh sungguh, pasti akan
mendapatkan apa yang diharapkannya)
(**Makolah Arab**)

Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanmu tidak akan
pernah menjadi takdirku, dan apa yang ditakdirkan untukku tidak akan pernah
melewatkanmu
(**Umar bin Khattab**)

Alaa Bidzikrillahi Tatmainul Qulub (Ingatlah, hanya dengan mengingat Allah hati
menjadi tenang)
(**Q.S. Ar'ad Ayat 38**)

Mereka yang berjiwa lemah tak akan mampu memberi maaf yang tulus, pemaaf
sejatinya hanya melekat bagi mereka yang berjiwa tangguh
(**Mahatma Gandhi**)

Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras, tidak ada keberhasilan tanpa
kebersamaan, dan tidak ada kemudahan tanpa adanya doa yang dilantarkan
(**Ridwan Kamil**)

Setiap proses akan ada banyak rintangan dan hambatan, tetap berjalan dan
bertahan sampai proses itu menjadi hasil yang diharapkan
(**Renny**)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT, atas segala rasa syukur kupersembahkan karya kecil ini kepada :

Keluarga Tercinta

Bapak, mamak, kakak dan adikku tercinta yang selalu mendoakan dan mendukung penulis

Dengan Hormat Kepada :

Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si, Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc dan Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri AS, M.S serta seluruh dosen-dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing dan memberikan ilmu selama masa perkuliahan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dan mencapai gelar Sarjana.

Untuk sahabat-sahabat tercinta dan tersayang

Skripsi ini juga kupersembahkan untuk orang-orang yang selalu bertanya **kapan wisuda, kapan selesai kuliahnya??**

Dan terakhir kupersembahkan untuk Almamaterku tercinta Universitas Lampung

SANWACANA

Bismillahirrohmanirrohim

Alhamdulillahirobbil ‘alamin, Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang mana atas berkah dan karunia nya yang diberikan untuk penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “ **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tumbuhan Daun Sungkai (*Penorema Canescens* Jack.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri** “ sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kinia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Penulis mengucapkan banyak terimakasih untuk pihak-pihak yang telah memberikan suport dan bantuannya dan tentunya karna Kemurahan dan Kebesaran Allah dengan banyak rintangan yang penulis hadapi selama penelitian akhirnya bisa terselesaikan. Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Orang tuaku tercinta, ayahanda Umar Dani dan ibunda Tuter Lestari yang mendukung segala hal baik untuk anak-anaknya, memberikan doa dan dukungan materil serta memberikan kasih sayang yang tidak ada habisnya, semoga sehat selalu dan bisa menemani anak-anaknya menjadi orang sukses dikemudian hari.
2. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. Selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah membimbing dan mengarahkan serta memberikan saran dan masukkannya dan memotivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Semoga Allah memberikan kelimpahan kebaikan untuk beliau, dimudahkan segala yang menjadi hajatnya, diberikan kesehatan dan di berkahi dalam segala hal.
3. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. Selaku dosen pembimbing 2 yang telah berkenan membimbing penulis dengan kesabaran dan memberikan

masukkan serta saran yang bermanfaat untuk penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan serta membalas kebaikan untuk Beliau.

4. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri AS, M.S. selaku dosen pembahas dalam penelitian ini, terimakasih banyak atas bantuan masukkan dan saran yang terbaik sehingga penulis dapat memperbaiki kekurangan-kekurangan dalam skripsi ini, semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan dan membalas segala kebaikan beliau.
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang memberikan segala kemudahan akademik dan memotivasi penulis untuk selalu semangat dalam menyelesaikan skripsinya, semoga Allah memberikan keberkahan dan membalas kebaikannya.
6. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah banyak memberikan bantuan dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsinya dengan baik, semoga Allah membalas segala kebaikannya.
7. Bapak Ibu dosen jurusan Kimia Fmipa yang telah memberikan ilmu-ilmu nya selama masa perkuliahan, semoga Allah memberikan keberkahan yang tak terhingga untuk beliau beliau.
8. My Brother's Rian Rusmadi dan Romi Arif Rifkiansyah, Kakak dan adik tercinta yang selalu mensupport kebaikan untukku terimakasih telah menjadi saudara yang baik walaupun terkadang sering berantem tapi sampai kapanpun tetap menjadi saudara yang saling menyayangi.
9. Ibu Mutiara Umi Lia S.Pd. yang dari awal mensupport dan mendukung perjuangan penulis memasuki dunia kampus hingga sekarang menjadi keluarga, semoga allah membalas semua kebaikan ibu dan diberikan kesehatan dan kebahagiaan yang berlimpah, aamiin.
10. Keluarga Besar mbah Suwandi dan Kakek Ahmad Rusi yang telah sabar menunggu penulis untuk menyelesaikan skripsi ini, semoga kalian bangga dengan aku yang masih berjuang dengan masa depan ini.

11. *My Future Husband* Insya Allah (Akhmad Imadudin) terimakasih atas segala dukungan yang tak terhingga, memberikan motivasi kasih sayang dengan tulus dan sabar menunggu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini, semoga Allah mempermudah segala hajat baik kita kedepannya.
12. Sahabat InsyaAllah se-Jannah, Evi Ardila S.Pd. yang selalu memberikan motivasi dan arahan yang terbaik kepada penulis hingga penulis bisa menyelesaikan skripsi sampai ditahap ini, semoga Allah mempermudah segala urusan kita ya, semangatsss Proses kuliah Magisternya, selesai S2 ini jadi dosen Aamiin.
13. Patner *NRG'18* Ofriani Fatrika, Wulandari Agustin dan Rista Anggi Pramudia terimakasih atas segala bantuan dan kebaikanya, semoga Allah membalas kebaikan-kebaikan kalian ya, dipermudah dalam mencari pekerjaan dan masa depan yang terbaik.
14. Adiks-adiks NRG Jihan Nafisa Salsabilla, Syaidah Kharizah, Devi Liana, Havier, Muti, Dila, Angel, Vio terimakasih telah menjadi patner yang baik selama menjadi mahasiswa bimbingan ibu, dan selama penelitian dilaboratorium organik.
15. Patner Lab Organik Armidla Nadya K, Bayu Anggara, Niko Fazri, Akmal, Ara, Yuwan, Mela, Sisil, Jihan, Ofri, Riza, Farah, Ikhsan terimakasih banyak canda tawa dan berbagi keluh kesah selama penelitian di lab diorganik, semoga Allah mempermudah dan segera lulus juga ya kalian.
16. PLP Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia, mbak Wiwit dan mbak Dela terimakasih banyak bantuannya untuk penulis selama menjalankan penelitian hingga selesai.
17. Tim *Republik Of Garangan (ROG)* Evi Ardila, Annisa Nur Faidah, Munafatin Afifah, Al-Hamid Yusuf, Febri Setyoko, Prengki, dan Almarhumah Ida Hafifatul Fauziah terimakasih telah berkenan menjadi bestie dan mengukir masa-masa yang indah selama masa perkuliahan dan di organisasi, semangat ya untuk kalian semoga segera lulus semua ya dan bisa reunion kembali, dan untuk almarhumah Ida semoga allah melapangkan kuburnya, dan diberikan tempat terbaik disisi-NYA.

18. Adiks adiks, sahabat PMII dan KMNU Sahabat Nur Hamzah S.Mat., Khoiriyah Dea S.Si., Menik Mujayani, Mia Milanda, Lathifatul Hana, Wira Adiguna, Nur Khasanah, Rika Yolanda, Rahayu, Ferdi, Ira, dan adiks PMII Rayon mipa yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih telah menjadi rumah kedua dan memberikan kenyamanan penulis selama menjadi mahasiswa, semoga kekeluargaan kita tetap berjalan dimanapun kalian berada.
19. Teman-teman Angkatan *Chemistry*'18, khususnya Chemistry Kelac C yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih banyak telah kebersamai dalam masa-masa perkuliahan, membantu penulis melewati masa-masa yang berat saat awal perkuliahan karna sering sakit, semoga kebaikan kalian Allah balas dengan kebaikan yang tak terhingga dan semoga suatu saat nanti bisa reunion kembali dengan keadaan yang lebih baik lagi.
20. Almamaterku tercinta Universitas Lampung.

Semoga segala bantuan dan kebaikan serta dukungan yang diberikan kepada penulis di balas oleh Allah dengan keberkahan dan kelimpahan nikmat serta pahala yang besar. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada penulis khususnya maupun kepada pembaca. *Aamiin Ya Robbal 'Alamin.*

Bandar Lampung, 20 Juli 2024

Reni Yulian Dani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Family Verbeceae.....	4
2.2 Tumbuhan Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack.).....	4
2.2.1 Karakteristik Tumbuhan Sungkai.....	5
2.2.2 Klasifikasi Tumbuhan Sungkai	5
2.2.3 Kegunaan Secara Tradisional dan Aktivitas Farmakologi Yang Telah Diteliti.....	6
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder dari Tumbuhan Sungkai	7
2.3.1 Flavonoid.....	8
2.3.2 Terpenoid.....	10
2.3.3 Steroid.....	12
2.4 Ekstraksi	13
2.4.1 Ekstraksi Cara Dingin.....	13
2.4.2 Ekstraksi Cara Panas	14
2.5 Kromatografi	14
2.5.1 Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	15
2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	15
2.5.3 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)	17
2.6 Antibakteri.....	18
2.7 Uji Aktivitas Antibakteri	19
2.7.1 Metode Difusi	19
2.7.2 Metode Dilusi	19
2.8 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.9 Bakteri <i>Salmonella sp.</i>	22
2.10 Identifikasi Spektroskopi	22
2.10.1 Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR)	24
III. METODE PENELITIAN	26
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2 Alat dan Bahan.....	26

3.2.1	Alat-alat yang digunakan.....	26
3.2.2	Bahan-bahan yang digunakan.....	27
3.3	Prosedur Penelitian.....	27
3.3.1	Persiapan Sampel.....	27
3.3.2	Ekstraksi	27
3.3.3	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Hasil Partisi	38
3.3.4	Kromatografi Cair Vakum.....	28
3.3.5	Kromatografi Lapis Tipis	29
3.3.6	Kromatografi Kolom	29
3.3.7	Analisis Kemurnian	30
3.3.8	Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir (NMR)	30
3.3.9	Uji Aktivitas Antibakteri	30
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1	Persiapan Sampel	33
4.2	Ekstraksi	33
4.3	Uji Antibakteri Ekstrak Hasil Partisi.....	35
4.4	Isolasi Senyawa	38
4.4.1	Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	38
4.4.2	Kromatografi Kolom (KK).....	40
4.5	Analisis dan Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	42
4.5.1	Analisis Kemurnian	43
4.5.2	Identifikasi dengan Spektroskopi ¹³ C-NMR dan ¹ H-NMR	43
4.6	Uji Antibakteri	48
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1	Kesimpulan	52
5.2	Saran	53
	DAFTAR PUSTAKA	54
	LAMPIRAN.....	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Karakteristik Tumbuhan Sungkai	5
2. Struktur senyawa flavonoid hasil isolasi dari daun sungkai	9
3. Struktur senyawa flavonoid glikosida.....	9
4. Struktur diterpen yang diisolasi dari daun sungkai.....	11
5. Struktur senyawa β -sitosterol hasil isolasi daun sungkai.....	12
6. Struktur senyawa stigmasterol hasil isolasi daun sungkai	13
7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	21
8. Bakteri <i>Salmonella sp.</i>	23
9. Panjang gelombang radiasi elektromagnetik	23
10. Rentang pergeseran Kimia pada spektra (a) $^1\text{H-NMR}$ dan (b) $^{13}\text{C-NMR}$	25
11. Proses Ekstraksi	34
12. Kromatogram EM, FH, FE, FMe-Air	35
13. Uji Bioaktivitas Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Setelah diinkubasi selama 24 jam.....	36
14. Uji Bioaktivitas Terhadap Bakteri <i>Salmonella sp.</i> Setelah diinkubasi selama 24 jam	37
15. Kromatogram fraksi-fraksi hasil KCV.....	39
16. Kromatogram fraksi-fraksi gabungan hasil KCV	40
17. Kromatogram Hasil Kolom fraksi FH5 menggunakan eluen <i>n</i> -heksana : etil asetat (8:2)	41
18. Kristal NV33	42
19. Kromatogram senyawa NV33 dengan 3 sistem eluen	42
20. Kromatogram senyawa β - Sitosterol, senyawa stigmasterol (NV23) dan senyawa NV33.	43
21. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa NV33.....	44

22. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa NV33	46
23. Struktur Senyawa stigmasterol hasil Isolasi (NV33)	48
24. Hasil Uji Antibakteri pada senyawa NV33 dan senyawa stigmasterol (NV23) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk	49
25. Hasil Uji Antibakteri pada senyawa NV33 dan senyawa stigmasterol (NV23) terhadap bakteri <i>Salmonella sp.</i> dengan konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk	50

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kelompok terpenoid dan sumbernya	10
2. Fase diam dan jenis eluen	16
3. Beberapa jenis pereaksi yang disemprotkan pada plat KLT untuk mendeteksi senyawa bahan alam.....	17
4. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak dan fraksi daun sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	35
5. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak dan fraksi daun sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack.) Terhadap Bakteri <i>Salmonella sp.</i>	36
6. Penggabungan fraksi-fraksi hasil KCV	39
7. Data Spektrum ¹ H-NMR senyawa stigmasterol dan senyawa NV33 dalam pelarut CDCl ₃	45
8. Data Spektrum ¹³ C-NMR senyawa stigmasterol dan senyawa NV33 dalam pelarut CDCl ₃	47
9. Hasil pengukuran zona hambat senyawa stigmasterol dan senyawa NV33 terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	49
10. Hasil pengukuran zona hambat senyawa stigmasterol dan senyawa NV33 terhadap bakteri <i>Salmonella sp.</i>	50

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan melimpah seperti tumbuhan yang mana jumlahnya cukup besar, sekitar 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies diantaranya adalah tumbuhan obat-obatan. Menurut sebagian para ahli tumbuhan obat adalah tumbuhan yang memiliki bioaktivitas yang berfungsi untuk mengobati penyakit tertentu (Indriati, 2014). Menurut Wibowo (2015) ada beberapa manfaat dalam penggunaan tumbuhan obat diantaranya adalah nyaris tidak memiliki efek samping, efektif, serta mudah didapatkan. Penggunaan tumbuhan obat sudah dikenal sejak ribuan tahun yang lalu dan sudah diwariskan secara turun temurun. Yang awalnya hanya diketahui orang tertentu kemudian menyebar hingga masyarakat luas. Adanya kecenderungan gaya hidup *back to nature* membuat tumbuhan obat semakin meningkat pemakaiannya.

Kecenderungan ini membuat banyak kalangan medis ikut serta dalam pengembangan lebih lanjut mengenai potensi tumbuhan obat untuk pengobatan suatu penyakit yang dibuktikan dengan potensi bioaktivitasnya secara ilmiah.

Salah satu tumbuhan obat di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai obat adalah tumbuhan sungkai. Tumbuhan sungkai banyak terdapat di wilayah Sumatera, Kalimantan, dan Jawa Barat. Secara tradisional daun sungkai telah digunakan oleh masyarakat sebagai obat pilek, demam, cacingan, untuk mandi bagi wanita selepas bersalin, kemudian sebagai obat kumur, obat sakit perut dan sebagai antiseptic serta obat antiplasmodium (Ningsih dan Ibrahim, 2013). Pada tumbuhan sungkai, yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat alternatif adalah bagian daunnya. Daun sungkai diidentifikasi mengandung senyawa metabolit

sekunder seperti flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid dan tanin. Kandungan senyawa-senyawa tersebut memiliki bioaktivitas yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, membuktikan adanya bioaktivitas antibakteri pada daun sungkai. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim dan Kuncoro (2012) bahwa ekstrak metanol daun sungkai berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Salmonella thyposa*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 5; 10; 15 dan 20% yang dibuktikan adanya zona hambat rata-rata sebesar 4,01; 5,13; 6,84; dan 14,25 mm, konsentrasi efektifnya sebesar 5%.

Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Pinasti (2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sungkai berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali dengan konsentrasi 15; 20; dan 25%, dibuktikan adanya zona hambat rata-rata sebesar 3,2; 3,4; dan 8,6 mm pada masing masing konsentrasi secara berurutan, dengan konsentrasi efektif sebesar 25%. Dan penelitian yang dilakukan oleh Ilham (2021) melaporkan bahwa uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol bersifat sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 5; 10 dan 20% dengan zona hambat 6,13; 6,83; dan 7,66 mm.

Berdasarkan uraian diatas, masih belum banyak dilakukan penelitian tentang kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) dan sifatnya sebagai antibakteri belum banyak diteliti. Maka dilakukanlah penelitian ini untuk mengetahui lebih lanjut kandungan bioaktif dari ekstrak daun sungkai serta bagaimana sifat –sifatnya sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* mewakili bakteri Gram positif dan bakteri *Salmonella sp.* mewakili bakteri Gram negatif.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi *n*-heksana daun sungkai (*Peronema.canescens* Jack.)
2. Menguji antibakteri senyawa hasil isolasi dengan menggunakan metode difusi kertas cakram.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kandungan senyawa aktif dari ekstrak daun sungkai yang berpotensi sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai validitas ilmiah kekhasiatan daun tanaman sungkai bagi pengguna obat tradisional Indonesia.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Family Verbenaceae

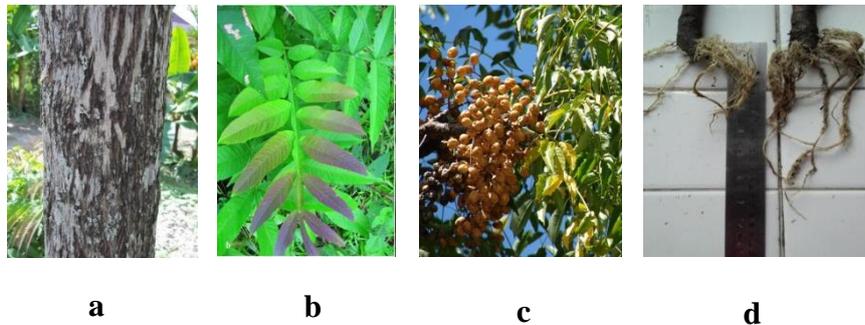
Verbenaceae merupakan salah satu family dari ordo Lamiales. Family Verbenaceae terdiri dari 30 genus dan sekitar 1.100 spesies, family ini juga biasa dikenal sebagai Verbena atau Vervain dan memiliki tipe daun tunggal. Bunganya diagregasikan dalam lonjakan, kelompok, atau raceme dan biasanya terdiri dari tabung yang melebar menjadi empat atau lima lobus yang hampir sama-sama dipotong. Family Verbenaceae merupakan family yang habitatnya berupa herba dan perdu dengan daun tunggal tanpa stipula serta letak daunnya berhadapan, perbungaan majemuk dengan simetri bunga aktinomorf dan kadang-kadang zygomorf, kelamin tumbuhan biseksual, mahkota berbentuk seperti bintang atau pentamer. Jenis genus Verbena mengandung sekitar 200 hingga 250 spesies, hampir semuanya berasal dari Belahan Bumi barat. Salah satu spesies dari verbenaceae adalah *Peronema canescens* (Heywood *et al.*, 2007).

2.2 Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack.)

Pohon dengan nama latin *Peronema canescens* ini disebut sebagai jati sabrang, ki sabrang, kurus dan sekai yang termasuk dalam family Verbenaceae, merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah Kalimantan, namun bisa ditemui di beberapa daerah di Indonesia seperti Bengkulu, Jambi, Sumatra Selatan dan Lampung. Tumbuhan ini memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, steroid yang dapat digunakan untuk antiinflamasi dan antimikroba. Tumbuhan ini memiliki klasifikasi dan karakteristik yang dapat dilihat pada penjelasan dibawah ini.

2.2.1 Karakteristik Tumbuhan Sungkai

Tumbuhan sungkai memiliki karakteristik yaitu berbatang lurus atau sedikit berlekuk, tidak berbanir, dan ranting dipenuhi dengan bulu-bulu halus. Kulit luar batang berwarna kelabu atau cokelat muda, dapat tumbuh mencapai tinggi 30 m dengan diameter batang lebih dari 60 cm dan panjang batang bebas cabang mencapai 15 m. Tumbuh pada hutan hujan tropis (tipe iklim A sampai C), baik pada tanah kering ataupun tanah sedikit basah dengan ketinggian 0 hingga 600 mdpl. Tajuknya berbentuk bulat telur dan mempunyai sifat menggugurkan daun di musim kemarau panjang (Khaerudin, 1994). Secara lengkap tumbuhan sungkai dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Karakteristik Tumbuhan Sungkai (a). Batang Tumbuhan Sungkai (b). Daun Tumbuhan Sungkai (c). Buah Tumbuhan Sungkai (d). Akar Tumbuhan Sungkai.

Daun sungkai berbentuk menyirip berhadapan dengan panjang 8-12 cm, lebar 2 sampai 3 cm, ujung runcing, tepi rata, daun muda berwarna ungu, bagian bawah berbulu putih. Letak bunga berpasangan, kedudukan malai, warna putih kehijauan. Tanaman sungkai berbuah sepanjang tahun, ukuran buah kecil-kecil dan mulai berbuah setelah berumur 11 tahun, yaitu pada bulan Juni sampai September. Jumlah buah per kg sekitar 274.000 buah atau 141.000/l.

2.2.2 Klasifikasi Tumbuhan Sungkai

Pohon sungkai dapat tumbuh mencapai ketinggian antara 20 m hingga 30 m dengan cabang mencapai 10 m. Diameter batang sungkai sekitar 60 cm dengan

batang lurus dan berlekuk dangkal, tidak berbanir, serta ranting dipenuhi bulu-bulu halus. Sungkai berbuah sepanjang tahun dan menjadi salah satu pohon yang kayunya kerap dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan seperti ukiran patung, furniture, bahan bangunan dan lain-lain. Sungkai padat tumbuh baik pada hutan-hutan sekunder yang terbuka, ditepi jalan yang terbuka, atau ditepi sungai yang lembab tetapi tidak tergenang air. Pada suku Dayak di Kalimantan Timur sampai saat ini masih tetap mempertahankan tradisi dengan memanfaatkan tumbuhan ini untuk pengobatan ataupun perawatan kesehatan (Harmida *et al.*, 2011). Secara umum, klasifikasi ilmiah dari tanaman *Peronema canescens* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Lamiales

Famili : Verbenaceae

Genus : Peronema

Spesies : *Peronema canescens* Jack.

(Plantamor, 2012).

2.2.3 Kegunaan Secara Tradisional dan Aktivitas Farmakologi Yang Telah Diteliti

Menurut Yusrin (2014) dalam pengobatan Suku Serawai daun sungkai ditumbuk dan ditampal untuk pengobatan sakit memar. Sedangkan menurut Sunarti (2014) sadapan air batang sungkai diminum sebagai obat cacar. Daerah Palembang, Sumatera Selatan, menggunakan daun sungkai untuk obat demam atau penurun panas. Dalam pengobatan suku Dayak Tunjung di Kalimantan Timur, daun muda sungkai digunakan sebagai obat demam sedangkan akarnya sebagai obat diuretika dan pegal linu. Rebusan daun *Peronema canescens* secara tradisional juga digunakan oleh penduduk lokal didaerah Curup, Bengkulu sebagai obat penyakit malaria. Secara empiris, daun sungkai dimanfaatkan oleh sebagian masyarakat

untuk mengobati sakit gigi dan penurun demam. Selain itu, daun sungkai juga dimanfaatkan untuk mengobati malaria (Kitagawa, 2014).

Pada penelitian Kusriani (2015) fraksi metanol daun sungkai memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan KHM dan KBM 512 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan menurut Pratiwi (2018), fraksi etanol dari daun sungkai mampu meningkatkan aktivitas antimalaria dengan sangat nyata pada dosis terbaik sebesar 0,084 g/kgBB yaitu dengan persentase penghambatan sebesar 54,06%.

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder dari Tumbuhan Sungkai

Metabolit sekunder adalah senyawa kimia yang terdapat dalam suatu organisme yang tidak terlibat secara langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan atau reproduksi organisme. Senyawa metabolit sekunder tertentu hanya ditemukan pada spesies tertentu, hal ini berbeda dengan metabolit primer yang dapat ditemukan pada seluruh spesies dan diproduksi dengan menggunakan jalur yang sama. Pada suatu organisme senyawa ini diantaranya berfungsi untuk bertahan terhadap predator, kompetitor, dan untuk mendukung proses reproduksi (Harbert, 1996). Senyawa metabolit primer seperti protein, karbohidrat, lemak digunakan sendiri oleh tumbuhan tersebut untuk pertumbuhannya, maupun sebagai sumber senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid dan alkaloid.

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung untuk tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Harbone, 1987). Jenis senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu senyawa golongan fenolik, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid dan steroid (Saifudin, 2002). Senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan sungkai yakni senyawa turunan flavonoid, steroid, dan terpenoid. Rata-

rata diisolasi pada bagian daun tumbuhan sungkai. Berikut ini beberapa jenis senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari tumbuhan sungkai.

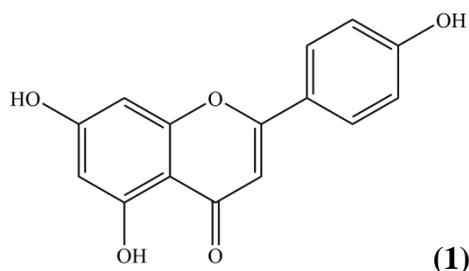
2.3.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang keberadaannya pada jaringan tumbuhan dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis, sehingga pada tanaman bagian daun muda diketahui belum banyak mengandung flavonoid (Markham, 1988). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mengandung gugus C_{15} yang terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon, setiap bagian C_6 merupakan benzena yang terdistribusi dan dihubungkan oleh atom C yang merupakan alifatik (Nugraha, 2017) .

Flavonoid memiliki berbagai macam pengaruh terhadap macam-macam jenis organisme serta dapat digunakan untuk pengobatan tradisional. Kegunaan flavonoid pada tanaman yaitu memberikan pemeliharaan terhadap kondisi tekanan oleh lingkungan, pengatur pertumbuhan tanaman, pemeliharaan dari sinar radiasi ultraviolet dan daya tarik terhadap penyerbuk serangga, jamur, virus, dan bakteri (Vidak, 2015). Selain sebagai pengendali hormon dan enzim inhibitor, flavonoid juga berperan dalam filtrasi UV, fiksasi simbiosis dan pigmentasi bunga (Gupta, 2015). Pada manusia flavonoid berperan sebagai stimulan pada jantung, diuretik, menstabilkan kadar gula darah, antijamur, antiinflamasi, antitumor, antialergi, antibakteri, dan dapat mencegah osteoporosis (Salmia, 2016).

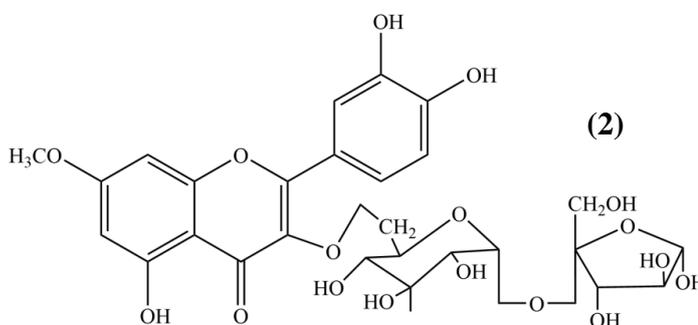
Salah satu senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi dari daun sungkai adalah senyawa apigenin (**1**). Senyawa ini diketahui memiliki beragam manfaat kesehatan, antara lain sifat antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker.. Senyawa apigenin (4',5,7-Trihydroxyflavone) adalah flavonoid yang memiliki struktur dasar flavone dengan tiga gugus hidroksil, senyawa ini dikenal memiliki berbagai efek biologis yang potensial. Penelitian yang dilakukan oleh Ardhica (2022) menunjukkan bahwa senyawa apigenin yang berhasil diisolasi dari ekstrak etanol

daun sungkai dapat memberikan perlindungan terhadap beberapa jenis kanker dan berpotensi sebagai agen anti-inflamasi. Berdasarkan studi percobaan secara *in vivo*, *in vitro* dan klinis menunjukkan bahwa senyawa apigenin dapat mengobati penyakit gangguan autoimun, parkison, dan berbagai penyakit kanker. Struktur dari senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi dari daun sungkai dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa flavonoid hasil isolasi dari daun sungkai (Ardhica, 2022).

Selain itu, senyawa aktif dari golongan flavonoid juga telah berhasil diisolasi dari ekstrak metanol daun sungkai oleh Simanjuntak (1996), yakni senyawa flavonoid glikosida (2) yang dapat dilihat strukturnya pada Gambar 3.



Gambar 3. Senyawa Flavonoid Glikosida (Simanjuntak, 1996).

Senyawa flavonoid glikosida yang diisolasi dari ekstrak etanol daun sungkai berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antikanker. selain itu Pramudia (2023) telah berhasil mengisolasi senyawa β -sitosterol dari golongan steroid pada fraksi etil asetat daun sungkai yang berpotensi sebagai agen antiinflamasi, yang pada penelitian sebelumnya memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 389,5 μ M.

2.3.2 Terpenoid

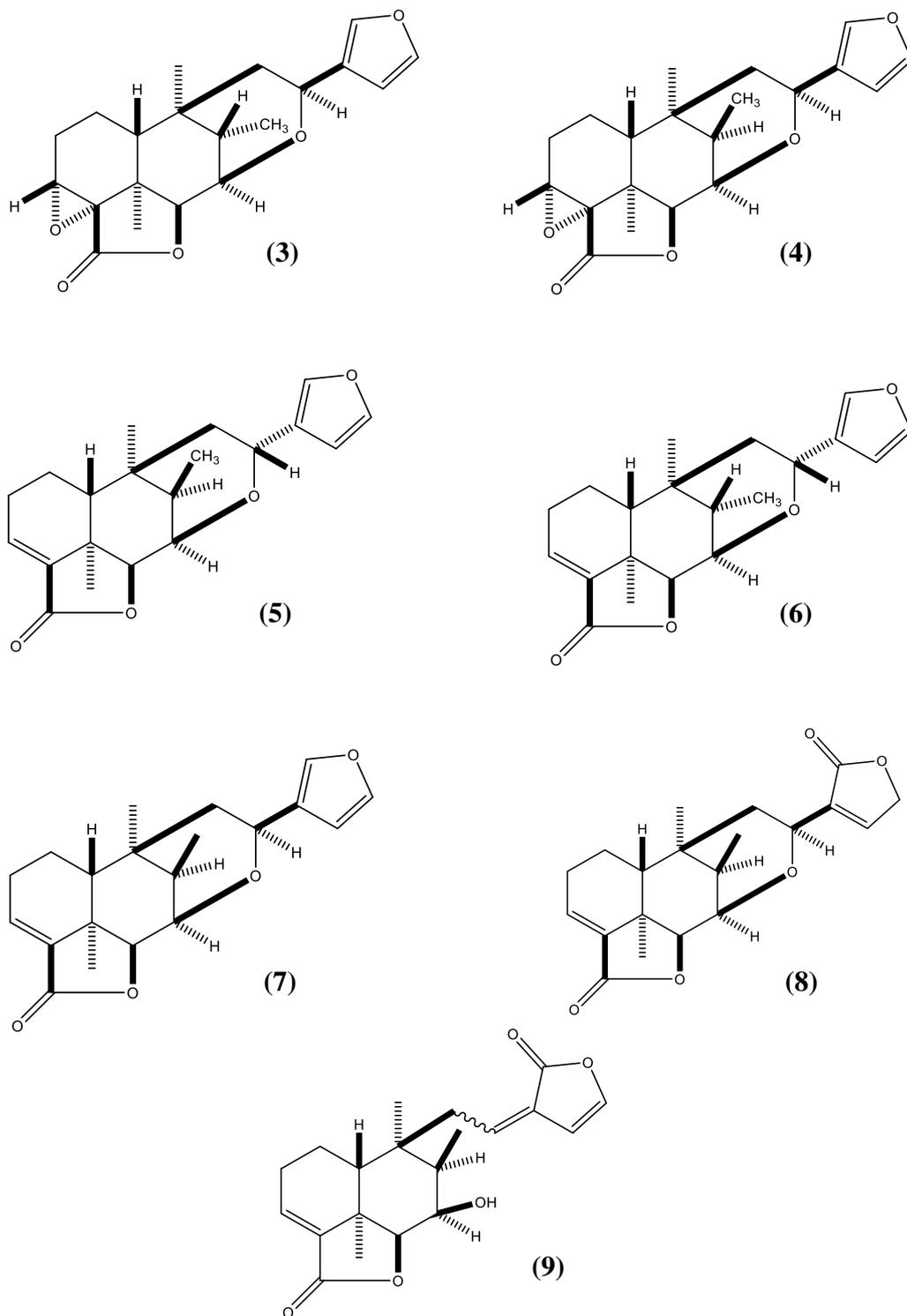
Senyawa terpenoid merupakan golongan senyawa organik terbesar yang dihasilkan dari berbagai jenis tumbuhan. Senyawa terpenoid dapat diperoleh dari minyak atsiri, karena minyak atsiri bukanlah senyawa murni akan tetapi campuran senyawa organik yang terdiri lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Terpenoid disintesis melalui jalur mevalonat dari sumber tumbuhan, dan beberapa terpenoid dapat diperoleh dari organisme laut. Penelitian yang telah dilakukan, terdapat senyawa yang hanya mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen, dan oksigen yang tidak bersifat aromatik. Senyawa ini secara umum disebut terpenoid (Achmad, 1986). Kelompok terpenoid dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok terpenoid dan sumbernya (Achmad, 1986).

Kelompok terpenoid	Jumlah karbon	Sumber
Monoterpen	C10	Minyak atsiri
Siskuiteren	C15	Minyak atsiri
Diterpen	C20	Resin pinus
Triterpen	C30	Damar
Tetraterpen	C40	Zat warna karoten
Politerpen	C>40	Karet alam

Terpenoid memiliki struktur karbon yang disusun oleh dua atau lebih C_5 yang disebut mirip dengan isopropen. Ikatan isopropen yang terdapat di alam menyatu dengan ikatan “*head to tail*” artinya ujung molekul yang satu berikatan dengan ujung molekul lainnya. Salah satu jenis senyawa terpenoid yang ditemukan di alam adalah jenis seskuiteren yang memiliki rumus molekul $C_{15}H_{24}$ (Aisyah *et al.*, 2016).

Senyawa terpenoid yang berhasil diisolasi dari tumbuhan sungkai yakni senyawa peronemin, senyawa ini termasuk kedalam golongan diterpenoid tipe clerodane. Masing-masing senyawa ini yaitu peronemin A2(3), A3(4), B1(5), B2(6), B3(7), C1 dan D3(8-9). Struktur masing-masing senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur diterpen yang diisolasi dari daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) (Kitagawa *et al.*, 2014).

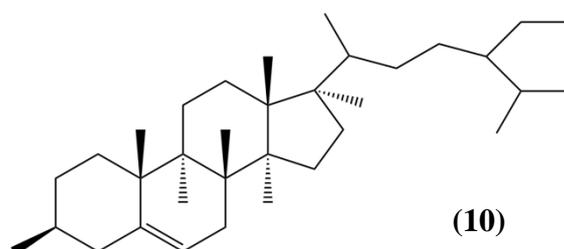
Pengujian bioaktivitas antimalaria telah dilakukan pada senyawa hasil isolasi tersebut. Senyawa peronemin B2 dan peronemin D3 dilaporkan memiliki aktivitas

antiplasmodium dengan nilai IC_{50} : 43 $\mu\text{g/mL}$ dan 5,03 $\mu\text{g/mL}$ berturut turut. Sedangkan senyawa peronemin A2, A3, B1, B2, B3, dan C1 tidak menunjukkan adanya aktivitas antimalaria yang baik.

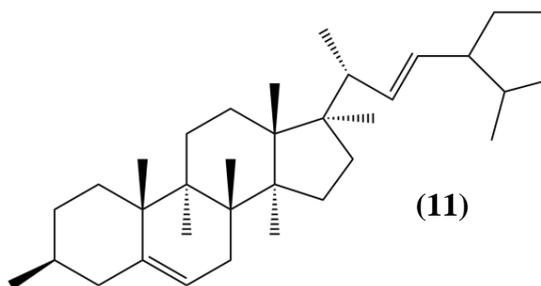
2.3.3 Steroid

Senyawa steroid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki kerangka dasar 17 atom karbon yang tersusun dari gabungan 4 cincin, 3 diantaranya yaitu sikloheksana dan 1 siklopentana. Senyawa steroid berupa kristal berbentuk jarum dengan karakteristik mengandung gugus OH, gugus metil dan memiliki ikatan rangkap yang tidak terkonjugasi (Suryelita *et al.*, 2017).

Senyawa yang termasuk turunan dari senyawa steroid turunan dari fitosterol dan berhasil diisolasi dari tumbuhan sungkai antara lain adalah senyawa β -sitosterol(**10**) oleh Pramudia (2023) dan stigmasterol(**11**) oleh Astuti (2021). β -sitosterol adalah senyawa mikosterol turunan dari steroid yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan memiliki stuktur yang mirip dengan struktur kolesterol. Senyawa stigmasterol adalah salah satu jenis steroid yang paling melimpah, memiliki fungsi utama untuk mempertahankan struktur dan fisiologi membran sel. Bersifat sebagai antiinflamasi dan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Struktur kedua jenis turunan steroid yakni senyawa β -sitosterol (**10**) dapat dilihat pada Gambar 5 dan struktur senyawa stigmasterol (**11**) dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 5. Struktur senyawa β -sitosterol hasil isolasi dari daun sungkai (Pramudia, 2023).



Gambar 6. Struktur senyawa stigmasterol hasil isolasi dari daun sungkai (Astuti, 2021).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Secara umum ekstraksi dapat digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi padat-cair metode pemisahan senyawa dari campuran yang berupa padatan sedangkan ekstraksi cair-cair senyawa yang dipisahkan dari campuran yang berupa cairan (Wilson *et al.*, 2000). Metode ekstraksi berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan dibagi menjadi dua cara, yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan ekstraksi dengan cara panas (Hamdani, 2009).

2.4.1 Ekstraksi Cara Dingin

Adapun jenis metode ekstraksi dengan cara dingin adalah sebagai berikut :

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Sarker *et al.*, 2006).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang dilakukan pada suhu kamar, menggunakan pelarut organik yang sesuai dan berjalan secara lambat, menggunakan alat yang disebut perkulator (Sarker *et al.*, 2006).

2.4.2 Ekstraksi Cara Panas

Beberapa metode ekstraksi dengan cara panas adalah sebagai berikut :

1. Ekstraksi refluks

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendinginan balik (kondensor), pada umumnya dilakukan pengulangan sebanyak tiga sampai lima kali. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan (Irawan, 2010).

2. Ekstraksi dengan alat soklet

Ekstraksi dengan alat soklet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat soklet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Kelebihan metode soklet adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan menggunakan metode maserasi atau perkolasi (Mukhriani, 2014).

2.5 Kromatografi

Kromatografi didasarkan pada prinsip dimana molekul-molekul dalam campuran diterapkan ke permukaan atau ke dalam padatan, dan fase diam fluida (fase stabil) terpisah satu sama lain sambil bergerak dengan bantuan fase gerak. Faktor-faktor yang efektif pada proses pemisahan ini meliputi karakteristik molekuler yang

terkait dengan adsorpsi (cair-padatan), partisi (cair-padatan), dan afinitas atau perbedaan antara berat molekulnya (Cuatrecasas *et al.*, 1968).

2.5.1 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

KCV merupakan salah satu kromatografi vakum khusus yang biasanya 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 (Oktaviani *et al.*, 2015). Prinsip kerja KCV yaitu partisi dan adsorpsi komponen senyawa yang pemisahannya dibantu dengan tekanan dari alat vakum (Maro *et al.*, 2015). 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-heksan 100%, *n*-heksana : etil asetat, etil asetat 100% dan etil asetat : metanol. Kelebihan KCV jika dibandingkan dengan kromatografi kolom biasa terletak pada kecepatan proses (efisiensi waktu) karena proses pengelusan dipercepat dengan memvakumkan kolom selain dapat memisahkan sampel dalam jumlah banyak. Pemilihan jenis silika gel yang tepat merupakan faktor yang sangat penting untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik. Ukuran partikel silika gel yang terlalu kecil akan menyebabkan proses elusi berjalan sangat lambat. Urutan eluen yang digunakan dalam kromatografi cair dimulai dari eluen dengan tingkat kepolaran rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan-lahan (Hostettman *et al.*, 1986).

2.5.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode pemisahan fisikokimia dengan menggunakan lapisan pemisah (fase diam). Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan baik berupa bercak ataupun pita. Pemilihan fasa gerak yang tepat sangat menentukan keberhasilan analisis dengan KLT. Sifat-sifat pelarut atau fase gerak merupakan faktor dominan

dalam penentuan mobilitas komponen-komponen campuran. Kemampuan fase gerak untuk menggerakkan senyawa pada suatu adsorben berhubungan dengan Kepolaran pelarut yang disebut dengan elusi, dan fase gerak yang digunakan biasa disebut dengan eluen. Pemilihan eluen juga dapat dilihat dari tingkat pemisahan dua senyawa dalam sampel yang dinyatakan dengan nilai resolusi (Sherma, 2003). Secara umum, jika fase diam bersifat polar maka fase geraknya harus bersifat non polar atau sedikit polar (semi-polar). Apabila fase diam bersifat non polar maka fase geraknya harus bersifat polar dan sistem ini disebut sistem fase balik. Fasa diam dan jenis eluen yang digunakan dalam KLT dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Fase diam dan jenis eluen (Gibbons, 2006).

Fase diam	Jenis eluen
Silika gel	<i>n</i> -heksana : etil asetat
Silika gel	Petroleum eter : dietil eter
Silika gel	Petroleum eter : kloroform
Silika gel	Kloroform : aseton
Silika gel	Benzena : aseton
Silika gel	<i>n</i> -butanol : asam asetat : air
Silika gel	<i>n</i> -butanol : air : piridin : toluen
C18	Metanol : air
C18	Asetonitril : air
Selulosa	Metanol : air

Faktor retardasi (*Retardation Factor* = Rf) adalah parameter yang digunakan untuk menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Nilai Rf dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut $\therefore Rf = (\text{Jarak Migrasi Analit}) / (\text{Jarak Migrasi Eluen})$. Nilai Rf berkisar antara 0 dan 1 dan nilai Rf terbaik antara 0,2- 0,8 untuk deteksi UV dan 0,2-0,9 untuk deteksi visibel serta 20-80 untuk Rf relatif pada deteksi UV. Pada Rf kurang 0,2 belum terjadi kesetimbangan antara komponen senyawa dengan fase diam dan fase gerak sehingga bentuk noda biasanya kurang simetris. Sedangkan pada Rf diatas 0,8 noda analit akan diganggu oleh absorbansi pengotor lempeng fase diam yang teramati pada visualisasi dengan lampu UV. Sedangkan pada deteksi visibel Rf dapat lebih tinggi dari deteksi UV, hal ini disebabkan pengotor fase diam tidak bereaksi dengan penampak noda sehingga noda yang berada pada Rf 0,2-0,9 masih dapat diamati dengan baik (Wulandari, 2011).

Pendeteksian bercak hasil pemisahan dapat dilakukan dengan beberapa cara. Untuk senyawa tak berwarna dapat dilakukan pengamatan dengan sinar ultraviolet. Beberapa senyawa organik bersinar atau berfluorosensi jika disinari dengan sinar ultraviolet gelombang pendek (254 nm) atau gelombang panjang (366 nm), jika dengan cara itu senyawa tidak dapat dideteksi maka harus dicoba disemprot dengan pereaksi yang membuat bercak tersebut tampak (Mulja dan Suharman, 1995). Beberapa jenis pereaksi yang disemprotkan pada plat KLT untuk mendeteksi senyawa bahan alam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Beberapa jenis pereaksi yang disemprotkan pada plat KLT untuk mendeteksi senyawa bahan alam (Gibbons, 2006).

Golongan Senyawa	Jenis Pereaksi	Hasil setelah dideteksi
Terpen	• Vanilin asam sulfat	- Warna merah atau biru
	• Anisaldehyd asam sulfat	- Warna merah-ungu
	• Asam fosfomolibdat	- Warna biru dengan latar belakang kuning
Diterpen	Amonium molibdat (IV)	- Warna biru
Triterpen	Antimoni (III) klorida	- Warna merah atau biru
Alkaloid	• Reagen dragendoff	- Warna orange gelap atau kecoklatan
	• Ninhidrin	- Warna merah
Flavonoid	Uap amonia	- Fluorensi kuning, hijau-kuning, hijau-biru, lembayung gelap, biru muda, merah, jingga, biru muda, murup biru muda, kuning, jingga, merah, atau biru pada UV366 nm

2.5.3 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Senyawa hasil KCV dimurnikan dengan menggunakan kromatografi kolom gravitasi (KKG). Pemurnian senyawa dengan KKG memanfaatkan sifat kepolaran senyawa dan gaya gravitasi. Metode Kromatografi Kolom Gravitasi dapat memisahkan substansi kimia berdasarkan perbedaan adsorpsi dari komponen pada adsorben. Pada kromatografi Kolom Gravitasi, fase diam dan campuran yang akan dipisahkan senyawanya diletakkan pada bagian atas kolom yang berada dalam tabung kaca, fase gerak kemudian dialirkan ke dalam kolom secara perlahan

dengan bantuan gaya gravitasi. Senyawa-senyawa dalam campuran akan mengalami pemisahan saat melewati fase diam dalam kolom. Pemisahan dengan KKG biasanya akan memperoleh hasil yang baik apabila digunakan campuran pelarut yang dapat memisahkan komponen Rf kurang dari 0,3 pada uji coba dengan KLT (Atun, 2014). Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) adalah alat yang digunakan untuk memisahkan senyawa organik terutama pada senyawa yang memiliki sifat semi polar dengan konstanta dielektrik 2 hingga 10. Ukuran alat kolom tergantung banyaknya zat yang akan dipisahkan. Untuk menahan penyerap yang diletakkan didalam kolom dapat digunakan *glass woll* atau kapas. Keuntungan dalam menggunakan alat ini antara lain biaya yang rendah dan kemudahan dalam membuang fasa diam yang telah digunakan (Gritter dkk., 1991).

2.6 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang digunakan sebagai pembasmi bakteri khususnya bakteri yang merugikan manusia. Bahan antimikroba dapat dibedakan secara fisik atau kimia dan berdasarkan penggunaannya dapat berupa desinfektan, *antiseptic*, *sterilizer*, *sanitizer*, dan sebagainya. Aktivitas senyawa antibakteri dipengaruhi oleh pH, suhu, stabilitas senyawa tersebut, jumlah bakteri yang ada, lamanya inkubasi, dan aktivitas metabolisme bakteri (Madigan *et al.*, 2015).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein, dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim dan penghambatan sintesis asam nukleat serta protein. Aktivitas daya hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan disekitar *paperdisk*. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat.

Efektifitas dari bahan aktif, ditentukan oleh perbandingan diameter zona hambat dengan nilai standar. Aktivitas tersebut dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu : aktivitas lemah (<5mm), sedang (5–10 mm), kuat (>10–20 mm), sangat kuat (>20–30 mm) (Madigan *et al.*, 2015).

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Scholar *and* William, 2000). Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antimikroba secara *in vitro* ada dua macam, yaitu metode difusi dan metode dilusi.

2.7.1 Metode Difusi

Metode ini yakni sampel akan berdifusi ke lempeng agar yang telah ditanami bakteri, teknik ini dimulai dari menginokulasikan bakteri secara merata diseluruh media permukaan agar, selanjutnya kertas cakram yang telah diberi larutan uji dan larutan kontrol ditempatkan diatas permukaan agar. Waktu inkubasi selama 18-24 jam dan akan terbentuk zona hambat disekeliling sampel. Pengamatan didasarkan ada atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling kertas cakram. Zona hambat ditampakkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat di dalam bahan yang diperiksa terhadap pertumbuhan bakteri (Jawetz dkk., 1986).

2.7.2 Metode Dilusi

Metode ini digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) sampel antimikroba terhadap mikroba. Teknik ini dilakukan dengan cara mencampurkan zat antimikroba dengan media yang diinokulasikan dengan

mikroba. Pengamatannya didasarkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Berdasarkan media yang digunakan, metode ini dibagi menjadi dua yaitu penipisan lempeng agar dan pengenceran tabung. Pada penipisan lempeng agar, zat antibakteri yang akan diuji dilarutkan terlebih dahulu dalam air suling steril atau pelarut steril lain yang sesuai. Kemudian dilakukan pengenceran secara serial dengan kelipatan dua sampai kadar terkecil yang dikehendaki. Hasil pengenceran dicampur medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan pada suhu 45°C sampai 50°C. Selanjutnya dituang ke dalam cawan petri steril, dibiarkan dingin dan membeku. Lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian pada tiap cawan petri diinokulasikan dengan suspensi bakteri tersebut. Untuk setiap seri pengenceran tabung digunakan kontrol negatif. Pada metode pengenceran tabung, zat antibakteri dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian diencerkan dengan aquades berturut-turut pada tabung, dengan metode Kerby Bauwer yang dimodifikasi. Tiap tabung yang berisi sebanyak 1 mL campuran dengan berbagai kadar tersebut diinokulasikan dengan sedikit suspensi bakteri. Diinkubasikan selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. digunakan kontrol paling sedikit satu tabung cair dengan inokulum bakteri tersebut sebagai standard (Lorian, 2005).

2.8 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat., koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani, staphyle berarti anggur dan coccus berarti bulat atau bola. Salah satu spesies menghasilkan pigmen warna kuning emas sehingga dinamakan aureus (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. Bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat pathogen pada manusia. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat dan berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak, dan tidak berspora (Radji, 2011).

Bakteri ini merupakan bakteri yang memiliki dinding sel luar yang tebal yang terbuat dari polimer kompleks yang disebut peptidoglikan. Bakteri ini memiliki lapisan kandungan lipid yang rendah yaitu hanya sebesar 1-4% (Pelczar, 2005).

Berikut adalah klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Kingdom : Eubacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

(Rosenbach *et al.*, 2012).

Bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan beberapa penyakit, yaitu penyakit kulit seperti impetigo, paronkia, abses, selulitis, dan infeksi kulit. Pada tulang dan sendi data menyebabkan osteomyelitis dan arthritis septic, menyebabkan pneumonia pada organ pernafasan, dan menyebabkan endocarditis infeksi pada organ kardiovaskular. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama nosocomical akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan rumah sakit (Locke *et al.*, 2012). Bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Bano *et al.*, 2020).

Kisaran suhu pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* 15 - 40° C dan suhu optimum adalah 35° C. Bakteri *Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar

berwarna agak kuning dalam media yang baik. *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh karena melakukan respirasi aerob atau fermentasi yang menghasilkan asam laktat. Diantara semua bakteri yang tidak membentuk spora, *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri yang memiliki daya tahan paling kuat (Radji, 2011).

2.9 Bakteri *Salmonella sp.*

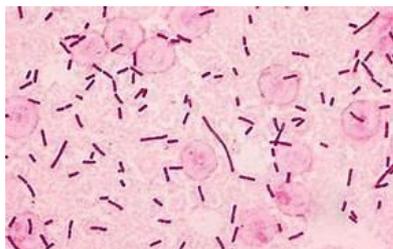
Bakteri *Salmonella sp* pertama kali ditemukan tahun 1885 pada tubuh babi oleh Theobald Smith, namun *Salmonella sp* dinamai dari Danie Edward Salmon seorang ahli patologi dari Amerika. Bakteri *Salmonella sp* dikenal sebagai agen zoonosis dan merupakan peringkat kelima dalam zoonosis prioritas. Bakteri *Salmonella sp* merupakan zoonosis yang banyak menyebabkan kasus pada manusia. *Salmonella sp* merupakan bakteri batang lurus, tidak berspora dan bergerak dengan flagel peritrik. Berikut ini klasifikasi dari bakteri *Salmonella sp* :

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobakteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : Salmonella
Spesies : *Salmonella sp*

(D'aoust, 2001).

Ciri-ciri lainnya yaitu berkembang biak dengan cara membelah diri, mudah tumbuh pada medium sederhana, resisten terhadap bahan kimia tertentu (misalnya natrium tetrasetat, natrium deoksikolat) yang menghambat bakteri enterik lain, oleh karena itu senyawa-senyawa tersebut berguna untuk inokulasi isolat *Salmonella sp* dari feses pada medium, serta struktur sel bakteri *Salmonella sp* terdiri dari inti (Nukleus), sitoplasma, dan dinding sel. Karena dinding sel bakteri ini bersifat Gram negatif, maka memiliki struktur kimia yang berbeda

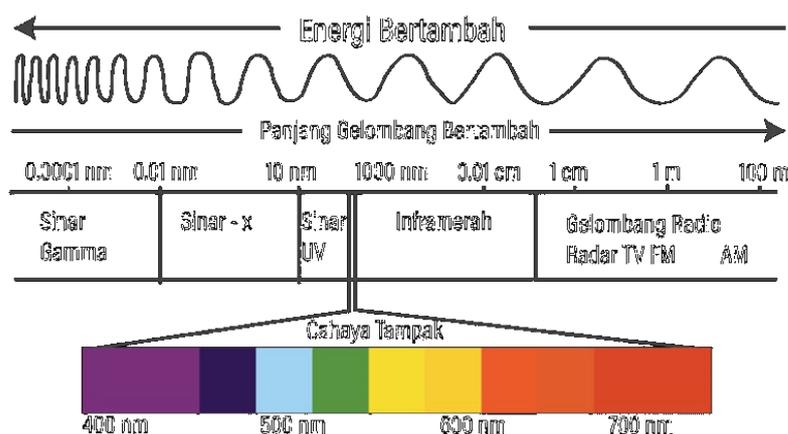
dengan bakteri Gram positif. Bakteri *Salmonella sp* ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Bakteri *Salmonella sp* (Bano *et al.*, 2020).

2.10 Spektroskopi

Spektroskopi merupakan ilmu yang mempelajari tentang cara menganalisis spektrum suatu senyawa dan interaksi antara radiasi elektromagnetik. Teknik spektroskopi dapat digunakan untuk menentukan struktur dari senyawa organik tersebut (Fessenden and Fessenden, 1999). Radiasi elektromagnetik tersebut dapat berupa radiasi sinar γ , sinar X (X-ray), UV-Vis, infra merah (IR), gelombang mikro dan gelombang radio (Harvey, 2000). Berdasarkan panjang gelombang radiasi elektromagnetik dapat dibagi menjadi beberapa jenis yang ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Panjang gelombang radiasi elektromagnetik (Harvey, 2000).

Jika cahaya yang terdiri dari semua panjang gelombang (misal cahaya matahari) dilewatkan melalui sebuah prisma, cahaya akan terdispersi. Jika panjang gelombang terdispersi ini dilewatkan melalui sel yang mengandung atom atau molekul, cahaya yang keluar tidak kontinu lagi. Beberapa dari gelombang cahaya berinteraksi dan terabsorpsi oleh atom atau molekul yang terdapat dalam sel. Panjang gelombang yang hilang dapat dideteksi dengan menjatuhkan sinar yang keluar dari sel sampai pada plat fotografi atau alat pendeteksi lainnya. Cara ini disebut spektroskopi absorpsi dan gambar yang tercatat disebut spektrum.

Macam-macam metode spektroskopi antara lain, spektroskopi Ultraviolet-Visible (UV-VIS), spektroskopi Infrared (IR), spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR).

2.10.1 Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR) merupakan metode spektroskopi yang penting dalam kimia organik selain spektroskopi Inframerah. Spektroskopi NMR memberikan informasi tentang jumlah inti atom magnetik yaitu inti atom hidrogen dan inti atom karbon. Spektroskopi NMR memanfaatkan sifat magnetik inti tertentu. Metode spektroskopi jenis ini didasarkan pada penyerapan energi oleh partikel yang sedang berputar didalam medan magnet yang kuat. Energi yang dipakai dalam pengukuran dengan metode ini berada pada daerah frekuensi radio 400-600 MHz, yang bertanggung pada jenis inti yang diukur (Silverstein *et al.*, 1986). Prinsip dasar spektroskopi NMR yakni inti dari setiap isotop tertentu memiliki gerakan berputar disekeliling sumbunya. Perputaran partikel berenergi memunculkan kejadian magnetis sepanjang sumbu perputaran. Jika inti diletakkan diluar medan magnet maka momen magnetisnya dapat sejajar atau melawan medan magnet (Rohani *et al.*, 2021).

Pergeseran kimia dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain pengaruh elektronegativitas, pengaruh hibridisasi, proton asam dan ikatan hidrogen, dan

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 – September 2023 yang bertempat di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi NMR dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Lanjut Kimia Maju II (BRIN) Puspiptek Serpong Tangerang. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dan determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Botani Pusat Riset Biologi (BRIN) Cibinong, Jawa Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat – alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas ukur, gelas beaker, corong pisah, kertas saring, pipet tetes, tabung reaksi, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis, seperangkat alat KCV dan KK, pipa kapiler, lampu UV, evaporator, oven, *autoclave*, *laminar air flow (LAF)*, inkubator, jarum ose, kertas cakram, kapas dan kasa steril, mikropipet, cawan petri, mikro pipet, penggaris dan Spektroskopi NMR.

3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan sebagai sampel adalah daun tumbuhan sungkai (*Peronema canescens* Jack.) yang diperoleh dari Desa Kesumadadi, Kecamatan Bekri Kabupaten Lampung Tengah Lampung. Pelarut yang sebelumnya telah didestilasi antara lain metanol (MeOH), *n*-heksana (C₆H₁₄), etil asetat (EtOAc), aquades, aseton, kloroform (CDCl₃), silika gel halus dan kasar, kloramfenikol, ciprofloxacin, senyawa standard (β -sitosterol), senyawa stigmasterol. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Salmonella sp.*

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan sampel

Daun tumbuhan sungkai (*Peronema canescens* Jack.) yang diperoleh dari Kampung Kesumadadi, Kecamatan Bekri, Kabupaten Lampung Tengah, diambil bagian batang, daun, akar, dan bunga untuk dilakukan pengeringan dan selanjutnya dideterminasi untuk menentukan spesies dari tumbuhan tersebut.

Kemudian sampel daun tumbuhan sungkai yang lain di ambil dan dicuci bersih kemudian dikeringkan tanpa sinar matahari secara langsung hingga benar-benar kering kurang lebih selama dua minggu, selanjutnya pisahkan bagian ranting dan daunnya kemudian digiling menjadi serbuk, dan selanjutnya digunakan dalam penelitian ini.

3.3.2 Ekstraksi

Ekstraksi daun sungkai dilakukan dengan metode maserasi dan partisi. Pertama serbuk halus daun sungkai ditimbang kemudian direndam menggunakan pelarut metanol 1x24 jam, dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, selanjutnya ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring, maserat dikumpulkan

dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40^o C dan kecepatan 80 *rpm*. Selanjutnya ekstrak pekat ditimbang dan diketahui beratnya, setelah itu ekstrak pekat metanol partisi menggunakan pelarut *n*-heksana sehingga didapatkan fraksi *n*-heksana, kemudian fraksi metanol disuspensi dengan air dan dipartisi menggunakan pelarut etil asetat sehingga didapatkan fraksi metanol-air dan fraksi etil asetat. Fraksi – fraksi ini kemudian dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak pekatnya.

3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Hasil Partisi

Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol air yang didapatkan selanjutnya dilakukan pengujian awal aktivitas antibakteri untuk mengetahui senyawa yang terbaik yang bersifat antibakteri. Masing- masing fraksi tersebut diambil sebanyak 2 g dan dilarutkan kedalam metanol kemudian dibuat dua variasi konsentrasi yaitu 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk. Kemudian disiapkan larutan kontrol positif dan larutan kontrol serta bakteri yang telah diremajakan. Selanjutnya dilakukan pengujian antibakteri sesuai prosedur yang ada di bagian prosedur uji antibakteri. Hasil yang terbaik bersifat antibakteri akan menjadi dasar untuk dilakukan isolasi lebih lanjut.

3.3.4 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Untuk tahap fraksinasi menggunakan metode KCV. Mula-mula silika gel halus sebagai fasa diam dimasukkan ke dalam kolom sebanyak 10 kali berat sampel dan silika gel kasar sebanyak 2 kali berat sampel. Lalu kolom dikemas kering menggunakan alat vakum. Kemudian dimasukkan *n*- heksana sebagai eluen dengan kepolaran rendah ke permukaan silika gel halus dan divakum kembali. Kolom dihisap sampai kering dengan alat vakum. Kemudian sampel yang sudah diimpregnasi dimasukkan kedalam bagian atas kolom. Selanjutnya kolom dielusi menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat 0% sampai etil asetat 100%. Setiap

penambahan eluen, kolom divakum untuk mempercepat proses elusi. Hasil elusi dari masing masing pelarut ditampung dan dilakukan monitoring menggunakan metode KLT (Pratiwi, 2013).

3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT dilakukan untuk melihat pola pemisahan komponen –komponen senyawa pada suatu ekstrak kasar. Uji KLT juga dilakukan untuk memisahkan campuran yang tidak volatile dan mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam campuran. Uji KLT dilakukan dengan menggunakan eluen tertentu , baik tunggal maupun beberapa campuran pelarut dengan perbandingan tertentu. Pada masing masing fraksi ditotolkan dalam plat klt kemudian dielusi dalam chamber , setelah itu elusi terhadap plat klt ,bercak atau noda dilihat menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. selanjutnya plat KLT disemprot menggunakan larutan serium sulfat dan dikeringkan dalam oven untuk menampakkan noda hasil klt. Selanjutnya nilai Rf (*retention faktor*) dari setiap noda yang terbentuk dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan rf yang sama kemudian digabungkan dan dipekatkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan difraksinasi lebih lanjut (Wulandari, 2011).

3.3.6 Kromatografi Kolom (KK)

Prosedur selanjutnya yaitu kromatografi kolom dimana hasil fraksi fraksi dengan jumlah yang lebih sedikit difraksinasi dengan teknik ini. Adsorben silika gel merk (35-70 Mesh) digunakan sebagai fasa diam yang selanjutnya dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Slurry dari silika gel dimasukkan terlebih dahulu kedalam kolom, fase diam diatur sampai rata(tidak berongga). Kemudian sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan pada silika gel kedalam kolom yang telah berisi fasa diam.pada saat sampel dimasukkan, kolom

dusahakan tidak kering atau kehabisan pelarut karena mengganggu fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak terganggu (Gritter dkk., 1991).

3.3.7 Analisis Kemurnian

Untuk mengetahui kemurnian suatu senyawa dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan metode KLT. Uji kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen, Kemurnian suatu senyawa ditunjukkan dengan adanya satu noda dengan sistem berbagai campuran eluen yang digunakan, dan disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan bercak atau noda dari komponen senyawa tersebut dan pereaksi. Senyawa dapat dikatakan murni secara uji KLT jika menunjukkan noda tunggal, dikarenakan senyawa murni yang didapatkan mengandung satu jenis senyawa.

3.3.8 Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir (NMR)

Sampel berupa kristal murni yang akan diidentifikasi dilarutkan kedalam pelarut inert yang tidak mengandung proton seperti CCl_4 dan CDCl_3 , kemudian ditambahkan sedikit senyawa acuan. Larutan ini ditempatkan dalam tabung gelas tipis dengan tebal 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (rf) diantara dua ditambah secara terus-menerus. Energi pada frekuensi terpasang dari kumparan frekuensi radio (rf) yang diserap cuplikan direkam dan memberikan spektrum NMR.

3.3.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi, dibagi menjadi beberapa tahapan antara lain :

1. Peremajaan bakteri uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp* diinokulasi ke medium agar miring dengan cara mengambil sebanyak satu mata jarum ose secara aseptis lalu diinokulasi dengan menggores pada medium agar miring. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan temperatur 37° C.

2. Pembuatan larutan uji

Sampel ekstrak *n*-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak metanol yang akan diuji masing –masing ditimbang sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 200 µL metanol, kemudian dibuat variasi dua konsentrasi: 0,5 mg/cakram dan 0,3 mg/cakram, kemudian berdasarkan perhitungan sesuai konsentrasi maka diambil 50µL dan 30µL untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram.

3. Pembuatan larutan kontrol positif dan kontrol negatif

Pada uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* digunakan kontrol positif berupa kloramfenikol, sedangkan uji bakteri terhadap *Salmonella sp* digunakan kontrol positif berupa ciprofloxacin. Masing-masing sebanyak 2 mg kontrol positif dilarutkan dalam 200 µL metanol, kemudian masing-masing kontrol dibuat dua variasi konsentrasi: 0,5 mg/cakram dan 0,3 mg/cakram. Kemudian diambil larutan sesuai dengan perhitungan masing-masing konsentrasi untuk ditotolkan ke dalam kertas cakram.

4. Uji aktivitas antibakteri

Senyawa hasil isolasi yang telah didapatkan dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram, dan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella sp*. Hal pertama dilakukan adalah sterilisasi alat dan media menggunakan autoclave selama 15 menit. Media pertumbuhan yang digunakan adalah Nutrien Agar (NA). Sebanyak 2,8 g NA dilarutkan dalam 100 mL kemudian dipanaskan dan disterilkan dalam autoclave pada temperatur 121° C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media NA steril kemudian dituang sebanyak 15 mL/ cawan petri yang telah disterilisasi dalam

Laminar Air Flow (LAF). Setelah media sudah mengeras, dimasukkan satu ose bakteri yang sudah dilarutkan dalam akuades dan ditambahkan dalam 5 mL media NA dalam keadaan cairan lalu tuangkan kedalam media yang sudah mengeras tadi. Kemudian setelah mengeras kertas cakram diletakkan pada permukaan media. Seluruh perlakuan antibakteri dilakukan dalam LAF dan diberi sinar UV selama 3 menit. Kertas cakram yang digunakan ada 3 jenis yang berisi kontrol negatif, kontrol positif dan sampel yang akan diuji. Sampel dibuat variasi konsentrasi yaitu 0,5 mg/disk dan 0,3 mg/disk. Pengujian ini diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 25-30⁰ C, lalu diamati untuk melihat dan menghitung zona hambatnya.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Telah berhasil diisolasi senyawa NV33 berupa kristal jarum putih sebanyak 27,7 mg dari fraksi *n*-heksana daun sungkai (*P. canescens* Jack.).
2. Berdasarkan skrining awal uji antibakteri, fraksi *n*-heksana memiliki efektifitas antibakteri dengan kadar zona hambat sebanyak 8 dan 15 mm dengan konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk pada bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian 8 dan 9 mm dengan konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk pada bakteri *Salmonella sp.*
3. Hasil identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis senyawa NV33 memiliki nilai Rf yang sama dengan senyawa stigmasterol yaitu 0,41 ; 0,64 ; dan 0,83.
4. Senyawa NV33 yang didapatkan memiliki aktivitas antibakteri yang berukuran kuat dengan zona hambat sebesar 12 dan 10 mm dengan konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan berukuran sedang dengan kadar zona hambat sebesar 8 dan 7 mm dengan konsentrasi 0,3 mg/disk dan 0,5 mg/disk pada bakteri *Salmonella sp.*

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut

1. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut terhadap senyawa yang dihasilkan dari *n*-heksana daun sungkai seperti spektroskopi MS, UV-Vis, NMR 2 Dimensi meliputi DEPT 135 dan NOESY untuk mengkonfirmasi stuktur molekul NV33.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas dengan menggunakan bakteri lain seperti *Bacillus subtilis*, *Eschericia coli*, *Pseudomonas* dan lain-lain.
3. Perlu digunakan metode lain untuk pengujian antibakteri seperti menggunakan metode uji antibakteri KLT-Bioautografi.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4 : Ilmu Kimia Flavonoid*. Karunika Universitas Terbuka. Jakarta.
- Astuti, F. 2021. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak non Polar Daun Sungkai Serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Bano, S.A., Hayat, M., Samreen, T. 2020. Detection of Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp.* From Raw Milk Samples of Different Cities of Pakistan. *J. Nat. Sci.* Vol 12- (05).
- Brock, T.D., Madigan, M.T., & Martinko, J. M. 2006. Biology of microorganisms, Eleventh edition. *Biology of Microorganisms, Eleventh Edition*, 909.
- Cayme, J.M and Ragasa, C. 2004. Structure elucidation of β -stigmasterol and β -sitosterol from *Sesbania grandiflora* [linn] Pers. and β -carotene from *Heliotropium indicum* Linn by NMR spectroscopy. *J. Kimika*. Vol 2. 5-12.
- Cuatrecasas, P., Wilchek M & Anfinsen C.B. 1968. Selective Enzyme Purification By Affinity Chromatography. *Proc.Natl .Acad. Sci. U S A*. 61:636–43.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Fessenden, R., dan Fessenden, J. 1999. *Kimia Organik Jilid 2 Edisi ke-3*. Erlangga. Jakarta.
- Fransisca, D. Kahanjak, D.N., & Frethernety, A. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. *JPLB*. 4(1). 460–470.
- Gauglitz, G and T. Vo-Dinh. 2003. *Handbook of Spectroscopy*. Wiley-VCH. Weinheim, Jerman. hal 89;125;129 dan 347.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., & Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi*

Edisi kedua. Penerbit ITB. Bandung.

- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia sp* dari Kepulauan Seribu. *JMIK*. Vol II, No 3 :127-133.
- Harbert, R.B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia. Terbitan ke- II. Terjemahan Kosasih Padmawinata*. Penerbit ITB. Bandung.
- Harmida., Sarno dan Yuni, V.F. 2011. Studi Etnofitomedika di Desa Lawang Agung Kecamatan Mulak Ulu Kabupaten Lahat Sumatera Selatan. *JPS*. 14 (1) : 42-46.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill. USA. hal 369:372 dan 402.
- Heywood, V. H., Brummitt, R.K., Culham, A. and Seberg, O. 2007. *Flowering plant families of the world*. Royal Botanic Gardens.Kew.
- Hostettmann, K., M. and A. Marston. 1986. *Preparative Chromatography Techniques*. Springer. Jerman.
- Ibrahim, A dan Kuncoro, H. 2012. Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *J.Trop. Pharm. Chem.* 2(1), 8–18.
- Irawan , B dan Jos, B. 2010. *Peningkatan Mutu Minyak Nilam Dengan Ekstraksi dan Destilasi pada Berbagai Komposisi Pelarut*. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro Semarang.
- Ilham, P. 2021. Penentuan Kandungan Metabolit Sekunder, Uji Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.). *Thesis Universitas Andalas*. Sumatera Barat.
- Indriati, G. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) Terhadap pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare. *J.Saintek*. Vol (1) hal 52-56.
- Jawetz, E., Melnick, L.J dan Adelberg, A.E. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan edisi 16*. EGC Penerbit Buku kedokteran. Jakarta.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2005. *Mikrobiologi kedokteran (Buku 1)*, Diterjemahkan oleh Penerjemah Bagian Mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika; Surabaya.
- Karou, Damintoti, Savadogo and Ali. 2005. Antibacterial Activity of Alkaloid

From *Sida acuta*. *Af. J. Biothechnology*. 4(12) : 1452-1457.

- Khaerudin. 1994. *Pembibitan Tanaman HTI*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, Mahmud, Shibuya, dan Kobayashi. 2014. Indonesian medicinal plants. VII. Seven new clerodane-type diterpenoids, peronemins A2, A3, B1, B2, B3, C1, and D1, from the leaves of *Peronema canescens* (*Verbenaceae*). *J.Chem Pharm Bull. Jpn.* 5;42(5):1050-5.
- Kusriani, R. H., Nawawi, A & Turahman, T. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Kulit Batang dan Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Galenika J. Pharm.* 2(1), 8–14.
- Kusuma, R. 2011. Identifikasi Senyawa Bioaktif Pada Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea smithiana symington*). *J. Mulawarman Sci.* 10(2), 199-206.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoid dan Alkaloid*. Karya Ilmiah. Departemen Kimia. FMIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Lorian, V. 2005. *Antibiotics in Laboratory Medicine, Fifth Edition*. Lippincott Williams and Wilkins. New York.
- Madya, S.2013. *Teori dan Praktik Penelitian Tindakan* .CV Alfabeta. Bandung.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Mayanti, T., Darwati., Nurlelasari. 2019. Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Asam Kandis (*Garcinia Cowa*) Sebagai Obat Penurun Demam. *JPHH*. Vol (1) : 51-52
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kes.* Vol VII No. 2.
- Mulja, M dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumen, Cetakan 1*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Musman, M. 2017. *Kimia Organik Bahan Alam*. Unsyiah Press. Banda Aceh.
- Nuraini, A.D. 2007. Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens willd*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ningsih, A., & Ibrahim, A. 2013. Aktifitas Antimikroba Ekstrak Fraksi *n*-heksan Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Dengan Metode Klt-Bioautografi. *Journal of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 2(2), 76–82.

- Nugraha, A.C., Prasetya, A.T., dan Mursiti, S. 2017. Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indo J. Chem. Sci.* Vol 6 (2). 1-6.
- Nugraha, A. S., Haritakun, R., Lambert, J. M., Dillon, C. T., and Keller, P. A. 2019. Alkaloids from the root of Indonesian *Annona muricata* L. *Natural Product Research*, Vol 1 hlm 1–9.
- Nurussakinah. 2010. Skrinning Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jengkol (*Pithecellobium jiringa* (Jack) Prain) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. *Skripsi* Fakultas Farmasi, USU. Medan.
- Pardede, L., Kusdiyantini, E., & Budiharjo, A. 2014. Ekstraksi dan Uji Stabilitas Zat Warna Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) *Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika*, Universitas Diponegoro. Vol 3(3).
- Plantamor. 2012. Informasi Spesies (tanaman sungkai). [http:// plantamor.com/species / search](http://plantamor.com/species/search).
- Pramudia. R.A. 2023. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Serta Uji Aktivitas Antioksidan. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Pratiwi, E. 2013. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil. *J. Pus. Kes.* Vol 2. 194:197.
- Pratiwi, E. W., Praharani, D., Mahdiyah, Y., Gigi, F. K., Jember, U., Periodonsia, B. 2018. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil (Inhibition of Papaya (*Carica papaya* L.) 3(2), 196–19
- Purnomo, H. 2010. *Pengantar Pengendalian Hayati*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Rizky, V. A., Siregar, S., Krisdianilo, V., Rahayu, A., Syafrina Ginting, S. 2021. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan Pcr. *J. Pharm.* 3(2), 118–123.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Deepublish. Yogyakarta.
- Salni., H. Marisa dan Mukti, R.W. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *JPS.* 14: 1-2.
- Sarker, S.D., Latif, Z., and Gray, A.I. 2006. Natural Product Isolation. Totowa, New Jersey. *Humana Press.* 77-116.

- Scholar, E.M and William, B.P. 2000. *The Antimicrobial Drugs, Second Edition*. Oxford University Press, Inc. New York.
- Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Antibacterial Activities of Seagrass Extracts (*Cymodocea rotundata*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*). *SAINTEK PERIKANAN : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 13(1), 1.
- Silverstein, R., Bassler and Morrill, T.C. 1986. *Penyelidikan Spektrometri Senyawa Organik*. Alih Bahasa Drs. A.J. Hartomo. ITS. Semarang.
- Simanjuntak, P. 1996. Studi Kimia Senyawa Glikosida Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) *JKTI*. 1-2 (2). Hlm 8-12.
- Still, W. C., Kahn, M & Mitra, A. 1978. Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution. *J. Org. Chem.* 43(14), 2923–2925.
- Sudjadi. 1985. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Tjahjandarie, T. S., Tanjung, M., Saputri, R. D., Rahayu, D. O., Gunawan, A. N. I., dan Aldin, M. F. 2021. Two new 2-arylbenzofurans from *Sesbania grandiflora* L. and their cytotoxicity towards cancer cell. *J. Nat.Sci. Research*.35(24), 5637–5642.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tuntun, M. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*. 7(3), 497.
- Wardhani, R.A.P., dan Supartono. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Pada Bakteri. *J. Chem. Sci.* 4 (1) : 47-48.
- Wibowo, M. H., & Wahyuni, A. E. T. H. 2008. Studi Patogenitas *Escherichia coli* Isolat Unggas Pada Ayam Pedaging Umur 15 hari. *J. Veteriner*. 9(2), 87–93.
- Wibowo, S. 2015. *Tanaman Sakti Tumpas Macam-macam Penyakit*. Pustaka Makmur. Jakarta.
- Wink, M., and Mohamed, G.I.A. 2003. Evaluation of Chemical Defents Traits in The Leguminoseae: Mepping of Distribution Patterns of Secondary Metabolits on a Molecular Phylogeny Inferred from Nucleotide Sequances of The *rbcl* Gene. *J. Biochem. Eco.* 31(8). Hlm 897-917.

Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. In Taman Kampus Presindo. Jember.

Yani, A. P., Ruyani, A., Yenita., Ansyori, I., dan Irwanto, R. 2014. Uji Potensi Daun Muda Sungkai (*Peronema canescens*) untuk Kesehatan (Imunitas) pada Mencit (*Mus musculus*). *Prosiding Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Vol 11(1). hlm 245–250.