UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSANA DAN ETIL ASETAT DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan Untuk Menyusun Karya Tulis Imiah

Prodi D III Farmasi

Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Magelang

Disusun oleh:

Fatimah Azzahra

NPM: 22.0602.0005

PROGRAM STUDI D III FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAGELANG

TAHUN 2024

BAB 1
PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Hutan mangrove Indonesia memiliki luas 3.735.250 ha yang merupakan 50% luas mangrove Asia, serta hampir 25% luas hutan mangrove dunia. Hutan mangrove memiliki peran yang penting terhadap lingkungan sebagai penahan abrasi dan penghambat bahan-bahan pencemar perairan di Pantai. Selain itu, hutan mangrove berfungsi sebagai bahan obat dan dapat dijadikan sebagai pengawet alami pangan karena memiliki kandungan antibakteri (Jayadi et al., 2018).

Bakteri, jamur, virus, dan lain-lain adalah beberapa contoh mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia. Bakteri adalah jenis mikroorganisme yang paling sering menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksi berat, sepsis, syok septik, dan disfungsi multiorgan lebih sering terjadi akibat infeksi bakteri (Henaulu & Kaihena, 2020). Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang paling sering menginfeksi orang. Antibiotik merupakan salah satu agen anti bakteri yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi bakteri. Namun, resistensi akan berkembang jika digunakan secara tidak tepat. Resistensi antibiotik disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang sering dan berkepanjangan, sehingga menghasilkan mikroorganisme patogen yang dapat beradaptasi terhadap antibiotik (Sapada & Ibrahim Edi, 2018).

Penemuan agen antibakteri baru yang efektif sangat penting karena resistensi antibiotik semakin meningkat. Penelitian bahan alam sebagai sumber agen antimikroba potensial terus meningkat, terutama pada tanaman yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional. Menurut Kumontoy & Mulianti, (2023), meningkatnya kesadaran akan kesehatan berdampak pada penggunaan obat herbal tradisional yang berasal dari tumbuhan, yang telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sejak lama menyebabkan banyak peneliti menggunakan bahan herbal seperti tanaman daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) sebagai alternatif antibakteri.

Penelitian yang dilakukan oleh (Sunyaluri & Rabima, 2021) mengatakan bahwa daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) memiliki fraksi etil asetat yang melawan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Beberapa penelitian lain juga menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) seperti penelitian yang dilakukan oleh (Angghita et al., 2020) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun daruju menghambat bakteri gram positif lebih baik daripada bakteri gram negatif, dengan nilai KHM dan KBM masing-masing 6 mg/mL dan 9 mg/mL. Selain itu, hasil penelitian yang dilakukan oleh Latief et al., (2022) meneliti bahwa senyawa golongan triterpenoid yang berhasil diisolasi dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan zona hambat 1,41mm.

Daun jeruju (*Achanthus ilicifolius* L.) merupakan tanaman kelompok mangrove yang mengandung komponan senyawa fenolik antibakteri seperti flavonoid dan alkaloid (Putu et al., 2024). Kurangnya data ilmiah mengenai efektivitas antibakteri dari ekstrak daun jeruju, terutama terhadap *Staphylococcus aureus*, masih terbatas dan memerlukan pengujian lebih lanjut. Oleh karena itu, peneliti bertujuan untuk meneliti bagaimana efektivitas fraksi n-*Heksana* dan etil asetat daun jeruju terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebagai upaya pengembangan alternatif antibakteri yang potensial. Penelitian ini diharapkan dapat mengungkap efektivitas senyawa-senyawa dalam daun jeruju terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian ini dapat membuka peluang untuk pengembangan terapi antibakteri alami yang lebih efektif serta dapat mendukung pemanfaatan tanaman lokal dalam bidang farmasi dan kesehatan.

B. Rumusan Masalah

a. Bagaimana Aktivitas Antibakteri Fraksi n-*Heksana* dan Etil Asetat Daun Jeruju terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus?*
b. Golongan senyawa manakah dalam fraksi teraktif yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

a. Mengetahui Aktivitas Antibakteri Fraksi n-*Heksana* dan Etil Asetat Daun Jeruju terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*
b. Mengetahui golongan senyawa manakah dalam fraksi teraktif yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

Penelittian ini akan meningkatkan pengetahuan ilmiah tentang sifat antibakteri tanaman jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dan memberikan bukti empiris tentang seberapa efektif tanaman ini melawan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini juga dapat berfungsi sebagai landasan atau referensi untuk studi mendatang yang mengkaji senyawa aktif dalam tanaman seperti daun jeruju.

E. Keaslian penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Penulis	Judul	Jenis penelitian	Hasil	Perbedaan
Marwah, dkk,, (2023)	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*	Eksperimental	Ekstrak buah jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) memiliki potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, ditunjukkan oleh zona bening di sekitar kertas cakram. Potensi ini terkait dengan kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenol, flavonoid, tannin, saponin, dan steroid. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah 500 mg/ml, dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 1000 mg/ml, yang menunjukkan efektivitas antibakterinya.	Konsentrasi ekstrak dan kontrol positif, penggunaan sampel ekstrak dan metode ekstraksi.
Latief, dkk ,. (2022)	Isolasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Dan Aktivitas Antibakterinya Terhadap *S. aureus* Dan *E. coli*	Eksperimental	Pengujian ini menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid yang diisolasi dari ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* memiliki gugus alifatik C-H, -OH terikat, C-O, dan C=C siklik, serta gugus dimetil. Senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri lemah terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 1,41 mm dan *Escherichia coli* dengan zona hambat 0,75 mm.	Metode uji, kontrol positif dan negatif
Putu, dkk., (2024)	Uji Aktivitas Antibakteri Rebusan dan Infusa Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)	Eksperimental	Penelitian menunjukkan bahwa infusa dan rebusan daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) pada konsentrasi 30%, 60%, dan 90% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)	Bentuk sediaan uji, bakteri uji, konsentrasi larutan dan kontrol positif.

Penulis	Judul	Jenis penelitian	Hasil	Perbedaan
Pringgenies, *dkk.*, (2020)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Bakteri *Multi Drug Resistant*	Eksperimental	Bahwa ekstrak akar, batang, daun jeruju *(Acanthus ilicifolius)* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella, Escherichia coli, Entero 5, Entero 10* dan *Pseudomonas sp.*	Kontrol positif, konsentrasi larutan, bakteri uji

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Teori Masalah

1. Daun jeruju



Gambar 1.Daun Jeruju *(Acanthus ilicifolius* L.*)*

(Koleksi pribadi)

Tanaman Jeruju secara alami tumbuh sebagai vegetasi mangrove di lahan basah di muara sungai. *Acanthus ilicifolius* adalah tumbuhan yang muncul di akuatik. Di tempat habitat jenis ini, wilayah mangrove terletak dimuara sungai, yang merupakan hilir sungai dan merupakan sumber berbagai limbah atau pencemar yang dihasilkan oleh aktivitas manusia. Daun jeruju memiliki ciri-ciri berikut: tangkainya memiliki duri, daunnya seperti bersayap dua, tepinya bervariasi, rata, zigzag, atau bergerigi; daun berwarna hijau dengan permukaan kasar; tulangnya menyirip, heterogen, dan memiliki daging daun yang kaku; dan ujungnya runcing, lebar, bermata dua, runcing (Harahap, 2022). *Acanthus ilicifolius* memiliki bunga yang indah sehingga dapat digunakan sebagai tumbuhan hias atau tumbuhan ornamental, selain itu digunakan sebagai bioindikator pencemaran (Johannes & Sjafaraenan, 2017).

2. Klasifikasi

Daun jeruju *(Acanthus ilicifolius* L.*)* atau dikenal dengan pohon mangrove dapat tumbuh di tepi pantai dan hutan. Di bawah ini merupakan klasifikasi jeruju *(Acanthus ilicifolius* L.*)* yaitu:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Scrophulariales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: Acanthus
Spesies	: *Acanthus ilicifolius* L.
Nama daerah	: Jeruju (Melayu), daruju (Jawa)
Nama asing	: Lao shu le (C), *sea holly* (I) (Harahap, 2022).

3. Morfologi

Tipe percabangan monopodial dan arah tumbuh tegak lurus, batang daruju memiliki karakteristik. Batangnya berbentuk bulat dan berwarna hijau muda, dan setiap bagian batangnya memiliki bulu dan getah seperti lendir berwarna putih. Batang akan berwarna lebih muda semakin tinggi ke atas. Tanaman baru akan dibentuk dari batang tanaman daruju yang tumbuh horizontal di permukaan tanah. Tanaman memiliki daun, yang berwarna hijau karena fotosintesis dan mengandung klorofil. Setiap tanaman pasti memiliki karakteristik yang sama dengan tanaman daruju. Daunnya adalah salah satu ciri khasnya. Pangkal daun runcing dengan toreh bergerigi kasar, dan setiap ujung anak tulang cabang memiliki duri tajam dan keras berwarna coklat muda untuk melindungi tubuh (Jannah et al., 2022).

Tulang daun menyirip terdiri dari satu ibu tulang dari pangkal hingga ujung daun yang menjadi terusan tangkai daun, dan dari ibu tulang ini keluar tulang cabang dengan susunan mirip sirip ikan. Tulang daun memiliki jeruju berwarna putih dan duri tajam berwarna coklat muda

pada setiap ujungnya. Hasil identifikasi daun menunjukkan bahwa tanaman daruju memiliki daun depan berwarna hijau tua dan daun belakang berwarna biru laut. Tanaman ini memiliki daun yang panjangnya bisa mencapai 35 cm, dengan daun yang terlebar 9 cm dan tangkai daun yang panjangnya 1,5 cm. dengan filotaksis folia opposita, di mana dua daun saling berhadapan di setiap buku daun. Bunga jeruju adalah spesies yang sulit ditemukan, termasuk bunga majemuk tak berbatas dengan tangkai bunga yang tumbuh di bagian tunas. Bunga jeruju berbibir dua dengan mahkota thistle di pangkal dan ujung putih, dan braktea hijau tua berfungsi sebagai tempat perlekatan mahkota. Satu putik berwarna hijau muda dan empat benang sari. Bunga ini memiliki panjang 13 cm dan tinggi tangkai 13 cm (Jannah et al., 2022).

4. Ekstraksi (Maserasi)

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi bahan aktif dari simplisia tumbuhan atau simplisia hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Seluruh atau hampir seluruh pelarut kemudian diuapkan dan sisa massa atau bubuk diolah hingga memenuhi standar yang telah ditetapkan. Ada berbagai jenis ekstra yaitu ekstrak cair, ekstrak pekat, dan ekstrak kering (Riyanto, 2023).

Ekstraksi tumbuhan obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika bahan padat atau cair dari padatan yaitu tumbuhan obat. Ekstrak tumbuhan obat yang diproduksi oleh simplisia dapat digunakan sebagai bahan awal, produk antara, atau bahan pada produk jadi. Untuk itu ekstrak yang dihasilkan harus memenuhi standar mutu mulai dari bahan baku hingga pengolahan dan pengujian produk. Beberapa faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak antara lain faktor kimia seperti jenis dan jumlah senyawa, cara ekstraksi , dan pelarut yang digunakan (Riyanto, 2023). Maserasi merupakan metode penyarian zat aktif menggunakan pelarut yang sesuai dengan pengadukan yang dilakukan beberapa kali pada suhu kamar selama periode waktu tertentu. Maserasi termasuk

kedalam metode cara dingin yang dapat melindungi senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap pemanasan salah satunya adalah flavonoid (Anggraini & Kusuma, 2019).

5. Fraksinasi

Metode fraksinasi didasarkan pada kepolaran yang digunakan untuk memisahkan dan mengelompokkan bahan kimia dalam ekstrak. Fraksinasi adalah proses di mana dua pelarut yang tidak tercampur digunakan dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, yang memungkinkan senyawa metabolit sekunder untuk tertarik sepenuhnya oleh pelarut.

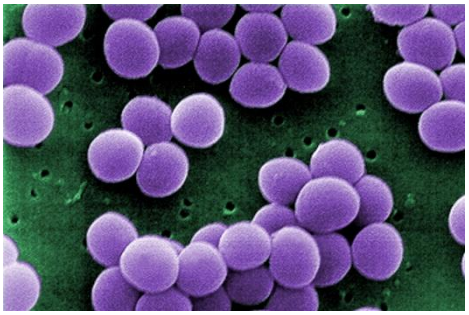
Metode fraksinasi digunakan sebagai referensi untuk menentukan sifat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (senyawa target). Metode ini memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain karena dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolaran mereka karena senyawa polar larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa semi polar dan non polar larut dalam pelarut non polar. Karena metode fraksinasi memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya, pemilihan pelarut untuk fraksinasi bergantung pada sifat analitnya. Sifat analit dan pelarut harus memiliki karakteristik yang sama. Pada penelitian ini, pelarut heksana (non polar) dan etil asetat digunakan untuk proses fraksinasi (Putri et al., 2023).

6. Skrining Fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis

Skrining fitokimia merupakan analis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder. Suatu ekstrak dari bahan alam terdiri atas berbagai macam metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologinya. Senyawa-senyawa tersebut dapat diidentifikasi dengan pereaksi-pereaksi yang mampu memberikan ciri khas dari setiap golongan dari metabolit sekunder. Skrining fitokimia menjadi langkah awal dalam suatu penelitian yang bermaksud untuk memberikan gambaran terkait kelompok senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Skrining fitokimia pada sampel bahan alam baik dalam bentuk simplisia maupun dalam bentuk basah terdiri dari pemeriksaan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid atau steroid, tannin, dan saponin (Saragih & Arsita, 2019). Pengujian ini bisa dilakukan secara kualitatif, semi kuantitatif, atau secara kuantitatif berdasarkan capaian yang diharapkan. Uji kualitatif dapat dilaksanakan melalui reaksi warna dengan menggunakan pereaksi tertentu (Vifta, 2018). Tanaman jeruju diketahui merupakan tanaman yang kaya akan sumber obat dan mengandung beragam senyawa fitokimia karena habitat tumbuhnya pada daerah yang heterogen.

Metode KLT (Kromatografi lapis tipis) merupakan metode untuk mengkonfirmasi lebih lanjut hasil dari skrining fitokimia. Kromatografi Lapis Tipis digunakan untuk menganalis sejumlah kecil zat organik, termasuk menentukan jumlah partikel metabolit sekunder. Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode kromatografi cair yang terdiri dari dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (eluen). Fase gerak atau elusi biasanya terdiri atas campuran-campuran pelarut yang daya larutnya baik mendorong elusi dan pemisahan. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh *add up to* polaritas pelarut, polaritas fase diam, dan karakteristik komponen sampel (Pratiwi et al., 2023).

7. Uji Aktivitas Antibakteri (Bakteri *Staphylococcus aureus)*



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus*

Antibakteri adalah zat yang memiliki kemampuan untuk menghentikan atau bahkan membunuh bakteri dengan menghentikan metabolisme mikroba yang merugikan. Proses yang dilakukan oleh senyawa antibakteri meliputi penghentian sintesis dinding sel, penghentian permeabilitas dinding sel bakteri, penghentian aktivitas enzim, dan penghentian sintesis asam nukleat dan protein (Pertiwi et al., 2022). Melalui mekanismenya, antibakteri dapat menghambat atau membunuh bakteri dalam beberapa cara. Antibakteri berfungsi dengan menghentikan metabolisme sel bakteri, sintesis dinding sel bakteri, keutuhan membran sel bakteri, sintesis protein sel bakteri, dan sintesis asam nukleat sel bakteri (Kolopita et al., 2022)

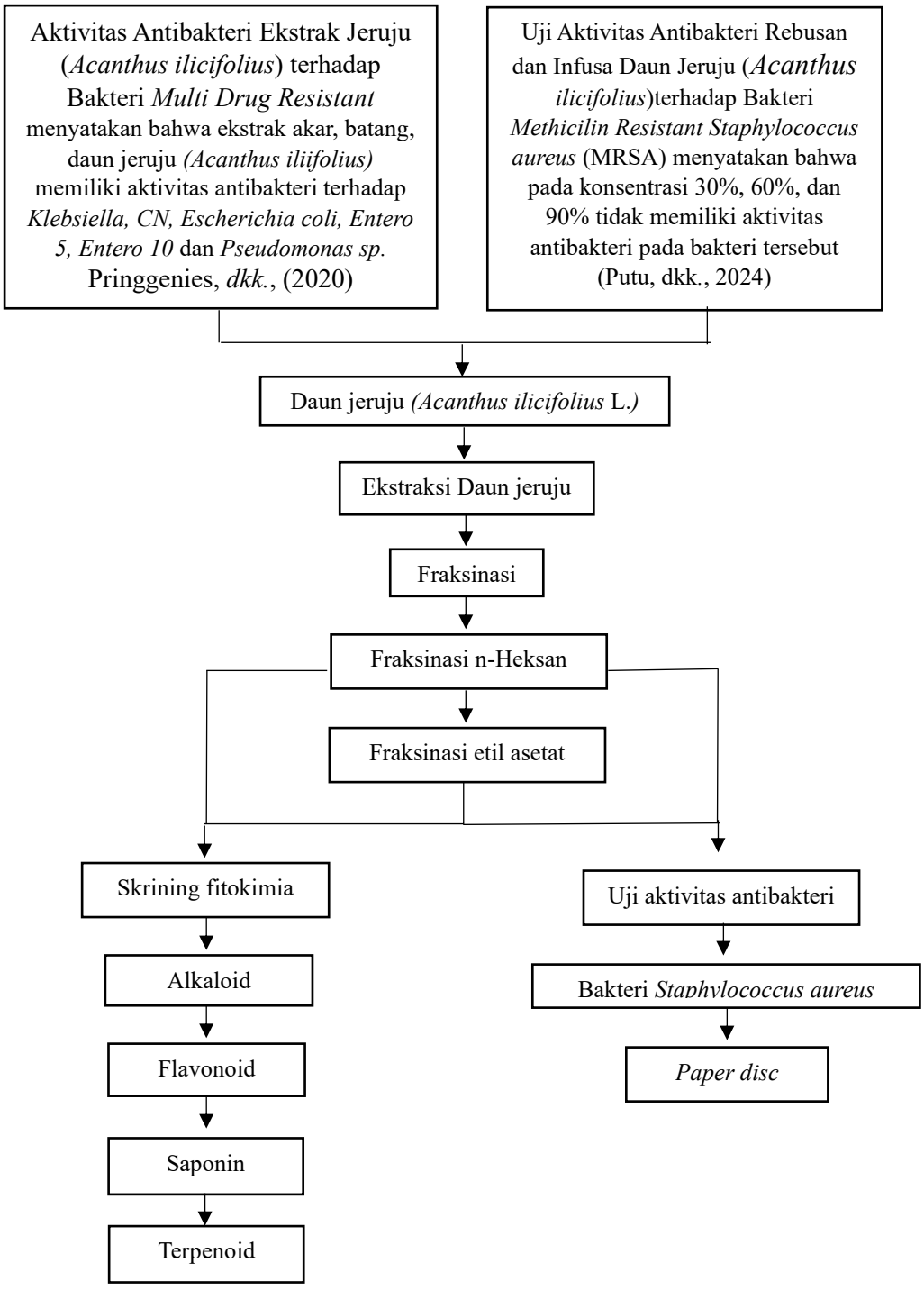
Bakteri staphylococcus berukuran 0,5–1 μm, berpasangan atau bergerombol, nonmotil, mesofil, dan anaerob. Mereka tidak memiliki spora. Bakteri *Staphylococcus* memiliki kelompok sel yang mirip dengan kelompok buah anggur, tetapi sel-selnya juga dapat berpasangan dan berbentuk rantai atau terpisah pada biakan cair. *Staphylococcus aureus* adalah keluarga bakteri gram positif yang terdiri dari bakteri *coccus* dan bakteri gram negatif. Bakteri ini berbentuk kokus dan tidak bergerak, tidak memiliki spora, dapat menjadi anaerob, memiliki katalase positif dan oksidasi negatif (Rokhim, 2023). Von Recklinghausen menemukan *staphylococcus* pertama kali pada tahun 1871. *Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus epidermis* atau *albus,* dan *S. aureus* adalah tiga bakteri utama yang dapat menyebabkan

masalah kesehatan. Kelompok bakteri yang menyebabkan penyakit dan parasit pada manusia terdiri dari genus ini. *S. aureus* adalah salah satu bakteri yang paling umum di Indonesia (Trisia et al., 2018).

8. Metabolit sekunder dan Kandungan Senyawa

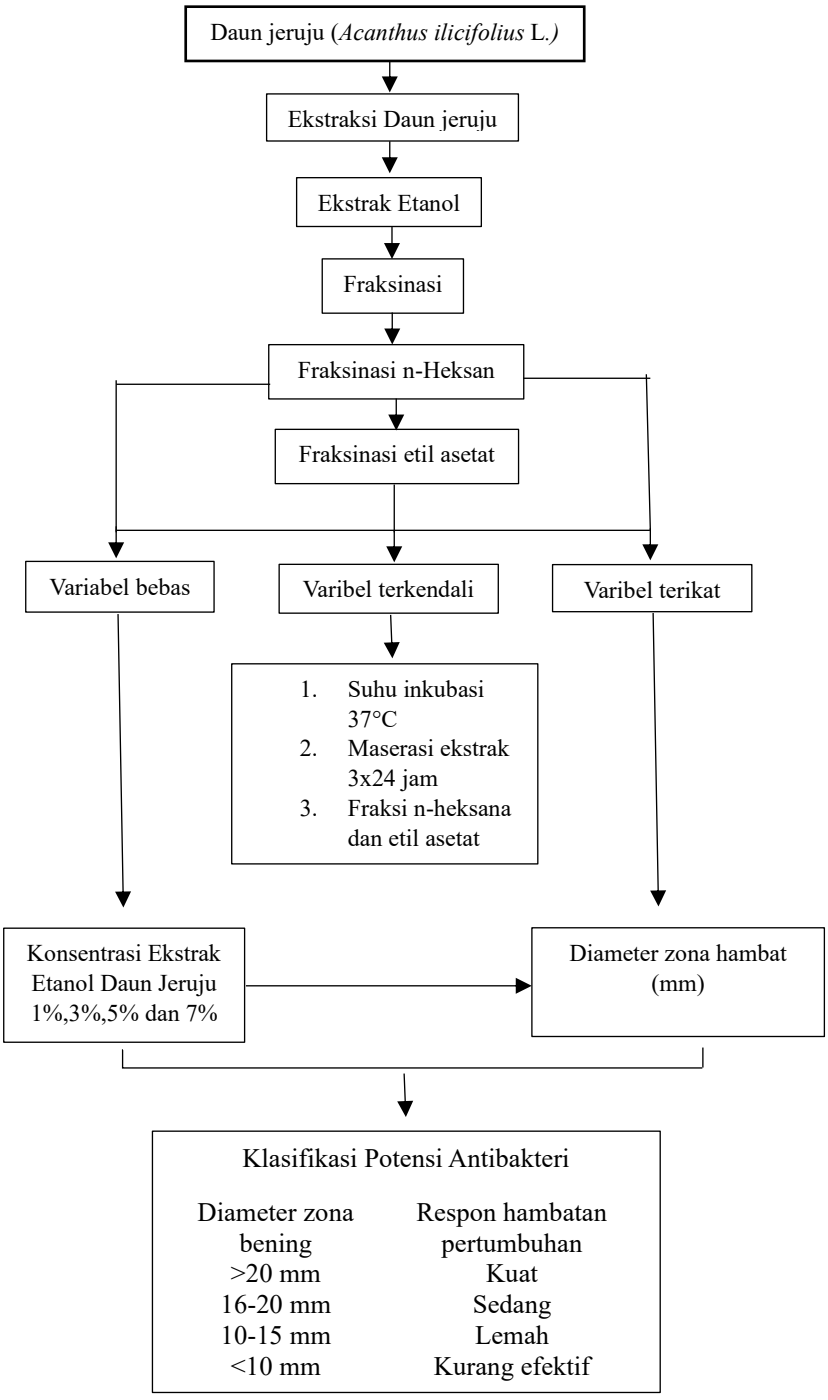
Jeruju dikenal sebagai bahan pangan dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif. Hal ini disebabkan oleh beberapa senyawa metabolit baru-baru ini yang memiliki struktur kimia, yang merupakan salah satu varietas dari "kelas-kelas kimia" yang diidentifikasi oleh tumbuhan mangrove dan tumbuhan terkaitnya. Berbagai senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan untuk berfungsi sebagai agen antibakteri dibuat dari beberapa senyawa metabolit *A. ilicifolius* menghasilkan steroid, saponin, flavonoid, dan tannin sebagai senyawa bioaktif. Senyawa antibakteri sebagai salah satu bahan antimikroba memiliki 3 macam bentuk kerja, yaitu bakteriostatik, bakterisidal dan bakterilitik. Mekanisme bakteriostatik adalah menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom, sedangkan bakterisidal mencegah pertumbuhan dan menyebabkan kematian, namun tidak menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Berbeda dengan bakterisidal, bakterilitik bekerja dengan cara membuat lisis sel-sel bakteri. Proses lisisnya sel bakteri dapat terlihat dari penurunan jumlah sel ataupun kekeruhan setelah bahan tersebut ditambahkan (Pringgenies et al., 2020). Ekstrak daun jeruju mengandung alkaloid, flavonoid, jenis polifenol, glikosida feniletanoid, dan kumarin. (Suryati, 2018).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 4. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Ha : Fraksi tertentu (heksana dan etil asetat) dari ekstrak daun jeruju akan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakeri *Staphylococcus aureus*.

H0 : Fraksi tertentu (heksana dan etil asetat) dari ekstrak daun jeruju tidak akan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakeri *Staphylococcus aureus*

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan berupa penelitian eksperimental yang dilakukan dengan uji fraksinasi ekstrak etanol daun jeruju (*Acanthus Ilicifolius*) serta mengetahui potensi daun jeruju dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus.*

B. Definisi Operasional dan Variabel Penelitian

a) Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol fraksi *n*-Heksana dan etil asetat daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) dengan konsentrasi 1%, 3%,5% dan 7%.

b) Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah terkait dengan diameter zona hambat fraksi *n*-Heksana dan etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

c) Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi dan waktu maserasi. Suhu inkubasi pada penelitian ini adalah 37°C, waktu maserasi yang digunakan 3x24 jam.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Jeruju (*Acanthus Ilicifolius*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Magelang pada bulan September 2024.

D. Instrumen dan Metode Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan
   a) Alat

      Alat yang digunakan berupa timbangan analitik (FX-3001), kertas saring, toples besar, alat penggiling simplisia, thermostat waterbath HH-6, alat gelas *(pyrex)*, corong pisah (*pyrex*), cawan porselen, *Laminar Air Flow,* aluminum foil, plastik wrap, piper disc, kertas cakram, jangka sorong, pinset, mikropipet, pipet tetes, *autoklaf, yellowtip, bluetip*.

   b) Bahan

      1.1 Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi yaitu daun jeruju dan etanol 96%.

      1.2 Bahan-bahan yang digunakan untuk fraksinasi yaitu n-hexana teknis, etil asetat teknis, etanol 96%, dan aquades atau air.

      1.3 Bahan-bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia yaitu *Libermann Burchad*, mayer atau dragendroff, HCl 2N dan amoniak.

      1.4 Bahan-bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu ekstrak etanol daun jeruju, etanol 96%, kloramfenikol 0,1%, *nutrient Agar* (NA), isolat bakteri *Staphylococcus aureus.*

E. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

   Determinasi tanaman dilakukan di Universitas Ahmad Dahlan (UAD) Yogyakarta. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian dan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan penelitian termasuk Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius L.)*

2. Persiapan Pembuatan Ekstrak

a) Ekstraksi Daun Jeruju

Daun Jeruju kering diambil dari Hutan Mangrove Demang Gedi yang terletak di Kabupaten Purworejo Jawa Tengah. Daun diambil yang sudah kering pada bulan Agustus 2024. Daun Jeruju digiling menggunakan alat penggiling sehingga menjadi serbuk. Perbandingan maserasi yang digunakan serbuk daun jeruju : etanol 96% adalah 1:5. Proses ekstraksi dilakukan dengan memasukkan 1 kg serbuk daun jeruju kedalam toples maserasi kemudian tuangkan etanol 96% sebanyak 5 liter dan diaduk hingga homegen. Proses pengadukan dilakukan setiap hari dengan membutuhkan waktu maserasi selama 3×24 jam (Paputungan et al., 2019). Maserat dipisahkan dari ampas menggunakan kertas saring dan dilakukan fraksinasi.

b) Fraksinasi

Sebanyak 5 g ekstrak dilarutkan dalam 50 mL aquades. Larutan selanjutnya dipartisi dengan menambahkan 50 mL n-heksan, dikocok dalam corong pisah dan didiamkan hingga terdapat dua lapisan (aquades pada lapisan bawah dan nheksan pada lapisan atas). Ambil lapisan nheksan. Dilakukan beberapa kali sampai lapisan n-heksan menjadi bening. Lapisan aquades kemudian difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat. Hasil fraksinasi dari n-heksan dan etil asetat dikentalkan menggunakan alat *waterbath* (Sembiring et al., 2016).

c) Skrining Fitokimia Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1) Pembuatan Fase Gerak (Eluen)

Masukkan dalam bejana kromatografi berupa n-heksana: etil asetat (7:3). Kemudian dimasukkan dalam bejana kromatografi. Dicelupkan kertas saring pada fase gerak. Bejana ditutup, lalu fase gerak dibiarkan menguap atau naik hingga membasahi kertas saring (Forestryana, 2020).

2) Pembuatan Fase Diam

Disiapkan lempeng KLT Silika G60 F_{254} berukuran 5 cm x 10 cm. Tandai batas atas lempeng 1 cm dan bawah 1 cm dan diatur jarak 1 cm untuk penotolan (Maulinda et al., 2024).

3) Flavonoid

Masing-masing fraksi daun jeruju ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 5cm dengan jarak eluen 1cm. Identifikasi digunakan eluen n-heksana : etil asetat (7:3). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan masing-masing fraksi dimasukkan dalam *chamber* dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam sinar UV $_{254 \text{ dan } 365 \text{ nm}}$ dengan cara mendeteksi bercak dengan menyemprotkan preaksi amoniah. Warna yang timbul jika fraksi positif flavonoid maka bercak akan berubah menjadi kuning coklat (Kiromah et al., 2022).

4) Alkaloid

Masing-masing fraksi daun jeruju ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam 2 mL dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 5cm dengan jarak eluen 1cm. Identifikasi digunakan eluen (n-heksan: etil asetat) (7:3). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Kemudian

lempeng KLT yang telah ditotol dengan masing-masing fraksi dimasukkan dalam *chamber* dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam sinar UV $_{254 \text{ dan } 365 \text{ nm}}$ dengan cara mendeteksi bercak dengan menyemprotkan preaksi dragendorff. Warna yang timbul jika fraksi positif alkaloid maka bercak akan berubah menjadi kuning (Rachma et al., 2020).

5) Pemeriksaan senyawa saponin

Masing-masing fraksi ditimbang 0,1gram dilarutkan dengan aquades 5 ml dimasukan kedalam tabung reaksi dan dikocok selama 1 menit. Apabila terdapat busa diambahan HCl 2N, apabila busa dapat bertahan selama 10 menit sehingga ketinggian 1-10 cm, maka fraksi daun jeruju positif mengandung saponin.

6) Pemeriksaan Senyawa Terpenoid

Masing-masing fraksi daun jeruju ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam 2 mL etanol, ditotolkan pada lempeng KLT dengan Panjang plat KLT 5cm dengan jarak eluen 1cm. Identifikasi digunakan eluen n-heksan: etil asetat (7:3). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam *chamber* dengan menggunakan kertas saring. Kemudian lempeng KLT yang telah ditotol dengan masing-masing fraksi dimasukkan dalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan dilakukan dalam sinar UV $_{254 \text{ dan } 365 \text{ nm}}$ dengan cara mendeteksi bercak dengan menyemprotkan *Liebermen-Bourchard*. Warna yang timbul jika fraksi positif terpenoid maka bercak akan berubah menjadi merah muda (Aritonang, 2022).

3. Uji Aktivitas Antibakteri

a) Sterilisasi Alat

Semua bahan dan alat yang digunakan dicuci hingga bersih lalu dikeringkan. Gelas dan pinset dibersihkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan media dibersihkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan alat gelas disterilkan menggunakan oven dengan suhu 160-170°C selama 2 jam. Jarum ose yang akan digunakan juga disterilkan dengan cara dibakar dengan nyala api pada bunsen.

b) Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Nutrien Agar sebanyak 7,28 gram ditimbang dan ditambahkan dengan aquadest sampai 260 mL dan dilarutkan hingga homogen. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoklaf* pada suhu 121ºC selama 15 menit, dan dibiarkan sampai media cukup dingin. Selanjutnya media *Nutrien Agar* yang masih cair dituang ke dalam 13 cawan petri yang sudah steril masing-masing sebanyak 20 mL. dan dibiarkan hingga memadat (Paputungan et al., 2019).

c) Pengujian Aktivitas Antibakteri

1. Pembuatan Larutan standar Mc Farland 0,5

Larutan H_2SO_4 sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan $BaCl_2.2H_2O$ sebanyak 0,05 mL dalam Erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh sebagai standar kekeruhan suspense mikroba uji (Paputungan et al., 2019).

2. Proses Kultur Bakteri dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* yang telah diinokulasi selama 3-4 jam dengan suhu 37ºC kemudian diambil 1 ml kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 9 mL larutan NaCL 0,9%. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan

magnetic stirrer dan dibandingkan dengan standar kekeruhan larutan Mc Farland 0,5 (Paputungan et al., 2019).

3. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

   Kontrol Positif untuk pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan Kloramfenikol *paper disc* dan untuk kontrol negatif menggunakan aquadest, methanol, larutan n-Heksan dan larutan etil asetat.

4. Pembuatan Larutan Uji

   Larutan uji fraksi n-heksan dan etil asetat 1%, 3%, 5% dan 7% dibuat dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 0,1 gr, 0,3 gr, 0,5 gr, dan 0,7 gr untuk setiap konsentrasi dan ditambahkan dengan metanol hingga 10 mL.

5. Pengujian Aktivitas Antibakteri

   Pada penelitian ini digunakan metode paper disc. Aktivitas penghambatanya di uji terhadap *Staphylococcus aureus* yang digunakan sebagai mikroorganisme uji. Digunakan kertas cakram yang berukuran 6 mm untuk pengujian aktivitas antibakteri. Media agar ditetesi suspense bakteri sebanyak 100 µL, diamkan selama 3-4 jam. Kemudian ditetesi larutan uji sebanyak 20 µL kedalam kertas cakram ditempat terpisah dengan berbagai konsentrasi kemudian didiamkan beberapa saat agar pelarutnya menguap kemudian diletakkan diatas permukaan agar. Kemudian masing-masing cawan petri diinkubasi dalam keadaan posisi terbalik pada suhu 37ºC selama 1x24 jam. Aktivitas antibakteri diamati berdasarkan pengukuran diameter daerah hambat atau daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong (Suryana et al., 2024).

4. Pengukuran Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat yang terbentuk ditandai dengan zona bening disekitar cakram kemudian diukur menggunakan jangka sorong dengan cara diukur diameter zona bening horizontal ditambahkan dengan diameter zona bening vertikal lalu dibagi dua. Rumusnya sebagai berikut:

$$\text{Diameter} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Dc = Diameter cakram (Paputungan et al., 2019)

Berikut klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri pada Tabel 2 (Mulyadi & Ria, 2017).

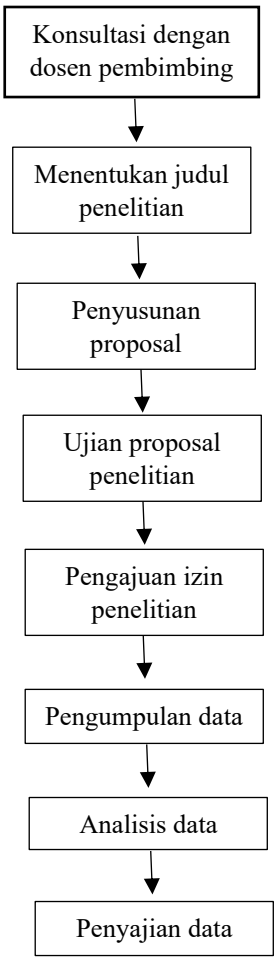
Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Kurang efektif

Tabel 2. klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri

5. Analisis Data

Data hasil menggunakan uji statistik *One Way* ANOVA dengan bantuan perangkat lunak SPSS. Data yang diperoleh dari penelitian ini diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan homogenitasnya dengan uji *Levene*. Jika data berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan uji *post-hoc LSD*. Jika data tidak terdistribusi normal, maka digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok yang bermakna. Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi analisis statistik.

F. Jalannya Penelitian



Gambar 5. Jalannya Penelitian

BAB V
PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan fraksi n-heksana dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata rata diameter zona hambat 10,65±0,67 mm setara dengan kontrol positif (kloramfenikol) yaitu 11,44±0,21.
2. Skrining fitokimia menunjukkan bahwa pada fraksi teraktif etil asetat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri. Namun, senyawa flavonoid dan alkaloid berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antibakteri, karena tidak terdapat pada fraksi n-heksana yang kurang aktif.

B. Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut terkait dengan melakukan pengujian terhadap fraksi etil asetat untuk mencari Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan menggunakan konsentrasi 0,5%, 0,25% dst hingga konsentrasi terkecil tidak menghasilkan zona hambat serta dilakukannya metode uji tambahan seperti metode dilusi untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) guna untuk mengetahui efektivitas fraksi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Angghita, A. T., Miftah, A. M., & Arumsari, A. (2020). Review Artikel : Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* L .) terhadap Beberapa Macam Bakteri Patogen. *Prosiding Farmasi*, *6*(2), 913–916.

Anggraini, D. I., & Kusuma, E. W. (2019). Uji Potensi Fraksi Etil Asetat Kulit Apel Hijau (*Pyrus malus* L.) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Secara *In Vivo*. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, *4*(1), 7–15.

Aritonang, N. S. (2022). Uji Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Ekstrak Metanol Andaliman (*Zanthoxylum acthopodium DC*) Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Journal Health and Science*, *6*(1), 90–98.

Azka, N., Jayak Pratama, K., Riska Permata, B., Studi Farmasi, P., Ilmu Kesehatan, F., & Duta Bangsa Surakarta Abstract, U. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan Fraksi Biji Buah Durian Montong (*Durio zibethinus Murr*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan, Desember*, *2023*(25), 624–639. https://doi.org/10.5281/zenodo.10433798

Bayu Kristianto, Y., Sulistyarini, I., & Suharsanti, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Air Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Dan Fraksi-Fraksinya Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Media Farmasi Indonesia*, *14*(2), 1546–1550.

Forestryana, D. A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, *11*(2), 113–124.

Harahap, S. N. ; L. N. U. N. S. (2022). Uji Daya Terima Keripik Daun Jeruju Dari Tanaman Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Di Desa Paluh Merbau Kecamatan Percut Sei Tuan Kabupaten Deli Serdang. *Jurnal Pendidikan Biologi*, *7*(2), 83–91.

Henaulu, A. H., & Kaihena, M. (2020). Potensi Antibakteri Ekstrak Eanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus In Vitro* Adudin. *Biofaal Journal*, *1*(1), 44–54.

Jannah, R., Budiretnani, D. A., Rahmawati, I., & Primandiri, P. R. (2022). Karakterisasi Tanaman Daruju (*Acanthus montanus* (Nees) T . Anderson) di Kabupaten Kediri. *Seminar Nasional Sains, Kesehatan, Dan Pembelajaran*, *1*(2), 458–462.

Jayadi, F., Sukainah, A., & Rais, M. (2018). Pemanfaatan Tepung Daun Mangrove Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Sebagai Pengawet Alami Bakso Ayam. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, *4*, S1–S13. https://doi.org/10.26858/jptp.v4i0.6906

Johannes, E., & Sjafaraenan, S. (2017). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhdap *Artemia salina Leach*. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, *2*(1), 56–59. https://doi.org/10.20956/bioma.v2i1.1974

Kiromah, N. Z. W., Fitriyati, L., & Septiani, S. W. (2022). Formulasi dan uji aktivitas sediaan hand sanitizer ekstrak daun ganitri (*Elaeocarpus ganitrus Roxb*). *Journal Farmasi Klinik Dan Sains*, *2*(1), 121–129.

Kolopita, P. S., Hariyadi, H., Sambou, C. N., & Tulandi, S. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Kulit Batang Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Majalah INFO Sains*, *3*(1), 19–26. https://doi.org/10.55724/jis.v3i1.46

Kumontoy, G. D., & Mulianti, D. D. T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Holistik*, *16*(3), 1–16.

Latief, M., , Meriyanti, N. Fadhilah dan I. L. Tarigan, A. N. Ayu, R. Maharani, E. A. dan, & Siregar, D. (2022). Isolasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) dan Aktivitas Antibakterinya Terhadap *S. Aureus* dan *E. Coli*. *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*, *16*(1), 35–44.

Lestari, U., Suci, U., & Latief, M. (2020). Uji Iritasi Dan Efektifitas Spray Handsinitizer Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Sebagai Antibakteri. *Jambi Medical Journal*, 34–39.

Marwah, J., Hakim, A. R., & Rohama. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*, *4*(1), 11–24. https://doi.org/10.33859/jpcs.v4i1

Maulinda, A., Ridwanto, R., Daulay, A. S., Nasution, H. M., Rani, Z., Gel, S., & Journal, F. (2024). Penentuan Kadar Rhodamin B Pada Lipstik Yang Dijual Di Kota Banda Aceh Secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri Manual. *Forte Journal*, *04*(01), 143–150.

Monica Sandy, Siska Wardani, T., & Dwi Septiarini, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. *Media Farmasi Indonesia*, *16*(2), 1683–1692. https://doi.org/10.53359/mfi.v16i2.184

Muiz, H. A., Wulandari., S., & Primadiamanti, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Analisis Farmasi*, *6*(2), 84–89.

Mulyadi, M., & Ria, P. (2017). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, *20*(3), 130–135.

Novita, W. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper betle* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streotococcus Mutans* Secara *In Vitro*. *Jambi Medical Journal*, *4*(2), 140–155.

Nugraha, Y. R., Erlinawati., N. A., & Dewi., E. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Medika Farmaka*, *01*(01), 7–9. Diakses tanggal 13 Juli 2024.

Nurdiani, R., Jaziri, A. A., & Puspita, S. (2020). Karakteristik Kemasan Aktif Dari Film Gelatin Ikan Dengan Penambahan Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*). *JPB Kelautan Dan Perikanan*, *15*(1), 63–72.

Paputungan, W. A., Lolo, W. A., & Siampa, J. P. (2019). Aktivitas Antibakteri dan Analisis Klt-Bioautografi dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora Pierre Ex A. Froehner*). *Pharmacon*, *8*(3), 516. https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325

Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, *7*(2), 57–68. https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471

Pratiwi, S. A., Februyani, N., Basith, A., Program,), Fakultas, S. F., Kesehatan, I., Nahdlatul, U., Sunan, U., Bojonegoro, G., Yani, A., 10, N., Bojonegoro, K., Timur, J., & Boojonegoro, K. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, *6*(2), 2023.

Pringgenies, D., Setyati, W. A., Setiyo, D., & Djunaedi, A. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Bakteri *Multi Drug Resistant*. *Kelautan Tropis*, *23*(2), 145–156.

Purba, A. U. C., Naliani, S., & Sugiaman, V. K. (2023). Efektivitas Antibakteri Fraksi Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam*) sebagai Pembersih Gigi Tiruan Sebagian Lepasan terhadap *Staphylococcus aureus*. *E-GiGi*, *11*(2), 143–151. https://doi.org/10.35790/eg.v11i2.44464

Puspitasari, D. F., & Munisih, S. (2025). Formulasi Nano Mouthwash Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*. L) Serta Uji Aktivitas Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, *10*(1), 1–5.

Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, *15*(1), 40–46. https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318

Putu, N., Dewi, M., Cahyaningsih, E., Luh, N., Arman, K., & Dewi, A. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Rebusan dan Infusa Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap Bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, *3*(1), 1–6.

Rachma, F. A., Haryoto, & Indrayudha, P. (2020). Uji Efektifitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Batang Sirsak terhadap Sel T47D. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, *3*(2), 1–11.

Riyanto, Y. H. (2023). Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak Terhadap Kadar Pinostrobin Dalam Ekstrak Etanol Temukunci (*Kaemferia pandurata, Roxb*). *Prosiding Farmasi*, *2*, 174–184.

Rokhim, N. (2023). Isolation of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus Sp*. on Garbage at TPA Segawe Tulungagung Regency as a Biology Learning Resource in the Form of a Booklet. *Asian Journal of Natural Sciences*, *2*(1), 9–16. https://doi.org/10.55927/ajns.v2i1.3006

Rompas, S. A. T., Wewengkang, D. S., & Mpila, D. A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Organisme Laut Tunikata *Polycarpa aurata* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, *11*(1), 1271–1278.

Sabir, A. (2015). Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona sp* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans (in vitro)*. *Majalah Kedokteran Gigi*, *38*(3), 135–141.

Saerang, M. F., Edy, H. J., & Siampa, J. P. (2023). Formulasi Sediaan Krim Dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Pharmacon*, *12*(3), 350–357. https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49075

Santoso, D. S. P., Septianingrum, N. M. A. N., & Yuliastuti, F. (2021). Potensi antibiotik fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L). *Borobudur Pharmacy Review*, *1*(2), 34–39. https://doi.org/10.31603/bphr.v1i2.4809

Sapada, I. E., & Putri, A. W. (2018). Hubungan kerasionalan penggunaan antibiotik dengan penyakit ispa pada pasien anak di RSUD Palembang Bari tahun 2018. *Jurnal Kesehatan: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, *IX*(2), 88–93.

Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). Kandungan fitokimia *Zanthoxylum acanthopodium* dan potensinya sebagai tanaman obat di wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara , Sumatera Utara. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, *5*, 71–76. https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050114

Sembiring, E., Sangi, M. S., & Suryanto, E. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*, *9*(1), 14–20.

Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove (*Sonneratia alba*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, *11*(1), 9. https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659

Sunyaluri, R. A., & Rabima. (2021). Uji Aktivitas Fraksi Etil Asetat (*Acanthus ilicifolius* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. *Health Sains*, *2*(10), 6.

Suryana, S., Junaedi, E. C., & Khadijah. (2024). Aktivitas Antibakteri Daun Kanjat (*Gymnopetalum chinense (Lour) Merr*) dan Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* (ATCC 8739) dan *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). *Perjuangan Nature Pharmaceutical Conference*, *1*(1), 212–220.

Suryati, E. H. W. A. N. R. (2018). Karakterisasi dan Uji Sitotoksik Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, *5*(3), 207–211.

Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia Lam.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, *17*(2), 136–143.

Vifta, R. L. D. A. (2018). Skrining Fitokimia , Karakterisasi , dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B .). *Prosiding Farmasi*, *1*, 8–14.

Wangloan, M. S., Ode, Y. W., & Athur, R. B. (2025). *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan , Etil Asetat dan Air pada Daun Keji Beling (Strobilanthes crispa) terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis dan Pseudomonas aeruginosa Phytochemical Screening and Antibacterial Activity*. *4*(2).

Widiastuti, T. C., Fitriati, L., Rahmawati, N., Kumalasari, S., & Putri, F. A. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Dan Daun Mangga Arumanis Terhadap *S. aureus*. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *8*(3), 911–924. https://doi.org/10.37874/ms.v8i3.753