

UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI DAUN *Strobilanthes crispus* TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

ANTIBACTERIAL TEST OF ETHANOL EXTRACT & FRACTION OF *Strobilanthes crispus* LEAF AGAINST *Staphylococcus aureus* & *Pseudomonas aeruginosa*

Sekar Suci Pratiwi¹, Cita Hanif Muflihah^{1*}

¹Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : chm641@ums.ac.id

Dikirim : 21 Oktober 2024 ; Disetujui : 28 November 2024 ; Diterbitkan : 30 November 2024

Abstrak

Infeksi nosokomial sering terjadi di rumah sakit, disebabkan oleh bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun keji beling terhadap kedua bakteri tersebut, serta mengidentifikasi golongan senyawa yang berperan. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi, fraksinasi dengan partisi cair-cair, dan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi disk. Ekstrak etanol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, dengan zona hambat terbesar $9,63 \pm 0,41$ mm pada dosis 10 mg/disk. Fraksi etil asetat menunjukkan zona hambat terbesar $14 \pm 0,61$ mm terhadap bakteri yang sama. Namun, baik ekstrak maupun fraksi tidak aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Identifikasi senyawa dengan KLT menunjukkan adanya tanin/fenolik dan alkaloid pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, tetapi bioautografi menunjukkan senyawa-senyawa ini tidak memiliki aktivitas antibakteri secara tunggal.

Kata Kunci: Keji Beling, *Strobilanthes crispus*, aktivitas antibakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Nosocomial infections frequently occur in hospitals, caused by bacteria like *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. This study tested the antibacterial activity of ethanol extract and fractions of keji beling leaves against these bacteria, and identified the active compound groups. Extraction was done by maceration, fractionation by liquid-liquid partitioning, and antibacterial activity testing by disk diffusion. Ethanol extract showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, with the largest inhibition zone of 9.63 ± 0.41 mm at a dose of 10 mg/disk. The ethyl acetate fraction showed the largest inhibition zone of 14 ± 0.61 mm against the same bacteria. However, neither the extract nor fractions were active against *Pseudomonas aeruginosa*. Compound identification by TLC showed tannins/phenolics and alkaloids in the ethanol extract and ethyl acetate fraction, but bioautography indicated these compounds did not have antibacterial activity individually.

Keywords: Keji Beling, *Strobilanthes crispus*, antibacterial activity, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Healthcare Associated Infections (HAIs), atau infeksi nosokomial, terjadi setelah sekitar 48-72 jam perawatan di rumah sakit (Riani & Syafriani, 2019). WHO melaporkan 19,1% kejadian HAIs pada tahun 2016, dengan 4,5 juta kasus di Eropa dan 1,7 juta di Amerika. Indonesia memiliki angka HAIs lebih tinggi dari negara maju, yaitu 15,74% berbanding 4,8-15,5% (Asnawati *et al.*, 2022). Kontaminasi peralatan medis menjadi penyebab utama, dengan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri penyebab utama (Lutpiatina, 2017). Penelitian Sulistyaningsih (2016) menunjukkan *Pseudomonas aeruginosa* (21,74%) dan *Staphylococcus aureus* (26,07%) sebagai penyebab infeksi nosokomial terbanyak. Penggunaan antibiotik sebagai solusi infeksi bakteri dapat menyebabkan resistensi, sehingga alternatif bahan alami dicari (Gerrine *et al.*, 2023). Tanaman herbal mengandung metabolit sekunder dan minyak esensial yang berpotensi sebagai obat herbal (Badaring *et al.*, 2020). Daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) mengandung flavonoid (3,98%), alkaloid (3,2%), tanin (1%), dan katekin (1,18%). Ekstrak daun *Strobilanthes crispus* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Adibi *et al.*, 2017) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Suproborini *et al.*, 2022). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi dan ekstrak etanol daun keji beling terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, serta menguji senyawa yang berperan menggunakan bioautografi.

METODE PENELITIAN

Alat

Menggunakan alat yaitu autoklaf (My life), *incubator shaker* (New Brunswick Scientific), oven (Memmert), *waterbath* (Memmert), *rotary evaporator* (Stuart), mikroskop (Olympus), inkubator (Memmert), mikropipet, *Laminar Air Flow* (LAF) (Astari Niagara), alat gelas, ose bulat, api bunsen, UV lamp 366 nm dan 254 nm.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu 800 gram daun keji beling segar dari Desa Pulorejo, Kabupaten Grobogan, bakteri *Staphylococcus aureus* dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UMS, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Universitas Sebelas Maret (UNS), disk antibiotik Kloramfenikol 30 µg, Eritromisin 15 µg, Vankomisin 30 µg, Ciprofloxacin 5 µg dan Ampisilin 10 µg (OxoidTM), natrium klorida (NaCl) 0,9% steril, Lysine Iron Agar (LIA) (OxoidTM), *Manitol Salt Agar* (MSA) (OxoidTM), *MacConkey* (OxoidTM), Mueller- Hinton Agar (MHA) (OxoidTM), Brain Heart Infusion (BHI), *Motilitas Indole Ornithine* (MIO) (Himedia), Kligler Iron Agar (KIA) (OxoidTM), standar 0,5 Mc Farland (1,5 x 10⁸ CFU/mL), akuades, etanol 70%, etanol 96%, etil asetat p.a, dimetil sulfoksida (DMSO) (Sigma-aldrich), metanol p.a, n-heksana p.a, *blue tips*, *white tips*, *yellow tips*, cat gram D, cat gram C, cat gram B, cat gram A, blank disc (Liofilchem), plat silika gel GF254, kertas saring Whatman No. 41, pereaksi semprot *Liebermann-Burchard*, *sitroborat*, *Dragendorff*, dan FeCl₃ 1%.

Prosedur Penelitian

Determinasi tanaman

Determinasi bertujuan mengetahui tanaman yang akan diuji sudah benar dan menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan (Klau & Hesturini, 2021). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi. Hasil determinasi (No. 86E/DET/UPT-LAB/4.09.2023) menunjukkan bahwa tanaman uji adalah *Strobilanthes crispus* Bl (genus *Strobilanthes*, famili Acanthaceae).

Penyiapan Simplisia

Daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) segar diambil dari Desa Pulorejo, Kabupaten Grobogan, dilakukan sortasi basah, pencucian, dan dianginkan sampai daun kering. Simplisia kering disortasi kering, kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk kasar (Suproborini, *et al.*, 2022).

Ekstraksi Daun Keji Beling

Sebanyak 250 gram serbuk daun keji beling dimaserasi dengan 2,5 liter etanol 96% selama 3 hari (Octaviani *et al.*, 2019). Maserat disaring, dimaserasi ulang sebanyak 3 kali (Angraini *et al.*, 2021), kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator menjadi ekstrak kental (Octaviani *et al.*, 2019).

Fraksinasi Daun Keji Beling

Sebanyak 2 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam metanol-air, lalu difraksinasi dengan partisi cair-cair menggunakan n-heksan (5x) dan etil asetat (5x) dalam corong pisah. Diperoleh total 10,2 gram ekstrak fraksinasi, yang kemudian diuapkan menjadi fraksi kental (Manalu *et al.*, 2022).

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat gelas selama ± 2 jam dengan suhu 170° C menggunakan oven, media disterilkan 15 menit pada suhu 121° C menggunakan autoklaf, pinset dan jarum ose dibakar menggunakan api bunsen (Ramadheni *et al.*, 2018).

Pembuatan Media

Media MIO, KIA, MacConkey, BHI, MSA, LIA, dan MHA disiapkan sesuai petunjuk pabrik, dilarutkan dalam akuades, dan disterilkan dengan autoklaf (121° C, 15 menit). Media MHA, MacConkey, dan MSA, masing-masing dituang 25 mL ke cawan petri. Media BHI (5 mL) dan MIO (7 mL) dituang ke tabung reaksi. Media LIA dan KIA (7 mL) dimasukkan ke tabung reaksi, dimiringkan, dan dibiarkan memadat.

Identifikasi Bakteri

Pengecatan Gram Bakteri

Sediaan ulas difiksasi, diwarnai dengan kristal violet (1-2 menit), lugol (30 detik), dilunturkan dengan alkohol 96%, kemudian diwarnai dengan safranin (2 menit). Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x (Hayati *et al.*, 2019). Hasil pengecatan menunjukkan bakteri gram positif berwarna ungu, dan gram negatif berwarna merah (Jannah *et al.*, 2017).

Uji Biokimia

Media LIA dan KIA (miring), MIO (tegak), MacConkey (untuk *Pseudomonas aeruginosa*), dan MSA (untuk *Staphylococcus aureus*) diinokulasi dengan jarum ose, ditusuk, dan

digoreskan. Media diinkubasi 24 jam (37° C), kemudian perubahan warna diamati (Warsiti *et al.*, 2019).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Kultur bakteri diambil dengan ose bulat dan digoreskan ke MSA (*Staphylococcus aureus*) dan MacConkey (*Pseudomonas aeruginosa*). 2-3 koloni dimasukkan ke BHI cair, selanjutnya diinkubasi dengan shaker selama 24 jam. 100 µL hasil inkubasi disetarakan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5x10⁸ CFU/mL menggunakan NaCl 0,9% (Warsiti *et al.*, 2019).

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi

Ekstrak etanol dibuat konsentrasi 100, 75, 50, dan 25% b/v, sedangkan fraksi 100% b/v (Octaviani *et al.*, 2019) dibuat dengan melarutkan dalam DMSO. Ekstrak 100% b/v dibuat dengan melarutkan 5 gram dalam 5 mL DMSO, kemudian diencerkan. Fraksi 100% b/v dibuat dengan melarutkan 500 mg dalam 500 µL DMSO. Setiap disk ditetesi 10 µL ekstrak dengan konsentrasi 10; 7,5; 5; 2,5 mg/disk atau fraksi dengan konsentrasi 10 mg/disk.

Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas dengan disk antibiotik vankomisin, ampicilin, kloramfenikol, eritromisin, dan ciprofloxacin menggunakan metode difusi disk pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Disk antibiotik diletakkan ke media yang telah diinokulasi dan diinkubasi. Setelah itu diamati zona hambatnya serta dihitung diameternya (Warsiti *et al.*, 2019).

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak etanol dibuat *loading dose* 10; 7,5; 5; 2,5 mg/disk dengan DMSO. 200 µL suspensi bakteri digoreskan ke MHA (Utomo *et al.*, 2018). *Blank disc* diisi *loading dose*, dikeringkan, diletakkan di media, lalu diinkubasi 24 jam (37° C). Zona bening diukur. DMSO (10 µL) digunakan sebagai kontrol negatif, dan disk antibiotik sebagai kontrol positif (Octaviani *et al.*, 2019).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT menggunakan lempeng silika (1 x 7 cm) dengan jarak 1 cm untuk penotolan dan batas elusi. Lempeng dipanaskan pada 105° C, selama 30 menit (Aslah *et al.*, 2019). Ekstrak daun ditotolkan (1 µL), dielusi dengan toluen : etil asetat : asam format : metanol (1:3:0,2:0,8). Lempeng diamati dengan UV 366 dan 254 nm serta sinar tampak, kemudian disemprot sitroborat (flavonoid), Liebermann-Burchard (triterpenoid), Dragendorff (alkaloid), dan FeCl₃ (tanin/polifenol) (Qolbi & Yuliani, 2018).

Bioautografi

Suspensi bakteri (200 µL) diinokulasi ke MHA, kemudian ditempelkan lempeng KLT yang sudah dielusi selama 20-30 menit. Lempeng KLT diambil dan media diinkubasi selama 24 jam (37° C). Zona bening dihitung nilai R_f-nya, dibandingkan dengan nilai R_f hasil penyemprotan KLT untuk mengetahui golongan senyawa antibakteri (Qolbi & Yuliani, 2018).

Analisis Data

Perhitungan persentase rendemen ekstrak dan fraksi daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) dihitung dengan persamaan (Silap *et al.*, 2020):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot hasil ekstrak}}{\text{bobot serbuk kering}} \times 100 \% \quad (1)$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot hasil fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100 \% \quad (2)$$

Analisis KLT-Bioautografi membandingkan nilai Rf pada noda KLT dengan nilai Rf pada zona hambat (Fajriani *et al.*, 2022). Persamaan untuk menghitung nilai Rf yaitu :

$$Rf = \frac{\text{Jarak pusat bercak totolan}}{\text{Jarak pengembangan}} \% \quad (3)$$

Data aktivitas ekstrak etanol *Strobilanthes crispus* terhadap *Staphylococcus aureus* diuji statistik (normalitas, homogenitas) dengan SPSS 25. Jika terpenuhi, dilanjutkan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney (Putri *et al.*, 2023). Aktivitas fraksi diuji dengan Independent Sample T-Test karena data homogen dan normal. Fraksi n-heksan dan metanol-air tidak diuji statistik karena tidak menghasilkan zona hambat (Rahmah *et al.*, 2024).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode maserasi karena pada metode maserasi, perbedaan tekanan dapat melarutkan metabolit sekunder (Badaring *et al.*, 2020). Etanol 96% dipilih karena menyari senyawa semi polar, non-polar, dan polar, tidak toksik, selektif, dan absorpsinya baik (Wendersteyt *et al.*, 2021). Rendemen ekstrak kental yang diperoleh adalah 15,42% (38,55 gram dari 250 gram simplisia) (Tabel 1).

Hasil Fraksinasi

Fraksinasi memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan polaritas (Putri *et al.*, 2023): senyawa polar larut dalam pelarut polar, semi polar dalam semi polar, dan non polar dalam non polar. Metanol-air, n-heksan, dan etil asetat digunakan karena perbedaan polaritasnya. Etil asetat melarutkan senyawa semi polar, metanol senyawa polar, dan n-heksan senyawa non polar. Hasil rendemen fraksi tertera pada Tabel 1.

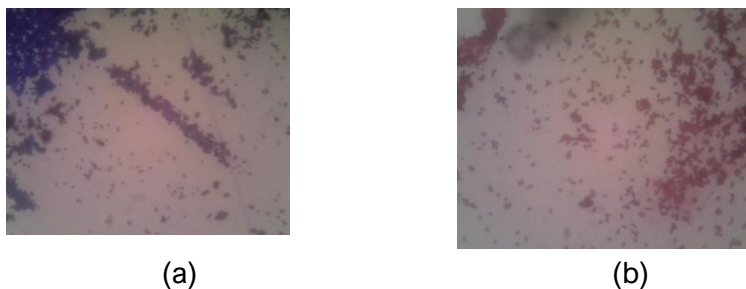
Tabel 1. Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*)

Ekstrak	Berat Sampel (g)	Persentase Rendemen (%)
Ekstrak etanol 96%	38,55	15,42
Fraksi methanol-air	4,46	43,72
Fraksi etil asetat	1,79	17,55
Fraksi n-heksana	0,72	7,05

Berdasarkan hasil ekstraksi dan fraksinasi (Tabel 1), ekstrak daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) lebih banyak mengandung senyawa polar karena rendemen fraksi metanol-air tertinggi. Namun, fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terbesar.

Hasil Identifikasi Bakteri

Pseudomonas aeruginosa dan *Staphylococcus aureus* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia (media LIA, KIA, MIO, MSA, MacConkey). Pengamatan mikroskopis (perbesaran 1000x) menunjukkan *Staphylococcus aureus* berbentuk kokus, tersusun menyebar dan menggerombol, serta berwarna ungu (Gram positif), sesuai dengan penelitian Hayati *et al.* (2019). Bakteri Gram positif mempertahankan warna kristal violet karena lapisan peptidoglikan yang lebih tebal.



(a) (b)
Gambar 1. Hasil Pengecatan Gram Bakteri (b) *Pseudomonas aeruginosa* dan (a) *Staphylococcus aureus*

Pengujian bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan koloni berbentuk batang, tersusun tersebar, dan berwarna merah (Gram negatif). Hasil ini sesuai dengan penelitian Purwaningsih dan Wulandari (2021). Bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan kompleks zat warna iodine dan diwarnai oleh safranin, sehingga berwarna merah.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Biokimia Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Pengujian	Gambar	Hasil	Interpretasi Hasil
1.	Media Manitol Salt Agar (MSA)		Koloni berwarna kuning dan berbentuk bulat.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> mampu memfermentasi mannitol yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan. (Dewi, 2013)

Identifikasi selanjutnya adalah uji biokimia (media MSA, MacConkey, KIA, MIO, LIA). Pada media MSA, bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan koloni bulat berwarna kuning (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan teori bahwa *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol dan membentuk lipochrome, yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan (Dewi, 2013).

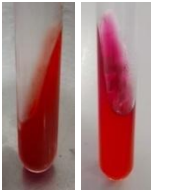
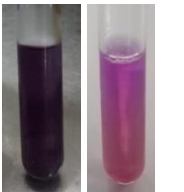
Pseudomonas aeruginosa diuji dengan media MacConkey, LIA, KIA, dan MIO. Pada media MacConkey (Tabel 3), koloni berwarna krem dan bulat, yang berarti bakteri tidak memfermentasi laktosa (Djasfar & Pradika, 2023). Pada media KIA, semua bagian media tetap merah, yang berarti bakteri tidak memfermentasi laktosa dan glukosa, serta tidak menghasilkan gas dan H₂S, selaras dengan Hayati et al. (2016). Pada media LIA, semua bagian media berwarna ungu, yang berarti bakteri dapat mendekarboksilasi lisin tanpa menghasilkan H₂S atau mendeaminasi lisin, sesuai dengan Purwaningsih dan Wulandari (2021). Pada media MIO, seluruh media berwarna ungu dan bakteri tumbuh keluar dari garis inokulasi, yang berarti bakteri bersifat motil dan mengalami reaksi dekarboksilasi ornithin, selaras dengan Yaqin et al. (2014).

Hasil Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas dilakukan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap antibiotik dan efektivitas antibiotik, yang dilihat dari diameter zona hambat (semakin besar zona hambat, semakin besar daya hambat antibiotik). Penentuan sensitivitas bakteri mengacu pada standar CLSI 2020. *Staphylococcus aureus* diuji dengan ampisilin (10 µg), kloramfenikol (30 µg),

eritromisin (15 µg), dan vankomisin (30 µg), sementara *Pseudomonas aeruginosa* diuji dengan kloramfenikol (30 µg), vankomisin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), dan eritromisin (15 µg).

Tabel 3. Identifikasi Biokimia Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

No	Pengujian	Gambar	Hasil	Interpretasi Hasil
1.	Media <i>MacConkey</i>		Koloni tidak berwarna atau krem dan berbentuk bulat.	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> membentuk koloni tidak berwarna atau krem, datar dan bulat di media <i>MacConkey</i> yang berarti bahwa bakteri tersebut tidak dapat memfermentasi laktosa (Djasfar & Pradika, 2023).
2.	Media <i>Lysine Iron Agar (LIA)</i>		Bagian tegak : Ungu (alkali/basa) Bagian miring : Ungu (alkali/basa) Bagian miring tidak berwarna merah Tidak menyebabkan warna hitam	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> merupakan bakteri yang dapat mende-karboksilase lisin secara cepat yang menyebabkan reaksi alkalin (basa) sehingga media berwarna ungu, bagian miring tidak berwarna merah yang berarti bakteri tidak bisa mendeaminasi lisin serta tidak menghasilkan warna hitam yang berarti bakteri tidak dapat membentuk H ₂ S (Purwaningsih & Wulndari, 2021)
3.	Media <i>Kligler Iron Agar (KIA)</i>		Bagian tegak : merah (alkali/basa) Bagian miring : merah (alkali/basa) Media tidak pecah Tidak menyebabkan warna hitam	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> merupakan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa dan glukosa, tidak terdapat H ₂ S dan gas. (Hayati <i>et al.</i> , 2016)
4.	Media <i>Motilitas Indole Ornithine (MIO)</i>		Pertumbuhan bakteri keluar garis inokulasi Media berwarna ungu	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> merupakan bakteri yang bersifat motil dan mengalami reaksi dekarboksilasi ornithin. (Yaqin <i>et al.</i> , 2014)

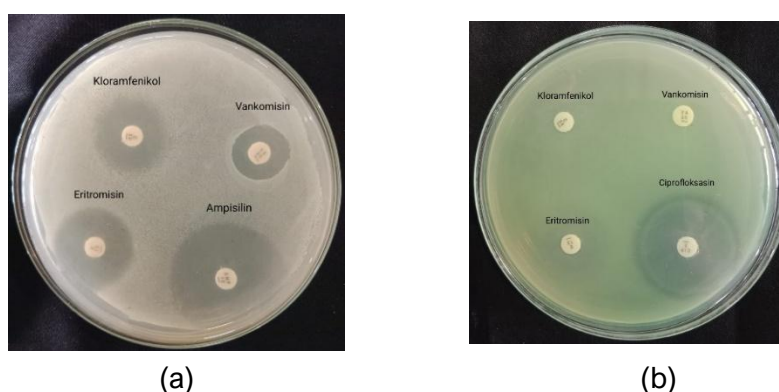
Pseudomonas aeruginosa sensitif terhadap siprofloksasin, tetapi resisten terhadap kloramfenikol, eritromisin, dan vankomisin. *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap eritromisin, ampicilin, vankomisin, dan kloramfenikol (Gambar 2 dan Tabel 4).

Berdasarkan uji sensitivitas (Tabel 4), *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap Kloramfenikol 30 µg, Eritromisin 15 µg, Vankomisin 30 µg, dan Ampisilin 10 µg. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena bersifat bakteriostatik spektrum luas terhadap organisme anaerobik dan aerobik gram negatif maupun positif (Pattipeilohy *et al.*, 2022). *Pseudomonas aeruginosa* sensitif terhadap siprofloksasin (diameter zona hambat ≥21 mm), sehingga siprofloksasin digunakan sebagai kontrol positif. Siprofloksasin bersifat bakterisidal dengan spektrum luas dan mengganggu aktivitas DNA girase bakteri (Purnomo & Azzahra, 2021).

Tabel 4 Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri (CLSI, 2020)

Jenis Bakteri	Disk Antibiotik	Standar Kepekaan (mm)			Hasil	
		Sensitif	Intermediate	Resisten	Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD	Keterangan
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampisilin 10 μ g	> 29	21-28	$\leq$ 20	32,66 $\pm$ 0,47	Sensitif
	Eritromisin 15 μ g	> 18	14-17	$\leq$ 13	23,33 $\pm$ 0,94	Sensitif
	Kloramfenikol 30 μ g	> 18	13-17	$\leq$ 12	21,5 $\pm$ 0,71	Sensitif
	Vankomisin 30 μ g	> 11	10-11	$\leq$ 9	15 $\pm$ 0,41	Sensitif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ciprofloxacin 5 μ g	> 21	16-20	$\leq$ 18	26 $\pm$ 0,41	Sensitif
	Eritromisin 15 μ g	> 18	14-17	$\leq$ 13	6,83 $\pm$ 0,24	Resisten
	Kloramfenikol 30 μ g	> 18	13-17	$\leq$ 11	6 $\pm$ 0	Resisten
	Vankomisin 30 μ g	> 11	10-11	$\leq$ 9	6 $\pm$ 0	Resisten

Keterangan : Diameter disk sebesar 6 mm termasuk zona hambat



Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri (a) *Staphylococcus aureus* dan (b) *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

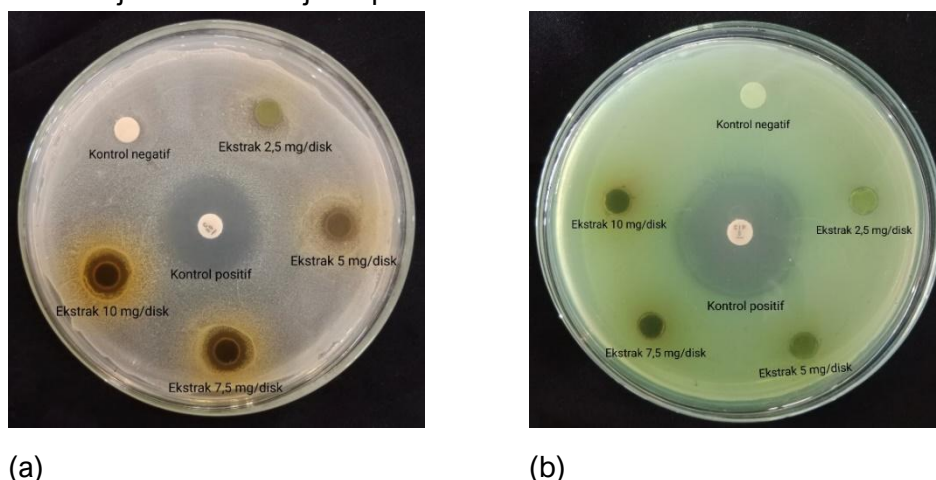
Uji aktivitas menggunakan metode difusi disk, sebab metode tersebut cepat dan mudah tanpa alat khusus. Zona bening menunjukkan aktivitas antibakteri (Rizki *et al.*, 2021). Ekstrak etanol dibuat dengan *loading dose* 2,5; 5; 7,5; dan 10 mg/disk, fraksi 10 mg/disk (n-heksan, metanol-air, etil asetat).

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Rerata diameter zona hambat (mm) $\pm$ SD					Kontrol positif	Kontrol negatif
	2,5 mg/disk	5 mg/disk	7,5 mg/disk	10 mg/disk			
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,38 $\pm$ 0,41	7,38 $\pm$ 0,41	8,63 $\pm$ 0,41	9,63 $\pm$ 0,41	22,13 $\pm$ 1,34	6 $\pm$ 0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	25,1 $\pm$ 0,89	6 $\pm$ 0	

Keterangan : Diameter disk sebesar 6 mm termasuk zona hambat (Tidak menghambat)

Pelarut DMSO (100%) digunakan karena mampu melarutkan senyawa polar dan non-polar. DMSO juga digunakan sebagai kontrol negatif karena tidak membentuk zona hambat (Hidayah *et al.*, 2016). Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol 30 μ g (untuk *Staphylococcus aureus*) dan Siprofloksasin 5 μ g (untuk *Pseudomonas aeruginosa*) sesuai standar CLSI 2020. Hasil uji aktivitas disajikan pada Tabel 5 dan 8.



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Pseudomonas aeruginosa*

Uji aktivitas ekstrak etanol terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan rata-rata diameter zona hambat $6,38 \pm 0,41$ mm (2,5 mg/disk), $7,38 \pm 0,41$ mm (5 mg/disk), $8,63 \pm 0,41$ mm (7,5 mg/disk), dan $9,63 \pm 0,41$ mm (10 mg/disk). Zona hambat terbesar terbentuk pada loading dose 10 mg/disk, sesuai dengan penelitian Adibi *et al.*, (2017) yang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar zona hambatnya. Pada *Pseudomonas aeruginosa*, tidak ada zona hambat yang terbentuk, yang berarti ekstrak belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri ini. Hasil ini tidak selaras dengan Suproborini *et al.*, (2022) yang menunjukkan ekstrak etanol 96% daun keji beling mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan MIC 25%. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh lokasi pengambilan sampel yang berbeda (Desa Pulorejo dan Desa Sidorejo) dan metode uji yang berbeda (difusi disk dan sumuran). Data hasil uji aktivitas antibakteri dianalisis statistik menggunakan program SPSS 25, untuk mengetahui pengaruh loading dose terhadap diameter zona hambat. Data yang diuji secara statistik yaitu hasil uji aktivitas antibakteri fraksi dan ekstrak etanol daun keji beling terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan data uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak dilakukan uji statistik karena baik pada ekstrak etanol maupun fraksi daun keji beling tidak terdapat zona hambat yang terbentuk.

Tabel 6. Hasil uji homogenitas Levene dan uji normalitas Shapiro Wilk Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji	Nilai p	Nilai alpha	Keterangan
Levene	0,007	0,05	Tidak homogen
Shapiro wilk	0,000	0,05	Tidak terdistribusi normal

Uji statistik aktivitas antibakteri ekstrak etanol keji beling terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan data tidak normal ($p < 0,05$) dan tidak homogen ($p < 0,05$). Uji Kruskal-Wallis menunjukkan terdapat pengaruh perbedaan *loading dose* ekstrak daun keji beling terhadap diameter zona hambat (*Staphylococcus aureus*) dengan signifikansi $p < 0,05$.

Tabel 7. Hasil Uji Mann-Whitney Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok	2,5 mg/disk	5 mg/disk	7,5 mg/disk	10 mg/disk	Kontrol positif (Kloramfenikol)	Kontrol negatif
2,5 mg/disk	-	0,037*	0,019*	0,019*	0,019*	0,131
5 mg/disk	-	-	0,027*	0,019*	0,019*	0,013*
7,5 mg/disk	-	-	-	0,037*	0,019*	0,013*
10 mg/disk	-	-	-	-	0,019*	0,013*
Kontrol positif (Kloramfenikol)	-	-	-	-	-	0,013*
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-

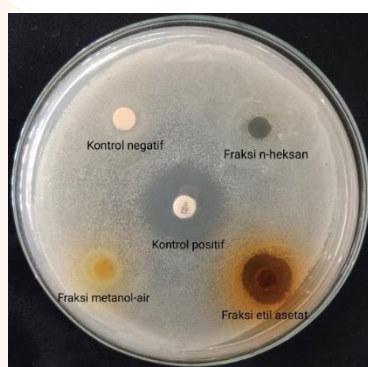
Keterangan: tanda * berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok uji

Hasil uji Mann-Whitney (Tabel 7) menunjukkan hampir semua kelompok perlakuan memiliki signifikansi $p < 0,05$, kecuali antara *loading dose* 2,5 mg/disk dengan kontrol negatif (DMSO) ($p > 0,05$). Ini berarti hampir semua kelompok memiliki perbedaan daya hambat yang signifikan secara statistik terhadap bakteri uji, kecuali kelompok *loading dose* 2,5 mg/disk dengan kontrol negatif (DMSO). Dengan demikian, *loading dose* yang secara signifikan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 5; 7,5 dan 10 mg/disk.

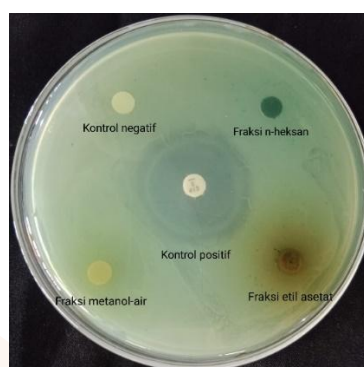
Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Rerata diameter zona hambat (mm) $\pm$ SD				Kontrol negatif (DMSO)
	Fraksi metanol-air	Fraksi etil asetat	Fraksi n-heksana	Kontrol positif	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 $\pm$ 0	14 $\pm$ 0,61	6 $\pm$ 0	21.5 $\pm$ 0.79	6 $\pm$ 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	24 $\pm$ 0,94	6 $\pm$ 0

Keterangan : Diameter disk sebesar 6 mm termasuk zona hambat



(a)



(b)

Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) (a) terhadap *Staphylococcus aureus* dan (b) *Pseudomonas aeruginosa*

Uji aktivitas fraksi daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan zona hambat terbesar pada fraksi etil asetat ($14 \pm 0,61$ mm), yang berarti senyawa antibakteri bersifat semi polar (Nugroho *et al.*, 2022). Fraksi etil asetat mengandung alkaloid dan fenolik yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Gerrine *et al.*, 2023). Pada *Pseudomonas aeruginosa*, zona hambat tidak terbentuk karena bakteri ini adalah Gram negatif dengan dinding sel yang kompleks (Malik *et al.*, 2019). Data fraksi etil asetat dan kontrol positif (Kloramfenikol 30 μ g) diuji statistik, sedangkan data fraksi metanol-air, fraksi n-heksan, dan kontrol negatif tidak dimasukkan karena tidak menghasilkan zona hambat.

Tabel 9. Hasil homogenitas Levene dan uji normalitas Shapiro Wilk Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji	Nilai p	Nilai alpha	Keterangan
Levene	1,000	0,05	Homogen
Shapiro wilk	0,100	0,05	Terdistribusi normal

Uji statistik aktivitas antibakteri fraksi keji beling terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji Independent Sample T-Test.

Tabel 10. Hasil Uji Independent Sample (T-Test) Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Variabel	Nilai p	Nilai alpha	Keterangan
Zona hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	0,05	0,000	Signifikan

Hasil uji *Independent Sample (T-Test)* didapatkan nilai signifikansi yaitu $p < 0,05$ (0,000) yang berarti perlakuan kelompok uji memiliki pengaruh secara signifikan terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok uji fraksi etil asetat (10 mg/disk) serta terdapat perbedaan bermakna dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

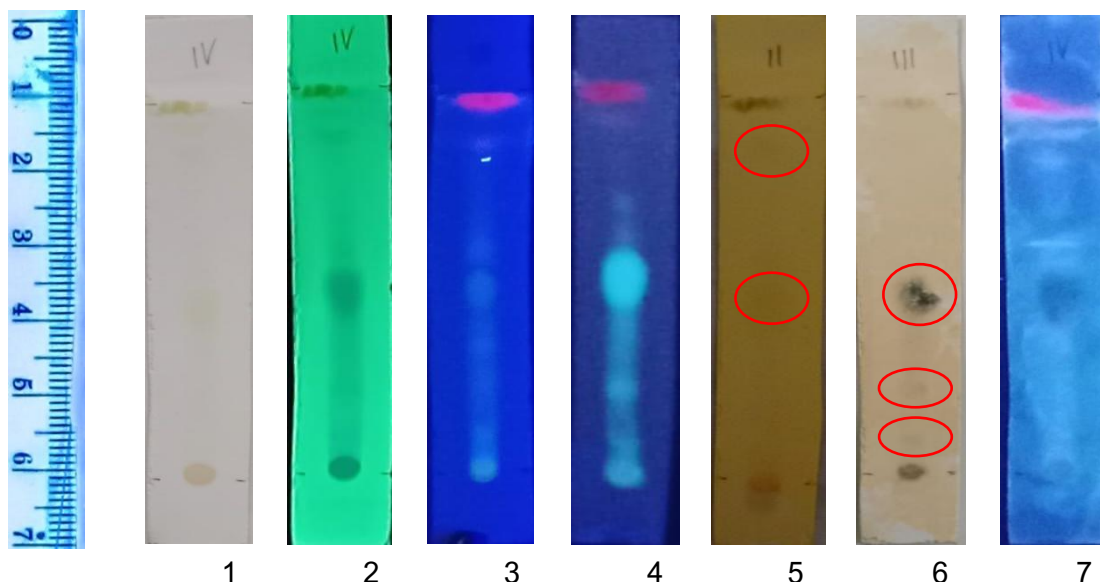
Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode cepat untuk memisahkan campuran senyawa dan mengidentifikasi golongan senyawa kimia dalam tumbuhan. Warna noda, fluoresensi, dan nilai Rf dari KLT mengindikasikan golongan senyawa (Forestryana & Arnida, 2020).

Tabel 11. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*)

Konsentrasi	Reagen semprot	Rf	Visualisasi	Fluoresensi/Warna Noda	Hasil
Ekstrak Etanol 5 % b/v	Sitroborat	-	UV 366	Kuning kehijauan	(-) Flavonoid
	Dragendorff	0,46	Sinar tampak	Coklat atau orange kecoklatan	(+) Alkaloid
	Liebermann-Burchard	-	UV 366	Kuning kecoklatan/Merah	(-) Triterpenoid
	FeCl ₃ 1%	0,06	Sinar Tampak	Kehitaman	(+) Fenolik
		0,2			
		0,46			

Plat KLT diaktifkan dengan oven 105° C selama 30 menit untuk menghilangkan air dan meningkatkan daya serap. Silika gel GF254 sebagai fase diam, dan toluen:etil asetat:asam format:metanol (1:3:0,2:0,8) sebagai fase gerak untuk fraksi etil asetat dan ekstrak etanol. Fase gerak dioptimasi dan dijenuhkan untuk homogenitas dan memaksimalkan penguapan pelarut (Hamka *et al.*, 2021). Noda di bagian bawah plat lebih polar daripada noda di atas karena elusi dengan fase gerak nonpolar.



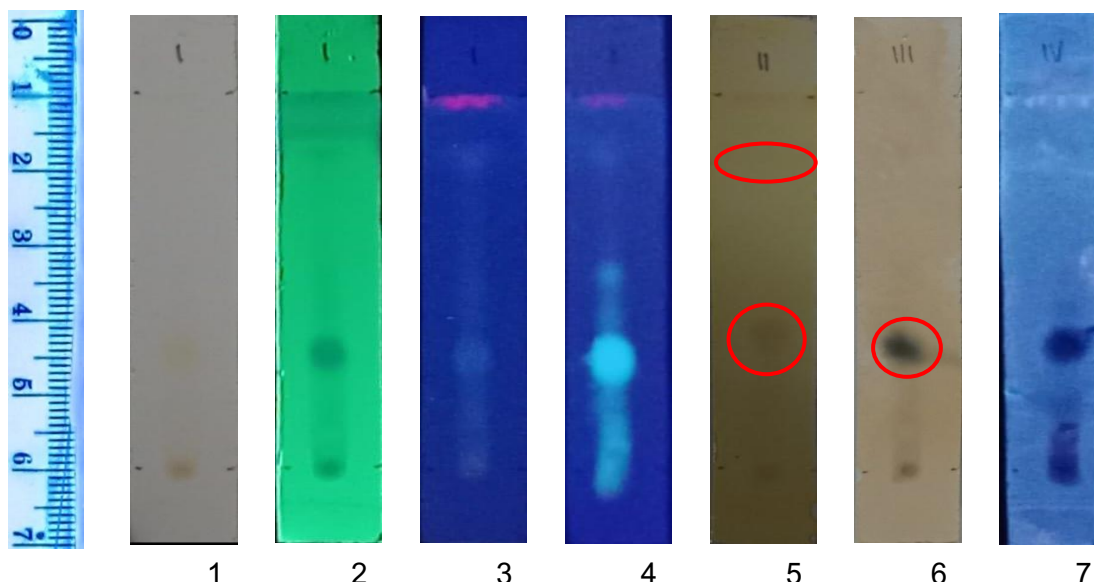
Gambar 5. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthes crispus*)

Keterangan : (1) KLT disinari tampak, (2) KLT disinari UV 254, (3) KLT disinari UV 366, (4) KLT dengan reagen sitroborat disinari UV 366, (5) KLT dengan reagen Dragendorff disinari tampak terdapat noda coklat atau orange kecoklatan pada Rf 0,46 dan 0,84, (6) KLT dengan reagen FeCl₃ disinari tampak, terdapat noda kehitaman pada Rf 0,06; 0,2 dan 0,46 (7) KLT dengan reagen Liebermann-Burchard disinari UV 366.

Untuk identifikasi senyawa dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun keji beling, digunakan reagen semprot Dragendorff, FeCl₃, sitroborat, dan Liebermann-Burchard. Flavonoid dideteksi dengan sitroborat, positif jika berfluoresensi kuning kehijauan pada UV 366 (Wagner & Bladt, 1996), namun ekstrak etanol tidak menunjukkan fluoresensi tersebut, mengindikasikan tidak adanya flavonoid dengan gugus orto-dihidroksi. Warna biru yang muncul mungkin adalah asam fenol karboksilat (Wagner & Bladt, 1996). Alkaloid dideteksi dengan Dragendorff, positif jika menghasilkan warna coklat atau orange kecoklatan (Wagner & Bladt, 1996), dan ekstrak etanol menunjukkan hasil positif pada Rf 0,46 dan 0,84. Senyawa fenolik dideteksi dengan FeCl₃, positif jika menghasilkan noda berwarna hitam, coklat, biru kehijauan, hijau, atau biru kehitaman (Yasmin *et al.*, 2019), dan ekstrak etanol positif pada Rf 0,06; 0,2 dan 0,46. Triterpenoid dideteksi dengan Liebermann-Burchard, positif jika membentuk noda berfluoresensi kuning kecoklatan, merah, kuning, dan ungu pada UV 366 (Dewi *et al.*, 2021), namun ekstrak etanol tidak menunjukkan adanya triterpenoid. Warna merah yang muncul kemungkinan adalah klorofil (Santosa & Perdana, 2015).

Tabel 12. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Etil Asetat Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*)

Konsentrasi	Reagen semprot	Rf	Visualisasi	Fluoresensi/Warna Noda	Hasil
Fraksi Etil Asetat 5 %b/v	Sitroborat	-	UV 366	Kuning kehijauan	(-) Flavonoid
	Dragendorff	0,34 0,82	Sinar tampak	Coklat atau orange kecoklatan	(+) Alkaloid
	Liebermann-Burchard	-	UV 366	Kuning kecoklatan/Merah	(-) Triterpenoid
	FeCl ₃ 1%	0,32	Sinar Tampak	Kehitaman	(+) Fenolik



Gambar 6. Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) fraksi etil asetat daun keji beling (*Strobilanthes crispus*)

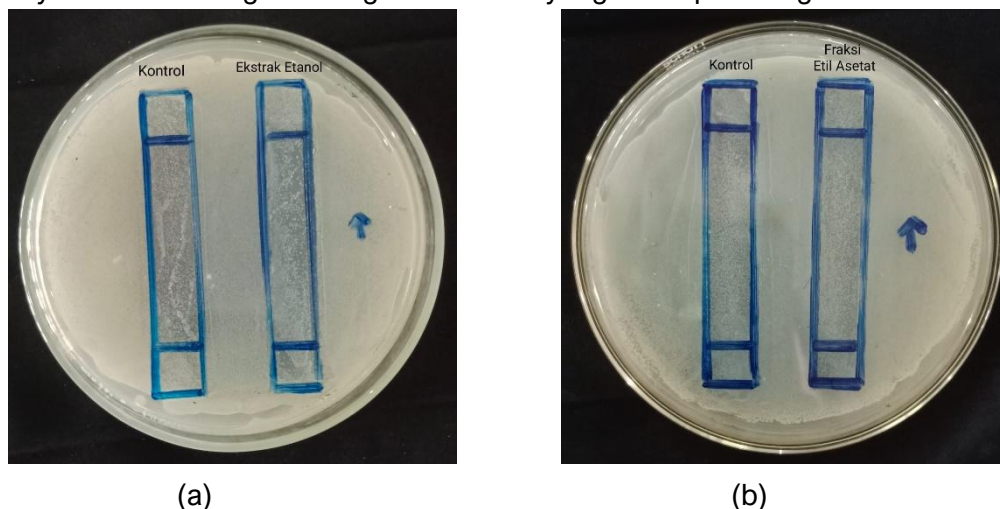
Keterangan : (1) KLT disinari tampak, (2) KLT disinari UV 254, (3) KLT disinari UV 366, (4) KLT dengan reagen sitroborat disinari UV 366, (5) KLT dengan reagen Dragendorff disinari tampak terdapat noda coklat atau orange kecoklatan pada Rf 0,34 dan 0,82, (6) KLT dengan reagen FeCl₃ disinari tampak, terdapat noda kehitaman pada Rf 0,32 (7) KLT dengan reagen Liebermann-Burchard disinari UV 366.

Uji KLT fraksi etil asetat menunjukkan hasil negatif untuk flavonoid dengan gugus orto-dihidroksi, positif untuk alkaloid (Rf 0,34 dan 0,82) dan fenolik (Rf 0,32), serta negatif untuk triterpenoid. Hasil ini berbeda dengan penelitian Gerrine *et al.*, (2023) yang menemukan flavonoid, tanin/fenolik, triterpenoid, dan alkaloid pada *Strobilanthes crispus*, sementara penelitian ini hanya menemukan fenolik dan alkaloid pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun keji beling. Hasil negatif flavonoid dan triterpenoid mungkin disebabkan pemanasan berlebih saat ekstraksi yang merusak senyawa, serta sifat semipolar etil asetat yang kurang kuat menarik senyawa polar seperti flavonoid dan senyawa nonpolar seperti alkaloid (Putri & Syafrina, 2020).

Hasil KLT-Bioautografi

Uji KLT-Bioautografi digunakan untuk mengidentifikasi senyawa antibakteri dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat *Strobilanthes crispus*. Metode kontak dilakukan dengan

meletakkan KLT pada media MHA yang telah diinokulasi bakteri. Zona bening yang terbentuk dihitung Rf-nya dan dibandingkan dengan hasil KLT yang disemprot reagen.



Gambar 7. Hasil Uji Bioautografi (a) Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) dan (b) Fraksi Etil Asetat Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji KLT-Bioautografi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat *Strobilanthes crispus* pada *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan zona bening, meskipun KLT menunjukkan adanya senyawa fenolik dan alkaloid yang berpotensi antibakteri. Alkaloid dapat berinterkalasi DNA bakteri, menghambat transkripsi mRNA, dan menyebabkan depolarisasi dinding sel. Senyawa fenolik dapat mengganggu fungsi membran sitoplasma dan permeabilitas dinding sel melalui ikatan hidrogen dengan peptidoglikan (Ishimora *et al.*, 2023). Tidak adanya zona hambat mungkin karena konsentrasi totalan terlalu kecil (5% b/v), metode kontak kurang efektif dalam menyerap senyawa aktif (Paputungan *et al.*, 2019), atau pemisahan senyawa pada KLT mengurangi aktivitas antibakteri dibandingkan efek sinergis senyawa yang bergabung (Niswah *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan fraksi daun keji beling (*Strobilanthes crispus*) menunjukkan aktivitas antibakteri terbesar pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan loading dose 10 mg/disk dan fraksi etil asetat dengan loading dose 10 mg/disk. Pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* baik fraksi maupun ekstrak etanol tidak terdapat aktivitas antibakteri. Berdasarkan uji KLT menunjukkan hasil di ekstrak etanol maupun fraksi etil asetat daun keji beling terkandung golongan senyawa fenolik dan alkaloid. Hasil Bioautografi zona hambat tidak terbentuk mungkin karena konsentrasi yang terlalu kecil dan belum bisa menghambat pertumbuhan bakteri, atau mungkin disebabkan karena senyawa tunggal belum bisa menghambat pertumbuhan bakteri jika dibandingkan golongan senyawa yang bersinergisme.

DAFTAR PUSTAKA

Adibi, S., Nordan, H., Ningsih, S. N., Kurnia, M., and Rohiat, S., 2017, Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak daun *Strobilanthes crispus* BI (Keji Beling) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *ALOTROP Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), 148–154.

- Angraini, N., Husna, N. N., and Tosani, N., 2021, Pembuatan Sampel Ekstrak Mangrove *Rhizophora apiculata* dengan Variasi Suhu Evaporasi Guna Pengayaan Praktikum Bioteknologi Laut. *Jurnal Penelitian Sains*, 21(3), 163–167. Terdapat di: <https://doi.org/https://doi.org/10.56064/jps.v25i1.725>
- Aslah, A., Lolo, W. A., and Jayanto, I., 2019, Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi Dari Fraksi Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), *Pharmacon*, 8(2), 505–515. Terdapat di: <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29320>
- Asnawati, R., Syukur, S. B., Yunus, H., Abas, F. F., Tabrani, S., and Yahya, M., 2022, Pengendalian Infeksi Di Ruang Internal RSUD Aloe Saboe Kota Gorontalo, *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 1(11), 3211–3215.
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., and Lembang, S. A. R., 2020, Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16–26. Terdapat di: <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>
- Dewi, A. K., 2013, Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta, *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 138–150. Terdapat di: <https://doi.org/10.2105/ajph.45.9.1138>
- Dewi, Saptawati, T., and Rachma, F. A., 2021, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Phytochemical Screening of Tamarillo Peel and Seeds Ethanol Extracts (*Solanum Betaceum* Cav.), *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 4, 1210–1218.
- Djasfar, S. P., and Pradika, Y., 2023, Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial (*Pseudomonas aeruginosa*) Pada Lantai Intensive Care Unit (ICU), *Jurnal Medical Laboratory*, 2(1), 9–19. Terdapat di: <https://doi.org/10.57213/medlab.v2i1.135>
- Fajriani, N., Kurniawan, H., and Nugraha, F., 2022, Identify The Rhodamin B On Lipsticks In The Market Using Thin Layer Chromatography (TLC) Method, *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 4(3), 671–678.
- Forestryana, D., and Arnida., 2020, Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.), *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113–124.
- Gerrine, G., Prajitno, A., Fadjar, M., and Kenitasari, R. E., 2023, Effects of Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) Crude Leaves Extract Against *Aeromonas hydrophila* Bacterial Infection in Vitro, *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(5), 3849–3855. Terdapat di: <https://doi.org/10.29303/jppipa.v9i5.3502>
- Hamka, Z., Noena, R. A. N., and Azmin, R. A. P., 2021, Pengaruh Metode Maserasi Bertingkat terhadap Nilai Rendemen dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.), *Jurnal Kesehatan Yamas Makasar*, 6(1), 154–162.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., and Wibawati, P. A., 2019, Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi, *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76–82. Terdapat di: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>

- Hayati, Z., Jannah, N. S., and Supriyadi, A., 2016, Isolasi Bakteriofag Spesifik *Pseudomonas* sp. DA1 Dari Biofil Pada Sistem Pengisian Air Minum Isi Ulang, *Jurnal Biologi*, 5(3), 29–35.
- Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., and Mustikaningtyas, D., 2016, Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*, *Journal of Creativity Student*, 1(2), 1–9. Terdapat di: <https://doi.org/10.15294/jcs.v1i2.7794>
- Ishimora, M. E., Prasetya, R. C., and Susilawati, I. D. A., 2023, Kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*: studi eksperimental, *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 7(3), 271–277. Terdapat di: <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v7i3.48658>
- Jannah, R., Safika, Jalaluddin, M., Darmawi, Farida, and Aliza, D., 2017, Jumlah Koloni Bakteri Selulotik pada Sekum Ayam Kampung (*Gallus domesticus*), *Jimvet*, 01(3), 558–565.
- Klau, M. H. C., and Hesturini, R. J., 2021, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit, *Jurnal Farmasi and Sains Indonesia*, 4(1), 6–12. Terdapat di: <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>
- Lutpiatina, L., 2017, Cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aerogenosa* Pada Stetoskop di Rumah Sakit, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(2), 61–66. Terdapat di: <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v6i2.94>
- Malik, F., Suryawati, Mahdani, W., and Suardi, H. N., 2019, Uji aktivitas Madu Seulawah sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Jurnal Bioleuser*, 3(1), 5–9.
- Manalu, R. T., Herdini, and Danya, F., 2022, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gedi hijau Antioxidant Activity Test Of Ethanol Extract and Fraction Of The Leaves Of (*Abelmoschus manihot* (L .) Medik) With DPPH (1 , 1-Diphenyl-2-Pikrilhidrazil) Method, *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 8(1), 17–23.
- Murwanto, E. P., and Santosa, D., 2012, Uji Aktivitas Antioksidan Tumbuhan *Cynara scolimus* L., *Artemisia china* L., *Borreria repens* DC., *Polygala paniculata* L. Hasil Koleksi Dari Taman Nasional Gunung Merapi Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil), *Majalah Obat Tradisional*, 17(3), 53–60.
- Niswah, S. U., Indrayati, A., and Sari, G. N. F., 2023, Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D . C .) dan Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L .) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Metode Pita Kertas, *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 27(3), 110–118. Terdapat di: <https://doi.org/10.20956/mff.v27i3.27092>
- Nugroho, D. A., W, T. S., and Dwi, A., 2022, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Seminar Informasi Kesehatan Nasional*, 376–388.
- Octaviani, M., Fadhli, H., Yuneistya, E., Tinggi, S., Riau, I. F., and Kunci, K., 2019, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram, *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(1), 62–68.
- Paputungan, W. A., Lolo, W. A., and Siampa, J. P., 2019, Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) *Pharmakon*, 8(3), 516–524. Terdapat di: <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29325>

- Pattipeilohy, A. J., Umar, C. B. P., and Pattilouw, M. T., 2022, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus*) Di Desa Lisabata terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Menggunakan Metode Difusi Agar, *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1), 80–90. Terdapat di: <https://doi.org/10.55606/jrik.v2i1.604>
- Purnomo, H. Y., and Azzahra, F., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, 7–14. Terdapat di: <https://doi.org/10.37089/jofar.vi0.102>
- Purwaningsih, D., and Wulandari, D., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(5), 750–759. Terdapat di: <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i5.622>
- Putri D.. and Lubis S., 2020, Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun kelayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum), *Jurnal Amina*, 2 (3), 120–126.
- Putri, F., Diharmi, A., and Karnila, R., 2023, Dentifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumpun Laut Cokelat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi, *Jurusan Teknologi Hasil Pertanian*, 15(01), 41–46. Terdapat di: <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Putri, Lestari, S., and Supriyadi, S., 2023, Daya antibakteri ekstrak buah okra hijau (*Abelmoschus esculentus*) terhadap *Streptococcus mitis*, *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 35(1), 47–52. Terdapat di: <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.40921>
- Qolbi, N., and Yuliani, R., 2018, Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Sepuluh Daun Tanaman Terhadap *Klebsiella Pneumoniae*, *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), 8–18. Terdapat di: <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v15i1.6169>
- Rahmah, A. F., Arma, U., Lestari, C., Edrizal, E., and Zia, H. K., 2024, Uji zona hambat ekstrak metanol teripang putih (*Holothuria scabra*) mentawai terhadap *Streptococcus sanguinis* pada Stomatitis Aftosa Rekuren secara in vitro: studi eksperimental, *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 8(1), 71–79. Terdapat di: <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v8i1.52551>
- Ramadhaneni, P., Mukhtar, H., and Prahmono, D. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan Metode Difusi Agar. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 2(2), 34–45.
- Riani, and Syafriani., 2019, Hubungan Antara Motivasi dengan Kepatuhan Perawat Melaksanakan Hand Hygiene Sebagai Tindakan Pencegahan Infeksi Nosokomial di Ruang Rawat Inap Rumah Sakit A, *Jurnal Ners*, 3(23), 49–59.
- Rizki, S. A., Latief, M., Fitrianiingsih, and Rahman, H., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Jmj, Special Issues*, 442–457.
- Santosa, D., and Perdana, P. H., 2015, Antioxidant Activity Determination *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumeamollis* (D.Don) Merr., *Siegesbeckia orientalis* L., and *Salvia riparia* H.B.K which Collected from Taman Nasional Gunung Merapi using DPPH (2,2-diphenyl-1-Pikril-Hidrazil) and Thin Layer, *Traditional Medicine Journal*, 20(1), 28–36.
- Silap, G.E., Wewengkang D. and Rotinsulu H., 2020, Uji Aktivitas Antimikroba Karang Lunak *Dendroneptya* Sp. yang Dikoleksi Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen, Kabupaten

Minahasa Tenggara Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*, PHARMACON, 9(1), 63-72.

- Suproborini, A., Laksana, M. S. D., Kartini, P. R., and Prastyana Putri, D. L., 2022, Efek Antidiare Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Jantan Yang Diinduksi Castor Oil. *EnviroSciencieae*, 18(1), 210–215. Terdapat di: <https://doi.org/10.20527/es.v18i1.13011>
- Suproborini, A., Laksana, M. S. D., and Martiningsih, S. H., 2022, Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Strobilanthes crispus* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 5(1), 25–32.
- Wagner, H., and Blatt, S., 1996, *Plant Drug Analysis (Second)*, Springer.
- Warsiti, W., Wardani, S. D., Ramadhan, A. A., and Yuliani, R., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 75–82. Terdapat di: <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v15i2.6526>
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., and Abdullah, S. S., 2021, Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi *Ascidian herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*, *Pharmacon*, 10(1), 706–712. Terdapat di: <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32758>
- Yaqin, A., Munawaroh, R., and D.K, I. T., 2014, Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol- Air dan Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten, *Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta*
- Yasmin, N., Widayat, W., and Narsa, A. C., 2019, Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Akar dan Batang Merung (*Coptosapelta tomentosa*) yang Memiliki Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode KLT Autografi, *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10, 10–15. Terdapat di: <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.353>, 103–115.