

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

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

Vipi Zetiara Sagala <sup>a</sup>, Ridwanto <sup>a\*</sup>, Anny Sartika Daulay <sup>a</sup>, Ainil Fithri Pulungan <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Kota Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

\*Corresponding Authors: [ridwanto@umnaw.ac.id](mailto:ridwanto@umnaw.ac.id)

#### Abstract

Karamunting leaves are a *Myrtaceae* family plant used as an antioxidant, antimicrobial, antiviral, anticancer, and antibacterial. This research aimed to determine secondary metabolite compounds, toxicity effects, and antibacterial activity in extracts and fractions of karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) leaves. This research includes characteristics, phytochemical screening, a BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method toxicity test, and an antibacterial test using the paper disc method. Toxicity tests were carried out with concentrations of (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000)  $\mu\text{g/mL}$ , and antibacterial tests against *staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were carried out with concentrations of 10, 20 and 30%. The ethanol extract and ethyl acetate fraction results contain alkaloids, flavonoids, triterpenoids or steroids, tannins, and saponins. And the n-hexane fraction contains triterpenoids or steroids. Toxicity test of ethanol extract, n-hexane fraction, and ethyl acetate of karamunting leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) has a toxic effect on *Artemia Salina Leach*. In the ethanol extract, an  $\text{LC}_{50}$  value of 92.593  $\mu\text{g/mL}$  was obtained, followed by the n-hexane fraction with an  $\text{LC}_{50}$  value of 153.3829  $\mu\text{g/mL}$ . Then, the ethyl acetate fraction  $\text{LC}_{50}$  value was 75.9328  $\mu\text{g/mL}$ .  $\text{LC}_{50}$  value. Based on the results obtained from the ethanol extract, the n-hexane and ethyl acetate fractions of karamunting leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) were classified in the toxic category, and the antibacterial test of the ethanol extract, the n-hexane and ethyl acetate fractions of karamunting leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The most potent inhibitory power was found in the ethyl acetate fraction with a concentration of 30% against *staphylococcus aureus* 16.1 mm and *Escherichia coli* 17.1 mm in the strong category.

**Keywords:** Karamunting leaves, BSLT Method Toxicity, Antibacterial activity of karamunting extract, Probit Analysis.

#### Abstrak

Daun karamunting merupakan tumbuhan family *Myrtaceae* yang digunakan sebagai antioksidan, antimikroba, antivirus, antikanker dan antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder, efek toksisitas dan aktivitas antibakteri yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). Penelitian ini meliputi karakteristik, skrining fitokimia, Uji toksisitas metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan uji Antibakteri metode kertas cakram. Uji toksisitas dilakukan dengan konsentrasi (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000)  $\mu\text{g/mL}$  dan untuk uji antibakteri terhadap *staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan konsentrasi 10, 20 dan 30%. Hasil yang diperoleh ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, tannin dan saponin. Dan Pada fraksi n-heksan mengandung triterpenoid atau steroid. Uji toksisitas ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) memiliki efek toksik terhadap *Artemia Salina Leach*. Pada ekstrak etanol diperoleh nilai  $\text{LC}_{50}$  sebesar 92,593  $\mu\text{g/mL}$  selanjutnya fraksi

n-heksan dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 153,3829 µg/mL kemudian fraksi etil asetat nilai LC<sub>50</sub> sebesar 75,9328 µg/mL. Nilai LC<sub>50</sub> berdasarkan hasil yang diperoleh pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) tergolong dalam kategori toksik dan pada uji antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Daya hambat tekuat terdapat pada fraksi etil asetat konsentrasi 30%, terhadap *staphylococcus aureus* 16,1 mm dan pada *Escherichia coli* 17,1 mm dengan kategori kuat.

**Kata Kunci:** Daun Karamunting, Toksisitas Metode BSLT, Antibakteri Ekstrak Karamunting, Analisa Probit.



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 [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.v8i1.823>

## Pendahuluan

Secara empiris tanaman obat tradisional digunakan oleh masyarakat untuk menanggulangi masalah kesehatan baik dengan maksud pemeliharaan, pengobatan maupun pemulihan kesehatan [1]. Salah satu tanaman yang telah digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). Daun Karamunting digunakan untuk mengobati diare, disentri, pendarahan, maupun sebagai antiseptik, antioksidan dan antikanker [2].

Penggunaan obat dari bahan alam menjadi salah satu pilihan terbaik bagi masyarakat. Selain itu obat dari bahan alam lebih aman dikonsumsi dibandingkan obat sintesis. Walaupun begitu bukan berarti obat dari bahan alam tidak memiliki efek toksik jika dikonsumsi berlebihan, maka perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar toksisitasnya [3].

Uji toksisitas merupakan uji yang bertujuan untuk mengetahui efek toksik yang terkandung dalam bahan alam. Uji toksisitas memiliki berbagai metode yang digunakan untuk menentukan ketoksikan suatu senyawa salah satunya yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) [4]. *Brine Shrimp Lethality Test* merupakan metode biasa yang dapat digunakan dalam pengujian toksisitas akut karena senyawa senyawa yang memiliki bioaktivitas tertentu sering kali bersifat toksik terhadap larva udang. Prinsip dari metode ini didasarkan pada tingkat mortalitas larva udang *artemia salin* leach terhadap ekstrak yang di uji. Ekstrak yang di uji dikatakan toksik apabila nilai LC<sub>50</sub> <1000 µg/mL. Metode BSLT ini sering digunakan karena relatif murah, cepat dan hasilnya dapat dipercaya [5].

Pemanfaatan tumbuhan sebagai salah satu obat tradisional tidak lepas dari adanya kandungan metabolit sekunder. Pada penelitian Ramadhanty *et al.* (2023) daun karamunting mengandung senyawa tannin, saponin, steoid, alkaloid dan flavonoid [6]. Senyawa ini diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan antimikroba, antivirus, antikanker dan antibakteri [7].

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang diakibatkan oleh mikroorganisme seperti bakteri. Adapun beberapa bakteri yang sering menyebabkan infeksi adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri kokus gram positif yang tersusun dalam kelompok seperti bentuk buah anggur. *Staphylococcus aureus* biasanya ditemukan di kulit, di belakang bagian hidung, bisul dan luka.

*Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang terlibat dalam pemecahan sisa makanan dan juga dapat menyebabkan diare [8].

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang paling sering menginfeksi manusia. Bakteri ini sangat mudah menginfeksi manusia karena sering ditemukan pada udara, debu, limbah, air, susu, makanan dan pada permukaan lingkungan. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri aerob atau fakultatif anaerob. *Escherichia coli* merupakan bakteri komensal yang dapat bersifat patogen, jika terjadi gangguan disaluran pencernaan [9].

Pada penelitian Dona *et al.* (2020) diperoleh ekstrak dan fraksi daun karamunting memiliki kandungan flavonoid dan fenolik serta memiliki kemampuan sebagai antioksidan [10]. Selanjutnya pada penelitian Ramadhanty.I,dkk. (2023) dilakukan pengujian terhadap ekstrak daun karamunting. Ekstrak diuji aktivitas antibakteri terhadap *streptococcus mutans* menggunakan metode difusi sumuran dengan konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25%; 50% b/v. hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun karamunting mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *streptococcus mutans* pada tiap konsentrasi dengan daya antibakteri yang terbesar terdapat pada konsentrasi 50% dengan diameter 28,3 mm [6]. Penelitian lain oleh Hidayatullah & Mourisa (2023) diperoleh hasil bahwa ekstrak akar karamunting memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 70%; 80%; 90%; 100% dengan zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter 6,26mm [11].

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT Dan Uji Antibakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Ekstrak Dan Fraksi Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk.).

## 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, pembuatan ekstrak, pembuatan fraksi, skrining fitokimia, uji totoksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach dan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## Lokasi dan Waktu Penelitian

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

## Peralatan dan Bahan penelitian

Penelitian ini menggunakan berbagai bahan, di antaranya daun karamunting, larva udang *Artemia salina* Leach, aquadest, etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, DMSO 5%, *nutrient agar* (NA), MHA, garam (NaCl), kertas cakram, bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta antibiotik kloramfenikol. Selain itu, sejumlah peralatan laboratorium juga digunakan untuk mendukung penelitian ini, seperti *rotary evaporator*, timbangan digital, blender, kertas saring, wadah uji, toples kaca, beker gelas, gelas ukur, lampu, tabung reaksi, rak tabung, vortex, Bunsen, jarum ose, cawan petri, autoklaf, kapas swab, inkubator, serta jangka sorong.

## Pengambilan Sampel dan Preparasi Simplisia

Sampel daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) diperoleh dari Dusun IV Meranti, Kecamatan Meranti, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*, yaitu tanpa mempertimbangkan variasi geografis dari daerah lain.

Sampel daun yang telah dikumpulkan menjalani proses sortasi basah untuk menghilangkan kotoran serta bagian tanaman yang tidak diinginkan. Daun kemudian dicuci menggunakan air mengalir guna menghilangkan sisa tanah atau kotoran yang masih melekat, lalu ditiriskan dan ditimbang untuk menentukan berat basah sebelum proses perajangan. Daun yang telah dirajang selanjutnya dikeringkan pada suhu 40–50°C di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung hingga benar-benar kering. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk memastikan tidak ada bahan asing yang masih melekat pada sampel. Sampel kering kemudian diserbukkan menggunakan blender, diayak, dan ditimbang. Serbuk

simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup rapat pada suhu ruang hingga tahap analisis lebih lanjut [12].

### Determinasi Sampel Tumbuhan

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

### Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik Simplisia

Pemeriksaan makroskopik dilakukan untuk mengamati karakteristik fisik simplisia daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.), yang meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau. Identifikasi makroskopik dilakukan dengan memperhatikan ciri morfologi daun, termasuk struktur tulang daun dan tepi daun. Pengamatan ini bertujuan untuk memberikan deskripsi awal yang objektif dalam proses identifikasi simplisia. Metode pemeriksaan makroskopik merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Deniansyah dan Pujiastuti (2022), yang menyatakan bahwa analisis bentuk daun dapat digunakan sebagai parameter utama dalam identifikasi morfologi simplisia [13]. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Marwati et al. (2020), yang menekankan pentingnya pengamatan organoleptik dalam penentuan karakteristik simplisia. Selain itu, penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa daun karamunting mengandung senyawa fenolik dan flavonoid, yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker [14]. Dengan demikian, pemeriksaan makroskopik tidak hanya berfungsi sebagai tahap awal dalam identifikasi simplisia, tetapi juga memberikan indikasi awal terhadap potensi bioaktivitas dari daun karamunting.

Selanjutnya, pemeriksaan mikroskopik dilakukan untuk mendapatkan pemahaman lebih dalam tentang struktur internal daun karamunting. Menurut laporan Handayani dan koleganya (Veninda et al., 2023), teknik yang dilakukan untuk mengamati serbuk simplisia di bawah mikroskop melibatkan penggunaan larutan kloral hidrat, yang dapat membantu menyoroti komponen seluler dengan lebih baik [15]. Metode ini, yang banyak digunakan dalam literatur, berguna untuk menilai sel-sel khas, jaringan penyusun, serta senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi aktivitas farmakologis daun. Dengan demikian, pengamatan mikroskopik memberi tambahan data visual yang valid untuk mendukung informasi organoleptik yang sudah teridentifikasi.

### Ekstraksi daun karamunting

Sebanyak 700 gram serbuk simplisia daun karamunting (*rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) dimasukkan kedalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan 75 bagian etanol 96%, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulang ulang diaduk. Setelah 5 hari, diserkai, ampas diperas sehingga diperoleh hasil maserat I. selanjutnya ampas dibilas dengan cairan penyari 25 bagian segingga deperoleh maserat II. Kemudian maserat I dan maserat II digabungkan selanjutnya dipindahkan ke dalam bejana tertutup dan dibiarkan ditempat sejuk terindung dari pengaruh langsung cahaya selama 2 hari. Setelah itu, di enap tuangkan sehingga diperoleh hasil ekstrak cair. Selanjutnya hasil ekstrak dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu tidak lebih ari 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental [16–20].

### Fraksinasi ekstrak etanol daun karamunting

Sebanyak 40 gram ekstrak pekat daun karamunting di larutkan dengan 80 ml etanol 96% hingga larut. Selanjutnya ditambahkan 80 ml aquades, dan campuran ini dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian tambahkan 200 ml n-heksan lalu campuran ini dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan terpisah. Lapisan n-heksan, yang merupakan lapisan bagian atas. 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. selanjutnya, lapisan bawah (residu) diambahan 200 ml etil asetat, dikocok, dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan terpisah. Lapisan etil asetat, yang berada di lapisan atas. proses fraksinasi dilakukan berulang hingga lapisan etil asetat memberikan hasil yang negatif atau tidak berwarna. Lapisan n-heksana dan lapisan etil asetat yang telah dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C, dan selanjutnya diuapkan di atas waterbath pada suhu yang sama hingga diperoleh fraksi pekat n-heksan dan etil asetat [21].

## Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun karamunting (*Rhodomirtus tomentosa* (Aiton) Hassk.). Pemeriksaan ini mencakup identifikasi alkaloid, flavonoid, triterpenoid atau steroid, tannin, saponin, dan glikosida menggunakan metode uji reaksi warna dengan pereaksi spesifik.

Uji alkaloid dilakukan dengan menimbang masing-masing 0,5 g ekstrak, kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida 2N dan 9 mL air suling, dipanaskan selama 2 menit, didinginkan, dan disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian diuji dengan tiga pereaksi, yaitu Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning pada pereaksi Mayer, endapan coklat hingga hitam pada pereaksi Bouchardat, serta warna merah atau jingga pada pereaksi Dragendorff. Adanya alkaloid dikonfirmasi jika minimal dua dari tiga uji menunjukkan hasil positif [22].

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan melarutkan 10 g ekstrak dalam 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh sebanyak 5 mL ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat, dan 2 mL amil alkohol, lalu dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk lapisan. Reaksi positif flavonoid ditunjukkan dengan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan alkohol [22].

Uji triterpenoid atau steroid dilakukan dengan menimbang 1 g ekstrak, yang kemudian dimaserasi dalam 20 mL eter selama 2 jam dan disaring. Filtrat diuapkan, lalu ditambahkan 5 tetes asam asetat anhidrat dan 5 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Reaksi positif triterpenoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi ungu hingga merah-ungu, sedangkan steroid ditandai dengan warna biru kehijauan [22].

Pemeriksaan tannin dilakukan dengan melarutkan 0,5 g ekstrak dalam 10 mL akuades, dikocok dan disaring. Filtrat kemudian diencerkan hingga tidak berwarna, lalu 2 mL larutan ditambahkan 1–2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Reaksi positif tannin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman [22]. Untuk pemeriksaan saponin, sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dalam 10 mL air panas, didinginkan, dan dikocok selama 10 detik. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1–10 cm yang stabil selama lebih dari 10 menit dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida 2N [22].

Pemeriksaan glikosida dilakukan dengan menimbang 3 g ekstrak, lalu disaring menggunakan 30 mL campuran etanol 96% dan akuades (7:3), serta ditambahkan 10 mL asam klorida 2N, kemudian direfluks selama 10 menit, ditimbang, dan disaring kembali. Filtrat sebanyak 20 mL dicampurkan dengan 25 mL akuades dan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, didiamkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat selanjutnya diekstraksi dengan 20 mL campuran isopropanol:kloroform (2:3) sebanyak tiga kali, kemudian diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Residu yang diperoleh dilarutkan dalam 2 mL metanol, lalu 0,1 mL filtrat diuapkan, ditambahkan 2 mL air, dan 5 tetes pereaksi Molisch. Setelah itu, ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat secara perlahan melalui dinding tabung. Reaksi positif glikosida ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas kedua cairan [22].

## 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 homogeny. Kemudian disaring dengan kertas whatman [23].

### Penetasan Telur *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam wadah bening dengan menggunakan media air laut. 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 dengan satu liter air laut buatan. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok (sendok teh) telur yang sebelumnya telah dicuci dengan cara direndam dengan aquadest selama 1 jam. Pada wadah bagian gelap ditutup dengan aluminium foil atau lakban hitam. Pada wadah bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampr neon 40 watt agar suhu penetasan 25-30 °C tetap terjaga. Telur udang dibiarkan terendam selama 48 jam sampai telur menetas. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan bergerak secara alamiah

menuju daerah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang telah aktif bergerak siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian [5].

### **Pembuatan Larutan Ekstrak dan fraksi**

Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) dibuat dalam larutan induk dengan konsentrasi 2000 µg/mL. Pembuatan larutan induk dilakukan dengan menimbang 0,2 g ekstrak, kemudian dilarutkan dalam air laut hingga mencapai volume 100 mL. Selanjutnya, larutan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan etil asetat dibuat dalam 10 variasi konsentrasi yang digunakan untuk orientasi awal, 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. Selain itu, satu tabung digunakan sebagai kontrol negatif, dengan masing-masing perlakuan dilakukan dalam tiga kali pengulangan [1]. Pembuatan larutan uji dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat dari larutan induk. Untuk mendapatkan konsentrasi 100 µg/mL, sebanyak 0,5 mL larutan induk dipipet dan ditambahkan air hingga volume akhir 10 mL. Konsentrasi 200 µg/mL dibuat dengan memipet 1 mL larutan induk dan menambahkannya dengan air hingga mencapai 10 mL. Selanjutnya, konsentrasi 300 µg/mL diperoleh dengan memipet 1,5 mL larutan induk dan mencukupkan volumenya hingga 10 mL. Pembuatan larutan dengan konsentrasi 400 µg/mL dilakukan dengan memipet 2 mL larutan induk dan menambahkannya dengan air hingga 10 mL. Untuk konsentrasi 500 µg/mL, sebanyak 2,5 mL larutan induk dipipet dan volumenya dicukupkan hingga 10 mL. Proses yang sama dilakukan untuk konsentrasi yang lebih tinggi, yakni 600 µg/mL dengan memipet 3 mL larutan induk, 700 µg/mL dengan memipet 3,5 mL larutan induk, 800 µg/mL dengan memipet 4 mL larutan induk, 900 µg/mL dengan memipet 4,5 mL larutan induk, dan 1000 µg/mL dengan memipet 5 mL larutan induk, masing-masing ditambahkan air hingga mencapai volume akhir 10 mL.

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

Uji toksisitas dilakukan dengan cara masing-masing konsentrasi dilakukan 3 duplikasi dimana tiap kelompok terdapat sebanyak 10 ekor larva *artemia salina leach*. Disiapkan wadah untuk pengujian, yang mana masing-masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 3 wadah sebagai kontrol untuk masing-masing duplikasi, kemudian pada masing-masing konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva *artemia salina leach*. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *artemia salina leach* dimana, setiap konsentrasi dilakukan 3 duplikasi dan dibandingkan dengan kontrol. Kriteria standar untuk menilai kematian *artemia salina leach* yaitu jika larva *artemia salina leach* tidak menunjukkan adanya pergerakan selama beberapa detik observasi. Selanjutnya dihitung persentasi kematian dan dianalisis menggunakan analisis probit [24].

### **Persiapan Media Nutrient Agar (NA)**

Media *Nutrient Agar* (NA) digunakan untuk peremajaan bakteri, sebanyak 23 gr NA dilarutkan dalam 1000 mL air suling dalam erlenmeyer lalu dipanaskan menggunakan hotplate sampai larut sempurna. Media disterilkan kedalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. kemudian dituangkan sebanyak 5 ml kedalam tabung reaksi steril dan ditutup. setelah itu dibiarkan selama kurang lebih 30 menit pada suhu ruang sampai media memadat pada kemiringan 30° [25].

### **Media Mueller Hinton Agar (MHA)**

Ditimbang sebanyak 3,8 gram MHA dimasukkan kedalam Erlenmeyer 250 mL, dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 mL, kemudian dipanaskan sampai mendidih diatas api bunsen, diangkat kemudian ditutup dengan kapas, dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah media steril dikeluarkan dari autoklaf dan dibiarkan dingin, kemudian tuangkan media sebanyak 10 mL kedalam tiga buah cawan petri steril dan biarkan membeku [26].

### **Pembuatan Larutan NaCl Fisiologis 0,9%**

Sebanyak 0,9 g Natrium klorida dilarutkan dalam aquadest sedikit demi sedikit dalam labu takar 100 mL sampai terlarut sempurna. Kemudian ditambahkan kembali aquadest sampai garis tanda, larutan tersebut

dimasukkan dalam labu Erlenmeyer steril yang tertutup dan larutan di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit [20].

#### **Pembuatan Larutan Standar Mc.Farland 0,5**

Larutan BaCl<sub>2</sub> 1% w/v sebanyak 0,054 mL dicampur dengan H<sub>2</sub>SO 1% v/v sebanyak 9,946 mL di dalam tabung reaksi, kemudian divortex sampai campuran tersuspensi secara homogen. Setelah itu, hasil suspensi dimasukkan ke dalam screw cap tube dan ditutup menggunakan aluminium foil untuk mencegah penguapan. Larutan Mc Farland disimpan pada suhu 2-4°C dengan posisi tegak [27].

#### **Pembuatan Inokulasi Bakteri (Peremajaan)**

Inokulasi bakteri adalah penumbuhan bakteri dilakukan dalam tabung reaksi agar yang telah dibuat. Cara yang dilakukan adalah diambil 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* digoreskan di media agar miring lalu diinkubasi selama 24 jam [9].

#### **Pembuatan Suspensi Bakteri**

Biakan segar (18-24 jam) *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil menggunakan ose steril 1 µL, kemudian disuspensikan dalam 5 mL NaCl 0,9%. Suspensi divortex selama 15 detik dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 ( $\approx 1,5 \times 10^8$  CFU/mL) menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda = 625$  nm (OD 0,08-0,1) [28].

#### **Pembuatan Larutan Kontrol Dan Larutan Uji**

##### **a. Kontrol Positif**

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul kloramfenikol 250 mg. kapsul kloramfenikol dibuka cangkang kapsulnya lalu ditimbang serbuk dalam kapsul tersebut sebanyak 30 µg. Kemudian serbuk dilarutkan dalam etanol 5 ml untuk memperoleh larutan stok kloramfenikol 30 µg/50 µL [29].

##### **b Kontrol Negatif**

Kontrol negatif menggunakan DMSO 5% yang dibuat dengan cara mengambil 5 mL DMSO, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga mencapai tanda batas. Larutan uji disiapkan dalam tiga konsentrasi, yaitu 10%, 20%, dan 30% b/v. Untuk konsentrasi 10%, sebanyak 0,5 g ekstrak, fraksi n-heksan, dan etil asetat daun karamunting dilarutkan dalam DMSO 5% hingga mencapai volume 5 mL. Pada konsentrasi 20%, sebanyak 1 g ekstrak, fraksi n-heksan, dan etil asetat daun karamunting dilarutkan dalam DMSO 5% hingga 5 mL. Sementara itu, untuk konsentrasi 30%, sebanyak 1,5 g ekstrak, fraksi n-heksan, dan etil asetat daun karamunting dilarutkan dalam DMSO 5% hingga mencapai volume akhir 5 mL [30].

#### **Pembuatan Cakram Atau Diks**

Pembuatan cakram atau diks dilakukan dengan menggunakan kertas cakram steril yang kemudian dijenuhkan dengan larutan konsentrasi ekstrak dan fraksi daun karamunting dengan konsentrasi 30%; 20%; dan 10% cakram dengan DMSO sebagai kontrol negatif dan cakram kloramfenikol sebagai kontrol positif [28].

#### **Uji Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)**

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram yang melibatkan sejumlah kondisi eksperimen. Ini melibatkan ekstrak etanol, fraksi n- heksan dan etil asetat dengan variasi konsentrasi (30%, 20%, 10%) serta kontrol positif dan negatif. Alat-alat yang digunakan telah di sterilkan terlebih dahulu dalam oven. Langkah selanjutnya menuangkan media MHA steril ke dalam cawan petri dan menunggu hingga mengeras. Setelah itu, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil menggunakan cotton swab steril dan ditebarkan pada permukaan media MHA. Ekstrak etanol, Fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting dengan konsentrasi (30%, 20%, 10%) dijatuhkan di atas kertas cakram. Sebagai kontrol, DMSO digunakan sebagai kontrol negatif dan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kertas cakram tersebut dengan hati-hati ditempelkan pada permukaan media MHA yang sudah diinokulasi dengan bakteri, menggunakan pinset. Percobaan ini diulang tiga kali untuk memastikan konsistensi hasil. kemudian, media yang telah siap dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C dan

dibiarkan menginkubasi selama 18-24 jam. Setelah periode inkubasi selesai, zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong [21].

### Analisis Data

Data hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan kurva. Data dari uji toksisitas akan dianalisis dengan analisis probit serta menggunakan Microsoft office excel untuk mencari regresi linier dengan hubungan antara nilai probit dengan log konsentrasi. Nilai  $LC_{50}$  dapat dihitung dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai  $LC_{50}$  [1]. Analisis data uji antibakteri dalam penelitian ini didasarkan pada pengukuran diameter zona hambat. Pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong untuk memastikan ketepatan hasil. Data yang diperoleh kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan diagram batang untuk mempermudah interpretasi dan analisis [31].

## Hasil Dan Pembahasan

### Hasil Identifikasi Tanaman

Tanaman daun karamunting yang digunakan dalam penelitian ini di determinasi di Herbarium Medanense Universitas Sumatera Utara, Medan. Diperoleh hasil determinasi tanaman dari herbarium medanense adalah divisi spermatophyte, kelas dicotyledoneae, ordo myrtales, famili myrtales, genus *rhodomyrtus*, spesies *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.

### Hasil Pengumpulan Sampel Tanaman

Tanaman daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) diperoleh dari dusun IV Meranti Kabupaten Asahan Provinsi Sumatera Utara. Digunakan bagian daun dan diperoleh hasil daun karamunting yang segar, tidak rusak serta tidak berjamur.

### Hasil Pengolahan Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Sampel daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) yang telah dikumpulkan diperoleh beratnya sebanyak 3 kg, kemudian dilakukan pengolahan simplisia meliputi sortasi basah, pencucian, pengerigan, sortasi kering dan penghalusan serta penyimpanan. Setelah di haluskan diperoleh berat serbuk 800 gram dan sebanyak 700 gram digunakan untuk maserasi.

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

Pemeriksaan karakteristik suatu simplisia perlu dilakukan dengan tujuan untuk menjamin mutu dari sutau simplisia tersebut. Pemeriksaan karakteristik simplisia ini meliputi makroskopik, mikroskopik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam.

Pada pengujian makroskopik dilakukan pengamatan secara langsung mengenai bentuk, warna, bau, dan rasa dari daun karamunting. Hasil pengujian makroskopik yang telah dilakukan menunjukkan daun tunggal berbentuk bulat memanjang dengan tangkai daun pendek. Memiliki panjang 12 cm dan lebar 4,2 cm berwarna hijau, tidak berbau serta memiliki rasa pahit (Tabel 1). Tujuan dilakukannya uji makroskopik yang meliputi identitas ekstrak dan uji organoleptik ialah menentukan sifat-sifat khusus yang dimiliki suatu ekstrak melalui pengamatan secara langsung berdasarkan sumber secara umum [32].

**Tabel 1.** Pengamatan makroskopik simplisia daun karamunting

| No. | Parameter Organoleptis | Keterangan  |
|-----|------------------------|---|
| 1.  | Bentuk                 | Daun tunggal berbentuk bulat memanjang dengan tangkai daun pendek. Panjangnya 12 cm dan lebarnya 4,2 cm |
| 2.  | Warna                  | Berwarna hijau  |
| 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 [32].

Penetapan kadar sari larut dalam air bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa kimia bersifat polar yang dapat di ekskresi dan pada Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa yang larut dalam pelarut etanol [33]. 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 karena apabila saat maserasi hanya dengan air saja, maka dapat rusak dikarenakan air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba [34]. Untuk hasil penetapan kadar sari larut dalam air dan kadar sari larut dalam etanol dapat dilihat pada tabel 2 berikut ini :

**Tabel 2.** Hasil karakteristik daun karamunting

| No. | Parameter Uji              | Kadar Simplisia (%) |      |      | Rata-Rata (%) | Persyaratan FHI,2017 (%) | Keterangan |
|-----|----------------------------|---------------------|------|------|---------------|--------------------------|------------|
|     |                            | 1                   | 2    | 3    |               |                          |            |
| 1.  | Kadar sari larut air       | 23,0                | 21,7 | 23,4 | 22,70         | > 18,2                   | MS         |
| 2.  | Kadar sari larut etanol    | 17,1                | 21,4 | 23,5 | 20,67         | > 15                     | MS         |
| 3.  | Kadar air                  | 4,0                 | 4,0  | 4,0  | 4,00          | < 10                     | MS         |
| 4.  | Kadar abu total            | 5,0                 | 4,9  | 6,7  | 5,53          | < 8,4                    | MS         |
| 5.  | Kadar abu tidak larut asam | 0,3                 | 0,4  | 0,5  | 0,42          | < 0,8                    | MS         |

Keterangan : MS : Memenuhi syarat

TMS : Tidak memenuhi syarat

Pada pengujian kadar sari larut air serbuk simplisia daun karamunting diperoleh persentase kadar sari larut air sebesar 22,7 % sedangkan pada pengujian kadar sari larut etanol serbuk simplisia daun karamunting diperoleh kadar sari larut etanol yaitu 20,67 % dan memenuhi persyaratan sesuai dengan farmakope herbal Indonesia edisi II tahun 2017. Hasil pengujian pada kadar sari diperoleh kadar sari larut air dalam simplisia memiliki nilai lebih besar dibandingkan dengan kadar sari larut etanol, hal ini menandakan bahwa simplisia daun karamunting memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder paling banyak adalah bersifat polar yaitu larut dalam air dibandingkan larut dalam etanol.

Pada penetapan kadar air diperoleh hasil rata-rata kadar air pada serbuk simplisia daun karamunting yaitu 4%. Persentase kadar yang diperoleh menunjukkan bahwa hasil memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017. Penentuan kadar air bertujuan untuk mengetahui persentase kandungan air dalam bahan setelah proses pengeringan atau pengentalan. Semakin besar persentase kandungan air dalam suatu bahan maka semakin mudah suatu ekstrak mengalami kerusakan dan pembusukan yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroba. Oleh sebab itu, kadar air sangat menentukan kualitas dan stabilitas suatu ekstrak maupun pembentukan suatu sediaan [32].

Pada pengujian kadar abu total serbuk simplisia daun karamunting didapatkan persentase kadar sebesar 5,53 % dan untuk pengujian kadar abu tidak larut asam didapatkan persentase kadarnya sebesar 0,42 %. 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 mengetahui kandungan mineral yang ada pada sampel. Tingginya kadar abu menggambarkan banyaknya cemaran bahan anorganik. Penetapan kadar abu total berkaitan dengan kemurnian dan kontaminasi. Sedangkan Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar abu yang diperoleh dari faktor eksternal (pengotor) yang tidak larut dalam larutan asam. Semakin tinggi kadar abu tidak larut asam, maka menunjukkan adanya kandungan mineral dan silikat yang berasal dari tanah atau pasir [35].

#### Hasil Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan Dan Etil Asetat Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.)

Proses ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi, metode maserasi merupakan metode sederhana yang dapat dilakukan dalam ekstraksi. Metode ini dapat dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Pemilihan metode maserasi dikarenakan relatif sederhana yaitu tidak memerlukan alat-alat yang rumit, mudah, murah dan dapat menghindari rusaknya komponen senyawa akibat panas. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol 96%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar dan universal. Selain itu sebagai pelarut etanol juga merupakan salah satu pelarut yang aman dan memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang besar mulai dari senyawa non polar sampai senyawa polar [36].

Setelah dilakukannya maserasi ekstrak cair yang didapatkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diiperoleh ekstrak kental sebanyak 114,3 gram dengan persentase rendemen sebesar 16,3286 %.

Selanjutnya dilakukan proses fraksinasi terhadap ekstrak kental daun karamunting menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Penggunaan pelarut n-heksan bertujuan agar kandungan senyawa yang bersifat nonpolar dapat tersari dalam pelarut tersebut. Pelarut etil asetat digunakan dengan tujuan agar kandungan senyawa yang bersifat semi polar dapat tersari dalam pelarut tersebut [37]. Diperoleh hasil proses fraksinasi n-heksan yaitu 6,096 gram dengan persentase rendemen 20,325 % dan fraksi etil asetat sebesar 6,411 gram dengan persentase rendemen sebesar 21,37 %.

**Tabel 3.** Hasil fraksinasi n-heksan dan etil asetat daun karamunting

| Nama Fraksi | Berat Ekstrak (gram) | Berat Fraksi (gram) | % Rendemen |
|-------------|----------------------|---------------------|------------|
| N- heksan   | 40                   | 8,096               | 20,24      |
| Etil asetat | 40                   | 8,411               | 21,03      |

### Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan karamunting. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil skrining fitokimia simplisia, ekstrak dan fraksi daun karamunting

| No. | Pemeriksaan               | Hasil  |         |          |             |
|-----|---------------------------|--------|---------|----------|-------------|
|     |                           | Serbuk | Ekstrak | N-Heksan | Etil Asetat |
| 1.  | Alkaloid                  | +      | +       | -        | +           |
| 2.  | Flavonoid                 | +      | +       | -        | +           |
| 3.  | Triterpenoid atau steroid | +      | +       | +        | +           |
| 4.  | Tannin                    | +      | +       | -        | +           |
| 5.  | Saponin                   | +      | +       | -        | +           |
| 6.  | Glikosida                 | -      | -       | -        | -           |

Keterangan : (+) hasil reaksi positif

(-) hasil reaksi negatif

Tabel 4, menunjukkan hasil skrining fitokimia dari serbuk, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting. Pada pemeriksaan senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif pada serbuk, ekstrak etanol dan etil asetat. Hasil positif kandungan alkaloid pada serbuk, ekstrak etanol dan fraksi daun karamunting ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih atau kuning pada larutan uji dengan penambahan pereaksi mayer. Filtrat yang ditetesi dengan pereaksi dragendorff menunjukkan adanya endapan merah atau jingga. Filtrat yang ditetesi pereaksi bouchardat menunjukkan adanya endapan cokelat. Alkaloid dianggap positif bila sedikitnya 2 dari 3 pereaksi ada endapan atau kekeruhan yang berarti serbuk, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat positif mengandung senyawa alkaloid.

Pada uji senyawa flavonoid serbuk, ekstrak etanol dan etil asetat daun karamunting positif mengandung flavonoid yang ditunjukkan terbentuknya warna merah, jingga pada lapisan amil alkohol. Ketika serbuk magnesium dan asam klorida ditambahkan dalam pengujian flavonoid, inti benzopiron yang

ada akan mengalami reduksi, menghasilkan perubahan warna menjadi merah. Perubahan warna ini menjadi ciri adanya senyawa flavonoid [21].

Pada uji steroid dan triterpenoid serbuk, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat menunjukkan terbentuknya warna biru hijau atau merah ungu. Dengan demikian menunjukkan serbuk, ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting mengandung steroid.

Pada uji senyawa tanin reaksi positif ditunjukkan jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman. Identifikasi senyawa tannin menghasilkan larutan hijau kehitaman dan biru kehitaman pada serbuk, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yang menandakan bahwa positif mengandung tanin. Tanin terhidrolisis akan memperoleh larutan dengan warna biru tua hingga kehitaman. Penyebab perubahan warna yang terbentuk adalah akibat adanya reaksi antara reagen dengan satu dari banyaknya gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa metabolit sekunder tanin [38].

Pada pemeriksaan senyawa golongan saponin terbentuknya busa pada serbuk 4 cm, ekstrak etanol 6 cm, dan fraksi etil asetat 5 cm yang stabil dan tidak hilang setelah pemberian HCl, yang tidak hilang kurang dari 10 menit dengan tinggi 1-10 cm. Hal ini menunjukkan bahwa pada serbuk, ekstrak etanol, dan fraksi etil daun karamunting mengandung saponin.

### **Hasil uji toksisitas ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) menggunakan metode BSLT**

Pengujian efek toksisitas ekstrak dan fraksi daun karamunting menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas merupakan suatu uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik dan ambang batas penggunaan suatu tumbuhan sebagai obat [39]. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah suatu metode pengujian dengan menggunakan *Artemia salina* Leach yang dapat digunakan sebagai bioassay yang sederhana untuk meneliti toksisitas akut suatu senyawa, dengan cara menentukan nilai LC<sub>50</sub> dari komponen aktif suatu simplisia maupun bentuk sediaan ekstrak dari suatu tanaman. *Lethal Concentration 50* (LC<sub>50</sub>) merupakan konsentrasi zat atau senyawa yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan uji [40].

Uji toksisitas dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi daun karamunting yang diperoleh dari proses maserasi dan fraksinasi. selanjutnya ekstrak dan fraksi yang diperoleh diuji efek toksiknya terhadap *Artemia salina* Leach. Pengujian toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dipilih karena metode ini merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik. Metode BSLT menggunakan larva udang sebagai hewan uji karena merupakan general bioassay sehingga semua zat dapat menembus masuk dalam dinding sel larva tersebut. Disamping itu, pemilihan larva udang sangat cocok sebagai hewan uji dalam penelitian ini, karena larva *Artemia salina* Leach memiliki kesamaan dengan mamalia. Seperti memiliki DNA-dependent RNA polimerase yang sama seperti yang dimiliki oleh mamalia [36].

Pengujian ini dilakukan dengan cara menetasakan telur *artemia salina leach* di dalam air laut buatan. Larva yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach yang berusia 48 jam karena memiliki saluran pencernaan yang sudah terbentuk lengkap sehingga sensitif terhadap suatu zat yang dimasukkan dan larva *Artemia salina* Leach identik dengan sel kanker yang membelah secara mitosis. Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva udang, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut [39].

Larutan induk dari ekstrak dan fraksi daun karamunting dibuat 2000 µg/mL yaitu dengan menimbang sebanyak 0,2 g ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting dengan 100 mL air laut. 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 maupun fraksi daun karamunting. Kontrol negatif digunakan untuk menguji jika 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. Percobaan 3 kali replikasi (*triplo*) dilakukan dengan tujuan agar 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 daun karamunting dapat dilihat pada tabel 4 sampai tabel 7.

**Tabel 5.** Hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun karamunting

| No. | Konsentrasi<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Jumlah larva yang mati |    |    | Total | Rata-rata<br>kematian larva | Mortalitas<br>(%) |
|-----|-------------------------------------|------------------------|----|----|-------|-----------------------------|-------------------|
|     |                                     | P1                     | P2 | P3 |       |                             |                   |
| 1.  | kontrol negatif                     | 0                      | 0  | 0  | 0     | 0                           | 0                 |
| 2.  | 100                                 | 5                      | 5  | 6  | 16    | 5,33                        | 53,3              |
| 3.  | 200                                 | 7                      | 6  | 7  | 20    | 6,67                        | 66,7              |
| 4.  | 300                                 | 8                      | 8  | 8  | 24    | 8,00                        | 80,0              |
| 5.  | 400                                 | 9                      | 8  | 9  | 26    | 8,67                        | 86,7              |
| 6.  | 500                                 | 9                      | 9  | 9  | 27    | 9,00                        | 90,0              |
| 7.  | 600                                 | 10                     | 9  | 9  | 28    | 9,33                        | 93,3              |
| 8.  | 700                                 | 10                     | 10 | 9  | 29    | 9,67                        | 96,7              |
| 9.  | 800                                 | 10                     | 10 | 10 | 30    | 100                         | 100               |
| 10. | 900                                 | 10                     | 10 | 10 | 30    | 100                         | 100               |
| 11. | 1000                                | 10                     | 10 | 10 | 30    | 100                         | 100               |

**Tabel 6.** Hasil uji toksisitas fraksi n-heksan daun karamunting

| No. | Konsentrasi<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Jumlah larva yang mati |    |    | Total | Rata-rata<br>kematian larva | Mortalitas<br>(%) |
|-----|-------------------------------------|------------------------|----|----|-------|-----------------------------|-------------------|
|     |                                     | P1                     | P2 | P3 |       |                             |                   |
| 1.  | kontrol negatif                     | 0                      | 0  | 0  | 0     | 0                           | 0                 |
| 2.  | 100                                 | 4                      | 4  | 4  | 12    | 4,00                        | 40,0              |
| 3.  | 200                                 | 5                      | 6  | 6  | 17    | 5,67                        | 56,7              |
| 4.  | 300                                 | 7                      | 7  | 6  | 20    | 6,67                        | 66,7              |
| 5.  | 400                                 | 7                      | 7  | 7  | 21    | 7,00                        | 70,0              |
| 6.  | 500                                 | 8                      | 9  | 7  | 24    | 8,00                        | 80,0              |
| 7.  | 600                                 | 8                      | 8  | 9  | 25    | 8,33                        | 83,3              |
| 8.  | 700                                 | 10                     | 9  | 9  | 28    | 9,33                        | 93,3              |
| 9.  | 800                                 | 9                      | 10 | 10 | 29    | 9,67                        | 96,7              |
| 10. | 900                                 | 10                     | 10 | 10 | 30    | 10,00                       | 100               |
| 11. | 1000                                | 10                     | 10 | 10 | 30    | 10,00                       | 100               |

**Tabel 7.** Hasil uji toksisitas fraksi etil asetat daun karamunting

| No. | Konsentrasi<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Jumlah larva yang mati |    |    | Total | Rata-rata<br>kematian larva | Mortalitas<br>(%) |
|-----|-------------------------------------|------------------------|----|----|-------|-----------------------------|-------------------|
|     |                                     | P1                     | P2 | P3 |       |                             |                   |
| 1.  | kontrol negatif                     | 0                      | 0  | 0  | 0     | 0                           | 0                 |
| 2.  | 100                                 | 6                      | 6  | 5  | 17    | 5,67                        | 56,7              |
| 3.  | 200                                 | 7                      | 6  | 6  | 19    | 6,33                        | 63,3              |
| 4.  | 300                                 | 7                      | 7  | 7  | 21    | 7,00                        | 70,0              |
| 5.  | 400                                 | 8                      | 8  | 8  | 23    | 76,67                       | 76,7              |
| 6.  | 500                                 | 8                      | 8  | 8  | 24    | 8,00                        | 80,0              |
| 7.  | 600                                 | 9                      | 10 | 9  | 28    | 9,33                        | 93,3              |
| 8.  | 700                                 | 10                     | 9  | 10 | 29    | 9,67                        | 96,7              |

|     |      |    |    |    |    |       |     |
|-----|------|----|----|----|----|-------|-----|
| 9.  | 800  | 10 | 10 | 10 | 30 | 10,00 | 100 |
| 10. | 900  | 10 | 10 | 10 | 30 | 10,00 | 100 |
| 11. | 1000 | 10 | 10 | 10 | 30 | 10,00 | 100 |

Untuk uji toksisitas, rentang konsentrasi yang digunakan dipilih berdasarkan persentase kematian larva antara 20-80%. Pemilihan rentang ini dilakukan karena dapat menghasilkan kurva hubungan dosis-respons yang lebih linier, sehingga nilai LC50 yang diperoleh mampu merepresentasikan hasil yang lebih akurat [41]. Berdasarkan Tabel 5, persentase kematian larva dalam rentang 20-80% tercapai pada konsentrasi 100 µg/mL, 200 µg/mL, dan 300 µg/mL.

**Tabel 8.** Hasil pengujian uji toksisitas ekstrak etanol daun karamunting

| No. | Konsentrasi (µg/mL) | Log Konsentrasi | Mortalitas (%) | Nilai Probit |
|-----|---------------------|-----------------|----------------|--------------|
| 1.  | 100                 | 2,0000          | 53,3           | 5,0828       |
| 2.  | 200                 | 2,3010          | 66,7           | 5,4316       |
| 3.  | 300                 | 2,4771          | 80,0           | 5,8416       |

Berdasarkan tabel 6 didapatkan persentase kematian larva pada fraksi n-heksan dengan rentang 20-80 % yaitu konsentrasi 100 µg/mL; 200 µg/mL; 300 µg/mL; 400 µg/mL; 500 µg/mL dan 600 µg/mL.

**Tabel 9.** Hasil pengujian uji toksisitas fraksi n-heksan daun karamunting

| No. | Konsentrasi (µg/ml) | Log Konsentrasi | Mortalitas (%) | Nilai Probit |
|-----|---------------------|-----------------|----------------|--------------|
| 1.  | 100                 | 2,0000          | 40,0           | 4,7467       |
| 2.  | 200                 | 2,3010          | 56,7           | 5,1687       |
| 3.  | 300                 | 2,4771          | 66,7           | 5,4316       |
| 4.  | 400                 | 2,6021          | 70,0           | 5,5244       |
| 5.  | 500                 | 2,6990          | 80,0           | 5,8416       |
| 6.  | 600                 | 2,7782          | 83,3           | 5,9661       |

Berdasarkan tabel 7 didapatkan persentase kematian larva pada fraksi etil asetat dengan rentang 20-80 % yaitu konsentrasi 100 µg/mL; 200 µg/mL; 300 µg/mL; 400 µg/mL; dan 500 µg/mL

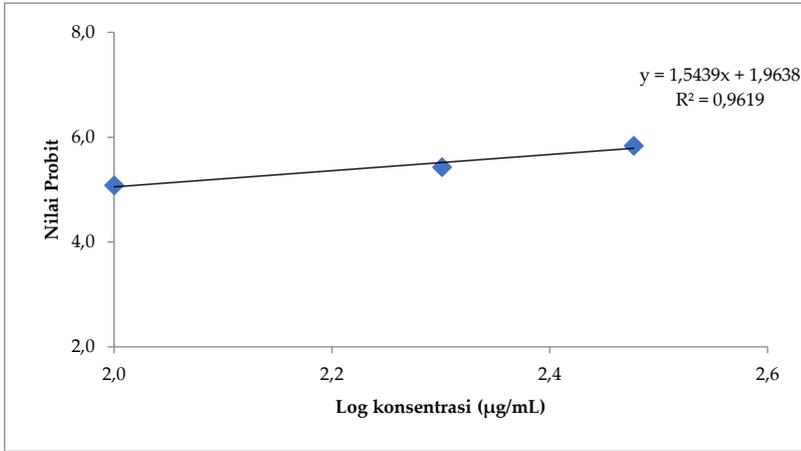
**Tabel 10.** Hasil pengujian uji toksisitas fraksi etil asetat daun karamunting

| No. | Konsentrasi (µg/mL) | Log Konsentrasi | Mortalitas (%) | Nilai Probit |
|-----|---------------------|-----------------|----------------|--------------|
| 1.  | 100                 | 2,0000          | 56,7           | 5,1687       |
| 2.  | 200                 | 2,3010          | 63,3           | 5,3398       |
| 3.  | 300                 | 2,4771          | 70,0           | 5,5244       |
| 4.  | 400                 | 2,6021          | 76,7           | 5,7200       |
| 5.  | 500                 | 2,6990          | 80,0           | 5,8416       |

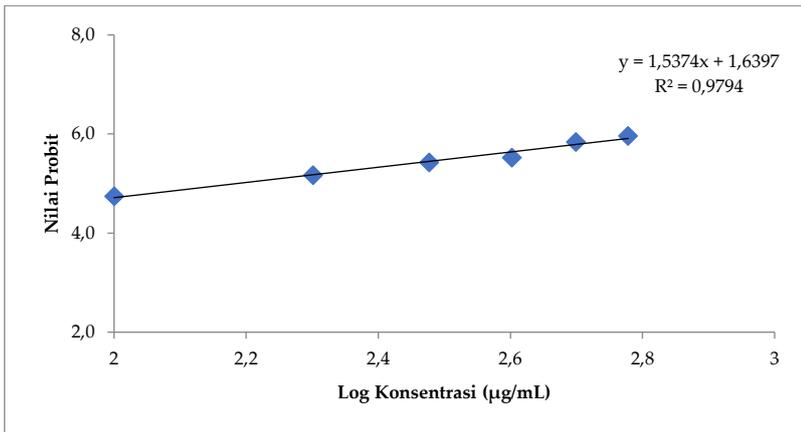
Jumlah kematian larva pada konsentrasi yang berbeda untuk setiap vial uji menunjukkan pengaruh yang berbeda dari konsentrasi pada kematian larva. Hasilnya menunjukkan bahwa jumlah kematian larva meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang diujikan. Persentase rata-rata kematian larva sesuai dengan teori bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi sifat toksik ekstrak [41].

Data yang diperoleh, kemudian dianalisis dengan menggunakan tabel analisis probit untuk mendapatkan nilai LC<sub>50</sub>. Analisis probit dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi bahan yaitu ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting terhadap respon sampel (persentase kematian). Setelah analisis probit kemudian dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara nilai probit dan log konsentrasi,  $y = ax + b$ .

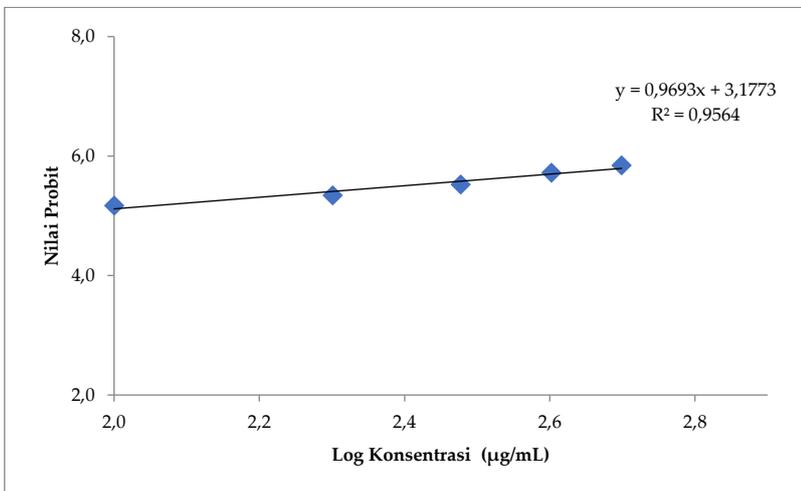
Setelah dilakukan analisis probit diperoleh grafik persamaan garis lurus untuk ekstrak adalah  $Y = 1,5439x + 1,9638$  dan koefisien relasi  $R^2 = 0,9619$  kemudian pada fraksi n-heksan  $Y = 1,5374x + 1,6397$  dan koefisien relasi  $R^2 = 0,9794$ . Selanjutnya diperoleh grafik persamaan garis lurus untuk fraksi etil asetat  $Y = 0,9693x + 3,1773$  dan koefisien relasi  $R^2 = 0,9564$  yang menunjukkan tingkat hubungan yang dihasilkan tergolong sangat kuat.



Gambar 1. Kurva linear log konsentrasi fraksi etil asetat daun karamunting



Gambar 2. Kurva linear log konsentrasi fraksi n-heksan daun karamunting.



Gambar 3. kurva linear log konsentrasi fraksi etil asetat daun karamunting.

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, didapatkan log konsentrasi ekstrak =1,9666 maka nilai LC<sub>50</sub> antilog 1,9666 adalah 92,593 µg/mL . selanjutnya diperoleh log konsentrasi fraksi n-heksan =2,1858 maka nilai LC<sub>50</sub> antilog 2,1858 adalah 153,3829 µg/mL. kemudia log konsentrasi fraksi etil asetat =1,8804 maka nilai LC<sub>50</sub> antilog 1,8804 adalah 75,9328 µg/mL.

**Tabel 11.** Hasil nilai LC<sub>50</sub>

| No. | Sampel             | Nilai LC <sub>50</sub> | Kategori |
|-----|--------------------|------------------------|----------|
| 1.  | Ekstrak etanol     | 92,593 µg/mL           | Toksik   |
| 2.  | Fraksi n-heksan    | 153,3829 µg/mL         | Toksik   |
| 3.  | Fraksi etil asetat | 75,9328 µg/mL          | Toksik   |

Data Tabel 11 dapat disimpulkan ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting dikategorikan toksik pada larva udang *artemia salina leach*. Hal ini tidak lepas dari adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting.

Mekanisme kerja kematian larva diperkirakan bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun karamunting dapat menghambat daya makan larva (*antifeedant*) dengan cara bertindak sebagai *stomach poisoning* (racun perut). Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva udang, alat pencernaannya akan terganggu [42].

Pada fraksi etil asetat memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi n-heksan hal ini menunjukkan fraksi etil asetat lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak etanol dan juga n-heksan. Hal sama juga terdapat pada penelitian Khasanah,dkk (2020); Pratiwi,dkk (2023); Rachmatiah,dkk (2022) dengan nilai LC<sub>50</sub> etil asetat lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak yang lainnya. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan steroid yang terdapat pada fraksi etil asetat yang berfungsi sebagai racun perut dengan mengganggu mekanisme alat pencernaan dari larva udang [43–45]. Senyawa ini juga dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulasi rasa dan akan mengalami kematian [46].

Selain itu fraksi etil asetat mampu menarik senyawa flavonoid lebih baik yang menyebabkan gugus hidroksil pada flavonoid mampu berikatan dengan protein integral membran sel sehingga mengganggu transpor aktif Na<sup>+</sup> dan K<sup>+</sup> dan menyebabkan pecahnya membran sel. Hal inilah yang menyebabkan kematian larva udang *Artemia salina Leach* [47]. Senyawa flavonoid memiliki cara kerja sebagai racun pernafasan dan racun metabolisme yang dapat langsung menyebabkan kematian dalam waktu tertentu [42].

Mekanisme senyawa alkaloid sebagai toksik dipengaruhi oleh karakter toksin, repellent dan antifeedant yang terdapat pada alkaloid sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan larva. Dalam jumlah sedikit alkaloid hanya bersifat antifeedant dan membunuh larva secara perlahan karena menurunnya nafsu makan dan baru akan menyebabkan kematian dalam beberapa waktu karena kelaparan [42].

Aktivitas toksik ekstrak dan fraksi etil asetat daun karamunting dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder, khususnya golongan tanin. Kandungan tanin dalam ekstrak dan fraksi etil asetat daun karamunting mampu menghambat kerja enzim protease, yang berperan dalam mengkatalisis pemecahan protein menjadi asam amino—nutrisi esensial untuk pertumbuhan larva. Selain itu, tanin yang berikatan dengan enzim akan mengganggu fungsinya, sehingga proses metabolisme sel terhambat dan berujung pada kematian larva. Dampak tanin juga terlihat pada penurunan konsumsi makanan, pertumbuhan yang terhambat, serta penurunan daya tahan hidup larva. Senyawa ini bahkan dapat mempercepat kematian larva melalui mekanisme toksisitas yang kompleks [48].

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan metode skrining awal yang penting dalam evaluasi senyawa antikanker potensial. Sebagai model *in vivo* sederhana, BSLT mampu mendeteksi senyawa toksik yang bekerja melalui mekanisme dasar seluler seperti disrupsi membran sel, inhibisi enzim esensial, dan induksi stres oksidatif - mekanisme yang bersifat konservatif pada berbagai organisme, termasuk sel mamalia (Meyer et al., 1982). Efektivitas BSLT sebagai alat prediksi didukung oleh studi Churiyah et al. (2018) yang menunjukkan korelasi positif signifikan ( $r=0.82$ ,  $p<0.05$ ) antara nilai LC<sub>50</sub> pada BSLT dengan IC<sub>50</sub> terhadap sel kanker HepG2 [1]. Penelitian lain oleh Che et al. menunjukkan bahwa analog Schizocommunin memiliki

potensi sebagai agen antitumor dengan mengganggu pemeliharaan telomer, yang penting untuk proliferasi sel kanker [2].

Beberapa penelitian telah memvalidasi nilai prediktif BSLT untuk aktivitas antikanker. Nugroho dan Estyaniyana (2018) melaporkan bahwa 78% senyawa yang aktif dalam BSLT menunjukkan efek antiproliferatif terhadap sel kanker payudara MCF-7 [3]. Temuan ini konsisten dengan prinsip bahwa senyawa yang mampu mengganggu proses fundamental sel *Artemia* cenderung memiliki efek serupa pada sel kanker manusia. Namun, penting untuk dicatat bahwa BSLT hanya memberikan indikasi awal, dan senyawa kandidat perlu dikonfirmasi lebih lanjut menggunakan model sel mamalia seperti uji MTT [4].

Meskipun berharga sebagai alat skrining cepat dan ekonomis, BSLT memiliki beberapa keterbatasan utama. Metode ini tidak dapat mengidentifikasi target molekuler spesifik dan menunjukkan variasi sensitivitas terhadap senyawa dengan polaritas berbeda [5]. Oleh karena itu, dalam penelitian antikanker komprehensif, hasil BSLT sebaiknya diintegrasikan dengan uji sitotoksitas *in vitro* (seperti MTT) dan analisis mekanistik untuk mendapatkan pemahaman menyeluruh tentang potensi terapeutik suatu senyawa.

Salah satu keterbatasan utama adalah bahwa hasil uji toksisitas pada BSLT tidak selalu dapat diinterpretasikan dengan jelas untuk mamalia. Metode ini mengukur efek toksisitas menggunakan larva *Artemia* yang merupakan krustasea air asin, sedangkan mamalia dan krustasea memiliki jalur metabolisme dan fisiologi yang sangat berbeda. Penelitian menunjukkan bahwa banyak senyawa yang dianggap tidak toksik dalam BSLT malah bisa memiliki efek yang berbeda ketika diuji pada mamalia. Misalnya, dalam beberapa studi, senyawa yang memiliki nilai LC50 yang tinggi (menunjukkan kurangnya toksisitas dalam BSLT) ternyata dapat menyebabkan efek toksik pada tikus atau sel manusia [1,2]. Ini menandakan bahwa kegagalan untuk mempertimbangkan perbedaan fisiologis antara spesies dapat mengarah pada kesalahan dalam mengklasifikasikan seberapa aman suatu senyawa bagi mamalia.

Selain itu, BSLT tidak dapat menggambarkan berbagai jenis interaksi biologis dan mekanisme toksisitas yang terjadi pada mamalia. Banyak senyawa mungkin memiliki toksisitas yang bersifat spesifik untuk jenis atau sistem biologis tertentu, yang tidak dapat ditangkap hanya dengan menggunakan model larva *Artemia*. Sebagaimana dibahas oleh Setyaningtyas et al., meskipun BSLT efektif untuk penapisan awal senyawa, uji lanjutan pada model mamalia tetap diperlukan untuk mendapatkan gambaran yang lebih akurat tentang potensinya dalam menimbulkan efek toksisitas [2].

Lebih jauh, faktor-faktor lain, seperti kondisi lingkungan dan metode pelarutan yang digunakan juga dapat mempengaruhi hasil BSLT. Misalnya, terdapat interferensi dari pelarut yang umum digunakan, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi hasil [3].

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

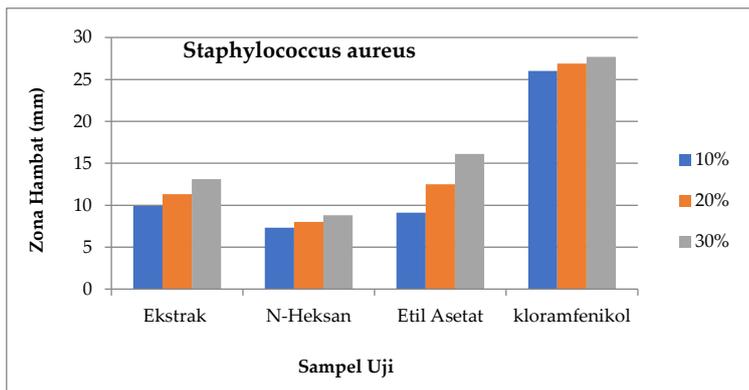
Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk melihat serta menentukan kemampuan dari ekstrak dan fraksi daun karamunting untuk menghambat bakteri yang diujikan, kemampuan penghambatan bakteri dilihat dengan terbentuknya zona bening disekitaran kertas cakram. Pada penelitian ini pengujian antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode difusi agar kertas cakram dikarenakan metode ini memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah, murah karena tidak memiliki alat khusus [9]. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* disajikan dalam bentuk tabel 12 dan 13 dan dalam diagram gambar 4 dan gambar 5.

Pada Tabel 12 dapat dilihat bahwa ekstrak, fraksi n heksan dan etil asetat daun karamunting masing masing memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Diameter zona hambat rata rata dari ekstrak dengan konsentrasi 30 % (13,1); 20% (11,3) dan 10 % (9,9) persentase 30 % dan 20 % tergolong dalam kategori kuat sedangkan 10% termasuk kategori sedang. Kemudian diameter zona hambat rata rata dari fraksi n-heksan dengan konsentrasi 30 % (8,8); 20% (8,0) dan 10 % (7,3) persentase 30 ; 20 % dan 10% termasuk kategori sedang. Untuk diameter zona hambat rata rata dari fraksi etil asetat dengan konsentrasi 30 % (16,1); 20% (12,5) dan 10 % (9,1) persentase 30 dan 20 % tergolong dalam kategori kuat sedangkan 10% termasuk kategori sedang.

Kontrol positif yang digunakan ialah antibiotik kloramfenikol dan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk adalah 26,9 mm dan dikategorikan sangat kuat, dan untuk kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% dan tidak memiliki daya hambat.

**Tabel 12.** Hasil uji antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting terhadap bakteri *staphylococcus aureus*

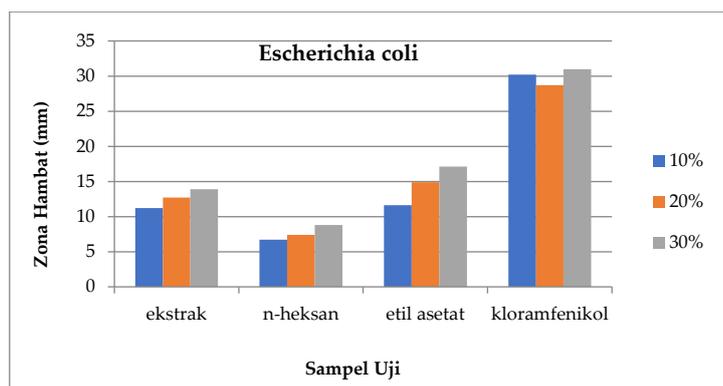
| Sampel uji                      | Konsentrasi | Zona hambat (mm) |      |      | Rata-rata zona hambat (mm) | Keterangan  |
|---------------------------------|-------------|------------------|------|------|----------------------------|-------------|
|                                 |             | P1               | P2   | P3   |                            |             |
| Control negatif (DMSO 5%)       | 5 %         | 0                | 0    | 0    | 0                          | Lemah       |
| Kontrol positif (kloramfenikol) | 30 µL       | 26               | 26,9 | 27,7 | 26,9                       | Sangat kuat |
| Ekstrak etanol                  | 10 %        | 9,8              | 9,5  | 10,4 | 9,9                        | Sedang      |
|                                 | 20 %        | 11,1             | 11,4 | 11,3 | 11,3                       | Kuat        |
|                                 | 30 %        | 13,9             | 12,4 | 13,0 | 13,1                       | Kuat        |
| Fraksi n-heksan                 | 10 %        | 7,0              | 7,3  | 7,5  | 7,3                        | Sedang      |
|                                 | 20 %        | 8,1              | 7,8  | 8,2  | 8,0                        | Sedang      |
|                                 | 30 %        | 9,1              | 8,0  | 9,3  | 8,8                        | Sedang      |
| Fraksi etil                     | 10 %        | 10,2             | 8,2  | 9,0  | 9,1                        | Sedang      |
|                                 | 20 %        | 12,2             | 11,7 | 13,6 | 12,5                       | Kuat        |
|                                 | 30 %        | 16               | 15,7 | 16,5 | 16,1                       | Kuat        |



**Gambar 4.** Diagram batang Diameter Zona Hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting terhadap bakteri *staphylococcus aureus*

**Tabel 13.** Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan Dan Etil Asetat Daun Karamunting Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

| Sampel uji                      | Konsentrasi | Zona hambat (mm) |      |      | Rata-rata zona hambat (mm) | Keterangan  |
|---------------------------------|-------------|------------------|------|------|----------------------------|-------------|
|                                 |             | P1               | P2   | P3   |                            |             |
| kontrol negatif (DMSO 5%)       | 5 %         | 0                | 0    | 0    | 0                          | Lemah       |
| kontrol positif (kloramfenikol) | 30 µL       | 30,2             | 28,7 | 31   | 29,9                       | Sangat kuat |
| Ekstrak etanol                  | 10 %        | 11,0             | 11,3 | 11,4 | 11,2                       | Kuat        |
|                                 | 20 %        | 12,2             | 13,3 | 12,5 | 12,7                       | Kuat        |
|                                 | 30 %        | 13,9             | 13,8 | 14,2 | 13,9                       | Kuat        |
| Fraksi n-heksan                 | 10 %        | 6,3              | 6,8  | 7    | 6,7                        | Sedang      |
|                                 | 20 %        | 6,8              | 7,6  | 7,9  | 7,4                        | Sedang      |
|                                 | 30 %        | 8,5              | 8,2  | 9,7  | 8,8                        | Sedang      |
| Fraksi etil                     | 10 %        | 11,7             | 11,2 | 11,9 | 11,6                       | Kuat        |
|                                 | 20 %        | 14,7             | 14,3 | 15,7 | 14,9                       | Kuat        |
|                                 | 30 %        | 17,1             | 17   | 17,2 | 17,1                       | Kuat        |



**Gambar 5.** Diagram batang diameter zona hambat ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun karamunting terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Pada Tabel 13 dapat dilihat bahwa ekstrak, fraksi n heksan dan etil asetat daun karamunting masing masing memiliki zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Diameter zona hambat rata rata dari ekstrak dengan konsentrasi 30 % (13,9); 20% (12,7) dan 10 % (11,2) persentase 30 ; 20 % dan 10% tergolong dalam kategori kuat. Kemudian diameter zona hambat rata rata dari fraksi n-heksan dengan konsentrasi 30 % (8,8); 20% (7,4) dan 10 % (6,7) persentase 30 ; 20 % dan 10% termasuk kategori sedang. Untuk diameter zona hambat rata rata dari fraksi etil asetat dengan konsentrasi 30 % (17,1); 20% (14,9) dan 10 % (11,6) persentase 30 ; 20 % dan 10% tergolong dalam kategori kuat.

Kontrol positif yang digunakan ialah antibiotik kloramfenikol dan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk adalah 29,9 mm dan dikategorikan sangat kuat, dan untuk kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% dan tidak memiliki daya hambat.

Berdasarkan hasil pengujian pada tabel 12 dan 13 dan diagram menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi n heksan dan etil asetat daun karamunting memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*. Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan 3 konsentrasai yaitu 10%; 20% dan 30% ekstrak dan fraksi daun karamunting. Kontrol positif yaitu kloramfenikol. Masing-masing perlakuan dilakukan. pengulangan sebanyak 3 kali. Pemilihan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif pada penelitian ini dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum yang luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, bahkan mematikan bakteri gram positif dan gram negatif. DMSO atau *Dimethyl Sulfoxide* digunakan sebagai pelarut dan kontrol negatif pada penelitian ini karena dapat melarutkan hampir semua pelarut polar maupun non-polar. DMSO tidak akan mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antibakteri karena tidak menghasilkan daya hambat sedikitpun pada bakteri [49].

Zona hambat ditunjukkan dengan adanya zona bening yang menyimpulkan bahwa adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Diameter zona bening yang terbentuk diklasifikasikan dala empat kategori yaitu daya hambat bakteri dengan diameter  $\leq 5$  mm menunjukkan kategori lemah, 5-10 mm menunjukkan kategori sedang, 10-20 mm menunjukkan kategori kuat, dan  $\geq 20$  mm menunjukkan kategori sangat kuat [28].

Berdasarkan hasil penelitian diatas fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol dan fraksi n-heksan. Hal sama juga ditemukan pada penelitian Purwaningrum & Pratimasari (2022) dan juga Marbun (2021). Ekstrak etil asetat membentuk zona hambat terbesar karena etil asetat bersifat semipolar, sehingga senyawa non polar dan polar dapat larut dalam pelarut etil asetat. Etil asetat mengandung senyawa antimikroba yang mampu menghambat atau membunuh mikroba lebih tinggi dibandingkan ekstak yang lainnya. Hal tersebut juga dapat disebabkan oleh kuantitas dari senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri kuat di dalam ekstrak etanol lebih sedikit dibanding ekstrak etilasetat. Pada Senyawa semi polar mempunyai afinitas lebih tinggi untuk berinteraksi dengan dinding sel, sehingga ekstrak semi polar lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri daripada ekstrak etanol (polar) dan n-heksan (non polar) [50,51].

Zona hambat yang muncul disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak maupun fraksi daun karamunting yang memiliki sifat antibakteri, seperti Saponin, flavonoid, tanin, alkaloid dan steroid. Variasi dalam ukuran zona hambat pada berbagai konsentrasi mungkin disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk perbedaan dalam konsentrasi senyawa aktif antimikroba di dalam fraksi, laju

difusi senyawa antimikroba ke dalam medium, sensitivitas pertumbuhan bakteri, suhu dan waktu inkubasi, serta aktivitas metabolik mikroorganisme [21].

Aktivitas antibakteri berhubungan dengan senyawa alkaloid yang bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan peptidoglikan pada bakteri sehingga bakteri tidak dapat tumbuh sempurna dan akhirnya mengalami kematian. Tanin mempunyai aktivitas antibakteri melalui aksi molekulernya yaitu dengan membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik [52].

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut yang mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel bakteri, akibatnya membran sel bakteri akan menjadi bocor dan bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa saponin bersifat antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen. Saponin mengakibatkan struktur protein menjadi rusak yang mempengaruhi permeabilitas membran sel menjadi tidak seimbang makromolekul dan ionnya dalam sel sehingga terjadi lisis pada sel [53].

Dalam hal steroid sebagai antibakteri, mekanismenya disebabkan oleh kemampuan steroid yang dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan penurunan dari integritas membran dan menyebabkan perubahan dari morfologi membran sel yang menyebabkan terjadinya lisis dan akhirnya menghasilkan efek antibakteri [11].

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) mengandung senyawa metabolit sekunder yang beragam. Ekstrak etanol menunjukkan kandungan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tannin, dan saponin, sementara fraksi n-heksan mengandung triterpenoid, dan fraksi etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, tannin, serta saponin. Selain itu, ketiga bentuk ekstrak dan fraksi tersebut menunjukkan efek toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai LC<sub>50</sub> yang bervariasi, yaitu 92,593 µg/mL untuk ekstrak etanol, 153,3829 µg/mL untuk fraksi n-heksan, dan 75,9328 µg/mL untuk fraksi etil asetat. Berdasarkan nilai LC<sub>50</sub> tersebut, ketiga sampel dikategorikan sebagai toksik. Lebih lanjut, ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat juga menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil ini mengindikasikan potensi daun karamunting sebagai sumber senyawa bioaktif dengan sifat toksik dan antibakteri yang dapat dikembangkan lebih lanjut. Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan uji toksisitas dengan metode lainnya dan melakukan pengujian sediaan dari ekstrak karamunting dengan menggunakan bakteri dan metode yang berbeda.

## Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara independen dan objektif, tanpa konflik kepentingan atau intervensi eksternal. Seluruh proses, dari perencanaan hingga pelaporan, dijalankan dengan integritas akademik dan bebas dari tekanan pihak mana pun. Dengan pendekatan transparan dan berlandaskan etika penelitian, hasil yang diperoleh dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah serta bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat.

## Acknowledgment

Penelitian ini dapat diselesaikan berkat dukungan banyak pihak. Kami mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan atas fasilitas dan bantuannya, serta kepada semua yang telah berkontribusi. Semoga penelitian ini memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat.

## Supplementary Materials

## Referensi

- [1] 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.
- [2] Marwati M, Anggriani A, Burhan A, Awaluddin A, Nur S, Dharmayanti R, et al. Antioxidant Activity and Cytotoxicity Against WiDR Cell and Vero Cell of The Karamunting (*Rhomyrtus tomentosa L.*) Leaves Ethanol Extract. *Indones J Pharm Sci Technol* 2021;8:111. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v8i3.26769>.
- [3] Surya A, Saputra AA, Marliza H, Zaiyar. Potensi Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Salam dan Keji Beling dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *J Katalisator* 2023;8:137–46.
- [4] Susanti D, Marcellia S, Saputri GAR, Nabila A. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Mahoni (*Swietenia mahagoni*) Pada Larva *Artemia Salina* Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *J Ilmu Kedokt Dan Kesehat* 2023;10:1405–11. <https://doi.org/10.33024/jikk.v10i1.8892>.
- [5] Fadli, Suhaimi, Idris M. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Med Sains* 2019;4:35–42.
- [6] Ramadhanty DA, Lestari YPI, Nashihah S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Karamuntin (*Rhomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *JFIOnline | Print ISSN 1412-1107 | e-ISSN 2355-696X* 2023;15:29–42. <https://doi.org/10.35617/jfionline.v15i1.112>.
- [7] Sianturi S, Butarbutar MET, Simanjuntak S. Potensi Analgesik Ekstrak Etanol Daun Karamunting (*Rhomyrtus tomentosa*) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Dengan Metode Induksi Kimia. *J Pharm Sci* 2022;5:86–93. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v5i1.104>.
- [8] Sindy M, Rollando R, Afthoni MH. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Daun Puring Anting *Codiaeum Variegatum* Var *Pictum Appendiculatum* pada Bakteri *E coli* dan *S aureus*. *Sainsbertek J Ilm Sains Teknol* 2022;3:310–21. <https://doi.org/10.33479/sb.v3i1.209>.
- [9] 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>.
- [10] Dona R, Furi M, Suryani F. Penentuan Kadar Total Fenolik, Total Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Dan Fraksi daun Karamunting (*Rhomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk). *J Penelit Farm Indones* 2020;9:71–8.
- [11] Hidayatullah SH, Mourisa C. Uji Efektivitas Akar Karamunting (*Rhomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *J Ilm Kohesi* 2023;7:34–40.
- [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] Deniansyah D, Pujiastuti A. Formulasi Dan Uji Mutu Fisik Sediaan Krim Ekstrak Daun Karamunting (*Rhomyrtus Tomentosa*). *Indones J Pharm Nat Prod* 2022;5:51–9. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v5i1.1587>.
- [14] Marwati M, Salampe M, Burhan A, Megawati M, Khairuddin K, Naneng AAAM, et al. Skrining antioksidan dan antikanker ekstrak etanol daun karamunting (*Rhomyrtus tomentosa l.*) Sebagai obat alternatif. *J Ilm Manuntung* 2020;6:240. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.367>.
- [15] Veninda HR, Belinda AM, Khairunnisa KQ, Muhaimin M, Febriyanti RM. Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Daun Bebuas (*Premna Serratifolia L.*). *Indones J Biol Pharm* 2023;3:63. <https://doi.org/10.24198/ijbp.v3i2.43576>.
- [16] Depkes RI J. *Farmakope Indonesia Edisi III* 1979.
- [17] Safitri RA, Rahayu MP, Widodo GP. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Batang Karamunting (*Rhomyrtus tomentosa*) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar: Test of Antiinflammatory Activity Extract of Karamunting (*Rhomyrtus tomentosa*) Stem to Male Rat Wistar Strain. *J Surya Med* 2023;9:330–4.

- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Indonesia DK. *Farmakope Indonesia Edisi III*. 1979.
- [21] Nasution AW, Nasution HM, Lubis MS, Rahayu YP. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana dan etil asetat daun kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Pharm Sci* 2023;6:1488–97. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i4.228>.
- [22] Depkes RI. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
- [23] Saragih DS, Ridwanto R, Daulay AS, Miswanda D, Nasution HM. Toxicity Test of Windu Shrimp (*Penaeus monodon*) Skin Chitosan With Brine Shrimp Lethality Test Method. *Indones J Chem Sci Technol* 2022;5:88. <https://doi.org/10.24114/ijcst.v5i2.37453>.
- [24] Arianta IPA, Datu OS. Toxicity Test of The Extratscs of Yellow Frangipani Flower ( *Plumeria alba* L . ) Using Brine Shrimp Lethality Test ( BSLT ) Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Bunga Kamboja Kuning ( *Plumeria alba* L . ) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test ( BSLT. *Pharmacn-Progr Stud Farm Fmipa, Univ Sam Ratulangi* 2022;11 Nomor 4:1707–14.
- [25] Safitri LN, Ulfa AM, Marcellia S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Jantung Pisang Kepok (*Musa x Paradisiaca* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *J Ilm Wahana Pendidik* 2023;9:270–8.
- [26] Dewi AP, Darmadi D, Yesti Y. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *J Pharm Sci* 2023:152–8. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.393>.
- [27] Khafipah N, Saula LS, Kasasiah A. Aktivitas Ekstrak Daun Alpukat dan Ekstrak Daun Mengkudu Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Farmasetis* 2022;11:135–44.
- [28] Sukadiasa PIK, Wintariani NP, Putra IGNAWW. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Tanaman Gonda (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn) terhadap *Staphylococcus aureus*. *J Ilm Medicam* 2023;9:61–9. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v9i1.4644>.
- [29] Putu Saraswati Kristina N, Wayan Tanjung Aryasa I, Putu Risky Vidika Apriyanthi D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tulak (*Schefflera elliptica* (Blume) Harms) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Tulak Leaves (*Schefflera elliptica* (Blume) Harms) Against *Staphyl* 2023;16:41–51.
- [30] Norhaliza S, Zamzani I, Nor I. Potensi Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Metode UAE Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella typhi*. *Lambung Farm J Ilmu Kefarmasian* 2022;3:94–101.
- [31] Azlin, Wahyu, Asiska. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa ( *Pometia Pinnata* J . r & g . Forst ) Terhadap *Escherichia aureus*. *J JFARM (Jurnal Farm* 2023;1:7–11.
- [32] 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>.
- [33] Pambudi DR, Susiani EF, Hervina Sari R, Rahmah N, Torizellia C. Perbandingan Hasil Penetapan Parameter Spesifik dan Non-Spesifik Antara Simplisia Terhadap Ekstrak Metanol Purun Tikus (*Eleocharis Dulcis*). *J Insa Farm Indones* 2023;6:42–54. <https://doi.org/10.36387/jifi.v6i1.1372>.
- [34] Supriningrum R, Ansyori AK, Rahmasuari D. Karakterisasi Spesifik Dan Non Spesifik Simplisia Daun Kawau (*Millettia sericea*). *Al Ulum J Sains Dan Teknol* 2020;6:12. <https://doi.org/10.31602/ajst.v6i1.3657>.
- [35] Muslim Z, Khasanah HR, Sari Y. Simplicia Characterization And Phytochemical Screening Of Secondary Metabolite Compounds Ethanol Extract Of Trembesi Leaves (*Samanea saman*). *SANITAS J Teknol Dan Seni Kesehat* 2021;12:131–40. <https://doi.org/10.36525/sanitas.2021.12>.
- [36] Kesehatan Yamasi Makassar J, Sandistira A. Uji toksisitas akut ekstrak daun talas (*Colocasia esculenta* L.) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *JournalYamasiAcId* 2020;4:79–86.
- [37] Sugiarti L, Andriyani DM, Pratitis MP, Setyani R. Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat

dan Air Ekstrak Etanol Daun Parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) Terhadap *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis*. *Cendekia J Pharm* 2020;4:120–30. <https://doi.org/10.31596/cjp.v4i2.105>.

- [38] Khairunnisa A, Amelia AR, Fikriyan F. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Simplisia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). *Pharm J Pharmacy, Med Heal Sci* 2023;4:1–10. <https://doi.org/10.35706/pc.v4i1.8302>.
- [39] Budiman FA, Hidayat F. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta Vulgaris* L.) Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *J Heal Sains* 2021;2:310–5. <https://doi.org/10.46799/jhs.v2i3.129>.
- [40] Nurvianthi RY, Adhitama A. Uji Toksikitas Akut Ekstrak Etanol Akar Dan Biji Cempedak (*Artocarpus Champeden Spreng*) Asal Luwu Utara Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt). *J Kesehat Luwu Raya* 2022;09:41–54.
- [41] Nasution FA-U, Ridwanto R, Rani Z. Uji sitotoksisitas ekstrak etanol daun sirih cina (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) dengan metode brine Shrimp lethality test. *J Pharm Sci* 2023;19:27–34. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i4.260>.
- [42] 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>.
- [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] Rachmatiah T, Daud JJ, Artanti N. Aktivitas antioksidan, toksisitas, kandungan senyawa fenol dan flavonoid total dari daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn). *Sainstech Farma J Ilmu Kefarmasian* 2022;15:35–43.
- [45] Pratiwi N, Mulyana WO. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Fraksi N-Heksan dan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Sains J Kim Dan Pendidik Kim* 2023;12:130–8.
- [46] Setyaningrum M. Identifikasi Senyawa Aktif dan Toksisitas Hayati Ekstrak n-heksana, Etil Asetat dan etanol Mikroalga *Tetraselmis chuii* Secara Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Indones J Ind Res* 2017;34:8–17.
- [47] Aini HN, Chairul Saleh E. Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Kim* 2015;13:35–40.
- [48] Kimia J, Pendidikan DAN, Ekstrak A, Daun E, Cina K. *S a i n s* 2023;12:130–8.
- [49] Puspitasari MD, Wardana FY, Widara RT, Ibrahim KB. Uji Antibakteri Fraksi Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *J Ris Kesehat Poltekkes Depkes Bandung* 2023;16:78–87. <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v16i1.2452>.
- [50] Siregar S., Indriani, Rizky A.V K V., Marbun T.A.R. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *J Farm* 2020;3.
- [51] Purwaningrum ND, Murtisiwi L, Pratimasari D. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari sabut kelapa muda (*Cocos nucifera* Linn) terhadap *Escherichia coli* ESBL (extended spectrum beta lactamase). *J Ilm Ibnu Sina* 2022;7:29–37.
- [52] Fikayuniar L, Abriyani E, Irwandira F, Bela S, Dewi S. Uji Toksisitas Menggunakan Metode Bslt Dan Skrining Fitokimia Ekstrak (*Melastoma malabathricum* L.). *J Buana Farma* 2022;2:67–71. <https://doi.org/10.36805/jbf.v2i2.394>.
- [53] Pisacha IM, Safutri W, Rahayu KW. Review Artikel: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Farm Univ Aisyah Pringsewu* 2023;2:70.