

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*

Tiya Fitriani¹, Siti Nashihah^{1*}

Artikel Penelitian

Abstract: Currently there are many anti-acne preparations on the market but not a few of these drugs give side effects to the user. The need for alternatives from nature that can act as antibacterial in the treatment of acne that has a smaller risk of side effects. This study aims to determine the inhibition of ethanol extract of rambai leaves (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) against acne-causing bacteria *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. Extraction was carried out by the UAE method and a yield of 9.21% was obtained. Phytochemical screening obtained positive results containing flavonoids, triterpenoids, tannins, saponins and phenol compounds. Antibacterial activity test was conducted using the well diffusion method with 4 different concentrations of 15%, 25%, 50% and 75% with positive control of clindamycin 0.03% and negative control of DMSO 1%. The results of antibacterial activity testing on *Propionibacterium acnes* bacteria obtained inhibition zone diameters of 3.3 mm; 4.43 mm; 6.48 mm; and 8.45 mm, respectively, while on *Staphylococcus epidermidis* bacteria 11.08 mm; 12.27 mm; 15.38 mm; and 16.78 mm, respectively. The results of the One Way ANOVA statistical test obtained a significance value of 0.000 ($p < 0.05$) which indicates that the treatment of each group is significantly different.

Keywords: *Sonneratia caseolaris*, ultrasound assisted extraction, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*.

Abstrak: Saat ini telah banyak sediaan antijerawat yang beredar di pasaran namun tidak sedikit dari obat-obat tersebut memberikan efek samping pada pemakainya. Perlunya alternatif dari alam yang dapat berperan sebagai antibakteri dalam pengobatan jerawat yang memiliki resiko efek samping yang lebih kecil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Ekstraksi dilakukan dengan metode UAE dan diperoleh randemen 9,21%. Skrining fitokimia diperoleh hasil positif mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin dan fenol. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan 4 konsentrasi berbeda yaitu 15%, 25%, 50% dan 75% dengan kontrol positif klindamisin 0,03% dan kontrol negatif DMSO 1%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* diperoleh diameter zona hambat berturut-turut 3,3 mm; 4,43 mm; 6,48 mm; dan 8,45 mm, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut 11,08 mm; 12,27 mm; 15,38 mm; dan 16,78 mm. Hasil uji statistik *One Way ANOVA* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menandakan perlakuan tiap kelompok berbeda secara signifikan.

¹ Fakultas Farmasi,
Universitas Muhammadiyah
Banjarmasin, Banjarmasin
Kalimantan Selatan

Korespondensi:

Siti Nashihah
siti.nashihah@umbjm.ac.id

Kata kunci: *Sonneratia caseolaris*, ultrasound assisted extraction, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*.

Pendahuluan

Penampilan merupakan salah satu modal terbentuknya kepercayaan diri. Salah satu masalah yang dapat menurunkan kepercayaan diri seseorang adalah jerawat atau sering dikenal dalam ilmu kedokteran sebagai *Acne vulgaris*, terutama jerawat yang muncul pada area sekitar wajah yang dapat mengganggu penampilan seseorang sehingga menyebabkan beban pikiran tersendiri bagi sebagian orang (1).

Jerawat merupakan penyakit kulit yang umum terjadi hampir pada semua orang di seluruh dunia. Studi *Global Burden of Disease* (GBD) melaporkan bahwa jerawat dapat mempengaruhi sekitar 85% orang dewasa dan anak muda berusia sekitar 12-25 tahun (2). Prevalensi *acne vulgaris* di Indonesia menduduki urutan ketiga terbanyak dari seluruh penyakit kulit yang telah dilaporkan oleh Departemen Ilmu kesehatan kulit dan kelamin yang ada diberbagai rumah sakit maupun klinik (3).

Jerawat atau *acne vulgaris* merupakan penyakit kulit kronis dengan kondisi peradangan pada kulit yang dapat mempengaruhi kelenjar pilosebaceous yang ditandai dengan munculnya komedo, pustul dan nodul pada area wajah, bahu, dada, punggung dan lengan bagian atas (4). Peradangan atau inflamasi pada jerawat dapat dipicu karena adanya infeksi bakteri penyebab jerawat seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Oleh karena itu, pengobatan jerawat dapat dilakukan dengan cara mengobati infeksi atau menurunkan populasi bakteri penyebab jerawat dengan menggunakan suatu senyawa yang dapat berperan sebagai agen antibakteri (5).

Saat ini telah banyak sediaan obat antijerawat yang beredar di pasaran mengandung zat antibiotik sintetik, namun tidak sedikit dari obat tersebut memberikan efek samping pada penggunaannya seperti iritasi, resistensi, kerusakan organ, bahkan imunohipersensitivitas. Oleh sebab itu untuk meminimalisir terjadinya efek samping atau efek yang tidak diinginkan maka diperlukan bahan alternatif alami dari alam yang mampu membantu mengatasi masalah jerawat tersebut (4).

Tumbuhan rambai merupakan salah satu jenis mangrove yang habitatnya sering kali ditemui di

muara sungai dan air laut. Tumbuhan rambai secara empiris di manfaatkan masyarakat Kalimantan Selatan sebagai obat luka. beberapa masyarakat juga memanfaatkan daun rambai untuk ditambahkan pada pembuatan bedak dingin (6).

Tumbuhan rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik dan tanin yang dapat berperan sebagai antibakteri. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol 96% daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan aktivitas antibakteri tertinggi pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat 22,48 mm (7).

Untuk memperoleh senyawa yang terkandung dalam daun rambai yang dapat berperan sebagai antibakteri maka perlu dilakukan proses ekstraksi atau pemisahan. Metode ekstraksi yang umumnya digunakan yaitu metode ekstraksi konvensional seperti maserasi, perkolasi, refluks dan sokhletasi namun metode tersebut memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak sehingga memiliki tingkat efisiensi yang rendah (8).

Saat ini telah ditemukan beberapa metode alternatif baru untuk memperoleh senyawa yang terkandung dalam tumbuhan, salah satunya yaitu ekstraksi dengan metode *ultrasound assisted extraction* (8). Metode ekstraksi *ultrasound assisted extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Beberapa hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstraksi dengan metode *ultrasound assisted extraction* mampu mengekstrak senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tannin, polisakarida, protein dan minyak esensial dari berbagai tanaman. Metode ini memiliki kelebihan dibandingkan metode ekstraksi pada umumnya yaitu menghasilkan randemen yang lebih banyak dalam waktu yang singkat (9). Selain itu metode ini juga menggunakan lebih sedikit pelarut dengan menghasilkan ekstrak yang lebih pekat dan zat aktif yang lebih banyak (10).

Beberapa penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun rambai telah dilaporkan sebelumnya, namun belum ada pengujian

aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun rambai yang diekstraksi dengan metode *ultrasound assisted extraction* (UAE), oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri penyebab jerawat seperti bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan metode difusi sumuran dan metode ekstraksi *ultrasound assisted extraction* (UAE).

Metode Penelitian

Bahan

Klindamisin Etanol 70% (Merck, German), DMSO, media Nutrient agar, HCl, H₂SO₄, FeCl₃, NaCl, BaCl₂ preaksi mayer, pereaksi wagner, toluen, serbuk magnesium, aquadest, kloroform (Merck, German), bakteri *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919) dan lain-lain.

Alat

Cawan petri (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), labu erlenmeyer (Pyrex), labu ukur (Iwaki), gelas beaker (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, tip mikropipet, mikro pipet (Stream line), pelubang gabus, pipet ukur, spatula, sendok tanduk, jarum ose, laminar air flow cabinet (Mommert), timbangan digital, inkubator (Mommert), oven (Mommert), autoklaf (American), sonikator (China Biobase ultrasonic cleaner UC-40A), cawan porselin, bunsen, penggaris, penangas air (Maspion) dan beberapa peralatan lainnya.

Pengumpulan sampel

Daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) diperoleh dari tepi sungai di Desa Tabanio, Kecamatan Takisung, Kabupaten Tanah Laut, Kalimantan Selatan. Proses pengumpulan daun rambai dilakukan pada sore hari dengan cara dipetik satu persatu menggunakan tangan. Kriteria daun yang dipilih yaitu daun tua, segar, berwarna hijau, tidak rusak, berasal dari pohon dewasa atau besar (11).

Pembuatan serbuk simplisia

Bahan yang telah dikumpulkan selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bagian tumbuhan yang ingin diteliti dari zat pengotor atau bagian tanaman yang tidak sesuai

kriteria seperti rusak, busuk dan lain-lain. Setelah daun dilakukan sortasi basah selanjutnya daun dilakukan pencucian. Pencucian dilakukan sebanyak 2-3 kali dengan menggunakan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan zat pengotor seperti debu, serangga dan lainnya. Setelah daun dicuci selanjutnya dilakukan perajangan dengan tujuan untuk memperkecil ukuran daun dalam rangka membantu mempercepat proses pengeringan atau penghalusan. Daun yang telah dirajang selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara di angin-anginkan di dalam ruang ber AC. Daun yang telah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan zat-zat pengotor yang memungkinkan ada selama proses pengeringan. Selanjutnya daun dihaluskan dengan cara diblender, dan diayak dengan pengayak no 40 mesh (11).

Standarisasi simplisia

Beberapa tahapan yang dilakukan pada proses standarisasi simplisia adalah sebagai berikut:

Uji organoleptis.

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara mengamati bentuk fisik simplisia daun rambai sebagai pengenalan awal menggunakan panca indra meliputi bentuk, warna, rasa dan bau (12).

Uji kadar sari larut air.

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia, dimaserasi dengan 100 ml kloroform (2,5 ml kloroform dalam 1000 ml aquadest) selama 24 jam dalam labu ukur dan digojog berkali-kali selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Di saring dan 20 ml filtrat dalam cawan penguap yang sebelumnya telah ditara dan dipanaskan, ekstrak diuapkan di atas penangas air hingga kering, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap (12).

Uji kadar sari larut etanol.

Sebanyak lebih kurang 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 ml etanol (95%), dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama lalu dibiarkan selama 18 jam. Ekstrak disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol (95%). Sebanyak 20 mL filtrat diuapkan hingga

kering di dalam cawan penguap yang telah ditara dan dipanaskan, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap (12).

Uji kadar air.

Pemeriksaan kadar air dilakukan dengan cara destilasi toluen. Sebanyak 400 ml toluen dijenuhkan dengan 8 ml aquades selama 1x24 jam, kemudian dipisahkan dan diambil lapisan toluen. Sebanyak 10 g simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang berisi toluen dan batu didih, lalu lakukan proses destilasi. Setelah destilasi selesai biarkan tabung penerima dalam keadaan dingin hingga suhu kamar. Kemudian pisahkan toluen dan air menggunakan corong pisah, selanjutnya ukur volume air yang diperoleh. setelah semua air tersuling, dihitung kadar air dalam satuan % v/b (13).

Uji susut pengeringan.

Sebanyak 1 gram simplisia dimasukan kedalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Setelah itu dinginkan kemudian timbang, apabila bobot yang diperoleh belum konstan. Ulangi kembali hingga diperoleh bobot yang konstan (14).

Ekstraksi

Ekstrasi menggunakan metode UAE dilakukan dengan cara serbuk simplisia dan pelarut dimasukan kedalam erlenmeyer dengan perbandingan 1:4 (b/v) dan ditutup dengan aluminium foil dan beri sedikit lubang pada bagian atas, lalu diletakkan dalam alat sonikator dan diekstraksi selama 30 menit pada suhu 40°C dengan frekuensi gelombang pada 40 Khz. Setelah selesai selanjutnya ekstrak dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain flanel. Filtrat yang telah didapat selanjutnya diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental, selanjutnya ditimbang dan dihitung randemen ekstrak yang diperoleh (10).

Skrining fitokimia

Beberapa senyawa yang akan dilakukan skrining fitokimia pada penelitian ini sebagai berikut:

Alkaloid.

Sebanyak 2 gram ekstrak sampel dalam tabung reaksi ditambahkan 5 ml HCl 2N, kemudian panaskan dan dinginkan. Siapkan 2 tabung reaksi dan masing-masing tabung berisi 1 ml larutan. Setiap tabung ditambahkan masing-masing pereaksi mayer dan dragendrof. Pada penambahan reaksi mayer positif alkaloid ditandai dengan endapan putih atau kuning, pereaksi dragendroft ditandai dengan endapan jingga (15).

Flavanoid.

Sebanyak 0,5 g ekstrak sampel dimasukan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5ml etanol, lalu panaskan selama kurang lebih 5 menit di atas penangas air dan tambahkan 10 tetes HCl pekat dan 0,2 g serbuk magnesium. Positif flavonoid (flavon, kalkan, dan auron) jika terbentuk warna hitam kemerahan, jingga atau kuning (16).

Triterpenoid.

Sebanyak 0,5g ekstrak dimasukan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 ml H₂SO₄ pekat, kocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Positif triterpenoid jika warna menjadi coklat kemerahan (16).

Saponin.

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukan dalam tabung reaksi, tambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang 10 menit dan jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N, buih tidak hilang (15).

Tanin.

Sebanyak 1 gram ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 10 ml air panas, didihkan selama 5 menit, kemudian filtrat ditambahkan FeCl₃ 3-4 tetes, positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (15).

Fenol.

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan FeCl₃ 3-4 tetes. Positif fenol jika perubahan warna hitam kebiruan sampai hitam pekat (16).

Sterilisasi alat

Alat yang akan digunakan pada penelitian dicuci terlebih dahulu dengan air bersih yang mengalir kemudian dikeringkan. Alat-alat yang telah dikeringkan, selanjutnya disterilkan terlebih dahulu agar tidak terjadi kontaminasi pada saat pengujian. Alat-alat gelas seperti tabung reaksi, vial, cawan petri dibungkus dalam aluminium foil kemudian disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam, jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran di atas api bunsen. Media dan alat-alat yang berskala atau tidak tahan pemanasan seperti spuit dibungkus dengan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (17).

Pembuatan media

Sebanyak 28 gram media agar nutrient agar dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1000 ml, kemudian dipanaskan hingga homogen dan sesekali dilakukan pengadukan agar media tercampur merata. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dinginkan media hingga suhu 45- 50°C. Tuang media ke dalam cawan petri dan tabung reaksi yang telah disterilisasi kurang lebih sebanyak 25 ml pada cawan petri dan tabung reaksi untuk media agar miring sebanyak 5 ml, biarkan hingga memadat (18).

Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara mengambil biakan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* masing-masing satu jarum ose, kemudian digoreskan secara zig-zag dalam biakan agar dengan permukaan miring dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (19).

Pembuatan suspensi bakteri

Ambil 1-2 ose bakteri suspensikan dalam 10 ml larutan NaCl 0,9% (b/v), kemudian kekeruhan disetarakan dengan larutan standar McFarland 0,5. Kekeruhan tersebut menunjukkan jumlah koloni pada suspensi yang akan digunakan (20).

Pembuatan larutan mcfarland 0,5

Larutan standar McFarland 0,5 (1,5x10⁸ CFU/ml) dibuat dengan cara mencampurkan barium klorid (BaCl₂) 1%

sebanyak 0,05 ml dengan asam sulfat (H₂SO₄) 1% sebanyak 9,95 ml dalam tabung reaksi, gojok sampai homogen (21).

Pembuatan kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO 1%, larutan DMSO 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 ml DMSO kedalam aquadest hingga diperoleh larutan 100 ml (22).

Pembuatan kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah klindamisin 0,03%, dibuat dengan cara melarutkan serbuk klindamisin 4,6 mg dalam 10 ml larutan DMSO 1% (22).

Pembuatan larutan uji

Larutan uji ekstrak konsentrasi 15% b/v, 25% b/v, 50% b/v, 75% b/v dibuat dengan cara masing-masing konsentrasi berturut-turut ditimbang ekstrak sebanyak 0,75 g; 1,25g; 2,5 g dan 3,75 g. Selanjutnya masing-masing ekstrak dilarutkan dengan pelarut DMSO 1% sampai 5 ml.

Uji aktivitas antibakteri

Suspensi bakteri yang telah dibuat dicelupkan *cotton bud* kemudian diinokulasikan pada media NA secara zig-zag, diamkan beberapa menit agar suspensi terserap ke dalam media. Selanjutnya buat lubang sumuran pada media menggunakan pelobang gabus no 2, jumlah lubang yang dibuat disesuaikan dengan keperluan. Larutan kontrol positif, kontrol negatif dan ekstrak daun rambai yang telah dibuat dengan konsentrasi 15% b/v, 25% b/v, 50% b/v, dan 75% b/v diambil menggunakan mikro pipet masing-masing sebanyak 50 µl, kemudian masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam lubang sumuran. Lubang sumuran diberi label sesuai dengan isi larutannya. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C tanpa dibalik. Lakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran (23).

Analisis data

Semua data hasil pengukuran diameter zona hambat dari setiap konsentrasi dan kontrol akan dianalisis menggunakan SPSS untuk mengetahui perbedaan tiap diameter zona hambat yang

dihasilkan. Analisis menggunakan data one way ANOVA dan post hoc test dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil dan Diskusi

Standarisasi simplisia

Standarisasi simplisia merupakan suatu proses untuk menjamin produk akhir yang memenuhi syarat sehingga diperoleh bahan baku simplisia yang seragam dengan menjamin mutu, khasiat dan keamanan dari simplisia tanaman obat (14). Pada penelitian ini untuk memastikan simplisia daun rambai yang dibuat telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan maka dilakukan standarisasi simplisia dengan cara melakukan beberapa pengujian seperti uji organoleptis, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air dan susut pengeringan.

Pada penelitian ini uji organoleptis diperoleh hasil simplisia daun rambai memiliki bentuk berupa serbuk halus berwarna hijau muda

dengan bau khas dan rasa sedikit pahit. Pengujian organoleptis bertujuan untuk memberikan pengenalan awal bagaimana bentuk, rasa, warna, dan bau dari simplisia daun rambai (13). Untuk hasil uji kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air dan susut pengeringan dapat dilihat pada **Tabel 1**. Untuk hasil kadar sari larut air diperoleh hasil 19% sedangkan uji kadar sari larut etanol diperoleh hasil 21%. Hasil tersebut telah memenuhi syarat yang telah ditetapkan oleh farmakope herbal Indonesia (24), sehingga dapat dikatakan simplisia telah memenuhi syarat uji kadar sari larut air dan uji kadar sari larut etanol (**Tabel 1**).

Pengujian kadar sari larut air bertujuan untuk mengetahui banyaknya kandungan senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut air (polar), sedangkan uji kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut etanol (polar-non polar) (13).

Tabel 1. Standarisasi Simplisia

Uji	Hasil	Persyaratan
Kadar Sari Larut Air	19 %	≥5%
Kadar Sari Larut Etanol	21%	≥7,2 %
Kadar Air	8%	<10%
Susut Pengeringan	5%	<10%

Pada hasil tersebut dapat dilihat adanya perbedaan persentase antara kadar sari larut air dan etanol dimana kadar sari larut etanol lebih besar dibandingkan kadar sari larut air, hal tersebut menandakan bahwa senyawa kimia yang terkandung dalam daun rambai lebih banyak terlarut dalam pelarut etanol dibandingkan pelarut air. Hal tersebut juga sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang uji kadar sari larut air dan etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) diperoleh hasil kadar sari larut etanol lebih besar dibandingkan kadar sari larut air (25).

Pengujian kadar air dan susut pengeringan berturut-turut diperoleh hasil 8% dan 5% dimana hasil tersebut <10% sehingga dapat dikatakan bahwa simplisia daun rambai telah memenuhi syarat uji kadar air dan susut pengeringan (**Tabel**

1). Pengujian kadar air dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan air yang terkandung dalam simplisia, karena kandungan air tersebut dapat mempengaruhi stabilitas simplisia selama proses penyimpanan (13). Kadar air yang tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan dapat mengakibatkan adanya pertumbuhan mikroorganisme, hal tersebut terjadi karena air merupakan media untuk pertumbuhan mikroorganisme. Adanya mikroorganisme yang tumbuh akan menyebabkan simplisia cepat membusuk dan tidak stabil selama proses penyimpanan sehingga dapat menurunkan mutu dari simplisia (25).

Pengujian susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui batasan maksimal atau besarnya rentang senyawa yang hilang selama proses pengeringan (13). Massa

yang dapat hilang selama proses pemanasan yaitu molekul air, minyak atsiri dan pelarut etanol (25).

Ekstraksi

Pada penelitian ini simplisia diekstraksi menggunakan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) menggunakan alat *ultrasonic biobase* dengan model UC-40A. Metode ekstraksi ini memanfaatkan fenomena kavitasi untuk membuat gelembung yang dapat memecah dinding sel tumbuhan sehingga pelarut dapat masuk ke dalam sel dan menarik senyawa yang ingin diekstraksi (26). Simplisia daun rambai pada penelitian ini diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 46,05 g dengan persentase randemen 9,21%.

Pada penelitian sebelumnya tentang perbandingan metode ekstraksi daun rambai diperoleh hasil randemen ekstraksi dengan metode maserasi, infudasi, soxhletasi dan refluks berturut-turut 21,28%; 17,20%; 28,38% dan 25,57%⁽⁶⁾. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode ekstraksi UAE pada penelitian ini memiliki randemen yang lebih kecil jika dibandingkan metode ekstraksi konvensional. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan beberapa faktor dapat mempengaruhi randemen yang dihasilkan salah satunya penggunaan pelarut yang lebih sedikit, karena menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyebutkan bahwa volume pelarut dapat berpengaruh terhadap randemen yang dihasilkan dimana semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin tinggi pula randemen yang dihasilkan. Hal tersebut terjadi karena semakin banyak pelarut yang digunakan maka kemampuan pelarut untuk melarutkan zat yang terlarut juga akan semakin besar karena distribusi partikel dalam pelarut semakin menyebar, sehingga memperluas permukaan kontak antara pelarut dan senyawa (27).

Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tentang pengaruh rasio pelarut pada ekstraksi daun jambu air dan melinjo dengan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* pada rasio pelarut 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, dan 1:25 diperoleh rasio pelarut terbaik yaitu 1:10 dengan menghasilkan randemen yang lebih tinggi dibandingkan rasio

pelarut lainnya⁽⁸⁾. Faktor lain yang juga dapat mempengaruhi randemen yang dihasilkan yaitu tempat tumbuh, karena perbedaan tempat tumbuh dapat mempengaruhi senyawa atau kandungan yang terdapat dalam tumbuhan.

Skrining fitokimia

Pada penelitian ini skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) yang dapat berperan sebagai antibakteri. Berdasarkan data pada **(Tabel 2)** dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun rambai mengandung senyawa flavanoid, fenol, tanin, saponin dan triterpenoid. Senyawa flavonoid diduga memiliki senyawa antibakteri karena kemampuannya dalam membentuk senyawa kompleks dengan protein sehingga membran sel bakteri mengalami kerusakan dan terjadi proses keluarnya makromolekul dan ion dari sel terjadi kematian sel. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun rambai mengandung senyawa flavanoid, fenol, tanin, saponin dan triterpenoid (28). Pada beberapa literatur disebutkan bahwa dalam daun rambai terdapat alkaloid. Perbedaan hasil skrining fitokimia ini dapat terjadi karena lingkungan tempat tumbuh tanaman, perbedaan konsentrasi metabolit sekunder, jenis pelarut yang digunakan serta metode ekstraksi yang dipakai.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode sumuran. Prinsip kerja metode sumuran yaitu terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat yang telah diinokulasi bakteri. Diketahui bahwa metode sumuran menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode cakram. Hal tersebut dikarenakan sampel yang dimasukkan ke dalam sumuran membuat proses osmosis dapat terjadi lebih homogen dan efisien sehingga lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (29). Selain itu metode sumuran menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode cakram terjadi karena tumpukan kertas yang menyusun cakram disk dapat memengaruhi besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan. Semakin tinggi tumpukan kertas maka akan semakin kecil

pula diameter zona hambat yang akan dihasilkan. Berbeda dengan metode sumuran yang secara langsung kontak antara bahan senyawa antibakteri dengan media agar yang telah di

inokulasi bakteri, sehingga bahan uji secara langsung dapat terserap dan menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar (30).

Tabel 2. Skrining Fitokimia

Uji Fitokimia	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	(-)
	HCl 2N+ Dragendorf	Tidak terbentuk endapan jingga	(-)
Flavanoid	Etanol + HCl P + Mg	Hitam kemerahan	(+)
Fenol	FeCl ₃	Hitam pekat	(+)
Tanin	Air panas + FeCl ₃	Hijau kehitaman	(+)
Saponin	Air panas + HCl	Buih setinggi 2 cm tidak kurang 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan HCl	(+)
Triterpenoid	H ₂ SO ₄ P	Coklat kemerahan	(+)

Keterangan: (-) = Negatif (+) = Positif

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri pada penelitian ini yaitu nutrient agar. Nutrient agar merupakan media pertumbuhan bakteri dengan komposisi ekstrak beef, pepton, dan agar. Ekstrak beef dan pepton yang terkandung dalam media nutrient agar merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai nutrisi bagi bakteri untuk tumbuh dan berkembang (31).

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini dilakukan peremajaan terlebih dahulu. Peremajaan dilakukan dengan tujuan untuk mengaktifasi isolat bakteri dan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri (32).

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin. kontrol positif disini berfungsi untuk memberikan gambaran zona hambat yang terbentuk (33). Pemilihan klindamisin sebagai kontrol positif dikarenakan klindamisin merupakan golongan antibiotik yang

paling banyak digunakan dalam pengobatan jerawat jika dibandingkan dengan eritromisin, tetrasiklin dan azitromisin. Sedangkan untuk kontrol negatif digunakan DMSO 1%. kontrol negatif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji untuk mengetahui perbandingan diameter zona hambat yang terbentuk dan untuk memastikan bahwa DMSO yang digunakan untuk melarutkan ekstrak tidak memiliki aktivitas antibakteri (22).

Pada (Tabel 3 dan 4) dapat dilihat klindamisin sebagai kontrol positif menghasilkan zona hambat yang paling besar dengan diameter 37,38 mm untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan 25,15 mm untuk bakteri *Propionibacterium acnes*. Klindamisin memberikan zona hambat yang cukup besar pada kedua jenis bakteri dikarenakan klindamisin merupakan antibiotik yang memiliki aktivitas spektrum luas yang efektif menghambat bakteri baik itu bakteri gram positif maupun negatif.

Tabel 3. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Mean±SD	Kategori Zona Hambat
	1	2	3		
K(-)	0	0	0	0±0*	Tidak ada
K(+)	37,40	37,55	37,20	37,38±0,17*	Sangat kuat
15%	11,00	11,05	11,20	11,08±0,10*	Kuat
25%	12,20	12,15	12,45	12,27±0,16*	Kuat
50%	15,30	15,20	15,65	15,38±0,23*	Kuat
75%	16,85	16,60	16,90	16,78±0,16*	Kuat

Keterangan: tanda (*) pada setiap kolom menyatakan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

Tabel 4. Hasil uji daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Mean±SD	Kategori Zona Hambat
	1	2	3		
K(-)	0	0	0	0±0*	Tidak ada
K(+)	25,75	25,05	24,65	25,15±0,55*	Sangat kuat
15%	3,25	3,45	3,20	3,30±0,13*	Lemah
25%	4,40	4,35	4,55	4,43±0,10*	Lemah
50%	6,30	6,80	6,35	6,48±0,27*	Sedang
75%	8,35	8,60	8,40	8,45±0,13*	Sedang

Keterangan: tanda (*) pada setiap kolom menyatakan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

Sedangkan untuk kontrol negatif DMSO 1% tidak memberikan zona hambat dikarenakan tidak adanya zona bening yang terbentuk disekitar sumuran baik itu pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* maupun *Propionibacterium acnes*. Hal tersebut membuktikan bahwa DMSO 1% tidak akan mempengaruhi zona hambat yang akan dihasilkan dari konsentrasi ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl).

Pada **(Tabel 3)** dapat dilihat hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* diperoleh rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak 15%, 25%, 50%, 75% berturut-turut 11,08 mm; 12,27 mm; 15,38 mm dan 16,78 mm. Hasil rata-rata diameter tersebut berkisar pada rentang 10-20 mm sehingga dapat dikategorikan memiliki zona hambat yang kuat. Sedangkan pada **(Tabel 4)** dapat dilihat hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dimana diperoleh rata-rata diameter zona hambat pada

konsentrasi ekstrak 15%, 25%, 50%, 75% berturut-turut 3,30 mm; 4,43 mm; 6,48 mm dan 8,45 mm. Pada uji aktivitas ini pada konsentrasi 15% dan 25% diperoleh diameter dengan rata-rata <5 mm sehingga dikategorikan memiliki zona hambat yang lemah sedangkan konsentrasi 50% dan 75% menghasilkan diameter rata-rata berkisar antara 5-10 mm yang termasuk dalam kategori zona hambat sedang. Rentang konsentrasi ekstrak pada penelitian ini mengacu pada studi pendahuluan yang terlebih dulu dilakukan untuk menentukan konsentrasi minimal dan maksimal pada pengujian aktivitas antibakteri.

Hasil data uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dilakukan analisis statistik menggunakan IMB SPSS statistic 25. Analisis statistik pertama yang dilakukan yaitu uji normalitas data untuk diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan

Propionibacterium acnes menggunakan data Shapiro-Wilk normality test diperoleh nilai $p > 0,05$, dimana hasil tersebut menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan baik itu terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* telah terdistribusi normal.

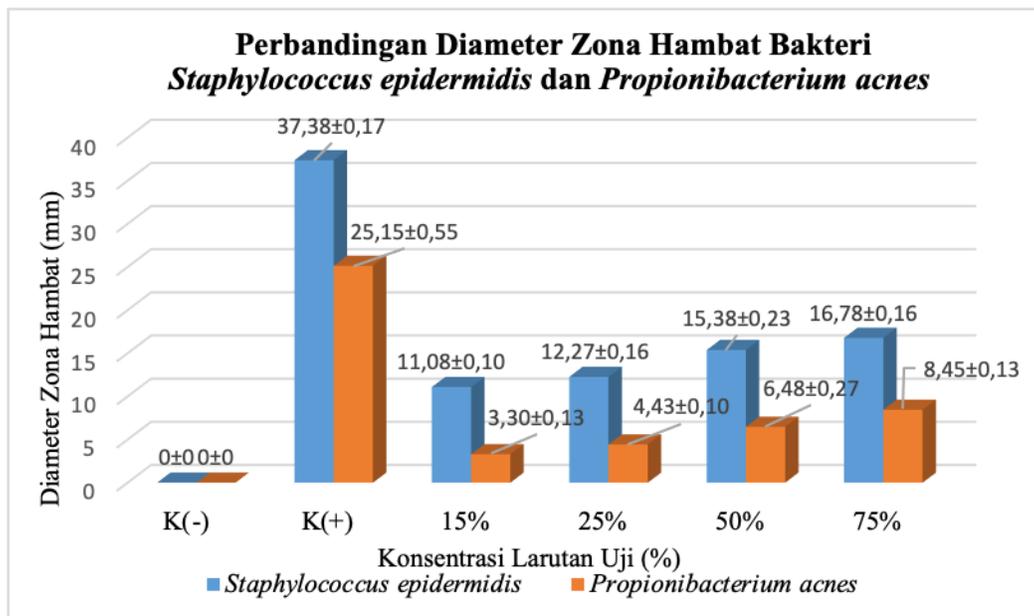
Selanjutnya dilakukan analisis statistik uji homogenitas. Berdasarkan uji homogenitas data yang diperoleh pada pengujian bakteri *Staphylococcus epidermidis* diperoleh signifikansi 0,87 ($p > 0,05$) sehingga data yang dihasilkan homogen sedangkan pada bakteri *Propionibacterium acnes* tidak homogen atau memiliki varian yang tidak sama, karena nilai signifikansi 0,02 ($p < 0,05$) sehingga data yang dihasilkan tidak homogen.

Setelah dilakukan uji homogenitas dan normalitas selanjutnya dilakukan pengujian One Way ANOVA. Dari pengujian One Way ANOVA diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) pada kedua bakteri sehingga hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dari tiap kelompok uji berbeda secara signifikan.

Pada penelitian ini semua perlakuan berbeda secara signifikan dan bermakna baik itu pada bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* hal tersebut ditunjukkan dengan adanya tanda (*) pada tiap perbandingan perlakuan yang diberikan pada tiap kelompok dapat dilihat pada data *post hoc tests tukey HSD* pada bagian *mean difference*.

Pada (**Gambar 1**) dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar juga diameter zona hambat yang dihasilkan. Peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak juga senyawa antibakteri yang terkandung di dalamnya (33).

Konsentrasi ekstrak mempengaruhi kecepatan difusi zat antibakteri dimana semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin cepat pula proses difusi terjadi, akibatnya makin besar daya antibakteri dan diameter zona hambat yang dihasilkan (34). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan, dimana konsentrasi 75% memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan konsentrasi 15%, 25% dan 50%.



Gambar 1 Grafik diameter zona hambat ekstrak daun rambai terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jawer kotok dan daun mengkudu dengan menggunakan 2 bakteri yang sama yaitu bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jawer kotok pada konsentrasi 6,25%; 12,5%; 25% dan 50% menghasilkan diameter zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* berturut-turut 1,23 mm; 1,36 mm; 1,51 mm dan 1,71 mm dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut 1,39 mm; 1,61 mm; 1,77 mm; 2,10 mm (35). Sedangkan ekstrak etanol daun mengkudu konsentrasi 25%; 50%; 75% dan 100% menghasilkan diameter zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* berturut-turut 4,7 mm; 6 mm; 8,1 mm dan 11,4 mm dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* berturut-turut 5,3 mm; 6,4 mm; 8,6 mm; 12,1 mm (36). Jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun rambai, Pada penelitian ini daya hambat ekstrak etanol daun rambai yang dihasilkan secara tidak langsung lebih besar dibandingkan daya hambat ekstrak etanol daun jawer kotok dan daun mengkudu terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri *Propionibacterium acnes* karena terdapat perbedaan konsentrasi pada penelitian tersebut. Hal tersebut terjadi kemungkinan dikarenakan perbedaan kandungan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Ekstrak etanol daun jawer kotok mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, terpenoid dan kuinon (35). Sedangkan ekstrak etanol daun mengkudu mengandung senyawa saponin, flavonoid dan tannin (36).

Pada **(Gambar 1)** dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun rambai menghasilkan diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih besar dibandingkan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hal yang sama juga terjadi pada ekstrak etanol daun jawer kotok dan daun mengkudu dimana dihasilkan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih besar dibandingkan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hal tersebut terjadi dikarenakan faktor sensitivitas, ketahanan dan respon sel masing-masing bakteri uji terhadap senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak berbeda-beda (37). Selain itu diketahui bahwa *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri yang

memiliki masa pertumbuhan yang relatif lambat jika dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pertumbuhannya, oleh karena itu untuk memperoleh diameter zona hambat yang lebih besar atau setara maka diperlukan konsentrasi ekstrak yang lebih besar dibandingkan konsentrasi ekstrak untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* (18).

Ekstrak etanol daun rambai dapat dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, baik itu bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Ekstrak etanol daun rambai diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E-coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella disentri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* (38). Adanya aktivitas antibakteri yang terdapat pada ekstrak daun rambai disebabkan karena adanya metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambai berupa senyawa flavonoid, fenol, tanin, triterpenoid, dan saponin. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun rambai diketahui memiliki mekanisme kerja sebagai bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *propionibacterium acnes* dengan cara mengganggu fungsi dinding sel peptidoglikan dari bakteri yang berfungsi sebagai pelindung dari lisis osmotik sehingga mengakibatkan kematian pada sel bakteri. Flavonoid juga mempunyai efek antibakteri dengan cara merusak membran dan struktur sel dari bakteri (34).

Sedangkan triterpenoid memiliki mekanisme antibakteri dengan cara berikatan dengan protein, karbohidrat dan lipid pada membran sel bakteri yang mengakibatkan menurunnya atau hilangnya permeabilitas dari membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis atau hancur (39). Mekanisme kerja senyawa aktif saponin sebagai antibakteri yaitu dengan membuat kebocoran protein dan enzim dalam sel bakteri sehingga saponin dapat masuk ke dalam sel melalui lapisan luar dan dinding sel yang rentan dan mengikat membran sitoplasma sehingga terjadi gangguan kestabilan membran sel. Akibatnya terjadi kebocoran sitoplasma dari sel dan menyebabkan kematian sel bakteri (40).

Tanin merupakan salah satu senyawa fenol yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan cara mendenaturasi protein dan menyebabkan turunnya tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas dari sel bakteri ini akan membuat pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan terjadi kematian sel (40).

Mekanisme antibakteri senyawa fenol yaitu dengan mendenaturasi atau menyebabkan hilangnya protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen ini akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel serta membran sitoplasma. Akibatnya terjadi ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel akibat permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu, hal ini menyebabkan lisisnya sel bakteri. Kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut bekerja secara bersinergi dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* (40).

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L) Engl) yang diekstraksi dengan metode UAE mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, fenol, tanin, saponin dan triterpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 15%, 25%, 50% dan 75% dengan menghasilkan diameter zona hambat berturut-turut pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* 11,08%; 12,27%, 15,38% dan 16,78% sedangkan pada bakteri *Propionibacterium acnes* dihasilkan diameter zona hambat berturut-turut 3,3%; 4,43%; 6,48% dan 8,45%.

Referensi

1. Kristiani SNM, Kapantouw MG, Pandaleke TA. Hubungan Indeks Massa Tubuh dan Angka Kejadian Akne Vulgaris pada Siswa-Siswi di SMA Frater Don Bosco Manado. E-Clinic. 2017;5(2).
2. Febyan, Wetarini K. Acne Vulgaris in Adults: A Brief Review on Diagnosis and Management. International Journal of Research and Review 2020;7(5):5.
3. Wasitaatmadja SM, Arimuko A, Norawati L, Bernadette I, Legiawati L. Pedoman Tata Laksana Akne di Indonesia. Jakarta: Kelompok Studi Dermatologi Indonesia. Ed 2. 2016;2:1-13.
4. Wardani HN. The Potency of Soursop Leaf Extracts for the Treatment of Acne Skin. Jurnal Penelitian Perawat Profesional. 2020;2(4):563-70.
5. Octy SYF, Fissy N, Sari R, Pratiwi L. Effectiveness of Anti Acne Gel Containing Ginger Ethanol Extract (*Zingiber Officinale* Rosc.Var. Rubrum) Against *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2014;12(2):1-9.
6. Wijaya H, Novitasari, Jubaidah S. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia Caseolaris* L. Engl). Jurnal Ilmiah Manuntung. 2018;4(1):79-83.
7. Sogandi, Anggelia F, Riniwasih L. Antibacterial Activity Test of 96% Ethanol Extract of Rambai Leaf (*Sonneratia Caseolaris*, (L.) Engl) Against *Escherichia Coli* Bacterium. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal. 2017;2(1):129-33.
8. Buanasari, Febrianto Y, Cholifah, Chakim A. Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) dalam Mengekstrak Senyawa Aktif dari Bahan Alam. Jurnal Farmasi & Sains Indonesia. 2019;2(1):106-11.
9. Widyasanti A, Nurlaily N, Wulandari E. Physicochemical Characteristics of Red Dragon Fruit Skin Anthocyanin Extracts Using UAE Method. Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem. 2018;6(1):27-38.
10. Andriani M, Permana DGM, Widarta IWR. The Effect of Time and Temperature Extraction on Antioxidant Activity of Starfruit Wuluh Leaf (*Averrhoa bilimbi* L.) Using Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Method. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan 2019;8(3):330-40.

11. Linggama GA, Montolalu L, Salindeho N, Taher N, Harikedua SD, Makapedua DM, et al. Aktivitas Antibakteri Air Rebusan Daun Mangrove *Sonneratia Alba*. Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan. 2019;7(3):68.
12. Supomo, Supriningrum R, Junaid R. Characterization and Leaves Phytochemical Screening Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk). Jurnal Kimia Mulawarman. 2016;13(2).
13. Utami YP, Umar AH, Syahrini R, Kadullah I. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences. 2017;2(1):32-9.
14. Wijanarko A, Perawati S, Andriani L. Standardisasi Simplisia Daun Ciplukan. Jurnal Farmasetis. 2020;9(1):31-40.
15. Muthmainnah. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. Media Farmasi. 2017;13(2).
16. Ningsih DS, Henri, Roanisca O, Mahardika RG. Phytochemical Screening and Determination of Total Phenolic Content of Plant Leaf Extracts Sapu-Sapu (*Baekkea rutescens* L.). Journal of Tropical Biology. 2020;8(3).
17. Sarwendah, Yusliana, Laia HCG, Daely PJ, Chiuman L. Uji Daya Hambat Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. Jurnal Biologi Tropis. 2020;20(1):87-93.
18. Nugrahani AW, Gunawan F, Khumaidi A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kapas (*Gossypium Barbadense* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasi Udayana. 2020;9(1):52-61.
19. Darsono PV, Fajriannor MTM. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dadangkak (*Hydrolea spinosa*) terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Ilmu Ibnu Sina. 2020;5(1):117-27.
20. Saripa J, Hasanuddin S, Isrul M. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cabai Rawit Spesies *Capsicum Frutescens* Linn Dan *Capsicum Annum* pada *Staphylococcus Aureus*. Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia. 2020;6(2):104-10.
21. Rosmania, Yanti F. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. Jurnal Penelitian Sains. 2020;22(2):76-86.
22. Soemarie YB, Apriliana A, Indriastuti M. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Glodokan Tiang (*Polyalthia longifolia* S.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasi Lampung. 2018;7(1).
23. Winastri NLAP, Muliastari H, Hidayati E. Antibacterial Activities of Juice and Decoction of Calincing (*Oxalis corniculata* L.) Leaves Against *Streptococcus mutans*. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. 2020;19(2).
24. Anonim. Farmakope Herbal Indonesia. Ed 2. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan; 2017.
25. Syamsul ES, Supomo, Jubaidah S. Karakterisasi Simplisia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L.). Jurnal Riset Kimia. 2020;6(3):184-90.
26. Maleta HS, Indrawati R, Limantara L, Hardo T, Brotosudarmo P. Various Carotenoid Extraction Methods from Sources of Plants in Recent Decade. Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan. 2018;13(1).
27. Sasongko A, Nugroho RW, Setiawan CE, Utami IW, Pusfitasari MD. Aplikasi Metode Non Konvensional pada Ekstraksi Bawang Dayak. Jurnal Teknologi Terpadu. 2018;6(1).
28. Jubaidah S, Sundu R, Sabriningsih N. Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Polar dan Nonpolar Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. J Riset Kefarmasian Indonesia. 2019;1(2):140-7.
29. Nurhayati LS, Yahdiyani, Hidayatulloh A. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. J Teknologi Hasil Peternakan. 2020;1(2):41.

30. Sari ZAA, Febriawan R. Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby Bauer terhadap Pertumbuhan Bakteri. *J Medika Utama*. 2021;02(04).
31. Fatmariza M. Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analis Medika BioSains*. 2017;4(2):69-73.
32. Prihanto Aa, Timur HDL, Jaziri AA, Nurdiani R, Pradarameswari KA. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia Alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesian Journal of Halal*. 2018;1(1):31.
33. Alam AN, Bintari SH, Mubarak I. Penentuan Konsentrasi Minimum Ekstrak Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Journal of Life Science Biology*. 2017;6(1):34-9.
34. Wardani AK, Fitriana Y, Malfadinata S. Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat *Staphylococcus epidermidis* Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2020;1(1):14-9.
35. Fauzi NP, Sulistiyarningsih, Runadi D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Jawer Kotok (*Coleus atropurpureus* (L) Benth.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Attc 1223 dan *Staphylococcus epidermidis* Attc 12228. *J Farmaka*. 2017;15(3):45-55.
36. Sugiarti L, Shofa JM. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *J of Cedekia Pharmacy*. 2020;5(2):185-95.
37. Syafriana V, Purba RN, Djuhariah YS. Antibacterial Activity of Kecombrang Flower (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm) Extract Against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *J of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 2021;6(1):1-11.
38. Bokshi B, Zilani Mnh, Hossain H, Ahmed Mi, Anisuzzman M, Biswas NN, et al. Bioactivities of *Sonneratia Caseolaris* (Linn) Leaf and Stem Using Different Solvent Systems. *J of Scientific Technical Research*. 2020;31(5):24578-82.
39. Helda, Aspriyanto D, RHD S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Rambai (*Sonneratia Caseolaris*) Konsentrasi 70%, 80% dan 90% terhadap *Streptococcus mutans In Vitro*. *J Kedokteran Gigi*. 2020;Iv(3):81-7.
40. Marbun ED, Sapitri A, Asfianti V. Activity Ethanol Extract, Ethyle Acetate Fraction, N-Hexan Fraction of Sofo-Sofo Leaves (*Acmella* Cf) Against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus pidermidis* as Antibacteries. *Journal of Biosciences*. 2021;7(1):116-20.