

Toxicity test using the BSLT method and antibacterial test against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* of the extract and fractions of karamunting stem (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Uji toksisitas menggunakan metode BSLT dan uji antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak dan fraksi batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Anisah Siregar^a, Ridwanto^{a*}, Anny Sartika Daulay^a, Haris Munandar Nasution^a

^a Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Kota Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: ridwanto@umnato.ac.id

Abstract

Natural ingredients have been widely used in medicine, commonly called "back to nature," meaning "kembali ke alam." Herbal medicine is one of the most practical and effective treatment modalities. One medicinal plant is the stem of *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk., which belongs to the Myrtaceae family and has the potential as an antibacterial remedy. Scientific research, such as toxicity testing, is necessary to ensure traditional medicine fulfills its responsibility. The Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) is a preliminary test to assess the toxic effects of plants. This study aims to determine the secondary metabolite compounds, toxicity levels, and antibacterial activity of ethanol extract and n-hexane and ethyl acetate fractions of *Rhodomyrtus tomentosa* stem. The study includes characterization, phytochemical screening, and toxicity testing by observing the mortality rate of *Artemia salina* Leach larvae, expressed as LC₅₀. Antibacterial testing against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was conducted using disc diffusion. The results of phytochemical screening of simplicia powder, ethanol extract, and n-hexane and ethyl acetate fractions of *Rhodomyrtus tomentosa* stem tested positive for alkaloids and triterpenoids/steroids. Simplicia powder, ethanol extract, and the ethyl acetate fraction also contained secondary metabolites such as flavonoids, tannins, and saponins. The toxicity test results using probit analysis showed that the LC₅₀ value of the extract was 97.6787 µg/mL, the LC₅₀ value of the ethyl acetate fraction was 71.4331 µg/mL, and the LC₅₀ value of the n-hexane fraction was 57.4910 µg/mL. Therefore, it can be concluded that the extract and the n-hexane and ethyl acetate fractions of *Rhodomyrtus tomentosa* stem are toxic. The antibacterial test results showed that the extract and the n-hexane and ethyl acetate fractions exhibited inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: Karamunting Stem, LC₅₀ value, inhibition zone, Antibacterial Activity.

Abstrak

Bahan-bahan alami telah banyak digunakan dalam pengobatan, dikenal juga dengan istilah "back to nature" yang artinya "kembali ke alam". Pengobatan herbal diakui sebagai salah satu modalitas pengobatan paling praktis dan efektif yang tersedia. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat adalah batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) termasuk family *Myrtaceae*, berpotensi sebagai ramuan obat antibakteri. Agar pengobatan tradisional dapat memenuhi tanggungjawabnya diperlukan penelitian ilmiah, seperti uji toksisitas. Uji toksisitas metode *Brine Shrim Lethality Test* (BSLT) adalah uji pendahuluan untuk melihat efek toksik dari tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder, tingkat toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting. Penelitian ini meliputi karakterisasi, skrining fitokimia dan toksisitas dengan melihat jumlah mortalitas larva *Artemia Salina* Leach yang dinyatakan dalam LC₅₀. Melakukan uji antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* metode difusi cakram. Hasil pengujian skrining fitokimia serbuk simplisia, ekstrak

etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting positif mengandung alkaloid dan triterpenoid/steroid. Serbuk simplisia, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat juga mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid, tanin dan saponin. Hasil uji toksisitas dengan analisis probit menunjukkan nilai LC50 ekstrak 97,6787 µg/mL, nilai LC50 fraksi etil asetat 71,4331 µg/mL, dan nilai LC50 fraksi n-heksan 57,4910 µg/mL. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting bersifat toksik. Hasil uji antibakteri ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat memiliki aktivitas menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Batang Karamunting, Nilai LC50, Zona Hambat, Aktivitas Antibakteri.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** – You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** – You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** – If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 14/11/2024,
Revised: 31/03/2025
Accepted: 31/03/2025
Available Online: 31/03/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i1.822>

Pendahuluan

Infeksi bakteri masih menjadi masalah kesehatan utama, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri gram negatif) merupakan patogen penyebab berbagai penyakit, mulai dari infeksi kulit hingga gangguan saluran pencernaan [1]. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional telah memicu peningkatan resistensi, mengurangi efektivitas pengobatan [2].

Resistensi antibiotik mengakibatkan bakteri tidak merespon obat yang akan membunuhnya. Hal ini mengakibatkan penurunan kemampuan antibiotik dalam mengobati penyakit infeksi pada manusia [2]. Oleh karena itu, eksplorasi senyawa bioaktif dari tumbuhan sebagai alternatif antibakteri semakin penting. Bahan-bahan alami telah banyak digunakan dalam pengobatan, dikenal juga dengan istilah “back to nature” yang artinya “kembali ke alam”. Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan lebih aman digunakan dibandingkan obat kimia karena bahan yang digunakan sebagai obat lebih sedikit menimbulkan efek negatif dibandingkan obat buatan. Pengobatan herbal diakui sebagai salah satu modalitas pengobatan paling praktis dan efektif yang tersedia [3]. Tanaman obat tradisional umumnya tidak membuat kita takut akan efek sampingnya karena berasal dari alam sehingga efek sampingnya sedikit bahkan tidak ada dibanding obat kimia, inilah alasan banyak orang memilih menggunakan pengobatan tradisional [4].

Pertumbuhan mikroba patogen dapat dihambat dengan memanfaatkan tanaman obat yang mengandung metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang memiliki efek terapeutik sebagai antibakteri yaitu minyak atsiri, flavonoid, tanin, glikosida serta senyawa aktif lainnya. Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan yang akan digunakan sebagai bahan baku obat perlu dilakukan ekstraksi tumbuhan untuk mendapatkan ekstraknya. Ekstrak dapat dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri [5].

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat, dikenal dan digunakan adalah tumbuhan karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). Karamunting adalah tumbuhan liar dengan pohon berkayu. Di hutan terbuka tumbuhan karamunting tingginya hampir mencapai 4 meter. Karamunting adalah tumbuhan yang awalnya dianggap tumbuhan yang merugikan karena merusak tanaman komersial. Namun tumbuhan

karamunting berpotensi sebagai ramuan obat tradisional pada zaman dahulu yang telah digunakan untuk mencegah penyakit seperti batuk, antiradang, luka atau infeksi dan antibakteri [6].

Tanaman karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) termasuk family *Myrtaceae*. Secara tradisional tanaman ini telah digunakan di Negara- negara Asia Tenggara termasuk Indonesia untuk meredakan berbagai gejala peradangan seperti diare, ginekopati, infeksi saluran kemih dan infeksi luka. Tumbuhan karamunting merupakan tumbuhan perdu yang hidup di semak-semak belukar, tinggi kira-kira 1-2 meter, bunga berwarna merah muda. Tanaman ini mudah tumbuh dan berkembang biak [7]. Di Indonesia sangat sedikit catatan atau laporan yang menginformasikan pemakaian bagian- bagian tumbuhan karamunting sebagai obat tradisional. Namun di beberapa Negara Asia, yaitu Vietnam, China dan Malaysia dilaporkan bahwa akar, daun, bunga dan buah karamunting digunakan sebagai obat tradisional [8].

Bagian tumbuhan karamunting yang paling banyak diteliti kandungan senyawa bioaktifnya adalah daunnya. Daun karamunting mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain golongan flavonoid, terpenoid, tanin. Digunakan untuk mengobati luka. Akar dan batang karamunting mengandung senyawa triterpenoid. Digunakan untuk meredakan sakit perut. Buah karamunting mengandung senyawa fenolik yang memiliki potensi medisinal. Digunakan untuk meredakan disentri, diare dan untuk meningkatkan sistem imun tubuh [8]. Dalam penelitian Hidayatullah & Mourisa (2023), menyatakan bahwa ekstrak akar karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100% merupakan konsentrasi ekstrak akar karamunting yang memiliki zona hambat terbesar yaitu dengan rata-rata 6,26 mm [9].

Agar pengobatan tradisional dapat memenuhi tanggungjawabnya diperlukan penelitian ilmiah, seperti penelitian farmakologi, toksikologi serta identifikasi dan isolasi bahan kimia aktif pada tumbuhan [10]. Uji pendahuluan untuk mengetahui potensi suatu tanaman sebagai sumber senyawa aktif yaitu dengan mengukur toksisitasnya. Toksisitas ekstrak tanaman obat penting dilakukan untuk melihat efek toksik dari tumbuhan obat. Uji toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu uji toksisitas tanaman obat yang metodenya cepat, murah dan mudah [11]. Aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan melakukan pengujian menggunakan metode difusi cakram. Pengujian dengan metode difusi cakram menggunakan kertas cakram yang memiliki diameter kurang lebih 6 mm.

Meskipun daun, akar, dan buah karamunting telah banyak diteliti [8,9]. penelitian tentang batang masih terbatas. Padahal, batang karamunting dilaporkan mengandung senyawa triterpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri [8]. Sehingga perlu dikaji lebih mendalam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder, tingkat toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting.

Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan secara eksperimental. Data yang dikumpulkan berupa data kualitatif dan kuantitatif. Urutan tahapan pelaksanaan penelitian meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, karakterisasi, pembuatan ekstrak, fraksinasi, skrining fitokimia dan melakukan uji toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Kemudian melakukan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung dari Januari 2024 hingga Mei 2024 dan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan, meliputi laboratorium penelitian, laboratorium farmakologi dan toksikologi, laboratorium mikrobiologi, serta laboratorium botani.

Peralatan dan Bahan penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (Mettler Toledo), kertas perkamen, blender (Philips), rotary evaporator (R-3 Buchi), *water bath* dan *hot plate* (Thermo), mikroskop, kaca objek dan kaca penutup (Onelab), perkolator, aluminium foil, erlenmeyer, gelas beaker, corong, gelas ukur, tabung reaksi, batang pengaduk, labu ukur, tanur, cawan penguap, krus porselen, desikator, vial, serta bejana untuk penetasan telur *Artemia salina* Leach. Selain itu, penelitian ini juga menggunakan lampu dengan intensitas cahaya rendah, corong pisah, bunsen, autoklaf, inkubator, cawan petri, LAF (*laminar air flow*), kaca

arloji, rak tabung reaksi, pipet tetes, jarum ose, jangka sorong, penjepit tabung, kapas steril, serta kertas cakram steril.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.), telur *Artemia salina* Leach, garam tanpa iodium, serta air destilasi (aquadest). Selain itu, digunakan pula berbagai bahan kimia, seperti etanol, asam klorida, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, asam sulfat pekat, kloroform, isopropanol, pereaksi Molish, dan kloral hidrat. Media pertumbuhan yang digunakan meliputi *Nutrient Agar* (NA) dan *Mueller Hinton Agar* (MHA), serta bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bahan tambahan lainnya termasuk Tween 80 dan spiritus.

Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.), yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dan selanjutnya difraksinasi dengan pelarut n-heksan serta etil asetat. Sampel batang karamunting diperoleh dari daerah Percut Sei Tuan, Jl. Williem Iskandar, Kabupaten Deli Serdang, Sumatera Utara, melalui metode purposive sampling, yaitu pemilihan sampel secara sengaja tanpa membandingkan dengan tanaman sejenis dari lokasi lain.

Sampel yang telah dikumpulkan menjalani proses sortasi basah untuk menghilangkan kotoran, bagian tanaman yang tidak diinginkan, serta benda asing lainnya. Selanjutnya, sampel dicuci dengan air mengalir untuk memastikan kebersihannya, kemudian ditiriskan dan ditimbang sebagai berat basah sebelum dilakukan proses perajangan. Mengingat kondisi lembab dapat meningkatkan risiko pertumbuhan mikroba, dilakukan tahap pengeringan dengan menjemur sampel di bawah sinar matahari hingga mencapai tingkat kerapuhan yang optimal. Setelah kering, dilakukan sortasi ulang untuk memisahkan komponen yang tidak kering secara sempurna dan benda asing lainnya. Sampel kemudian ditimbang kembali, dihaluskan menggunakan blender, diayak, dan ditimbang ulang. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruang untuk menjaga kestabilan kualitasnya [12].

Determinasi Sampel Tumbuhan

Determinasi atau identifikasi pada batang karamunting dilakukan di Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Determinasi dilakukan bertujuan untuk memastikan kebenaran tumbuhan yang akan digunakan sebagai bahan uji.

Pemeriksaan Makroskopik, Mikroskopik Simplisia

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan cara memperhatikan bentuk, warna, rasa dan bau terhadap simplisia batang karamunting. Penentuan parameter ini dilakukan untuk memberikan pengenalan awal yang sederhana dan subjektif mungkin.

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) dengan cara serbuk simplisia ditaburkan di atas object glass dan ditetesi dengan larutan fluoroglucinol sebanyak 1 tetes kemudian ditutup dengan deck glass dan difiksasi. Diamati di bawah mikroskop [13].

Ekstraksi batang karamunting

Simplisia batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) disediakan sebanyak 1 kg lalu dimasukkan ke dalam perkolator, kemudian ditambahkan etanol 96% sampai simplisia terendam, ditutup dan dibiarkan sekurang-kurangnya selama 3 jam terlindung dari cahaya. Setelah itu, larutan penyari di alirkan dengan melihat tetesan perkolat 1 ml per menit. Tambahkan berulang-ulang sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari di atas simplisia. Hentikan perkolasi jika cairan perkolat sudah berwarna jernih. Setelah itu, diperoleh hasil ekstrak cair. Kemudian ekstrak cair dipekatkan pada rotary evaporator dengan suhu tidak lebih dari 50°C dan dilanjutkan pemekatan ekstrak di water bath hingga diperoleh ekstrak kental [14–17].

Fraksinasi

Metode fraksinasi yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair terhadap ekstrak etanol batang karamunting. Ekstrak etanol batang karamunting sebanyak 40 gram, dilarutkan dengan 80 mL etanol 96% hingga larut. Setelah itu, ditambahkan 80 mL aquades dan campuran ini dimasukkan ke dalam corong pisah.

Dilanjutkan dengan menambahkan 200 mL n-heksan, kemudian campuran tersebut digojrok sebelum didiamkan hingga terbentuk dua lapisan terpisah.

Lapisan n-heksan, yang merupakan lapisan bagian atas, dipisahkan dengan bagian yang bawah. Proses fraksinasi dilakukan berulang hingga lapisan n-heksan memberikan hasil yang netral atau tidak berwarna. Lapisan n-heksan ini dikumpulkan untuk mendapatkan fraksi n-heksan. Kemudian, lapisan bawah (residu) diberi tambahan 200 mL etil asetat, digojrok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan terpisah. Lapisan etil asetat, berada di lapisan atas, yang mengandung senyawa yang diinginkan, diambil. Seperti sebelumnya, proses fraksinasi dilakukan berulang hingga lapisan etil asetat memberikan hasil yang negatif atau tidak berwarna. Lapisan n-heksan dan lapisan etil asetat yang telah dikumpulkan kemudian masing-masing diuapkan dengan rotary evaporator dan dilanjutkan pemekatan di water bath untuk mendapatkan ekstrak kental [18].

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia pada Ekstrak etanol, serbuk simplisia, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif, meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid, dan glikosida. Analisis ini dilakukan baik pada simplisia maupun ekstrak daun sirih guna menentukan keberadaan dan jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel [19].

Pengujian Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pembuatan Air Laut Buatan

Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 38 gram garam tanpa iodium, dimasukkan ke dalam labu 1000 mL, lalu volume dicukupkan dengan air hingga tanda batas lalu diaduk sampai homogen. Kemudian disaring dengan kertas Whatman [20].

Penetasan Telur *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam suatu wadah dengan media air laut buatan. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian oleh sekat berlubang, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva yang telah menetas untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Wadah diisi 1 liter air laut buatan. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok teh telur artemia. Pada bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampu agar suhu tetap terjaga. Telur dibiarkan selama 48 jam sampai menetas. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisah dari bagian telur atau kulit telur [21].

Pembuatan Larutan Ekstrak dan fraksi

Larutan uji ekstrak dan fraksi batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) disiapkan dengan menimbang masing-masing 0,2 g ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan, kemudian dilarutkan dalam air laut buatan hingga mencapai volume 100 mL. Larutan uji ini selanjutnya dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi sebagai tahap orientasi, yaitu 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL, 500 µg/mL, 600 µg/mL, 700 µg/mL, 800 µg/mL, 900 µg/mL, dan 1000 µg/mL. Satu tabung kontrol negatif juga disiapkan, dengan masing-masing perlakuan dilakukan dalam tiga kali ulangan [22].

Pembuatan larutan uji dengan konsentrasi 100 µg/mL dilakukan dengan memipet 0,5 mL larutan induk baku dan menambahkan pelarut hingga volume akhir 10 mL. Untuk konsentrasi 200 µg/mL, dipipet 1 mL larutan induk baku dan diencerkan hingga 10 mL. Konsentrasi 300 µg/mL dibuat dengan memipet 1,5 mL larutan induk baku dan menambahkan pelarut hingga 10 mL. Konsentrasi 400 µg/mL diperoleh dengan memipet 2 mL larutan induk baku dan menambahkan pelarut hingga mencapai 10 mL. Proses ini dilanjutkan dengan prinsip yang sama untuk konsentrasi 500 µg/mL (2,5 mL larutan induk baku), 600 µg/mL (3 mL), 700 µg/mL (3,5 mL), 800 µg/mL (4 mL), 900 µg/mL (4,5 mL), dan 1000 µg/mL (5 mL), masing-masing diencerkan hingga volume total 10 mL.

Uji Toksisitas Ekstrak dan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Vial disiapkan untuk masing-masing tingkat konsentrasi, tiap konsentrasi disediakan 3 vial untuk replikasi sebanyak 3 kali. Vial diisi dengan sampel yang telah dilarutkan dengan air laut buatan sebanyak 10 mL. Sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam masing-masing vial yang telah berisi senyawa uji. Kontrol negatif diberi perlakuan yang sama seperti larutan uji tetapi tidak ditambahkan dengan ekstrak atau fraksi batang karamunting. Jumlah larva udang yang mati dalam tiap vial dihitung selama 24 jam. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik [23].

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Nutrient agar (NA) ditimbang sebanyak 1 gram dilarutkan dengan 17 mL aquadest lalu dipanaskan dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C [24].

Pembuatan Media Agar Miring

Nutrient agar (NA) sebanyak 5 ml dituang dalam masing-masing tabung reaksi yang sudah steril dan ditutup dengan kapas ditunggu sampai memadat dengan kemiringan 45° [24]

Inokulasi Bakteri (Peremajaan)

Inokulasi bakteri adalah menumbuhkan bakteri dalam media *nutrient agar* miring di tabung reaksi yang telah dibuat. Cara yang dilakukan dalam inokulasi bakteri adalah dengan mengambil masing-masing 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan masing-masing digoreskan di media agar miring, lalu di inkubasi selama 24 jam [25].

Pembuatan Larutan Standar Mc. Farland

Suspensi standar yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan suspensi bakteri setara dengan 10⁸ CFU/mL dibuat dengan mencampurkan 99,5 mL larutan asam sulfat dengan 0,5 mL larutan barium klorida dalam erlenmeyer. Campuran tersebut dikocok hingga homogen, kemudian ditutup untuk mencegah kontaminasi. Suspensi standar ini digunakan sebagai acuan dalam menentukan konsentrasi bakteri dalam sampel uji. Jika tingkat kekeruhan suspensi bakteri yang dihasilkan sama dengan kekeruhan suspensi standar, maka konsentrasi bakteri dalam suspensi tersebut dianggap mencapai 10⁸ CFU/mL [26].

Suspensi Bakteri

Bakteri yang telah tumbuh selama 24 jam pada media NA diambil dengan menggunakan kawat ose steril, lalu disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% sedikit demi sedikit, sambil didapatkan kekeruhan yang sama dengan larutan standart Mc. Farland hingga homogen, sampai didapatkan konsentrasi suspensi bakteri Mc. Farland 0,5 [27].

Pembuatan Media MHA (Muller Hinton Agar) Uji Antibakteri

Pembuatan media Mueller Hinton Agar (MHA) dilakukan dengan cara menimbang media sebanyak 3,8 gram kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml yang telah disterilkan dilarutkan dengan aquades 100 mL, kemudian dipanaskan sampai mendidih, setelah mendidih tutup permukaan erlenmeyer dengan kain kasa yang berisi kapas. Kemudian media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media dikeluarkan dari autoklaf setelah itu media didiamkan hingga suhunya 50°C (hangat), setelah itu media dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri sebanyak 10 mL lalu didiamkan hingga membeku, setelah media didalam cawan petri membeku media dapat digunakan untuk pengujian [28].

Pembuatan Kontrol Positif, Kontrol Negatif dan Larutan Uji

Pada kontrol positif digunakan antibiotik Kloramfenikol untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kloramfenikol sebagai antibiotik yang mempunyai spektrum luas yaitu dapat menghambat bakteri gram positif dan negatif. Mekanisme kerjanya dengan menghambat sintesis protein pada bakteri

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*. Kapsul kloramfenikol 250 mg, satu kapsul dibuka dan ditimbang serbuk dalam kapsul sebanyak 0,03 g kemudian serbuk dilarutkan dengan aquades 5 mL aduk hingga homogen dan digunakan sebagai kontrol positif. Pada kontrol negatif digunakan campuran tween 80 dengan aquades [29].

Larutan uji dibuat 30%, 20%, 10% b/v dengan cara menimbang masing-masing 1,5 gr, 1 gr dan 0,5 gr ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, n-heksan batang karamunting, untuk fraksi n-heksan dan etil asetat dilarutkan terlebih dahulu dengan tween 80 sebanyak 1 mL lalu masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas [29].

Pembuatan Kertas Cakram (*Piper Disk*)

Kertas cakram diletakkan didalam cawan petri, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dijenuhkan dalam konsentrasi yang sudah dibuat.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* (metode cakram). *Cotton buds* steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri kemudian dioleskan pada media MHA. Setelah olesan bakteri mengering, paper disk (diameter 6 mm) yang telah direndam masing-masing ekstrak dan fraksi etil asetat, n-heksan selama 15 menit ditiriskan dan diletakkan masing-masing di atas media yang berisi olesan bakteri dengan sedikit ditekan agar paper disk menempel pada permukaan media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening disekeliling paper disk [30].

Analisis Data

Data hasil uji toksisitas dianalisis dan disajikan dalam bentuk tabel serta kurva. Analisis data dilakukan menggunakan metode probit dengan bantuan Microsoft Excel untuk menentukan regresi linier berdasarkan hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi. Nilai LC50 dihitung dengan memasukkan nilai probit 5 (yang mewakili 50% kematian hewan uji) sebagai variabel y, sehingga diperoleh nilai x sebagai log konsentrasi. Nilai LC50 kemudian diperoleh melalui antilog dari x [21].

Sementara itu, data hasil uji antibakteri diperoleh dari pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Analisis data dilakukan menggunakan Microsoft Excel dan disajikan dalam bentuk diagram batang untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri terhadap pertumbuhan kedua bakteri tersebut pada berbagai konsentrasi [31].

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Tanaman

Tanaman batang karamunting yang digunakan dalam penelitian ini di determinasi di Herbarium Medanense Universitas Sumatera Utara, Medan. Tujuannya untuk mengetahui serta meyakinkan jenis tanaman yang digunakan adalah benar berdasarkan spesies dan family sampel. Hasil yang diperoleh dari proses determinasi tanaman menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar batang karamunting yang tergolong family *Myrtaceae*, spesies *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.

Hasil Pengumpulan Sampel Tanaman

Tanaman karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) diperoleh dari daerah kompleks Jl. Willièm Iskandar, Medan Estate, Kecamatan Percut Sei Tuan, Kabupaten Deli Serdang. Digunakan bagian batang yang sudah tua dan didapatkan batang karamunting yang segar, tidak berjamur serta tidak rusak.

Hasil Pengolahan Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Sampel batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) yang telah dikumpulkan dan disortasi basah didapatkan bobotnya sebesar 7 kg. Melalui tahapan pengolahan simplisia yang panjang mulai dari sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan serta sortasi kering dan pembuatan serbuk simplisia.

Setelah dilakukan pengeringan di sinar matahari maka diperoleh bobot simplisia kering batang karamunting sebanyak 3 kg dan setelah itu dilakukan penghalusan simplisia didapatkan serbuk simplisia sebanyak 2,2 kg.

Hasil Ekstraksi Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Hasil ekstrak kental batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) didapatkan sebanyak 125 gram. Didapatkan dengan cara ekstraksi menggunakan metode perkolasi dengan pelarut etanol 96%. Pemilihan metode perkolasi dalam pembuatan ekstrak batang karamunting karena derajat kehalusan serbuk simplisia batang karamunting termasuk dalam kategori serbuk kasar dan sulit untuk dihaluskan. Metode perkolasi memungkinkan pelarut yang digunakan dapat berkontak dengan luas dipermukaan serbuk dengan optimal karena pelarut yang terus mengalir. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena termasuk pelarut universal, memiliki kemampuan dapat menarik semua senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia [32].

Hasil Karakterisasi Simplisia Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Pemeriksaan karakterisasi suatu simplisia perlu dilakukan dengan tujuan untuk menjamin mutu dari suatu simplisia tersebut. Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi parameter spesifik (makroskopik, mikroskopik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam). Pemeriksaan karakterisasi dilakukan sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan dalam Materia Medika Indonesia.

Berdasarkan hasil dari karakterisasi simplisia, tahap awal uji parameter spesifik adalah makroskopik dan mikroskopik. Pada pengujian makroskopik dilakukan pengamatan secara langsung mengenai bentuk, warna, bau dan rasa dari simplisia batang karamunting. Hasil pengujian makroskopik menunjukkan batang karamunting memiliki bentuk bulat, panjang 120 cm, lebar 1 cm. Tujuan dari uji makroskopik yang meliputi identitas simplisia dan uji organoleptik untuk menentukan sifat-sifat khusus yang dimiliki suatu simplisia meliputi pengamatan secara langsung berdasarkan sumber secara umum [33]. Uji organoleptik merupakan pengujian menggunakan alat indra berupa mata, hidung dan lidah untuk mengetahui karakteristik fisik dari suatu bahan yang diuji.

Tabel 1. Pengamatan Makroskopik Simplisia Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

No	Parameter Organoleptis	Keterangan
1	Bentuk	Bulat, panjangnya 120 cm dan lebarnya 1cm
2	Warna	Coklat
3	Bau	Tidak berbau
4	Rasa	Pahit

Pada pengujian mikroskopik bertujuan untuk menentukan karakteristik anatomi jaringan, sel dan bagian-bagian spesifik dari simplisia melalui pengamatan di bawah mikroskop dengan derajat perbesaran tertentu [33]. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang derajat perbesaran yang sesuai dimana serbuk simplisia batang karamunting diletakkan di atas objek gelas kemudian ditetesi floroglucina lalu diamati. Hasil pengujian mikroskopik serbuk simplisia batang karamunting menunjukkan adanya parenkim, sklerenkim dan serabut. Floroglucina berfungsi sebagai pemberi warna untuk memudahkan identifikasi melalui mikroskop.

Pada penetapan kadar sari larut air dan etanol bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang terlarut dalam air dan etanol dari suatu ekstrak berdasarkan polaritasnya masing-masing. Adanya penetapan kadar sari larut air dan etanol memberikan gambaran senyawa aktif pada ekstrak dapat larut dalam air maupun etanol [34]. Pada penetapan kadar sari larut etanol, simplisia terlebih dahulu dimaserasi selama 24 jam dengan etanol 96% dan untuk penetapan kadar sari larut air dimaserasi selama 24 jam dengan air dan kloroform.

Tujuan ditambahkan kloroform pada penetapan kadar sari larut air yaitu sebagai zat antimikroba atau sebagai pengawet karena apabila saat maserasi hanya dengan air saja, kadar sari akan rusak disebabkan air karena dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba. Sedangkan pada penetapan kadar sari larut etanol tidak ditambahkan kloroform karena etanol sudah memiliki sifat antibakteri [35]. Hasil karakterisasi batang karamunting dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Batang Karamunting

No	Parameter Uji	Kadar Simplisia			Ratarata (%)	Persyaratan FHI, 2017 (%)	Ket
		P1(%)	P2(%)	P3(%)			
1	Kadar sari larut air	10,6	15,3	15,1	13,7	>13,2	MS
2	Kadar sari larut etanol	10,7	15,1	14,3	13,4	>13,4	MS
3	Kadar air	2	4	3	3	<16,2	MS
4	Kadar abu total	3,9	4,1	4,2	4,1	<5,1	MS
5	Kadar abu tidak larut asam	0,4	0,4	0,5	0,4	<0,5	MS

Ket: MS= Memenuhi syarat

Pada pengujian kadar sari larut air serbuk simplisia batang karamunting didapatkan persentase kadar sebesar 13,7% dan sudah memenuhi persyaratan sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II tahun 2017, sedangkan untuk pengujian kadar sari larut dalam etanol serbuk simplisia batang karamunting diperoleh persentase kadarnya sebesar 13,4% sesuai dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, 2017. Hasil pengujian kadar sari menunjukkan bahwa kadar sari larut air simplisia batang karamunting lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut etanolnya, hal ini menandakan bahwa simplisia batang karamunting lebih banyak mengandung senyawa yang larut dalam air daripada yang larut dalam etanol.

Karakterisasi nonspesifik simplisia batang karamunting diperoleh dari hasil penetapan kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Karakterisasi nonspesifik adalah analisis secara fisik, kimia dan mikrobiologi yang berkaitan dengan keamanan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas dan stabilitas dari suatu simplisia [33].

Hasil penetapan kadar air rata-rata pada serbuk simplisia batang karamunting sebesar 3%. Penentuan kadar air bertujuan untuk mengetahui persentase kandungan air dalam bahan setelah proses pengeringan atau pengentalan melalui metode yang sesuai seperti titrasi, destilasi atau gravimetri (Kemenkes, 2017). Persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 16,2%. Hal ini menunjukkan hasil penetapan kadar air yang didapat telah sesuai dengan persyaratan. Semakin besar persentase kandungan air dalam suatu bahan maka semakin mudah suatu simplisia mengalami kerusakan dan pembusukan yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroba. Kadar air yang tinggi juga dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi senyawa aktif akibat dari adanya aktivitas reaksi enzimatik. Oleh karena itu, kadar air sangat menentukan kualitas dan stabilitas suatu ekstrak maupun pembentukan suatu sediaan [23].

Pada pengujian kadar abu total serbuk simplisia batang karamunting didapatkan persentase kadar sebesar 4,1% dan untuk pengujian kadar abu tidak larut asam didapatkan persentase kadarnya sebesar 0,4%. Persentase kadar yang diperoleh menunjukkan bahwa hasil memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak [36]. Semakin tinggi kadar abu total maka kandungan mineral di dalam ekstrak semakin banyak. Sedangkan penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui besarnya tingkat pengotor yang tercampur pada serbuk saat preparasi simplisia khususnya pasir yang ada pada simplisia dengan cara melarutkan abu total dalam asam klorida [23].

Hasil Skrining Fitokimia Simplisia, Ekstrak, Fraksi N-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Skrining fitokimia dilakukan untuk menguji ada tidaknya senyawa metabolit sekunder diantaranya seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida. Hasil skrining fitokimia simplisia serbuk, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia, Ekstrak, Fraksi N-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk.)

No	Parameter	Hasil			
		Simplisia	Ekstrak	Fraksi N-Heksan	Fraksi Etil Asetat
1	Alkaloid	+	+	+	+
2	Flavonoid	+	+	-	+
3	Tannin	+	+	-	+
4	Saponin	+	+	-	+
5	Glikosida	-	-	-	-
6	Triterpenoid/ Steroid	+	+	+	+

Keterangan: (+) memberikan reaksi

(-) tidak memberikan reaksi

Pada tabel diatas menunjukkan bahwa dari hasil skrining fitokimia, terdapat golongan senyawa kimia metabolit sekunder yang sama di dalam serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting yaitu alkaloid dan steroid/triterpenoid.

Pada pemeriksaan senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif pada serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting. Pada serbuk simplisia, filtrat yang ditetesi pereaksi mayer menunjukkan adanya larutan kuning pada larutan uji. Filtrat yang ditetesi dengan pereaksi dragendorff menunjukkan adanya larutan jingga. Filtrat yang ditetesi pereaksi bouchardat menunjukkan adanya larutan cokelat. Alkaloid dianggap positif bila sedikitnya 2 dari 3 pereaksi ada endapan, yang berarti serbuk simplisia batang karamunting positif mengandung senyawa alkaloid. Sama halnya pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat menunjukkan hasil positif pada pereaksi mayer, bouchardat dan dragendorff yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting positif mengandung senyawa alkaloid.

Pada pemeriksaan senyawa golongan flavonoid pada penambahan asam klorida pekat pada serbuk Mg dan amil alkohol terbentuk warna kuning pada serbuk simplisia dan pada ekstrak etanol terbentuk warna kuning pada lapisan alkohol dan fraksi etil asetat juga menunjukkan terjadinya warna kuning jingga. Hal ini menunjukkan batang karamunting mengandung flavonoid. Magnesium mudah larut dalam suasana asam dan menghasilkan kation bivalen Mg^{2+} serta gas hidrogen. Adanya gas hidrogen dapat dibuktikan ketika penambahan asam klorida pekat ke dalam larutan dan serbuk magnesium, muncul busa atau gelembung pada campuran. Ion magnesium akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat simplisia, ekstrak dan fraksi sehingga muncul larutan yang berwarna [37].

Pada pemeriksaan tanin serbuk simplisia, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat batang karamunting menunjukkan hasil positif. Hal ini ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan larutan $FeCl_3$ yakni hijau kehitaman dan biru kehitaman. Perubahan warna disebabkan reaksi penambahan $FeCl_3$ dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan $FeCl_3$ yang menyebabkan perubahan warna menunjukkan adanya tanin [37].

Pada pemeriksaan senyawa golongan saponin pada serbuk simplisia, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat batang karamunting menunjukkan adanya busa yang stabil setelah pemberian HCl, yang tidak hilang kurang dari 10 menit dengan tinggi 1-10 cm. Hal ini menunjukkan bahwa pada serbuk simplisia, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat batang karamunting mengandung saponin.

Pada pemeriksaan senyawa golongan steroid pada serbuk simplisia dan fraksi n-heksan batang karamunting, ditandai dengan terjadinya warna biru hijau. Hal ini menunjukkan bahwa pada simplisia dan fraksi n-heksan batang karamunting terdapat golongan senyawa steroid. Pada pemeriksaan senyawa golongan triterpenoid pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat batang karamunting, ditandai dengan terjadinya warna merah kecoklatan. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat batang karamunting terdapat golongan senyawa triterpenoid.

Pada pemeriksaan senyawa golongan glikosida serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting menunjukkan tidak terbentuknya warna ungu dan cincin. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting tidak mengandung glikosida.

Senyawa-senyawa yang terdapat di dalam serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai obat bagi manusia. Metabolit sekunder tanaman memiliki banyak efek farmakologi seperti antioksidan, antimikroba, dan antikanker. Seperti flavonoid, dilaporkan bahwa semua golongan flavonoid yang memiliki gugus fenol terlibat dalam efek antioksidan umum, mengurangi peradangan atau menghambat sel kanker. Senyawa flavonoid dapat menangkal radikal bebas untuk menghambat kerusakan sel. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antikanker diantaranya dengan memicu kerja enzim-enzim [38].

Polaritas pelarut memegang peran krusial dalam menentukan efektivitas ekstraksi senyawa fitokimia. Pelarut polar seperti etil asetat menunjukkan kemampuan optimal dalam mengekstrak senyawa polar seperti tanin dan saponin, sementara pelarut non-polar seperti n-heksana lebih sesuai untuk senyawa hidrofobik. Hal ini menegaskan pentingnya pemilihan pelarut berdasarkan karakteristik kimia senyawa target dalam penelitian fitokimia [39]. Tanin sebagai senyawa fenolik polar menunjukkan afinitas tinggi terhadap pelarut polar seperti etanol dan etil asetat, namun hampir tidak terekstrak dalam n-heksana yang non-polar. Temuan Rantina et al. (2022) memperkuat fakta ini dengan menunjukkan tanin hanya terdeteksi dalam fraksi polar [39]. Sementara itu, saponin dengan struktur amfifilik yang mengandung gugus glikon polar dan aglikon non-polar menunjukkan kelarutan dalam berbagai pelarut, meskipun tetap lebih dominan terlarut dalam fase polar. Penelitian Jayanegara et al. (2020) mengungkapkan bahwa konsentrasi saponin dalam etil asetat bisa mencapai 3-5 kali lipat dibandingkan dalam n-heksana, terutama karena pengaruh gugus gula yang hidrofilik [40].

Bukti empiris menunjukkan keunggulan etil asetat sebagai pelarut multifungsi. Studi Thapa et al. (2016) dan Rofida (2019) secara konsisten melaporkan bahwa fraksi etil asetat tidak hanya mengandung tanin dan saponin, tetapi juga senyawa bioaktif lain seperti flavonoid dan kumarin dengan kadar signifikan [41,42]. Sebaliknya, fraksi n-heksana terutama mengandung senyawa non-polar seperti terpenoid dan steroid dengan kontaminasi senyawa polar yang minimal. Temuan ini mengarah pada kesimpulan bahwa etil asetat merupakan pilihan ideal untuk ekstraksi senyawa polar dan semi-polar secara simultan, sedangkan n-heksana lebih sesuai untuk isolasi senyawa non-polar. Pendekatan fraksinasi bertingkat yang menggabungkan kedua jenis pelarut ini dapat memberikan cakupan identifikasi senyawa bioaktif yang lebih komprehensif [40,42].

Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomlyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC₅₀ dari aktivitas komponen aktif terhadap larva *Artemia salina* Leach. Metode ini memiliki keuntungan diantaranya waktu pelaksanaan yang cepat, biayanya lebih murah, praktis, tidak memerlukan teknis yang aseptis, sampel yang relatif sedikit dan hasil ujinya berkorelasi baik dengan beberapa metode uji toksisitas [11].

Uji toksistas dilakukan terhadap ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting. Ekstrak etanol batang karamunting diperoleh dari proses perkolasi dengan pelarut etanol 96%, selanjutnya ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat kemudian diuji efek toksiknya terhadap *Artemia salina* Leach. *Artemia* sebagai hewan coba karena memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan dan kontaminasi bahan kimia yang ada di lingkungan sehingga dapat digunakan sebagai parameter awal suatu perubahan kondisi lingkungan. *Artemia* juga memiliki keidentikan dengan sel kanker manusia yaitu struktur subunit RNA *polymerase II* pada *Artemia salina* Leach salah satunya mirip dengan RNA *polymerase II* sel HeLa yang merupakan sel kanker turunan dari sel epitel leher rahim manusia. Disamping itu, pemilihan larva *Artemia salina* Leach memiliki kesamaan dengan mamalia. Seperti memiliki *DNA-dependent RNA polymerase* yang sama seperti yang dimiliki oleh mamalia. Larva udang dikembangkan dengan cara menetas kista *Artemia salina* Leach yang dilakukan selama 48 jam. Hal ini karena setelah berumur 24 jam, larva akan memasuki fase instar I dimana larva belum bisa makan karena mulut dan saluran pencernaannya belum terbentuk. Setelah 48 jam larva akan menjadi instar II.

Berdasarkan morfologinya larva *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam sudah mulai mempunyai mulut dan saluran pencernaan serta fase tersebut merupakan fase paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis. *Artemia salina* dapat meminum ALB (Air Laut

Buatan) yang sudah diberi ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting dalam berbagai konsentrasi, sehingga kematian *Artemia salina* benar-benar disebabkan oleh ekstrak dan fraksi batang karamunting dalam berbagai konsentrasi tersebut [21]. Apabila larva menjadi instar III atau lebih dari 48 jam, maka tubuhnya bermetamorfosis lebih lanjut dan meningkatkan ketahanan tubuh larva. Oleh karena itu, penelitian ini digunakan larva yang berumur 48 jam.

Larutan induk baku dari ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting dibuat 2000 µg/mL yaitu dengan menimbang sebanyak 0,2 g ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting. Kemudian larutan induk yang telah dibuat diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 1000 µg/mL, 900 µg/mL, 800 µg/mL, 700 µg/mL, 600 µg/mL, 500 µg/mL, 400 µg/mL, 300 µg/mL, 200 µg/mL, dan 100 µg/mL, yang akan digunakan untuk uji orientasi konsentrasi terlebih dahulu. Selain itu dibuat pula kontrol negatif berupa air laut buatan dan larva *Artemia salina* Leach tanpa penambahan ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting. Kontrol negatif digunakan untuk menguji apakah terdapat pengaruh lain selain ekstrak dan fraksi uji yang menyebabkan mortalitas larva *Artemia salina* Leach seperti kondisi air laut buatan. Percobaan ini dilakukan dengan 3 kali replikasi (*triplo*) dengan larva sebanyak 10 ekor per vial. Sehingga total larva yang digunakan pada seluruh percobaan adalah 990 ekor. Percobaan 3 kali replikasi (*triplo*) dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan data yang lebih baik dan akurat. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh kematian larva berbeda-beda pada masing-masing konsentrasi. Untuk hasil uji pendahuluan pada uji toksisitas ekstrak batang karamunting dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4 Hasil Uji Pendahuluan Pada Uji Toksisitas Ekstrak Etanol batang karamunting (*Rhodomlyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

No	Konsentrasi (µg/mL)	Jumlah Larva Mati			Total	Rata-rata Kematian Larva	% Mortalitas
		p1	p2	p3			
1	Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0
2	100	6	5	5	16	0,5333	53,3333
3	200	6	6	6	18	0,6	60
4	300	7	7	6	20	0,6667	66,6667
5	400	7	7	7	21	0,7	70
6	500	8	7	7	22	0,7333	73,3333
7	600	8	7	8	23	0,7667	76,6667
8	700	9	8	8	25	0,8333	83,3333
9	800	9	9	8	26	0,8667	86,6667
10	900	9	8	10	27	0,9	90
11	1000	10	9	9	28	0,9333	93,3333

Keterangan: P= pengulangan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh kematian larva berbeda-beda pada masing-masing konsentrasi. Untuk hasil uji pendahuluan pada uji toksisitas fraksi n-heksan batang karamunting dapat dilihat pada tabel 5.

Pengamatan dilakukan 24 jam setelah perlakuan konsentrasi ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting. Perhitungan kematian larva dilakukan dengan cara mengamati respon larva *Artemia salina* Leach. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi [21].

Konsentrasi yang digunakan dalam uji toksisitas dipilih berdasarkan rentang persentase kematian larva 20-80%, karena pada rentang ini dapat menghasilkan kurva yang lebih linier. Hal ini memungkinkan penentuan nilai LC₅₀ pada uji BSLT menjadi lebih akurat. Dalam penelitian ini, persentase kematian larva udang (*Artemia salina* Leach) yang berada pada rentang 20-80% diperoleh dari ekstrak etanol batang karamunting dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500, 600, dan 700 µg/mL. Data lengkap mengenai persentase kematian larva pada berbagai konsentrasi tersebut dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 5. Hasil Uji Pendahuluan Pada Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah Larva Mati			Total	Rata-rata Kematian Larva	% Mortalitas
		p1	p2	p3			
1	Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0
2	100	6	7	7	20	0,6667	66,6667
3	200	9	8	8	25	0,8333	83,3333
4	300	10	9	9	28	0,9333	93,3333
5	400	10	10	10	30	1	100
6	500	10	10	10	30	1	100
7	600	10	10	10	30	1	100
8	700	10	10	10	30	1	100
9	800	10	10	10	30	1	100
10	900	10	10	10	30	1	100
11	1000	10	10	10	30	1	100

Keterangan: p= pengulangan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh kematian larva berbeda-beda pada masing-masing konsentrasi. Untuk hasil uji pendahuluan pada uji toksisitas fraksi etil asetat batang karamunting dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Pendahuluan Pada Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

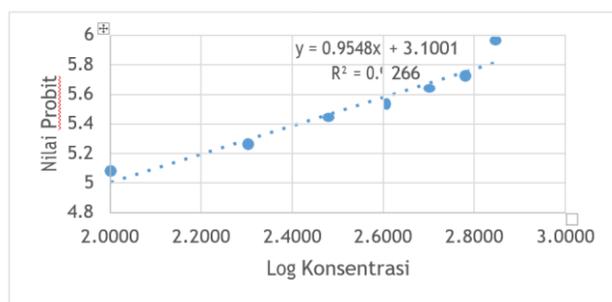
No	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah Larva Mati			Total	Rata-rata Kematian Larva	% Mortalitas
		p1	p2	p3			
1	Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0
2	100	6	5	5	16	0,5333	53,333
3	200	6	6	6	18	0,6	60
4	300	8	8	10	26	0,8667	86,6667
5	400	10	10	10	30	1	100
6	500	10	10	10	30	1	100
7	600	10	10	10	30	1	100
8	700	10	10	10	30	1	100
9	800	10	10	10	30	1	100
10	900	10	10	10	30	1	100
11	1000	10	10	10	30	1	100

Keterangan: p= pengulangan

Konsentrasi yang bervariasi pada setiap vial uji memiliki jumlah kematian larva yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki pengaruh yang berbeda pada kematian larva. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan tabel analisis probit untuk mendapatkan nilai LC50. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi bahan yaitu ekstrak etanol batang karamunting terhadap respon sampel (persentase kematian). Setelah analisis probit kemudian dibuat grafik dengan persamaan regresi lurus hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi, $y = ax + b$. Setelah dilakukan analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus $Y = 0,9548x + 3,1001$ dan koefisien relasi $R^2 = 0,9266$. Berikut gambar 1 grafik kurva regresi linier antara log konsentrasi ekstrak etanol batang karamunting dengan nilai probit. Didapatkan persentase kematian larva pada rentang 20-80% dari fraksi n- heksan batang karamunting, yaitu pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 200 $\mu\text{g/mL}$, dapat dilihat pada tabel 8.

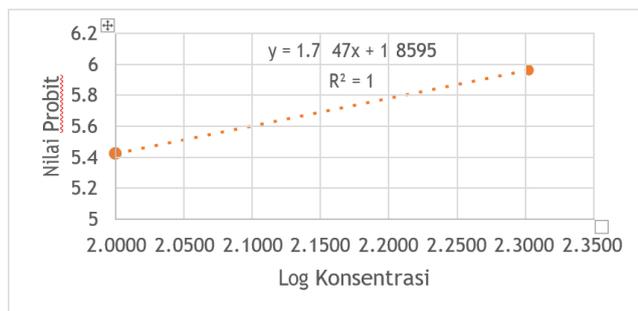
Tabel 7. Hasil Pengujian Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	% Mortalitas	Nilai Probit
1	100	2,0000	53,3333	5,0828
2	200	2,3010	60	5,2533
3	300	2,4771	66,6667	5,4289
4	400	2,6020	70	5,5244
5	500	2,6989	73,3333	5,6219
6	600	2,7781	76,6667	5,7257
7	700	2,8451	83,3333	5,9661

**Gambar 1** Kurva Regresi Linier Antara Log Konsentrasi Ekstrak Etanol Batang Karamunting dengan Nilai Probit**Tabel 8.** Hasil Pengujian toksisitas fraksi N-heksan batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	% Mortalitas	Nilai Probit
1	100	2,0000	66,6667	5,4289
2	200	2,3010	83,3333	5,9661

Konsentrasi yang bervariasi pada setiap vial uji memiliki jumlah kematian larva yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki pengaruh yang berbeda pada kematian larva. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan tabel analisis probit untuk mendapatkan nilai LC50. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi bahan yaitu fraksi n- heksan batang karamunting terhadap respon sampel (persentase kematian). Setelah analisis probit kemudian dibuat grafik dengan persamaan regresi lurus hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi, $y = ax + b$. Setelah dilakukan analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus $Y = 1,7847x + 1,8595$ dan koefisien relasi $R^2 = 1$. Berikut gambar 2 grafik kurva regresi linier antara log konsentrasi fraksi n-heksan batang karamunting dengan nilai probit.

**Gambar 2.** Kurva regresi linier antara log konsentrasi fraksi N-heksan batang karamunting dengan nilai probit

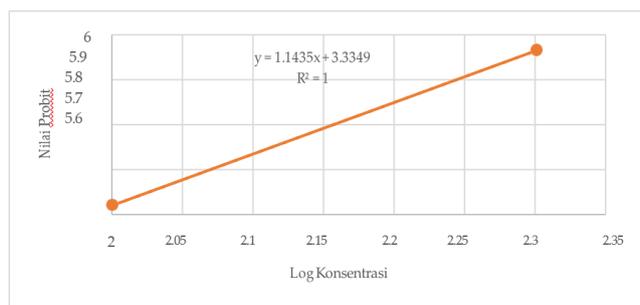
Didapatkan persentase kematian larva pada rentang 20-80% dari fraksi etil asetat batang karamunting, yaitu pada konsentrasi 100 µg/mL dan 200 µg/mL, dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengujian toksisitas fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.).

No	Konsentrasi (µg/mL)	Log konsentrasi	% Mortalitas	Nilai Probit
1	100	2,0000	53,3333	5,0828
2	200	2,3010	60	5,2533

Konsentrasi yang bervariasi pada setiap vial uji memiliki jumlah kematian larva yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki pengaruh yang berbeda pada kematian larva. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan tabel analisis probit untuk mendapatkan nilai LC50. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi bahan yaitu fraksi etil asetat batang karamunting terhadap respon sampel (persentase kematian). Setelah analisis probit kemudian dibuat grafik dengan persamaan regresi lurus hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi, $y = ax + b$.

Setelah dilakukan analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus $Y = 1,1435x + 3,3349$ dan koefisien relasi $R^2 = 1$. Berikut gambar 3 grafik kurva regresi linier antara log konsentrasi fraksi etil asetat batang karamunting dengan nilai probit.



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Antara Log Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting dengan Nilai Probit.

Kurva diatas menunjukkan log konsentrasi terhadap nilai probit yang didapat dari persentase kematian larva. Kemudian dimasukkan nilai Y yang merupakan angka probit dan X adalah log konsentrasi, kemudian ditarik garis dari harga probit 5 (=50 % kematian) menuju sumbu x, untuk ekstrak batang karamunting didapatkan log konsentrasi = 1,9898. Log konsentrasi diantilogkan untuk mendapatkan nilai LC50. Untuk ekstrak etanol batang karamunting nilai LC50 antilog 1,9898 adalah 97,6787 µg/mL. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC50. Untuk fraksi n-heksan nilai didapatkan log konsentrasi = 1,7596. Log konsentrasi diantilogkan untuk mendapatkan nilai LC50. Untuk fraksi n-heksan nilai LC50 antilog 1,7596 adalah 57,4910 µg/mL. Untuk fraksi etil asetat didapatkan log konsentrasi = 1,8539. Log konsentrasi diantilogkan untuk nilai LC50. Untuk fraksi etil asetat batang karamunting nilai LC50 antilog 1,8539 adalah 71,4331 µg/mL. Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologi pada senyawa terhadap hewan uji adalah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan konsentrasi yang telah ditentukan.

Tabel 10. Hasil nilai LC₅₀ ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting

No	Batang Karamunting	Nilai LC50	Kategori
1	Ekstrak Etanol	97,6787 µg/mL	Toksik
2	Fraksi N-Heksan	57,4910 µg/mL	Toksik
3	Fraksi Etil Asetat	71,4331 µg/mL	Toksik

Hasil LC_{50} dari ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting didapat lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang karamunting dikategorikan toksik dan ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting memiliki kandungan aktif senyawa sitotoksik yang berpotensi sebagai antikanker, yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker diantaranya flavonoid yang menghambat proliferasi sel kanker dan menghambat pertumbuhan suatu keganasan dengan menginhibisi reseptor tirosin kinase yang berperan dalam meningkatkan pertumbuhan keganasan [22]. Ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting memiliki kandungan metabolit sekunder yang dapat dikembangkan untuk mengobati penyakit, nilai LC_{50} dari ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat memiliki kategori toksik dan berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan karena memiliki nilai LC_{50} 30-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [43].

Semakin besar nilai LC_{50} maka tingkat ketoksitasnya semakin kecil begitu juga sebaliknya semakin kecil nilai LC_{50} maka semakin besar toksisitas. Kematian larva *Artemia salina* Leach disebabkan karena senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik, senyawa toksik dapat masuk melalui bagian mulut larva udang dan diabsorpsi masuk ke dalam saluran pencernaan dan terjadi proses kerusakan reaksi metabolisme pada larva. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi etil asetat batang karamunting yaitu flavonoid dan alkaloid dan untuk fraksi n-heksan mengandung alkaloid. Alkaloid memiliki karakter toksin sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan larva sedangkan flavonoid memiliki cara kerja sebagai racun pernafasan pada larva dan menghambat saluran pencernaan, menghambat reseptor perasa pada mulut larva sehingga larva tidak mampu mengenali makanannya dan larva akan mati perlahan [44].

Hasil Pengujian Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*

Pengujian yang dilakukan menggunakan metode difusi agar (metode cakram) dengan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, kontrol positif adalah kloramfenikol 30 μg dan kontrol negatif adalah Tween 80, menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37^o C. Terbentuknya daerah hambat pertumbuhan yang ditandai dengan adanya daerah jernih disekeliling kertas pencadang.

Untuk pembuatan konsentrasi fraksi n-heksan dan etil asetat batang karamunting menggunakan kontrol negatif tween 80 sebagai pelarut karena berfungsi sebagai surfaktan yang memiliki gugus lipofilik bersifat nonpolar yang mudah bersenyawa dengan fraksi yang susah larut. Tween 80 tidak memiliki sifat antifungi maupun antibakteri sehingga tidak akan mengganggu efek bahan yang akan diuji. Untuk pembuatan konsentrasi ekstrak etanol batang karamunting menggunakan pelarut aquades karena aquades tidak memiliki senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol karena kloramfenikol bersifat bakteristatik yang memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap gram positif dan negatif [29].

Penelitian uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram disk, metode ini dipilih karena memiliki kelebihan yaitu prosedurnya mudah dan praktis untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai mikroba pada konsentrasi tertentu dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibakteri dalam program pengendalian mutu. Pembacaan hasil pada metode difusi cakram ini dengan cara mengukur zona hambat disekitar cakram disk. Media uji yang digunakan adalah media *Muller Hinton Agar* (MHA) karena bakteri gram positif dan negatif dapat tumbuh dalam media MHA dan media ini sering digunakan dalam uji sensitivitas antibakteri, karena komposisi pada media ini cocok untuk uji sensitivitas bakteri, salah satunya yaitu tepung pati yang dapat menyerap racun yang dikeluarkan bakteri sehingga tidak mengganggu antibiotik serta dapat mendukung pertumbuhan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob yang patogen [45].

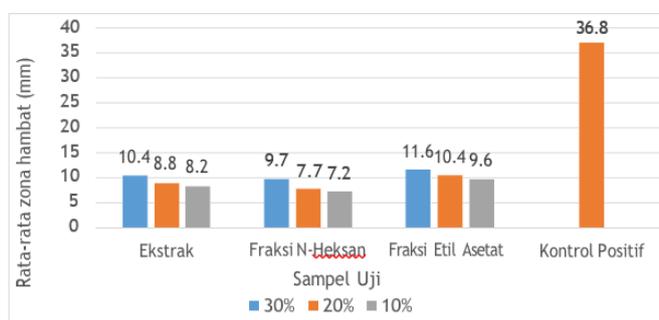
Pembacaan hasil metode difusi dengan mengukur adanya zona hambat. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan pada tabel 6.

Pada tabel 6 menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona bening. Perbedaan zona hambat yang terbentuk dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi maka semakin luas pula zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang terbentuk. Rata-rata zona hambat paling tinggi adalah 11,6 mm pada konsentrasi 30% fraksi etil asetat sedangkan rata-rata zona paling rendah

adalah 7,2 mm pada konsentrasi 10% fraksi n-heksan. Berikut gambar 4 diagram batang hasil rata-rata zona hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 11. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Sampel Uji	Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)	Kategori
		Replikasi				
		1	2	3		
Ekstrak Etanol	30	10,2	10,4	10,5	10,4	Kuat
	20	9,1	8,3	8,9	8,8	Sedang
	10	7,7	8,7	8,2	8,2	Sedang
Fraksi N-Heksan	30	8,9	9,7	10,5	9,7	Sedang
	20	7,2	7,9	8,1	7,7	Sedang
	10	6,1	7,4	8	7,2	Sedang
Fraksi Etil Asetat	30	11,5	11,6	11,8	11,6	Kuat
	20	10,4	10,4	10,5	10,4	Kuat
	10	9,3	10	9,4	9,6	Sedang
Kontrol Positif (Kloramfenikol)		35,3	39,3	35,9	36,8	Sangat Kuat
Kontrol Negatif (Tween 80 + Aquades)		-	-	-	-	-



Gambar 4. Diagram batang hasil rata-rata zona hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Pembacaan hasil metode difusi dengan mengukur adanya zona hambat. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Escherichia coli* yang ditunjukkan pada tabel 7.

Pada tabel 7 menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan terbentuknya zona bening.

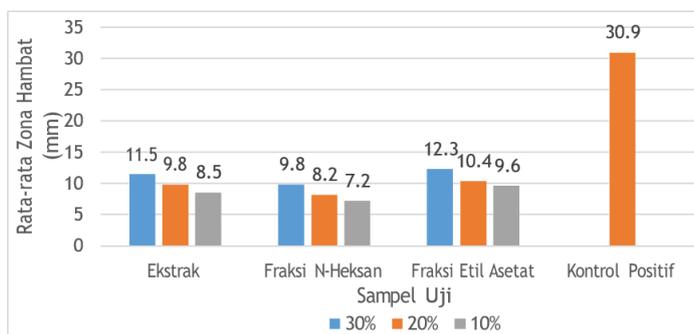
Perbedaan zona hambat yang terbentuk dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi maka semakin luas pula zona hambat bakteri *Escherichia coli* yang terbentuk. Rata-rata zona hambat paling tinggi adalah 12,3 mm pada konsentrasi 30% fraksi etil asetat sedangkan rata-rata zona paling rendah adalah 7,2 mm pada konsentrasi 10% fraksi n-heksan. Berikut gambar 5 diagram batang hasil rata-rata zona hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Metode difusi agar merupakan metode yang dilakukan dengan pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram yang berisi zat antibakteri yang diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi bakteri. Metode difusi agar ini dipilih karena dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai

jenis bakteri terhadap antibakteri pada konsentrasi tertentu, juga metode ini lebih mudah untuk dikerjakan dan peralatannya mudah didapatkan

Tabel 12. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan Dan Fraksi Etil Asetat Batang Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*.

Sampel Uji	Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)	Kategori
		Replikasi				
		1	2	3		
Ekstrak Etanol	30	10,9	11,9	11,6	11,5	Kuat
	20	8,8	10,4	10,3	9,8	Sedang
	10	8,4	8,9	8,2	8,5	Sedang
Fraksi N-Heksan	30	9,2	10,2	10,1	9,8	Sedang
	20	7,5	8,1	9	8,2	Sedang
	10	6,5	7,4	7,6	7,2	Sedang
Fraksi Etil Asetat	30	12,8	12,5	11,5	12,3	Kuat
	20	10,4	9,9	10,9	10,4	Kuat
	10	10,2	9,8	8,8	9,6	Sedang
Kontrol Positif (Kloramfenikol)		33,4	26,9	32,5	30,9	Sangat Kuat
Kontrol Negatif (Tween 80)		-	-	-	-	-



Gambar 5. Diagram batang hasil rata-rata zona hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat batang karamunting (*Rhodomirtus Tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap bakteri *Escherichia coli*

Bakteri yang digunakan dalam pengujian ini adalah *Staphylococcus aureus* untuk mewakili bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* untuk mewakili bakteri Gram negatif. Pengujian ini, daya antibakteri dilihat dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram yang berukuran 6 mm, hal ini menunjukkan adanya kepekaan bakteri terhadap ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat batang karamunting. Konsentrasi 30%, 20% dan 10% adalah konsentrasi ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat yang digunakan pada setiap paper disc. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing bakteri. Suhu 37°C yang digunakan pada proses inkubasi tersebut menyesuaikan dengan suhu tubuh manusia. Kemudian untuk pengulangan pada proses inkubasi tersebut 3 kali pada masing-masing bakteri bertujuan menyesuaikan untuk lebih mengakuratkan hasil yang diperoleh.

Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembandingan dalam pengujian ini. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol, hal ini disebabkan karena kloramfenikol memiliki spektrum kerja yang luas. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat pada konsentrasi 30% memiliki aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* kategori kuat. Untuk konsentrasi 20% fraksi etil asetat memiliki aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli* kategori kuat dan untuk konsentrasi 20% ekstrak etanol memiliki aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kategori sedang. Sedangkan untuk fraksi n-heksan konsentrasi 30%, 20% dan

10% memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kategori sedang. Hal ini disebabkan kandungan metabolit yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat berbeda-beda. Kandungan metabolit sekunder golongan alkaloid dan steroid/triterpenoid positif pada ekstrak dan fraksi n- heksan, etil asetat batang karamunting dan untuk golongan tanin, flavonoid, saponin positif pada ekstrak dan fraksi etil asetat batang karamunting.

Kandungan senyawa tanin mempunyai aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim, menghambat transfort protein pada selubung sel. Mekanisme kerja saponin dalam uji antibakteri dengan cara mengganggu permeabilitas sel yang menyebabkan senyawa intraseluler seperti sitoplasma akan keluar dan menyebabkan kematian sel. Mekanisme kerja terpenoid sebagai antibakteri mengakibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri merusak membran dengan keluarnya senyawa intraseluler. Mekanisme senyawa alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga bakteri akan mati [11].

Efek antibakteri dari ekstrak yang menunjukkan zona hambat sedang (7,2–12,3 mm) dikategorikan lebih rendah dibandingkan dengan kloramfenikol yang memiliki zona hambat lebih besar (30–36 mm) dalam uji aktivitas antibakteri. Zona hambat menunjukkan sejauh mana bakteri dihambat oleh senyawa yang diuji, dan sering kali digunakan untuk menentukan apakah efeknya bersifat bakteristatik atau bakterisidal. Zona hambat yang lebih besar cenderung menunjukkan potensi efek yang lebih kuat, dan dalam banyak studi, kloramfenikol sering dianggap sebagai kontrol positif yang kuat menyangkut sifat bakterisidalnya [46].

Sebuah studi oleh Roza et al. menunjukkan bahwa ukuran zona hambat untuk *S. epidermidis* mencapai maksimum 8,28 mm, menandakan penghambatan yang mencolok tetapi tidak sebanding dengan kloramfenikol. Tak satu pun dari referensi yang menganalisis secara spesifik apakah ekstrak tersebut bersifat bakterisidal atau bakteristatik, tetapi dalam konteks penelitian lain, ukuran zona hambat dapat berkorelasi dengan kemampuan bakterisidal ketika melebihi ambang tertentu, di mana efek bakterisidal lebih umum terjadi pada kelas antibiotik seperti kloramfenikol [47].

Data dari referensi yang ada, ada pembahasan tentang pengaruh konsentrasi dan zona hambat tertentu. Misalnya, dalam penelitian Nurramadhani, tidak ditemukan rata-rata zona hambat yang memuaskan pada konsentrasi ekstrak tertentu, menunjukkan bahwa tidak semua ekstrak memiliki kemampuan hambat yang memadai [48]. Penelitian lain mengkonfirmasi bahwa ukuran zona hambat mungkin berkorelasi dengan sifat bakteristatik pada konsentrasi lebih rendah, sementara ukuran yang lebih besar dapat mengindikasikan sifat bakterisidal [49]. Namun, kondisi pengujian serta sifat senyawa utama dari ekstrak tersebut sangat memengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri [50].

Dengan mempertimbangkan data ini, efektivitas zona hambat yang lebih rendah dari ekstrak yang diujikan (7,2-12,3 mm) mungkin menunjukkan karakteristik bakteristatik, yaitu ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan tetapi tidak secara langsung mematikan bakteri. Sebaliknya, kloramfenikol yang menunjukkan ukuran zona hambat yang lebih besar lebih mungkin mengindikasikan sifat bakterisidal dengan kemampuannya untuk secara langsung membunuh bakteri, seperti yang tercatat dalam beberapa penelitian terkait efek kloramfenikol ini [46,51,52].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, serbuk simplisia, ekstrak etanol, serta fraksi n-heksan dan etil asetat diketahui mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, triterpenoid, atau steroid. Selain itu, ekstrak etanol, serbuk simplisia, dan fraksi etil asetat juga mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. Uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan memiliki sifat toksik dengan kategori yang sama, yaitu kategori toksik. Nilai LC₅₀ yang diperoleh untuk ekstrak etanol adalah 97,6787 µg/mL, fraksi n-heksan 57,4910 µg/mL, dan fraksi etil asetat 71,4331 µg/mL. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat serta n-heksan dari batang karamunting memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada konsentrasi 30%, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 20%, fraksi etil asetat tetap menunjukkan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap kedua bakteri, sementara ekstrak etanol menunjukkan aktivitas penghambatan dengan kategori sedang. Pada konsentrasi 10%, baik ekstrak etanol maupun fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambatan terhadap

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* dalam kategori sedang. Sementara itu, fraksi n-heksan pada konsentrasi 30%, 20%, dan 10% menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam kategori sedang.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilaksanakan secara mandiri dan objektif, tanpa adanya konflik kepentingan. Seluruh tahapan penelitian dilakukan secara bebas dari intervensi pihak eksternal maupun kepentingan pribadi, sehingga memastikan keabsahan dan integritas hasil yang diperoleh.

Acknowledgment

Penelitian ini berhasil diselesaikan berkat dukungan dari berbagai pihak. Kami mengungkapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bentuk bantuan yang diberikan. Secara khusus, kami menyampaikan penghargaan yang mendalam kepada Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan atas dukungan serta fasilitas yang telah disediakan selama pelaksanaan penelitian ini.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Sangkoy WJ, Simbala HEL, Rumondor EM. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pinang yaki (*Areca vestiaria*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon* 2023;12:133–9.
- [2] Wulandari A, Rahmawardany CY. Perilaku penggunaan antibiotik di masyarakat. *Sainstech Farma* 2022;15:9–16.
- [3] Fredison F, Triyandi R, Iqbal M, Ramdini DA, Suharmanto S. Kajian Potensi Biji Pinang (*Areca catechu* L.) sebagai Antibakteri. *J Kedokt Univ Lampung* 2023;7.
- [4] Kumontoy GD. Pemanfaatan tanaman herbal sebagai obat tradisional untuk kesehatan masyarakat di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *HOLISTIK, J Soc Cult* 2023.
- [5] Pansyah A, Pujiastuti A. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Karamunting Terhadap Pertumbuhan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) secara In Vitro. *An-Najat* 2024;2:56–69.
- [6] Wulandari S, Pranata C, Sihombing YR, Nasution MH. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa*.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella thypi*. *J Farm* 2020;2:102–8.
- [7] Ferlinahayati F, Rachmat A, Hermansyah H, Elfita E, Hariani PL. Pelatihan Pembuatan Salep Untuk Infeksi Kulit dari Ekstrak Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa*) Di Desa Tanjung Baru, Ogan Ilir. *J Altifani Penelit Dan Pengabdian Kpd Masy* 2024;4:29–35.
- [8] Sinaga E, Rahayu SE. Potensi medisinal karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) 2019.
- [9] Hidayatullah SH, Mourisa C. Uji Efektivitas Akar Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *J Ilm Kohesi* 2023;7:34–40.
- [10] Puspasari S, Nurhamidah N, Amir H. Uji Sitotoksik dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pandan Laut (*Pandanus odorifer*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Alotrop* 2020;4.
- [11] Banoeari, Annisa T, Juwitaningsih T. Kajian aktivitas antibakteri dan toksisitas ekstrak biji telang. *CHEDS J Chem Educ Sci* 2023;7:254–6. <https://doi.org/https://doi.org/10.30743/cheds.v7i2.8523>.
- [12] Azhari S, Marniza E, Mahmudi M, Farida M. Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Laban (*Vitex Pinnata*) Kawasan Geothermal Dan Nongeothermal Menggunakan Spektroskopi UV-VIS. *Serambi Konstr* 2022;4:394–9.
- [13] Handayani F, Apriliana A, Natalia H. Karakterisasi dan skrining fitokimia simplisia daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macracarpa* Jack). *J Ilm Ibnu Sina* 2019;4:49–58.
- [14] Depkes RI J. Farmakope Indonesia Edisi III 1979.
- [15] Safitri RA, Rahayu MP, Widodo GP. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Batang Karamunting

- (*Rhodomyrtus tomentosa*) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar: Test of Antiinflammatory Activity Extract of Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Stem to Male Rat Wistar Strain. *J Surya Med* 2023;9:330–4.
- [16] Roni A, Astarly A, Nawawi A. Uji Aktivitas Antioksidan , Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol dari Daun , Batang , dan Kulit Batang Karamunting (*Melastoma malabathricum* L .). *Sainstech Farma* 2018;11:3.
- [17] Safitri RA, Rahayu MP, Widodo GP. Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) terhadap Tikus Jantan Galur Wistar: Test of Analgetic Activity Extract of Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) Stem to Male Rat Wistar Strain. *J Surya Med* 2022;7:205–9.
- [18] Misfadhila S, Chandra B, Wahyuni Y. Pengaruh fraksi air, etil asetat dan n-heksan dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap kelarutan kalsium batu ginjal secara in vitro. *J Farm Higea* 2020;12:119–23.
- [19] DepKes R. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga* 1979:33.
- [20] Djamil R, Anelia T. Penapisan fitokimia, uji BSLT, dan uji antioksidan ekstrak metanol beberapa spesies *Papilionaceae*. *J Ilmu Kefarmasian Indones* 2009;7:65–71.
- [21] Fadli F, Suhaimi S, Idris M. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Med Sains J Ilm Kefarmasian* 2019;4:35–42.
- [22] Putri AP, Nasution MP. Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *J Heal Med Sci* 2022:203–19.
- [23] Supriningrum R, Fatimah N, Purwanti YE. Karakterisasi spesifik dan non spesifik ekstrak etanol daun putat (*Planchonia valida*). *Al Ulum J Sains Dan Teknol* 2019;5:6–12.
- [24] TW SP, Nabila ER, Nurpatmawati N. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Tepung Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Praeparandi J Farm Dan Sains* 2023;7:1–11.
- [25] Marliza H, Rury RTU, Ramadhani F, Elfasyari TY. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Selaput Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Ahmar Metastasis Heal J* 2023;3:1–7. <https://doi.org/10.53770/amhj.v3i1.175>.
- [26] Dedi Ariansah Munthe R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pinang (*Areca Catechu* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *J Heal Med Sci* 2022:14–28.
- [27] Indonesia DKR, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Departemen Kesehatan, Anonim. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta Dep Kesehat Republik Indones 1978.
- [28] Sidoretno WM. Potential of the ethanolic extract of matoa leaves (*Pometia pinnata* JR & G. Forst) against *Staphylococcus aureus* bacteria. *JPK J Prot Kesehat* 2021;10:107–12.
- [29] Rahayu TP, Kiromah NZW, Maretha F. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Serai Dan Ekstrak Pandan Wangi Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *J Farm Klin Dan Sains* 2021;1:18–25.
- [30] Kaseng ES, Muhliah N, Irawan S. Uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora mucronata* dan efek antidiabetiknya pada mencit yang diinduksi aloksan. *J Bionature* 2016;17:1–6.
- [31] Magani AK, Tallei TE, Kolondam BJ. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Bios Logos* 2020;10:7–12.
- [32] Fitri DM. FORMULA MASKER PEEL OFF EKSTRAK ETANOL BATANG SALUANG BELUM SEBAGAI ANTIOKSIDA. *J Heal Educ* 2021;1.
- [33] Marpaung MP, Septiyani A. Penentuan Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Kental Etanol Batang Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). *J Pharmacopolium* 2020;3:58–67. <https://doi.org/10.36465/jop.v3i2.622>.
- [34] RI D. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat* : Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Ed IV 2000.
- [35] Latifa NN, Mulqie L, Hazar S. Penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol simplisia buah tin (*Ficus carica* L.). *Bandung Conf. Ser. Pharm.*, vol. 2, 2022, p. 860–6.
- [36] Kemenkes.RI. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta: kementrian Kesehatan RI; 2017.

- [37] Saidi N, Ginting B. Analisis Metabolis Sekunder. Syiah Kuala University Press; 2018.
- [38] Hanani E. Analisis fitokimia, Eg; 2019.
- [39] Rantina P, Yani DF, Sari SP, Raihan D. Phytochemical Screening and Larvicidal Activity of Kebiul (*Caesalpinia Bonduc*. L) Seed Kernel Against *Aedes Aegypti* Mosquito. *Walisongo J Chem* 2022;5:59–66. <https://doi.org/10.21580/wjc.v5i1.9476>.
- [40] Jayanegara A, Yogiarto Y, Wina E, Sudarman A, Kondo M, Obitsu T, et al. Combination Effects of Plant Extracts Rich in Tannins and Saponins as Feed Additives for Mitigating in Vitro Ruminal Methane and Ammonia Formation. *Animals* 2020;10:1531. <https://doi.org/10.3390/ani10091531>.
- [41] Thapa N, Thapa P, Bhandari J, Niraula P, Shrestha N, Shrestha BG. Study of Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Artocarpus Heterophyllus*. *Nepal J Biotechnol* 2016;4:47–53. <https://doi.org/10.3126/njb.v4i1.16347>.
- [42] Rofida S. Antibacterial and Characterization of Secondary Metabolite Compound From Ethyl Acetate and Ethanol Fraction of Leaves *Moringa Oliefera* L 2019. <https://doi.org/10.5220/0009141002330239>.
- [43] Khasanah NW, Karyadi B, Sundaryono A. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum* sp. terhadap *Artemia salina* Leach. *PENDIPA J Sci Educ* 2020;4:47–53.
- [44] Kurniawan H, Ropiqa M. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J Syifa Sci Clin Res* 2021;3:52–62. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v3i2.11398>.
- [45] Fatimah S, Prasetyaningsih Y, Astuti RW. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Lambung Farm J Ilmu Kefarmasian* 2022;3:61–8.
- [46] Makmun A, Surdam Z, Gunawan A. Uji Efektivitas Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Medium MHA (Mueller Hinton Agar). *Wind Heal J Kesehat* 2020:1–9. <https://doi.org/10.33096/woh.v3i1.632>.
- [47] Roza RM, Fitmawati F, Kapli H, Suzanti F. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak *Mangifera Laurina*, *Ruellia Tuberosa* L. Dan *Leucobryum* Sp. Pada Luka Penderita Diabetes. *Pros Work Dan Semin Nas Farm* 2023;1:13–22. <https://doi.org/10.24843/wsnf.2022.v01.i01.p02>.
- [48] Nurramadhani TR, Abdullah U, Maharani W. Aktivitas Antibakteri Secara in Vitro Ekstrak Metanol Biji Mahoni Terhadap *Escherichia Coli*. *Bandung Conf Ser Med Sci* 2023;3. <https://doi.org/10.29313/bcsms.v3i1.6008>.
- [49] Ishimora ME, Prasetya RC, Susilawati IDA. Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Robusta Dan Arabika Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus Acidophilus*: Studi Eksperimental. *Padjadjaran J Dent Res Students* 2023;7:271. <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v7i3.48658>.
- [50] Yunilawati R, Handayani W, Rahmi D, Aminah A, Imawan C. Komposisi Kimia, Aktivitas Antibakteri, Dan Potensi Sebagai Kemasan Aktif Beberapa Minyak Atsiri Dari Tanaman Rempah Indonesia. *J Kim Dan Kemasan* 2021;43:12. <https://doi.org/10.24817/jkk.v43i1.6704>.
- [51] Mahmud FI, Mambo C, Awaloei H. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Patikan Kerbau (*Euphorbia Hirta* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *J E-Biomedik* 2016;4. <https://doi.org/10.35790/ebm.4.2.2016.14654>.
- [52] Lutfiah A, Mellaratna WP, Topik MM. Uji Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium Acnes* Secara in Vitro. *J Ilm Mns Dan Kesehat* 2023;6:251–62. <https://doi.org/10.31850/makes.v6i2.2175>.