

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI: PINOSTROBIN DAN FRAKSI N-HEKSANA DARI
EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY: PINOSTROBIN AND N-HEXANE FRACTION FROM
ETHANOL EXTRACT OF FINGERROOT RHIZOME (*Boesenbergia pandurata*)
AGAINST *Staphylococcus aureus***

Anita Puspa Widiyana^{1,3*}, Citra Destya Rahma Putri^{2,3}, Rio Risandiansyah^{2,3}

¹Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

²Department of Medicine, Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

³Center of The Integration of Islamic Medicine, Bioinformatics, and Indonesian Traditional Medicine,
Jl. Mayjen Haryono, Malang (65144), Telp. 0341-551932

* Corresponding author, tel/fax: +6281332979570, email: anitapuspaw@unisma.ac.id

Abstrak. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif penyebab berbagai infeksi serius yang resistensinya terhadap antibiotik terus meningkat. Rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) diketahui mengandung senyawa flavonoid terprenilasi yang berpotensi sebagai agen antibakteri baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa pinostrobin dari rimpang temu kunci, mengkarakterisasi strukturnya, serta mengevaluasi aktivitas antibakteri pinostrobin dan fraksi n-heksana terhadap *S. aureus*. Metode penelitian meliputi maserasi rimpang dengan etanol, fraksinasi cair-cair menggunakan n-heksana:etanol (1:1), dan pemurnian pinostrobin dengan rekristalisasi. Ekstrak kental yang diperoleh sebesar 5,51 g (5,5%) dan fraksi n-heksana sebesar 0,24 g (4,4%). Hasil analisis struktur dengan FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, dan MS telah mengkonfirmasi isolat sebagai pinostrobin. Uji antibakteri metode difusi cakram menunjukkan pinostrobin tidak memiliki aktivitas, sedangkan fraksi n-heksana menghasilkan zona hambat 7,5–10,0 mm pada rentang 2.500–20.000 ppm. Disimpulkan bahwa pinostrobin tidak aktif sebagai antibakteri dan aktivitas fraksi n-heksana tergolong lemah, sehingga pengembangan formulasi lanjutan diperlukan untuk meningkatkan efektivitasnya.

Kata kunci: flavanon terprenilasi, difusi cakram, antibakteri, pinostrobin, fraksi n-heksana

Abstract. *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium caused by serious infections, and its resistance to antibiotics continues to increase. The rhizome of *Boesenbergia pandurata* is known to contain terpenylated flavonoids that have potential as new antibacterial agents. This study aimed to isolate the compound pinostrobin from fingerroot, characterize its structure, and evaluate the antibacterial activity of pinostrobin and the n-hexane fraction against *S. aureus*. The research method included maceration of the fingerroot with ethanol, liquid-liquid fractionation with n-hexane:ethanol (1:1), and purification of pinostrobin by recrystallization. The concentrated extract obtained was 5.51 g (5.5%), and the n-hexane fraction was 0.24 g (4.4%). Structural analysis with FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, and MS confirmed the isolate as pinostrobin. The antibacterial assay by disc diffusion method showed that pinostrobin had zero activity, while the n-hexane fraction produced inhibition zones of 7.5–10.0 mm in the range of 2,500–20,000 ppm. It is concluded that pinostrobin is not active as an antibacterial agent, and the activity of the n-hexane fraction was relatively weak, thus requiring further formulation development to enhance its effectiveness.

Key words: prenylated flavanone, disc diffusion, antibacterial, pinostrobin, n-hexane fraction

PENDAHULUAN

Resistensi antibakteri (RAB) sebagai permasalahan dunia di abad ke-21. Data WHO diperkirakan jumlah kematian sebesar 4,95 juta kematian pada tahun 2019, dengan kematian terbesar dikarenakan resistensi antibiotik sebesar 1,27 juta [1]. Patogen yang paling berperan dalam besarnya nilai kematian adalah *Staphylococcus aureus* [2]. *S. aureus* sebagai bakteri gram positif penyebab berbagai infeksi serius, seperti pneumonia, kolitis pseudomembran, perikarditis, sepsis, serta infeksi akut dan kronis lainnya [3]. *S. aureus* tersebar luas di lingkungan dan diperkirakan sekitar 20% populasi manusia menjadi pembawa bakteri ini secara asimtomatik [4]. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional, termasuk penggunaan berlebihan dan penyalahgunaan, telah menyebabkan penurunan efektivitas terapi terhadap infeksi *S. aureus* [5,6].

Amoksisilin sebagai salah satu antibiotik golongan β -laktam, banyak diresepkan untuk menangani infeksi bakteri, termasuk yang disebabkan oleh *S. aureus*. Namun, efektivitas amoksisilin terhadap *S. aureus* semakin menurun akibat kemunculan strain yang memproduksi enzim β -laktamase. Enzim ini yang ekspresinya dimediasi oleh plasmid, mampu menghidrolisis cincin β -laktam pada struktur amoksisilin sehingga senyawa tersebut kehilangan aktivitas bakterisidanya [7,8]. Mekanisme resistensi ini menjadi salah satu penyebab utama kegagalan terapi menggunakan antibiotik β -laktam, sehingga diperlukan eksplorasi senyawa alternatif, khususnya dari bahan alam, yang memiliki mekanisme aksi berbeda atau mampu menghambat aktivitas enzim β -laktamase.

Kompleksitas infeksi bakteri semakin meningkat dengan adanya infeksi campuran yang melibatkan mekanisme resistensi yang belum sepenuhnya dipahami, sehingga menghambat penemuan dan pengembangan obat antibakteri baru [9]. Meskipun demikian, pengembangan agen antibakteri baru tetap menjadi strategi paling efektif untuk mengatasi infeksi bakteri yang resisten terhadap obat [10]. Oleh karena itu, pencarian senyawa antibakteri baru dari sumber daya alam menjadi kebutuhan yang mendesak.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang kaya akan tanaman obat potensial, termasuk di antaranya temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb.) dari famili *Zingiberaceae* [11]. Penelitian sebelumnya telah mengungkapkan bahwa

rimpang temu kunci mengandung berbagai senyawa flavonoid dan turunannya yang terprenilasi, terutama golongan sikloheksenilkalkon [12]. Ekstrak dan senyawa dari tanaman ini telah dilaporkan memiliki beragam bioaktivitas, seperti antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antiobesitas [13]. Studi oleh Keliat *et al.* menunjukkan bahwa ekstrak etanol temu kunci dengan kadar 45% memiliki nilai zona inhibisi sebesar $21,1 \pm 0,5$ mm pada *S. aureus*, yang termasuk dalam kategori kuat [14]. Sementara itu, pengujian ekstrak *n*-heksana rimpang temu kunci pada konsentrasi 600 ppm diperoleh zona inhibisi sebesar 13 mm pada *S. aureus* (kategori sedang) dan 12,3 mm pada *E. coli* [15]. Meskipun data tersebut mengindikasikan potensi antibakteri yang menjanjikan, informasi mengenai senyawa murni yang bertanggung jawab atas aktivitas tersebut masih terbatas. Sebagian besar studi sebelumnya hanya berfokus pada ekstrak kasar atau fraksi, sementara kontribusi spesifik senyawa mayor seperti pinostrobin terhadap aktivitas antibakteri belum dijelaskan secara memadai.

Penelitian ini memiliki keterbaruan karena secara spesifik mengisolasi dan menguji aktivitas antibakteri pinostrobin senyawa flavonoid utama dalam fraksi *n*-heksana rimpang temu kunci serta membandingkannya dengan aktivitas fraksi *n*-heksana itu sendiri. Informasi ini penting karena sering kali aktivitas biologis suatu ekstrak atau fraksi tidak dapat diatribusikan secara tunggal pada senyawa mayor, melainkan merupakan hasil interaksi sinergis antar komponen. Selain itu, karakterisasi struktur pinostrobin secara komprehensif menggunakan spektroskopi modern menjadi dasar penting untuk pengembangan lebih lanjut, baik melalui modifikasi struktur maupun formulasi untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitasnya. Dengan demikian, pada penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi untuk memperjelas peranan dari pinostrobin dan fraksi *n*-heksana sebagai antibakteri.

Penelitian ini memiliki beberapa tujuan berdasarkan uraian di atas antara lain: (1) mengisolasi dan mengarakterisasi struktur pinostrobin dari rimpang temu kunci; (2) mengevaluasi aktivitas antibakteri pinostrobin dan fraksi *n*-heksana terhadap *S. aureus*; serta (3) menganalisis hubungan antara kandungan senyawa dan aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan antara lain rimpang temu kunci kering, *n*-heksana p.a. (Sigma), metanol p.a. (Sigma), etanol p.a. (Sigma), Natrium *Broth* (Merck), akuades, bakteri uji yang digunakan yaitu *S. aureus* ATCC 25923, NaCl 0,9% steril (Otsuka), pinostrobin, metanol p.a. (Sigma), etil asetat p.a. (Sigma), kloroform p.a. (Sigma), dan plat KLT (Merck).

Alat

Penelitian ini menggunakan alat antara lain timbangan analitik (Shimadzu ATX224, Jepang), pengaduk magnetik dengan pemanas (Heidolph MR-Hei-Tec, German), *melting point device* (Inotech DMP 600, USA), oven (Binder ED 115, USA), PERKIN ELMER *Spectrum One* FT-IR Spektrometer, JEOL NM-ECS 400 NMR (JEOL Ltd., Tokyo, Jepang) untuk 400 MHz dan Varian VNMR-600-FT-NMR *spectrometers* (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) untuk 600 MHz, *Mass Spectrophotometer* TSQ *Quantum Access* Max (Thermo Fisher Scientific, USA), dan LC (Accella 1250) (Thermo Fisher Scientific, USA), *Purifier Class II Biosafety Cabinet* (Labconco, Meksiko), mikroskop (Olympus, Jepang), serta berbagai peralatan gelas.

Prosedur Penelitian

Prosedur Fraksi *n*-Heksana dari Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Rimpang temu kunci sebanyak 100 g dimaserasi dengan menambahkan 1 L etanol selama 3x24 jam. Ekstrak disaring dengan kertas Whatman dan filtratnya dipekatkan dengan rotavapor. Ekstrak etanol dipartisi dengan ekstraksi cair-cair menggunakan *n*-heksana dan etanol (1:1). Fraksi *n*-heksana diuapkan menggunakan rotavapor dan dikeringkan di dalam oven.

Prosedur Isolasi Pinostrobin

Rimpang temu kunci sebanyak 100 g dimaserasi dengan menambahkan 1 L etanol selama 3x24 jam. Ekstrak disaring dengan kertas Whatman dan filtratnya dipekatkan dengan rotavapor. Ekstrak yang diperoleh direkristalisasi dengan etanol panas dan didiamkan di dalam lemari es sampai terbentuk kristal. Pencucian kristal menggunakan etanol panas sampai

berwarna putih dioven pada suhu 50°C sampai kering. Hasil dari proses tersebut merupakan kristal putih dari pinostrobin. Kristal yang terbentuk dilakukan pengujian kemurnian meliputi jarak lebur dan KLT. Konfirmasi struktur dengan metode FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, dan MS.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan metode *Kirby-Bauer* dengan uji difusi cakram (*disk diffusion test*). Koloni bakteri *S. aureus* yang telah siap diambil dengan ose steril dan dimasukkan ke tabung berisi larutan steril normal, kemudian dicampur secara perlahan dengan bantuan mikropipet hingga membentuk suspensi yang homogen. Suspensi yang sudah siap dilakukan standarisasi menggunakan standart McFarlan 0,5 atau setara dengan ~10⁸ CFU/mL. Bakteri diambil dari suspensi dengan kapas lidi dan diinokulasikan dengan cara striking keseluruhan dari atas hingga bawah. Cakram yang sudah berisi bahan uji dengan masing-masing masih dosis diletakkan di dalam *plate* dengan jarak 20-25 mm. Kemudian *plate* ditutup dan dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Zona inhibitor yang terbentuk (*Clear Zone*) ditentukan dengan mengukur diameter menggunakan jangka sorong vertikal dan horizontal yang dilaporkan dengan satuan milimeter.

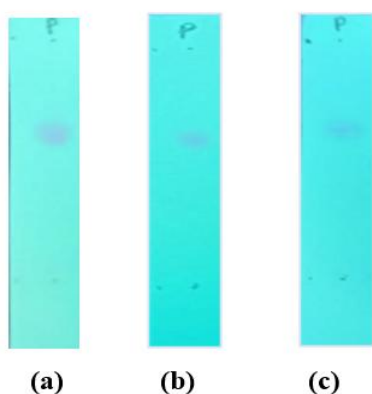
HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksi *n*-Heksana

Hasil ekstrak kental sebesar 5,51 g dengan %rendemen hasil ekstrak sebesar 5,5%. Hasil fraksi *n*-heksana sebesar 0,24 g dengan %rendemen hasil fraksi sebesar 4,4%. Fraksi berwarna kuning kecoklatan. Kombinasi pelarut non-polar (*n*-heksana) dan pelarut polar (etanol) merupakan strategi utama untuk membentuk dua fase. Fraksi *n*-heksana mengandung senyawa pinostrobin sebesar 71,3% sebagai senyawa utama [16].

Isolasi Pinostrobin

Pemeriksaan organoleptis diperoleh bentuk padat, berwarna putih, dan tidak berbau. Hasil uji kemurniaan diperoleh dengan uji jarak lebur dan KLT.

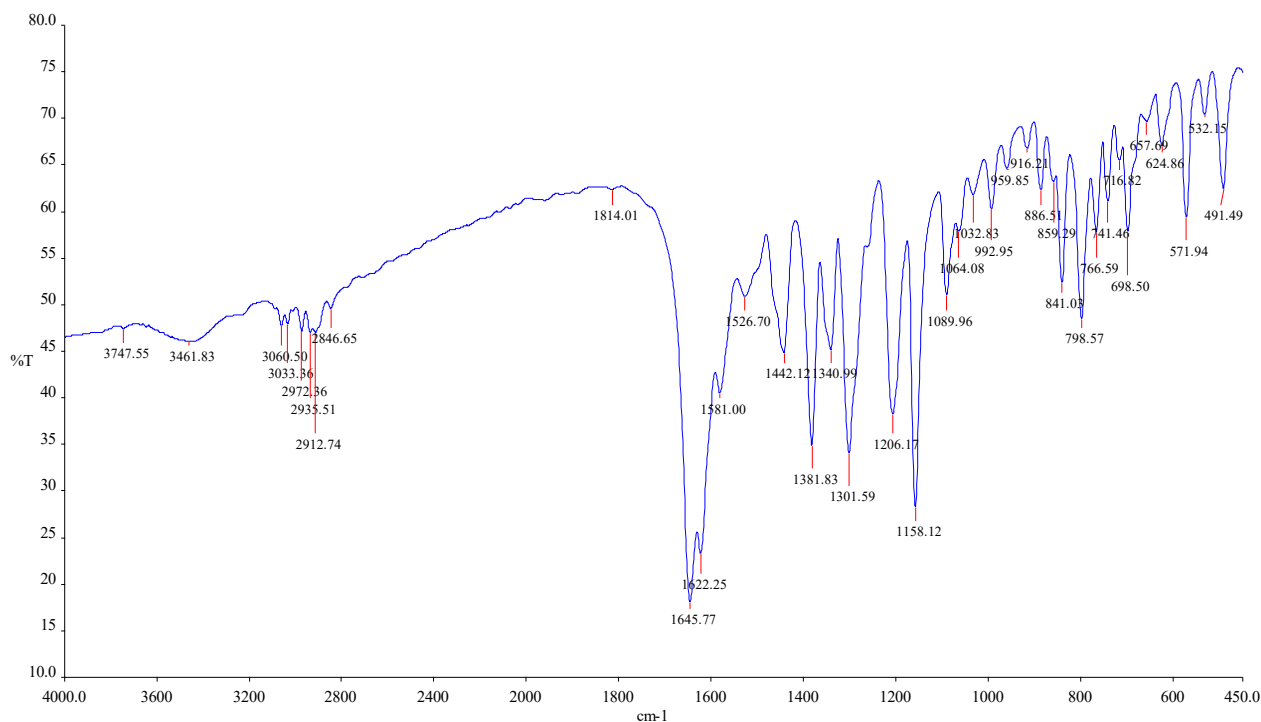


Gambar 1. Hasil noda KLT dari pinostrobin pada fase gerak (a), (b), dan (c).

Nilai jarak lebur sebesar 99-101 °C menunjukkan rentang nilai lebur yang sempit < 2 °C yang berarti murni secara jarak lebur. Nilai R_f dari fase gerak (a) *n*-heksana:etil asetat (3:1), (b)

n-heksana:aseton (3:1), dan (c) *n*-heksana:etil asetat:aseton (4:1:1) secara berurutan yaitu 0,63; 0,54, dan 0,66. Profil KLT pada Gambar 1 dari ketiga fase gerak membuktikan noda tunggal dengan ketiga fase gerak yang berarti murni secara komatrogafi.

Hasil analisis gugus fungsi dari spektra IR pinostrobin terdapat pada Gambar 2 dan Tabel 1. Serapan pada bilangan gelombang 3033 cm^{-1} sebagai =C-H aromatis merupakan ciri khas ikatan C-H sp^2 aromatis. Serapan 2972 cm^{-1} sebagai -C-H alkana berasal dari ikatan C-H sp^3 pada gugus metoksi (-OCH₃) dan metilen (-CH₂) pada cincin heterosiklik flavanon. Serapan 1646 cm^{-1} sebagai ciri khas gugus karbonil terkonjugasi pada flavanon sebagai akibat terjadinya pergeseran serapan dari C=O sekitar 1715 cm^{-1} menjadi 1646 cm^{-1} . Serapan 1527 dan 1442 cm^{-1} sebagai vibrasi rangkap dari adanya inti flavonoid.



Gambar 2. Spektra FTIR pinostrobin

Tidak adanya alkohol bebas di daerah 3200-3600 cm^{-1} yang ditandai dengan pita serapan lebar disebabkan oleh ikatan hidrogen intramolekular yang kuat antara gugus -OH pada C-5 dan atom oksigen dari gugus karbonil (C=O) pada cincin heterosiklik (C-3) yang membentuk cincin yang stabil. Hal tersebut terbukti dari pergeseran dari vibrasi ulur O-H yang tumpang

tindih dengan serapan pada C-H di daerah 2500-3500 cm^{-1} atau tidak dapat terdeteksi dengan jelas. Fenomena itu sebagai ciri umum dari flavonoid yang memiliki gugus 5-hidroksi yang terkonjugasi dengan gugus karbonil.

Serapan pada daerah 1646 cm^{-1} dipengaruhi oleh ikatan hidrogen intramolekular dari gugus O-H...O=C yang mengakibatkan

pemanjangan ikatan dan penurunan frekuensi ikatan dibanding ikatan keton biasa. Berdasarkan hal itu, menjadi penjelasan bahwa serapan C=O flavanon memiliki bilangan gelombang yang lebih rendah dibanding keton siklik non konjugasi..

Tabel 1. Interpretasi data spektrum IR pinostrobin

No.	Absorpsi gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)
1.	=C-H aromatis	3033
2.	-C-H alkana	2972
3.	C=O keton (siklik)	1646
4.	C=C aromatis	1527 dan 1442

Hasil spektrum ¹H-NMR pada Tabel 2 pinostrobin menunjukkan terdapat 14 atom hidrogen. Geseran kimia 12,03 ppm sangat khas dengan gugus hidroksi fenolik pada C-5 dengan sangat terdeshielding. Hal itu disebabkan oleh ikatan hidrogen intramolekul dengan atom oksigen

karbonil (C=O). Tanpa ikatan hidrogen, proton –OH fenolik biasanya muncul pada δ 4-7 ppm. Geseran kimia 7,53-7,36 ppm menunjukkan cincin B dari fenil yang tidak tersubstitusi dengan pola multiplet sebagai kopling dari proton tetangga pada cincin aromatik monosubstitusi. Geseran kimia 6,08 ppm dengan sinyal multiplet sebagai pengaruh donor elektron dari gugus –OH (C-5) dan –OCH₃ (C-7) sehingga dapat meningkatkan kerapatan elektron pada cincin A. Geseran kimia 5,43 ppm merupakan proton metin asimetrik dari cincin C flavanon. Geseran kimia 3,81 ppm dengan multiplisitas singlet yang tajam menunjukkan gugus metoksi pada C-7 dari cincin A yang tidak bertetanggaaan dengan proton lain. Geseran kimia 3,09 dan 2,83 ppm sebagai proton metilen pada C-3 yang bersifat diastereotopik dari kerangka flavanon, yang disebabkan oleh pusat kiral pada C-2.

Tabel 2. Interpretasi data spektrum ¹H-NMR pinostrobin

No.	Geseran kimia (ppm)	Multiplisitas	Jumlah atom H	Tetapan coupling	Gugus
1.	12,03	Singlet	1	-	-OH
2.	7,53-7,36	Multiplet	5	-	Ar'-H 2',3',4',5',6'
3.	6,08	Multiplet	2	-	Ar-H 6,8
4.	5,43	Double doublet	1	<i>J</i> = 12,8; 2,4 Hz	O-CH-CH ₂
5.	3,81	Singlet	3	-	O-CH ₃
6.	3,09 dan 2,83	Double doublet	2	<i>J</i> = 16,8; 2,4 Hz	CH-CH ₂ -C=O

Hasil spektrum ¹³C-NMR pada Tabel 3 dari pinostrobin menunjukkan terdapat 16 atom karbon. Sinyal pada δ 195,8 ppm merupakan karakteristik khas karbon karbonil (C=O) pada posisi C-4 flavanon, yang muncul di daerah medan rendah karena efek deshielding dari oksigen elektronegatif dan konjugasi dengan cincin aromatik. Empat sinyal karbon kuartener teroksidasi teridentifikasi pada δ 168,1 ppm (C-7), δ 164,2 ppm (C-5), δ 163,9 ppm (C-9), dan δ 162,9 ppm (C-1'). Pergeseran kimia C-5 pada δ 164,2 ppm lebih tinggi dibandingkan C-7 (δ 168,1 ppm) karena gugus hidroksil pada C-5 terlibat dalam ikatan hidrogen intramolekul dengan gugus karbonil C=O, yang meningkatkan efek deshielding.

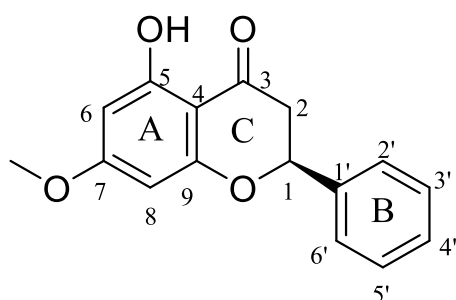
Cincin B yang merupakan cincin fenil monosubstitusi memberikan sinyal pada δ 138,5 ppm untuk C-4' (karbon metin posisi para), δ 128,9 ppm untuk dua karbon metin simetris pada C-3' dan C-5', serta δ 126,2 ppm untuk dua karbon metin simetris pada C-2' dan C-6'. Tiga sinyal karbon metin pada cincin A muncul pada δ 103,2 ppm (C-4), δ 95,2 ppm (C-8), dan δ 94,4 ppm (C-6), di mana pergeseran ke medan tinggi (*upfield*) disebabkan oleh efek donasi elektron dari gugus -OH pada C-5 dan -OCH₃ pada C-7 yang meningkatkan kerapatan elektron pada cincin A. Cincin C memberikan sinyal khas flavanon pada δ 79,3 ppm untuk karbon metin

kiral C-2, serta δ 43,5 ppm untuk karbon metilen C-3. Pergeseran C-2 yang lebih tinggi dibandingkan C-3 disebabkan oleh pengaruh langsung dari atom oksigen yang terikat padanya. Selain itu, sinyal pada δ 55,8 ppm dikonfirmasi sebagai karbon dari gugus metoksi (-OCH₃) pada posisi C-7.

Tabel 3. Interpretasi data spektrum ¹³C-NMR pinostrobin

Geseran kimia (ppm)	Jumlah atom C	Gugus
195,8	1	C=O
168,1	1	Ar-C 7
164,2	1	Ar-C 5
163,9	1	Ar-C 9
162,9	1	Ar'-C 1'
138,5	1	Ar'-C 4'
128,9	2	Ar'-C 3', 5'
126,2	2	Ar'-C 2', 6'
103,2	1	Ar-C 4
95,2	1	Ar-C 8
94,4	1	Ar-C 7
79,3	1	O-CH-CH ₂
55,8	1	O-CH ₃
43,5	1	O=C-CH ₂ -CH

Kromatogram LC-MS/MS dengan metode ESI positif menunjukkan puncak ion molekuler pada m/z 271,50. Nilai ini diidentifikasi sebagai spesies [M+H]⁺ (ion molekuler terprotonasi). Massa ini sesuai dengan berat molekul teoritis pinostrobin (C₁₆H₁₄O₄) yang dihitung sebesar 270,28 g/mol, ditambah satu proton (H⁺) menghasilkan 271,28 g/mol, sangat mendekati nilai m/z 271,50 yang teramati.



Gambar 3. Struktur pinostrobin

Berdasarkan data spektrum IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, dan LC-MS/MS yang telah dibahas dapat disimpulkan bahwa isolat yang diperoleh

adalah pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavanon) dengan struktur seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.

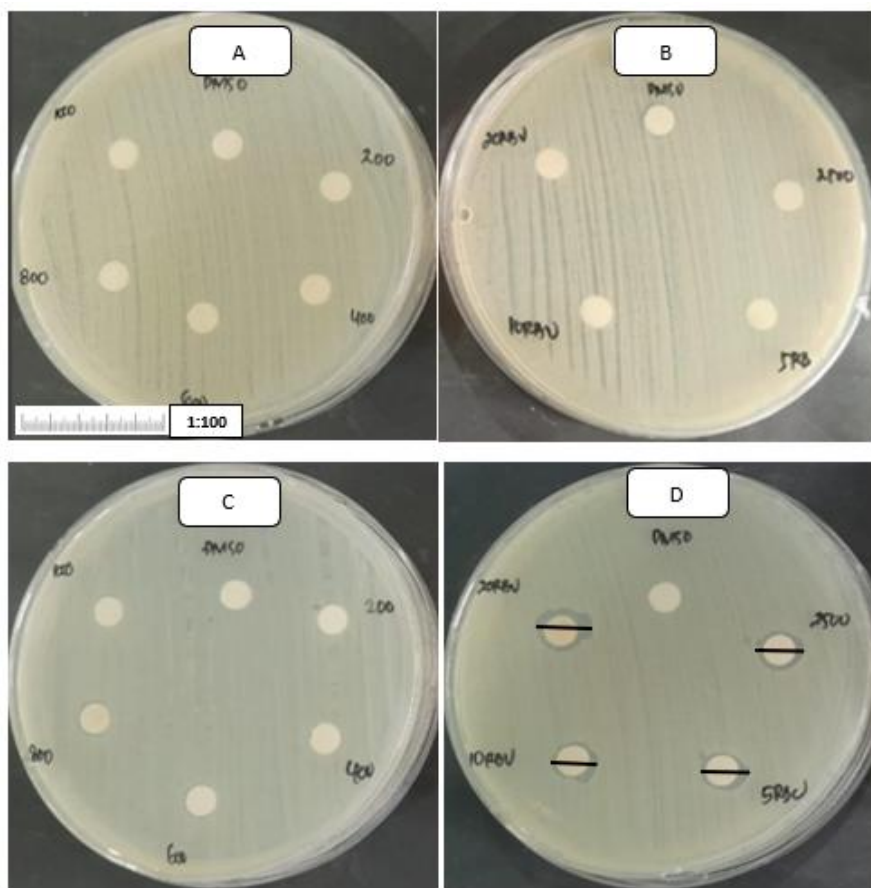
Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri digunakan dua perbandingan uji antibakteri dari pinostrobin dan fraksi *n*-heksana dari rimpang temu kunci. Masing masing sampel mempunyai dosis yang sudah ditentukan yaitu 200-20.000 ppm. Dimana penelitian ini menggunakan metode Kirby-Bauer dengan *disk diffusion*.

Tabel 4. Rerata diameter pinostrobin dan fraksi *n*-heksana

No.	Dosis perlakuan (ppm)	Rerata diameter pinostrobin (mm)	Rerata diameter fraksi <i>n</i> -heksana (mm)
1.	Kontrol Positif	39	39
2.	Kontrol Negatif	0	0
3.	200	0	0
4.	400	0	0
5.	600	0	0
6.	800	0	0
7.	1.000	0	0
8.	2.500	0	7,50
9.	5.000	0	7,98
10.	10.000	0	8,33
11.	20.000	0	10,00

Hasil penelitian pada Tabel 4 menunjukkan bahwa zona inhibisi terbentuk pada dosis 2.500 ppm hingga dosis 20.000 ppm dari fraksi *n*-heksana. Berdasarkan tabel diatas, respon hambatan antibakteri tergolong lemah pada dosis 20.000 ppm, sedangkan pada dosis 2.500-10.000 ppm meskipun mempunyai zona hambat akan tetapi tidak mempunyai efektivitas antibakteri. Hal ini di jelaskan bahwa klasifikasi dari zat antibakteri dibedakan menjadi 4 tingkatan sesuai diameter zona hambat, yaitu diameter < 10 mm tidak ada efektivitas, diameter 10-15 mm berarti mempunyai efek yang lemah, diameter hambat 16-20 mm berarti sedang, diameter hambat >20 mm dengan respon hambatan pertumbuhan kuat [17]. Hasil zona inhibisi pengujian difusi cakram terhadap *S. aureus*. dari pinostrobin dan fraksi *n*-heksana dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil pengujian difusi cakram terhadap *S. aureus*. dari pinostrobin yang tidak terbentuk ZOI dan (A dan B) dan fraksi *n*-heksana yang terbentuk ZOI dengan tanda panah (C dan D)

Hasil yang didapatkan antara pinostrobin dan fraksi *n*-heksana menunjukkan bahwa yang mempunyai efek antibakteri yaitu fraksi *n*-heksana. Hal ini berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Pada fraksi *n*-heksana mengandung beberapa golongan flavonoid dengan jumlah besar seperti pinostrobin (71,3%), *5-methoxy-7-hydroxyflavanone* (9,3%), dan pinocembrin (7,1%) [16]. Mekanisme kerja senyawa golongan flavonoid dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba belum diketahui secara luas. Mekanisme kerjanya diduga terjadi melalui beberapa jalur, antara lain merusak membran sitoplasma, menghambat pembentukan protein, mengganggu proses metabolisme, menghalangi sintesis dinding sel, serta menekan pembentukan membran sel [18].

Variasi dosis yang diberikan turut berpengaruh signifikan terhadap munculnya efek antibakteri yang diinginkan. Berdasarkan hasil pengamatan, terlihat bahwa aktivitas antibakteri semakin meningkat seiring dengan peningkatan

konsentrasi dosis fraksi *n*-heksana secara berurutan dari 2.500 ppm, 5.000 ppm, 10.000 ppm, hingga 20.000 ppm. Hal ini mengindikasikan adanya korelasi positif yang kuat antara tingkat konsentrasi dengan diameter zona hambat yang terbentuk. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan [19]. Sedangkan sangat berkebalikan dengan pinostrobin. Pinostrobin tidak memberikan aktivitas antibakteri dapat disebabkan oleh sifat fisikokimia seperti kelarutan yang rendah dalam media bakteri yang bersifat polar [20]. Beberapa penelitian lain justru melaporkan aktivitas antibakteri dari pinostrobin. Penelitian oleh Melania [21] menggunakan metode difusi sumuran dengan variasi konsentrasi 50-150 ppm menunjukkan bahwa pinostrobin murni menghasilkan zona hambat 11,3-12,6 mm terhadap *S. aureus* ATCC 25923, sementara Liana *et al.* [22] melaporkan nilai MIC (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak heksana *Boesenbergia rotunda* yang mengandung pinostrobin sebagai

senyawa utama adalah 10 µg/mL terhadap *S. aureus*. Adanya perbedaan hasil ini terutama disebabkan oleh perbedaan metode uji. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram, yang kurang sesuai untuk senyawa lipofilik seperti pinostrobin (Log P ~2,28). Senyawa dengan kelarutan rendah dalam air sulit berdifusi dari cakram ke media agar polar, sehingga konsentrasi yang mencapai bakteri sangat rendah. Sebaliknya, penelitian yang melaporkan aktivitas positif umumnya menggunakan metode mikrodilusi cair atau difusi sumuran yang lebih sensitif karena memungkinkan kontak langsung antara senyawa dengan bakteri dalam media cair atau sumuran agar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian isolasi, karakterisasi, dan uji aktivitas antibakteri pinostrobin serta fraksi *n*-heksana dari rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap *Staphylococcus aureus*, berhasil diisolasi senyawa pinostrobin yang dikonfirmasi melalui FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, dan LC-MS/MS. Uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram menunjukkan bahwa pinostrobin murni tidak menghasilkan zona hambat pada konsentrasi 200-20.000 ppm, sedangkan fraksi *n*-heksana baru menunjukkan aktivitas lemah (zona hambat 10,00 mm) pada konsentrasi tertinggi 20.000 ppm. Perbedaan hasil dengan penelitian lain disebabkan oleh perbedaan metode uji (difusi cakram kurang sesuai untuk senyawa lipofilik), bentuk sampel (isolat murni vs fraksi yang mengandung efek sinergis), serta kelarutan pinostrobin yang rendah dalam media polar. Dengan demikian, dalam kondisi uji difusi cakram yang digunakan, pinostrobin murni tidak menunjukkan aktivitas antibakteri yang teramati, sehingga diperlukan metode uji mikrodilusi cair dan upaya peningkatan kelarutan untuk mengungkap potensi antibakterinya secara lebih akurat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dengan No. Kontrak 223/B31/U.10/Dewan Riset/B.07/I/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] World Health Organization, "13 critical interventions that support countries to address antimicrobial resistance in human health," *WHO*, Oct. 19, 2023. [Online]. Available: <https://www.who.int/news/item/19-10-2023-13-critical-interventions-that-support-countries-to-address-antimicrobial-resistance-in-human-health>. [Accessed: Feb. 16, 2026].
- [2] E. Novitasari and D. Diptaningsari, "Patogen pembawa penyakit *Staphylococcus aureus* dan prevalensinya pada pangan hasil pertanian," *J. Ris. Agribisnis dan Peternak.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–13, 2022.
- [3] M. Mikłasińska-Majdanik, M. Kępa, R. D. Wojtyczka, D. Idzik, and T. J. Wąsik, "Phenolic compounds diminish antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* clinical strains," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 15, no. 10, p. 2321, 2018, doi: 10.3390/ijerph15102321.
- [4] G. Y. C. Cheung, J. S. Bae, and M. Otto, "Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*," *Virulence*, vol. 12, no. 1, pp. 547–569, 2021, doi: 10.1080/21505594.2021.1878688.
- [5] J. M. Kwiecinski and A. R. Horswill, "*Staphylococcus aureus* bloodstream infections: Pathogenesis and regulatory mechanisms," *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 53, pp. 51–60, 2020, doi: 10.1016/j.mib.2020.02.005.
- [6] N. Ahmad-Mansour *et al.*, "*Staphylococcus aureus* toxins: An update on their pathogenic properties and potential treatments," *Toxins*, vol. 13, no. 10, p. 677, 2021, doi: 10.3390/toxins13100677.
- [7] H. M. A. AlSheikh *et al.*, "Plant-based phytochemicals as possible alternative to antibiotics in combating bacterial drug resistance," *Antibiotics*, vol. 9, no. 8, p. 480, 2020, doi: 10.3390/antibiotics9080480.
- [8] A. Hrioua *et al.*, "Complexation of amoxicillin by transition metals: Physico-chemical and antibacterial activity evaluation," *Bioelectrochemistry*, vol. 142, p. 107936, 2021, doi: 10.1016/j.bioelechem.2021.107936.
- [9] M. Song *et al.*, "Plant natural flavonoids against multidrug resistant pathogens," *Adv.*

- Sci.*, vol. 8, no. 15, p. 2100749, 2021, doi: 10.1002/adv.202100749.
- [10] J. Rondevaldova, J. Hummelova, J. Tauchen, and L. Kokoska, "In vitro antistaphylococcal synergistic effect of isoflavone metabolite demethyltaxasin with amoxicillin and oxacillin," *Microb. Drug Resist.*, vol. 24, no. 1, pp. 24–29, 2018, doi: 10.1089/mdr.2017.0033.
- [11] A. K. Hati, N. Dyahariesti, and R. Yuswantina, "Penetapan kadar flavonoid dan uji aktivitas antibakteri ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus*) dan temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*," *Indones. J. Pharm. Nat. Prod.*, vol. 2, no. 2, pp. 65–72, 2019, doi: 10.35473/ijnp.v2i2.264.
- [12] M. T. T. Nguyen *et al.*, "A new flavanone derivative from the rhizomes of *Boesenbergia pandurata*," *Nat. Prod. Res.*, vol. 36, no. 8, pp. 1959–1965, 2022, doi: 10.1080/14786419.2020.1837822.
- [13] H. Kim, C. Kim, D. U. Kim, H. C. Chung, and J. K. Hwang, "Inhibitory effects of *Boesenbergia pandurata* on age-related periodontal inflammation and alveolar bone loss in Fischer 344 rats," *J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 28, no. 3, pp. 357–366, 2018, doi: 10.4014/jmb.1711.11043.
- [14] S. P. N. Keliat, D. Darniati, A. Harris, E. Erina, R. Rinidar, and F. Fahrurrazi, "The effect of fingerroot rhizome (*Boesenbergia pandurata*) extract on the growth of *Staphylococcus aureus* in vitro," *J. Med. Vet.*, vol. 13, no. 2, pp. 178–185, 2019, doi: 10.21157/j.med.vet.v13i2.3654.
- [15] M. Risma *et al.*, "Isolasi dan uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder pada ekstrak *n*-heksan rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*)," *J. Sains Teknol. dan Lingkung.*, vol. 2, no. 6, pp. 245–249, 2023.
- [16] A. P. Widiyana, S. Herlina, R. Risadiansyah, and G. Ashari, "Major phytochemicals of *Boesenbergia pandurata* rhizome by LC-HRMS and virtual screening of *Staphylococcus aureus* inhibition," in *BIO Web Conf.*, vol. 209, p. 03008, 2026, doi: 10.1051/bioconf/202620903008.
- [17] F. H. Matondang, M. S. Lubis, R. Yuniarti, and Z. Rani, "Formulasi masker wajah serbuk nano teh celup bekas dan aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*," *J. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–21, 2025, doi: 10.36490/journal-jps.com.v8i1.685.
- [18] A. Baran, A. Kwiatkowska, and L. Potocki, "Antibiotics and bacterial resistance—A short story of an endless arms race," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, no. 6, p. 5777, 2023, doi: 10.3390/ijms24065777.
- [19] M. Rohmaniyah, "Uji antioksidan ekstrak etanol 80% dan fraksi aktif rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) menggunakan metode DPPH serta identifikasi kandungan senyawa aktif," Skripsi, Fak. Sains dan Teknol., Univ. Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia, 2016. [Online]. Available: <http://etheses.uin-malang.ac.id/2874/>
- [20] A. P. Widiyana, "Computation design: Nanostructured lipid carrier formula of pinostrobin," *J. Ilmu Farm. dan Farm. Klin.*, vol. 21, no. 1, pp. 22–30, 2024, doi: 10.31942/jiffk.v21i1.8378.
- [21] R. Melania, "Isolasi dan uji aktivitas antibakteri metabolit sekunder pada ekstrak n-heksan rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*)," Skripsi, Universitas Mataram, 2023.
- [22] Liana *et al.*, "*Boesenbergia rotunda* and its pinostrobin for atopic dermatitis: dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase-2 inhibitor and its mechanistic study through steady-state kinetics and molecular modeling," *Antioxidants*, vol. 13, no. 1, p. 74, 2024, doi: 10.3390/antiox13010074.