

Perbandingan Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak n-Heksan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Minda Warnis^{1*} Puja Bili Yoyon¹ Dewi Marlina¹

¹Politeknik Kesehatan Kemenkes Palembang

*Corresponding author. Email: mindarwis@poltekkespalembang.ac.id

Abstract

Background: Sambung nyawa is one of the plants that have antibacterial properties, among the plant parts used are the leaves. Antibacterial compounds contained in the sambung nyawa leaves are flavonoids, saponins, and tannins. Plant active compounds can be extracted using a solvent that is suitable for the desired compound polarity.

Objective: To compare the antibacterial activity of ethanol extract, ethyl acetate extract, and n-hexane extract of sambung nyawa leaves against *Escherichia coli* bacteria.

Method: This type of research is experimental research. Sambung nyawa leaves were extracted by maceration using 96% ethanol, ethyl acetate, and n-hexane as solvents, then concentrated with a rotary evaporator. Then the antibacterial activity was tested using the agar diffusion method by measuring the diameter of the inhibitor against *E. coli* at various extract concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%.

Results: Measurement of the diameter of the inhibition of the leaf extract of sambung nyawa against *E. coli* showed that the ethanol extract at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% had an average inhibitory diameter of 6.75 mm, 7.75 mm, 8.25 mm, 9.5 mm, respectively. In succession, the ethyl acetate extract had an average inhibitory diameter of 8.25 mm, 9.95 mm, 10.05 mm, and 11.75 mm mm, and the n-hexane extract had an average inhibitory diameter of 0 mm.

Conclusion: The ethyl acetate extract of the sambung nyawa leaf had the greatest bacterial activity compared to the ethanol and n-hexane extracts. The diameter of the highest inhibition zone was 9.5 mm in the ethanol extract which was in the medium strength category and the ethyl acetate extract with the highest inhibition zone of 11.75 mm was the strong strength category.

Keywords: Sambung nyawa leaves, ethanol extract, ethyl acetate, n-hexane, *Escherichia coli*

Intisari

Latar belakang: Sambung nyawa adalah salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antibakteri, diantara bagian tanaman yang digunakan adalah daunnya. Beberapa golongan senyawa antibakteri yang terkandung pada daun sambung nyawa adalah flavonoid, saponin, dan tannin. Penyarian senyawa aktif tanaman dapat dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran senyawa yang diinginkan.

Tujuan: Untuk membandingkan aktifitas antibakteri ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksan daun sambung nyawa terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Metode: Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Daun sambung nyawa diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan, lalu dipekatkan dengan rotary evaporator. Kemudian diuji aktifitas antibakterinya menggunakan metode difusi agar dengan mengukur diameter hambat terhadap *E. coli* pada variasi konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Hasil: Pengukuran diameter hambat ekstrak daun sambung nyawa terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa ekstrak etanol pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% mempunyai rata-rata diameter hambat berturut-turut adalah 6.75 mm, 7.75 mm, 8.25 mm, dan 9.5 mm, ekstrak etil asetat mempunyai rata-rata diameter hambat berturut-turut adalah 8.25 mm,

9.95 mm, 10.05 mm, dan 11.75 mm mm, dan ekstrak n-heksan mempunyai rata-rata diameter hambat adalah 0 mm.

Kesimpulan: Ekstrak etil asetat daun sambung nyawa mempunyai aktifitas antibakteri yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak etanol dan n-heksan. Diameter zona hambat tertinggi 9.5 mm pada ekstrak etanol 96% termasuk kategori kekuatan sedang dan pada ekstrak etil asetat dengan zona hambat tertinggi 11.75 mm termasuk kategori kekuatan kuat.

Kata kunci : Daun sambung nyawa, ekstrak etanol, etil asetat, n-heksan, *Escherichia coli*

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia, termasuk di Indonesia [1]. Penyakit infeksi yang paling umum ditemukan di negara berkembang ialah diare. Menurut data WHO tahun 2013, diare masih merupakan salah satu penyakit infeksi yang menyebabkan kematian terbesar kedua pada balita. Setiap tahun diare menyebabkan kematian pada 760.000 balita di seluruh dunia. Berdasarkan data riset kesehatan dasar tahun 2013, insiden diare pada balita di Indonesia tahun 2013 adalah 6,7% dengan *period prevalence* 7,0%. Pada karakteristik umur, insiden diare tertinggi berada pada kelompok umur 12 sampai 23 bulan (9,7%) [2]. Salah satu bakteri penyebab terjadinya penyakit infeksi diare adalah *Escherichia coli*. *E. coli* adalah bakteri gram negatif yang terdapat dalam gastrointestinal, tetapi jika jumlahnya melebihi jumlah ambang batas normal akan dapat menyebabkan infeksi diare akut maupun kronis [3].

Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri biasanya menggunakan antibiotik, akan tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat akan menyebabkan bakteri resistensi terhadap antibiotik [4]. Untuk itu diperlukan pengobatan alternatif lain yang berasal dari bahan alami seperti dari tanaman yang memiliki senyawa aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri. Penggunaan tanaman sebagai obat tradisional dipercaya cukup efektif dan aman karena jarang menimbulkan efek samping dan harganya relatif lebih murah [5]. Di Indonesia banyak sekali tanaman yang telah diteliti memiliki khasiat sebagai antibakteri, salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal yakni sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.).

Tanaman sambung nyawa memiliki fungsi pengobatan antara lain sebagai hipotensif, antihiperlipidemia dan antibakteri [6], pengobatan penyakit ginjal, infeksi kerongkongan, mengatasi tidak datang haid, menghentikan pendarahan, gigitan binatang berbisa, dan disentri [7]. Menurut hasil penelitian [8] diketahui bahwa ada

pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun sambung nyawa terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi, zona hambat tertinggi sebesar 20 mm pada konsentrasi 50% sedangkan zona hambat terendah yaitu sebesar 6 mm pada konsentrasi 10%.

Daun sambung nyawa mengandung flavonoid, glikosida kuersetin, asam fenolat (terdiri dari asam kafeat, asam p-kumarat, asam p-hidroksi benzoat, asam vanilat), terpenoid, saponin, steroid, dan minyak atsiri [6]. Sementara menurut buku “33 Daun Dahsyat Tumpas Berbagai Macam Penyakit” bahwa kandungan kimia daun sambung nyawa terdiri dari 4 senyawa yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/terpenoid [9]. Golongan senyawa flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid berpotensi sebagai antibakteri [10].

Penyarian senyawa aktif tanaman dapat dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Pada penelitian ini proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut yang memiliki sifat kepolaran berbeda untuk mengikat senyawa-senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri [11].

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktifitas antibakteri ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksan daun sambung nyawa terhadap bakteri *Escherichia coli*. Menurut prinsip *like dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang sama. Maka dapat dirumuskan masalah, apakah terdapat pengaruh perbedaan pelarut ekstrak daun sambung nyawa terhadap penghambatan bakteri *Escherichia coli*. Belum ada penelitian lain yang membandingkan aktifitas antibakteri ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksan daun sambung nyawa terhadap bakteri *Escherichia coli* [12].

2. Metode

2.1. Objek penelitian

Objek penelitian adalah daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.) yang memiliki ciri daun berbentuk elips memanjang, tepi daun bertoreh, berambut halus, panjang tangkai 0,5-3,5 cm; memiliki permukaan daun berambut pendek, tulang

daun menyirip, dan menonjol pada permukaan daun bagian bawah. Daun sambung nyawa dibeli dari daerah Plaju, Palembang.

2.2. *Prosedur Kerja*

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun sambung nyawa, etanol 96%, etil asetat, n-heksan, DMSO, media Mueller Hinton Agar (MHA), blank disk, biakan *Escherichia coli*, ciprofloxacin, aquadest.

2.2.1. *Pembuatan simplisia kering daun sambung nyawa*

Daun sambung nyawa diambil yang berbentuk utuh dan bagus \pm 3 kg, dicuci bersih dengan air yang mengalir, lalu dirajang, kemudian dikeringanginkan.

2.2.2. *Pembuatan ekstrak kental daun sambung nyawa*

- a. Simplisia kering sebanyak 600 gram dibagi tiga, masing-masing 200 gram dimasukan ke dalam botol maserasi.
- b. Tambahkan pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan hingga simplisia terendam dan terdapat selapis cairan penyari di atas simplisia.
- c. Tutup botol dengan rapat, kemudian disimpan selama 3 hari di tempat yang gelap dan terhindar dari cahaya matahari langsung sambil diaduk sesering mungkin, lalu hasilnya disaring dengan kertas saring.
- d. Ulangi penyarian sampai sempurna hingga cairan penyari bening atau tidak bewarna lagi.
- e. Hasil maserasi dikentalkan dengan rotary evaporator sampai mendapatkan ekstrak kental daun sambung nyawa, yaitu ekstrak etanol etil asetat, dan n-heksan.
- f. Hasil ekstrak kental diencerkan dengan DMSO dengan variasi konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25% (b/v).

2.2.3. *Identifikasi metabolit sekunder*

Terhadap masing-masing ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun sambung nyawa dilakukan identifikasi metabolit sekunder, meliputi flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/terpenoid [13].

a. *Identifikasi flavonoid*

Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil masing-masing ekstrak sebanyak 2 gram, kemudian dilarutkan dalam 1-2 ml metanol 50%, dipanaskan kurang lebih 5 menit. Lalu ditambahkan 0,5 gr logam Mg dan 3 tetes HCl pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid.

b. Identifikasi saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara mengambil masing-masing ekstrak sebanyak 2 gram, ditambahkan 10 ml air, kemudian dikocok kuat-kuat, jika terbentuk busa yang bertahan lama maka positif mengandung saponin.

c. Identifikasi tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara mengambil masing-masing ekstrak sebanyak 2 gram, ditambahkan air 10 ml dan diaduk homogen, lalu diteteskan 1-2 tetes FeCl_3 . Jika timbul warna hijau kehitaman maka positif mengandung tanin.

d. Identifikasi terpenoid/steroid

Uji steroid/terpenoid dilakukan dengan cara mengambil masing-masing ekstrak sebanyak 2 gram, dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat pada filtrat. Jika timbul warna merah atau ungu menandakan adanya terpenoid, jika timbul warna hijau kehitaman menandakan adanya steroid.

2.2.4. *Sterilisasi alat*

- a. Menggunakan *dry heat oven* dengan suhu 160°C selama 2 jam, untuk alat-alat seperti cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, dan pipet tetes.
- b. Menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, untuk media bakteri, kertas cakram, dan aquadest.
- c. Dibakar di atas lampu spiritus, untuk alat-alat logam seperti pinset dan jarum ose.

2.2.5. *Pembuatan media Mueller Hinton Agar (MHA)*

- a. Bahan yang terdiri dari beef ekstrak atau ekstrak sapi 2 gram, acid hydrolysate of casein 17,5 gram; starch 1,5 gram; dan agar 17 gram.
- b. dilarutkan dengan aquadest 1 liter pada pH 7,4.
- c. Disterilisasikan dalam autoclave suhu 121°C selama 15 menit.
- d. Lalu dimasukkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan 3-4 mm.
- e. Disterilkan kembali dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.6. *Pembiakan Escherichia coli*

- a. Ambil media Mueller Hinton Agar (MHA) kurang lebih ± 150 ml dan dipanaskan pada suhu $37-40^\circ\text{C}$.
- b. Kemudian oleskan biakan murni bakteri 10-15 ose pada media MHA.

2.2.7. Uji Aktivitas antibakteri daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.)

- a. Media Mueller Hinton Agar (MHA) dituangkan di cawan petri masing-masing sebanyak 10 ml dan dibiarkan memadat.
- b. Suspensi bakteri *Escherichia coli* ditorehkan pada Mueller Hinton Agar (MHA) secara merata lalu dibiarkan mengering.
- c. Kertas cakram dicelupkan pada setiap konsentrasi ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun sambung nyawa dan dikeringanginkan.
- d. Sebagai kontrol positif ciprofloxacin dan kontrol negatif etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan.
- e. Kemudian cakram diletakan di seluruh permukaan agar biakan bakteri dan sedikit ditekan.
- f. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- g. Setelah itu diamati dan diukur diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* menggunakan jangka sorong.

2.3. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dengan cara melakukan pengukuran diameter hambat ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun sambung nyawa pada beberapa konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli*, dibandingkan dengan kontrol positif ciprofloxacin dan kontrol negatif etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel.

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini menggunakan daun sambung nyawa yang di maserasi dengan pelarut yang berbeda yaitu etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan. Daun sambung nyawa yang masih segar dan bagus dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran, kemudian dirajang halus untuk memperluas permukaan yang berkontak dengan cairan penyari sehingga lebih banyak zat aktif yang tersari, juga untuk mempercepat proses pengeringan. Selanjutnya daun dikeringanginkan terhindar dari cahaya matahari.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, karena proses ekstraksinya sederhana dan bisa menyari zat yang tidak tahan pemanasan [14]. Hasil ekstraksi

dapat dilihat pada tabel 1, bahwa rendemen ekstrak terbesar diberikan oleh ekstrak etanol, kemudian ekstrak etil asetat, dan rendemen terkecil adalah ekstrak n-heksan.

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak daun sambung nyawa

Simplisia	Pelarut	Berat simplisia (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun sambung nyawa	Etanol 96%	200	10,95	5,48
	Etil asetat	200	7,50	3,75
	n-heksan	200	5,27	2,64

Terhadap ekstrak daun sambung nyawa dilakukan identifikasi golongan senyawa kimia, didapatkan hasil seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun sambung nyawa

No	Golongan senyawa kimia	Pereaksi	Ekstrak etanol 96%	Ekstrak etil asetat	Ekstrak n-heksan	Perubahan Warna
1.	Flavonoid	HCl _(P) + logam Mg	-	-	-	(+) jika warna merah
2.	Saponin	Air	+	-	-	(+) jika ada buih yang stabil
3.	Tanin	FeCl ₃	+	+	-	(+) jika warna hijau kehitaman
4.	Terpenoid	CH ₃ COOH anhidrat + H ₂ SO _{4(P)}	+	+	+	(+) jika warna kemerahan

Keterangan :

- (+) : Adanya kandungan senyawa
 (-) : Tidak adanya kandungan senyawa

Dari tabel 2 terlihat bahwa ekstrak etanol daun sambung nyawa mengandung golongan senyawa saponin, tannin, dan terpenoid; ekstrak etil asetat mengandung golongan senyawa tanin dan terpenoid; dan ekstrak n-heksan mengandung golongan senyawa terpenoid. Menurut [8] bahwa kandungan senyawa yang terdapat pada daun sambung nyawa adalah golongan fenol, saponin, dan steroid. Sedangkan menurut [9], kandungan senyawa daun sambung nyawa terdiri dari golongan flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid/steroid.

Selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat bakteri dari ekstrak daun sambung nyawa, dapat dilihat pada table 3.

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter hambat ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan daun sambung nyawa terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli*

No.	Bahan uji	Konsentrasi (%b/v)	Diameter zona hambat 1x24 jam (mm)		Rerata diameter zona hambat (mm)	
			P1	P2		
1.	Daun sambung nyawa	Ekstrak etanol 96%				
		100	10,0	9,0	9,50±0,50	
		75	8,0	8,5	8,25±0,25	
		50	7,5	8,0	7,75±0,25	
		25	6,5	7,0	6,75±0,25	
		Ekstrak etil asetat				
		100	11,5	12,0	11,75±0,25	
		75	11,0	10,0	10,50±0,50	
		50	10,9	9,0	9,95±0,95	
		25	8,0	8,5	8,25±0,25	
		Ekstrak n-heksan				
		100	0	0	0	
		75	0	0	0	
50	0	0	0			
25	0	0	0			
2.	Kontrol positif	Ciprofloxacin	29,0	31,0	30,0±1,0	
3.	Kontrol Negatif	Etanol 96%	0	0	0	
		Etil asetat	0	0	0	
		n-heksan	0	0	0	

David and Stout menyatakan bahwa kekuatan antibakteri dikategorikan lemah jika diameter zona hambatnya <5 mm, sedang jika diameter zona hambatnya 5-10 mm, kuat jika diameter zona hambatnya 10-20 mm, dan sangat kuat jika diameter zona hambatnya >20 mm [15].

Berdasarkan tabel 3 diketahui bahwa ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun sambung nyawa mempunyai aktifitas penghambatan terhadap bakteri *E. coli*, sedangkan ekstrak n-heksan tidak mempunyai aktifitas penghambatan. Ekstrak etil asetat konsentrasi 75% dan 100% mempunyai diameter hambat terhadap *E. coli* kategori kuat, sedangkan ekstrak etil asetat konsentrasi 25% dan 50% serta ekstrak etanol memberikan diameter hambat kategori sedang. [16] menyatakan bahwa ekstrak n-heksan kulit kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) tidak memberikan daya hambat terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sedangkan ekstrak etil asetat kulit kayu eboni memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat dengan

zona hambat 26,14 mm pada bakteri gram negative *Escherichia coli* dan ekstrak etanol memiliki daya hambat 25,97 mm pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian [8], bahwa ekstrak etanol daun sambung nyawa mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan rata-rata zona hambat sebesar 20 mm pada konsentrasi 50% yang dikategorikan sangat kuat.

Adanya zona hambat *E. coli* dari ekstrak daun sambung nyawa disebabkan adanya senyawa aktif dalam ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak etil asetat daun sambung nyawa mengandung tannin dan terpenoid. Senyawa tanin berperan sebagai antibakteri dengan cara membuat dinding sel bakteri menjadi lisis dan kemudian sel bakteri akan mati [17]. Terpenoid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel bakteri yang bersifat permeabel sehingga morfologi membran sel berubah dan integritas membran menurun yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.

Ekstrak etanol daun sambung nyawa mengandung golongan senyawa saponin, tannin, dan terpenoid. Saponin dapat mengganggu tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga zat antibakteri akan masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya menyebabkan kematian bakteri.

Sebagai pembanding digunakan ciprofloxacin karena ciprofloxacin merupakan antibiotik spektrum luas untuk bakteri gram positif dan gram negatif termasuk *Escherichia coli*. Sedangkan kontrol negatif digunakan pelarut etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan untuk melihat apakah pelarut yang digunakan mempunyai efek antibakteri atau tidak. Ciprofloxacin memiliki diameter hambat rata-rata 30 mm atau daya antibakteri sangat kuat. Kontrol negatif etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, artinya bahwa zona hambat dari ekstrak daun sambung nyawa terhadap bakteri *Escherichia coli* bukan dikarenakan oleh pelarut kontrol negatif.

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, sedangkan ekstrak n-heksan tidak mempunyai aktifitas antibakteri. Ekstrak etil asetat mempunyai daya hambat yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol.

Daftar pustaka

- [1] P. Nursidika, O. Saptarini, dan N. Rafiqua, “Aktivitas Antimikrob Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (*Areca catechu* L) pada Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*”, Majalah Kedokteran Bandung, vol. 46, no. 2, pp. 94-99, 2014.
- [2] KEMENKES RI, 2013, “Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013”, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- [3] Jawetz, E., J. L. Melnick, dan E. A. Adelberg, diterjemahkan oleh Nugroho E. dan R. F. Maulany, 2008, “Mikrobiologi Kedokteran”, edisi ke – 23rd ed.
- [4] Kementerian Kesehatan RI, 2015, “Penggunaan Antibiotik Bijak dan Rasional Kurangi Beban Penyakit Infeksi”, Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, <https://farmalkes.kemkes.go.id/2015/08/penggunaan-antibiotik-bijak-dan-rasional-kurangi-beban-penyakit-infeksi/>
- [5] L. K. Wardhani dan N. Sulistyani, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis”, Jurnal Ilmiah Kefarmasian, vol. 2, no. 1, hal. 1-16, 2012, DOI: <http://dx.doi.org/10.12928/pharmaciana.v2i1.636>.
- [6] D. B. Wiyanto, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio Harveyi*”, Jurnal Kelautan : Indonesian Journal of Marine Science and Technology, vol. 3, no.1, hal. 1-17, 2010, DOI: <https://doi.org/10.21107/jk.v3i1.837>.
- [7] H. Widyaningrum dan Tim Solusi Alternatif, 2019, “Kitab Tanaman Obat Nusantara”, Media Pressindo, Yogyakarta, Indonesia.
- [8] A. Selviani, Sugito, dan Sutriswanto, “Pengaruh Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa terhadap Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* Metode Difusi”, Jurnal Laboratorium Khatulistiwa, vol. 2, no. 2, 2019, DOI: <https://doi.org/10.30602/jlk.v2i2.328>.
- [9] Elshabrina, 2018, “33 Daun Dahsyat Tumpas Berbagai Macam Penyakit”, C-klik Media, Yogyakarta, Indonesia.
- [10] A. Ibrahim dan H. Kuncoro, “Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) terhadap Beberapa Bakteri Patogen”, Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry, vol. 2, no. 1, hal. 8-18, 2012, DOI: <https://doi.org/10.25026/jtpc.v2i1.43>.
- [11] S. Rizal, H. Dewi, T. P. Utomo, “Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging dan Biji Buah Bintaro (*Cerbera manghas* L.)”, Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian, vol. 20, no.1, hal. 51-64, 2015, DOI: <http://dx.doi.org/10.23960/jtihp.v20i1.51%20-%2064>.

- [12] Prasetyorini, A. Rahmadini, N. F. Utami, “Uji Antibakteri Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dan Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap *Salmonella thypi*”, *Ekologia : Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, vol. 19, no. 1, hal. 1-11, 2019, DOI: 10.33751/ekol.v19i1.1662.
- [13] M. R. Marjoni, 2020, “Buku Analisis Farmakognosi untuk Mahasiswa Farmasi”, Trans Info Media, Jakarta, Indonesia.
- [14] M. A. U. Leba, 2017, “Buku Ajar : Ekstraksi dan Real Kromatografi”, Deepublish, Yogyakarta, Indonesia.
- [15] W. W. Davis and T. R. Stout, “Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay”, *Applied Microbiology*, vol. 22, no. 4, hal. 659–665, 1971, doi: 10.1128/am.22.4.659-665.1971.
- [16] N. L. Sumitriasih, A. Ridhay, dan Indriani, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol Kulit Batang Kayu Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) Menggunakan Metode Difusi”, *KOVALEN*, vol. 5, no. 3, hal. 233-239, 2019, <https://doi.org/10.22487/kovalen.2019.v5.i3.11540>.
- [17] M. Ngajow, J. Abidjulu, V. S. Kamu, “Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro”, *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, vol. 2, no. 2, hal. 128-132, 2013, DOI: <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>.