

DETERMINASI TOTAL FLAVONOID, TOTAL FENOLIK, DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN INSULIN (*Smallanthus Sonchifolius*) DENGAN METODE PERKOLASI

Dewi Ramonah^{1*}, Muhammad Ryan Radix Rahardhian¹, Chintiana Nindya Putri²

¹ Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang, Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

*email: dewiramona71@gmail.com

Abstract

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang berkhasiat sebagai pengobatan. Salah satunya adalah daun insulin yang mengandung senyawa fenolik golongan flavonoid, dimana senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak etanol daun insulin (EDI) dengan metode perkolasi pada skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis (KLT), determinasi total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil skrining fitokimia dan TLC membuktikan bahwa, EDI mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan steroid. Nilai TPC $6,7315 \pm 0,15$ mg/g Gallat Acid Equivalent (GAE), Nilai TFC $66,1857 \pm 13,34$ mg/g Quercetin Equivalent (QE), Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5, 10 dan 15 % berturut-turut adalah $1,632 \pm 0,00$; $1,957 \pm 0,00$; dan $2,528 \pm 0,02$. Berdasarkan hasil tersebut membuktikan bahwa EDI memiliki potensi sebagai sumber fenolik golongan flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, potensi terbesar pada EDI konsentrasi 15 %. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan pemurnian dan karakterisasi senyawa bioaktif untuk aplikasi industri makanan, nutraceutical dan farmasi.

Keywords: Daun Insulin, Total Fenolik, Total Flavonoid, Antibakteri, Perkolasi

1. PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan patogen utama pada infeksi jaringan kulit manusia (Joung, H., et al., 2010). Infeksi bakteri selama ini disembuhkan menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak rasional telah menyebabkan kegagalan pengobatan penyakit infeksi (Agustina et al., 2017). Dalam mengatasi masalah tersebut, diperlukan pengembangan agen terapi baru

menggunakan bahan alam sebagai alternatif pengobatan resistensi antibiotik terhadap bakteri (Joung et al., 2010)

Indonesia terletak pada daerah tropis yang mempunyai potensi tanaman obat terbesar kedua di dunia setelah Brazil (Salim and Ernawati, 2017). Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh subur di Indonesia yang berasal dari dataran tinggi Andes di Amerika Selatan

atau disebut dengan daun yakon. Tanaman ini sering dimanfaatkan sebagai makanan maupun obat tradisional. Di Indonesia, daun yakon lebih dikenal sebagai daun insulin karena secara empiris daun yakon telah banyak digunakan untuk mengobati penyakit Diabetes Melitus (Joung et al., 2010)(Nugraha et al., 2017).

Menurut penelitian (Valentová et al., 2004), menunjukkan bahwa daun insulin kaya akan protein dan senyawa fenolik, seperti kafein, asam klorogenat, asam ferulat, dan flavonoid seperti kuersetin. Selain itu, daun insulin memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Saputri, 2018). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Verawati et al., 2017) metode perkolasi memberikan rendemen ekstrak dan kadar fenolik total yang lebih tinggi dari soxhletasi dan maserasi, yang berarti metode perkolasi dapat mengekstraksi metabolit sekunder lebih maksimal. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian determinasi total flavonoid, total fenolik, dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun insulin dengan metode perkolasi.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Persiapan Ekstraksi

Ekstraksi daun insulin menggunakan metode perkolasi berdasarkan metode (Rahardhian et al., 2019a) dengan sedikit modifikasi. Ditimbang 100 gram serbuk simplisia ditambah 200 ml etanol 96%, dimasukkan dalam beakerglass, diamkan selama 3 jam.

Dipindahkan kedalam perkolator sedikit demi sedikit, tuang larutan penyari secukupnya sampai cairan masih terdapat selapis cairan penyari. Tutup perkolator dan biarkan selama 24 jam. Perkolat dibiarkan menetes dan tambahkan berulang-ulang cairan

penyari hingga jernih. Perkolat diuapkan diatas *rotary evaporator* (Heidolph[®], Germany) hingga didapatkan ekstrak kental.

2.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari daun insulin dengan pereaksi warna, seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid / triterpenoid berdasarkan metode (Rahardhian et al., 2019a).

a. Uji Flavonoid

Sampel (EDI) ditambahkan serbuk Mg dan 1 mL HCl, terbentuk warna merah, kuning/jingga menunjukkan positif flavonoid (Harbone, 1987) (Rahardhian et al., 2019a)

b. Uji Tanin

Sampel ditambah aquadest, panaskan dan saring setelah dingin, filtrat dibagi dua, filtrat a ditambah FeCl₃ positif polifenol berwarna biru/hijau kehitaman, filtrat b ditambahkan dengan reagen stiasny dan dipanaskan, terbentuk endapan merah muda menunjukkan tanin katekat, endapan dijenuhkan dengan CH₃COONa, tambahkan FeCl₃, terbentuk warna biru tinta menunjukkan tanin galat (Rahardhian et al., 2019a).

c. Uji Alkaloid

Sampel ditambahkan HCl dan aquadest, panaskan dan saring saat dingin, filtrat dibagi tiga, filtrat a ditambah reagen mayer, terbentuk endapan putih/kuning, filtrat b ditambahkan reagen dragendroff, terbentuk endapan merah bata, filtrat c ditambah reagen bouchardat, terbentuk endapan coklat sampai hitam

menunjukkan positif alkaloid (Rahardhian et al., 2019a).

d. Uji Saponin

Sampel ditambah aquadest dipanaskan kemudian didinginkan ditambahkan HCl dan dikocok kuat hingga terbentuk buih stabil menunjukkan senyawa saponin (Rahardhian et al., 2019a).

e. Uji Steroid / Triterpenoid

Sampel ditambah eter, didiamkan selama 2 jam, diuapkan dan ditambah CH_3COOH dan H_2SO_4 , terbentuk warna hijau mengandung steroid dan warna jingga/ merah/ ungu mengandung triterpenoid (Rahardhian et al., 2019a)

2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan cara pemisahan yang berdasar pada pembagian campuran senyawa dalam dua fase dimana fase gerak bergerak terhadap fase diam. Identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT menggunakan penampak bercak. n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) Penampak bercak uap amonia, terbentuknya warna kuning atau kuning coklat menunjukkan adanya falvonoid. etil asetat:metanol:air (100:13,5:10) dan penampak bercak FeCl_3 terbentuknya bercak hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Etil asetat : metanol : air (6:4:2) dan penampak bercak yang digunakan dragendroff, terbentuknya warna coklat menunjukkan adanya alkaloid. Kloroform:metanol:air (64:50:10), penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat dan dipanaskan pada *hot plate* selama 5-10 menit pada suhu 100°C , terbentuknya warna kuning, hijau, merah, biru tua, ungu, kuning kecoklatan menunjukkan

daun insulin mengandung saponin. n-heksan:etil asetat (17:3) dan penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat. Lempong KLT dipanaskan pada *hot plate* selama 5-10 menit pada suhu 100°C , terbentuknya warna biru atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid/steroid.

2.4 Determinasi Total Phenolic Content (TPC)

Determinasi TPC mengikuti metode (Suharsanti et al., 2019) dengan sedikit modifikasi. Larutan standar asam galat dibuat dengan konsentrasi 40-140 $\mu\text{g/mL}$ dan sampel dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. larutan standar/sampel diambil 1,0 ml dimasukkan tabung reaksi ditambah 4,5 ml Folin Ciocalteu 10 % ditambah 4,5 ml Na. Karbonat, homogenkan. Diinkubasi 30 menit, dibaca pada λ 760 nm menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu[®]) tipe 1240

2.5 Determinasi Total Flavonoid Content (TFC)

Determinasi TFC mengikuti metode (Rahardhian et al. 2019) dengan sedikit modifikasi. Larutan standar kuersetin dibuat dengan konsentrasi 40 – 100 $\mu\text{g/mL}$ dan sampel dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$. larutan standar/sampel diambil 1,0 ml dimasukkan tabung reaksi ditambah 3 ml metanol ditambah 0,2 ml AlCl_3 10%, ditambah 0,2 ml Na.asetat 20% anhidrat, ditambah 5,6 ml aquadest, homogenkan. Diinkubasi 30 menit pada λ 420 nm menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu[®]) tipe 1240.

2.6 Aktivitas antibakteri *disc-diffusion*

Uji Aktivitas antibakteri ekstrak daun insulin dilakukan menurut metode (Utami et al., 2016) dengan modifikasi media dan bakteri, dengan memasukkan media MSA (Manitol Salt Agar) sebanyak 10 mL kedalam cawan petri, biarkan memadat sebagai lapisan pertama. *Cylinder cup* diletakkan di atas lapisan yang telah memadat. Sebanyak 0,5µL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* (setara ½ Mc. Farland) dimasukkan kedalam 15 mL media MSA, homogenkan, tuang secara aseptis pada cawan petri sebagai lapisan kedua, diamkan hingga memadat. Mengambil *Cylinder cup* yang telah memadat. Masukkan larutan ekstrak daun insulin dengan konsentrasi 5 %, 10 %, 15 %, kontrol negatif DMSO, dan kontrol positif *Ciprofoxacin* 0,005 % sebanyak 50µL kedalam lubang *Cylinder cup*. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

2.7 Analisis Statistik

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun insulin dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Hasil disajikan dalam rata-rata ± standar deviasi. Analisis data menggunakan metode *analysis of variance* (ANOVA) dengan software IBM SPSS Statistic 23, USA. Perbedaan nilai dilihat dari least significant difference (LSD), posthoc test pada probabilitas 5 %.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan serbuk simplisia daun insulin (*Smallanthus Sonchifolius*) sebanyak 81,398 gram. Metode Ekstraksi yang digunakan adalah perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% sebagai

cairan penyari sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 6,572 gram. Hasil pemekatan diperoleh ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dengan rendemen 28,07%.

Tabel 1. Skrining Fitokimia dan Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun Insulin

Golongan Senyawa	Skrining Fitokimia	Nilai Rf	Ket
Flavonoid	+	0,49	+
Tanin	+	0,86	+
Alkaloid	+	0,63	+
Saponin	+	0,447	+
Steroid / Triterpenoid	+	-	+

Pemilihan pelarut etanol karena dapat mengekstraksi senyawa fenol, flavonoid, tanin terkondensasi, saponin dan alkaloid yang merupakan senyawa-senyawa yang mempunyai gugus fungsional, ikatan rangkap, atom nitrogen dan atom oksigen yang bersifat polar (Fitriah et al., 2017) sehingga hasil skrining fitokimia EDI menunjukkan positif mengandung senyawa-senyawa tersebut. Hasil yang diperoleh dari skrining fitokimia dan uji kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Tabel 1.

Kandungan fenolik total dari EDI diukur menggunakan metode Folin Ciocalteu. Larutan standar yang digunakan adalah asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Hasil pengukuran serapan larutan standar asam galat diperoleh kurva kalibrasi berupa absorbansi versus konsentrasi larutan asam galat (mg / mL) dinyatakan sebagai mg GAE / g EDI.

Pengukuran kadar flavonoid total daun insulin dilakukan dengan penambahan $AlCl_3$ dan menggunakan kuersetin (QE)

sebagai larutan standar. Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak daun insulin, karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harbone, 1987) dari sampel EDI. Persamaan kurva kalibrasi asam galat dan kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa fenolik dan flavonoid total pada EDI.

Berdasarkan Gambar 1. Menunjukkan grafik kurva baku asam galat dan kuersetin diperoleh persamaan regresi linier asam galat $y = 0,0091x + 0,0199$ nilai $r = 0,9969$ dan persamaan regresi linier kuersetin $y = 0,0086x + 0,0548$ dengan nilai r adalah $0,9887$. Pada pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar $0,999$, ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linier. Persamaan kurva kalibrasi asam galat dan kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa fenolik total dan flavonoid total pada EDI.

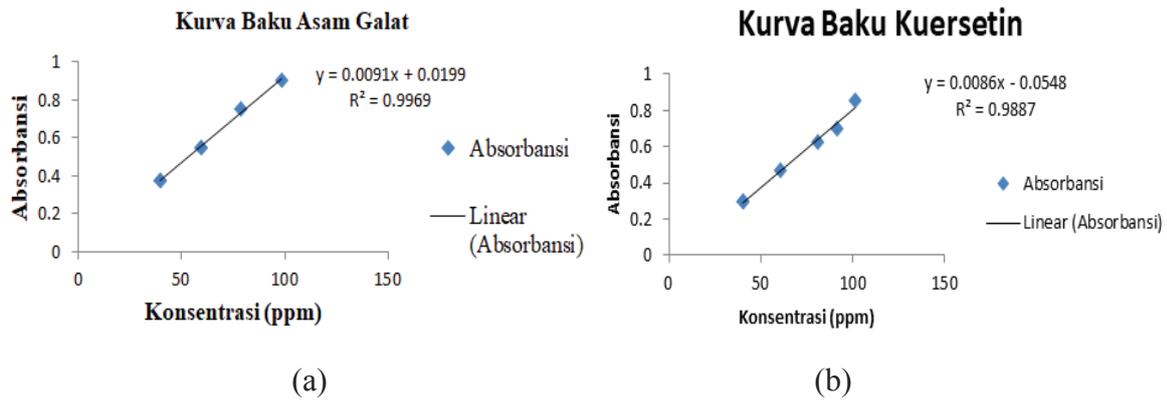
Hasil pengukuran kandungan fenolik total dari EDI diperoleh sebesar $6,7315 \pm 0,15$ dan kandungan flavonoid total sebesar $66,1857 \pm 13,34$ yang ditunjukkan pada tabel 2, maka senyawa flavonoid didalam EDI lebih besar daripada senyawa fenolik.

EDI memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2 menunjukkan zona hambat yang dihasilkan EDI semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi, sehingga dapat diasumsikan bahwa adanya hubungan yang berbanding lurus antara konsentrasi dengan hasil zona hambat. Aktivitas antibakteri EDI tertinggi pada konsentrasi 15% dengan rerata daya hambat sebesar 2,528 mm melebihi kontrol positifnya ciprofloxacin sebesar 1,758 mm.

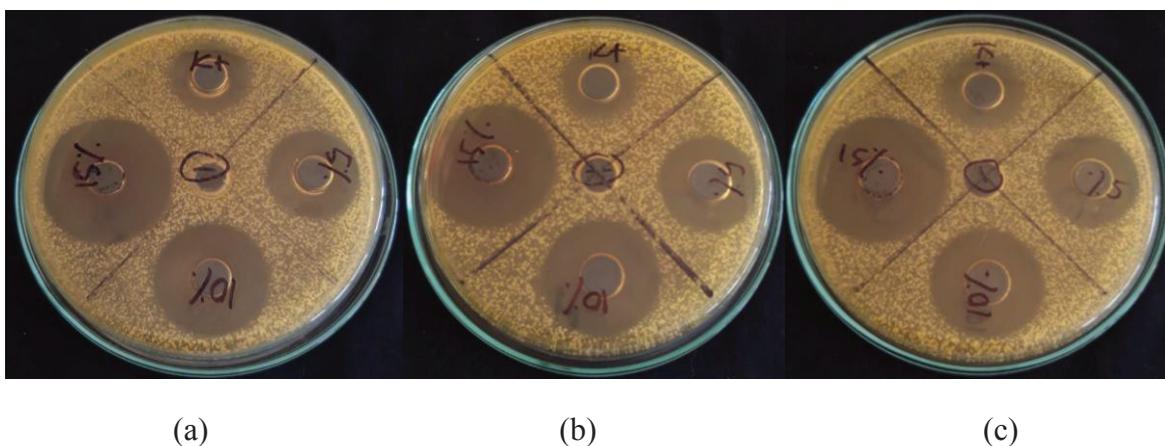
Hasil skrining fitokimia dan uji KLT menunjukkan bahwa EDI memiliki senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin serta steroid yang merupakan senyawa antibakteri. Selain itu, kandungan flavonoid total yang lebih besar dari kandungan fenolik total EDI diduga flavonoid merupakan golongan senyawa yang paling dominan dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kandungan Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Aktivitas Antibakteri.

Rep-likasi	Fenolik Total (mg GAE /g EDI)	Flavonoid Total (mg QE/ g EDI)	Antibakteri (mm)				
			5%	10%	15%	Kontrol + 0,05%	Kontrol -
1	6,5788	53,5688	1,632	1,958	2,510	1,761	0
2	6,7483	80,1496	1,631	1,956	2,537	1,757	0
3	6,8675	64,8388	1,632	1,957	2,537	1,756	0
X \pm SD	6,7315 \pm 0,15	66,1857 \pm 13,34	1,632 \pm 0,00	1,957 \pm 0,00	2,528 \pm 0,02	1,758 \pm 0,00	0 \pm 0,00



Gambar 1. Gambar kurva baku Asam galat (a) dan Kuersetin (b)



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri (a) repikasi 1 (b) replikasi 2 (c) replikasi 3

Hal ini didukung dengan penelitian (Trisia et al., 2018) dan (Sari et al., 2017) bahwa fenolik dan flavonoid memiliki aktivitas menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Sifat DMSO adalah penetrasi membran dan tidak bersifat bakteristatik (Wisher, 2012), yaitu tidak menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat dipastikan zona hambat yang dihasilkan murni berasal dari EDI tidak dipengaruhi oleh pelarut.

Pemilihan siprofloksasin sebagai kontrol positif karena memiliki efek antimikroba yang luas dan resistensi mikroba tidak cepat berkembang (Chana et al., 2006) dan

bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif (Jawetz et al., 1995).

Mekanisme kerja flavonoid dengan merusak permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Darsana et al., 2012). Tanin bekerja menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan juga menyerang polipeptida dinding sel sehingga menyebabkan kerusakan dinding sel pada bakteri. Alkaloid melalui penghambatan sintesis dinding sel yang akan menyebabkan lisis dan kematian sel. Saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik

sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel sehingga mengakibatkan kebocoran sel bakteri dan senyawa intraseluler akan keluar. Steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas yang dapat menyebabkan kebocoran pada liposom sehingga integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menjadi sel rapuh dan lisis ((Ngajow et al., 2013); (Erlinda and Nikham, 2012); (Ji et al., 2012)).

Data aktivitas antibakteri EDI dianalisis menggunakan SPSS. Hasil uji Post-Hoc diperoleh adanya perbedaan bermakna setiap masing – masing konsentrasi dengan nilai $p < 0,05$, artinya tiap konsentrasi EDI memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda – beda.

4. KESIMPULAN

EDI memiliki potensi sebagai sumber fenolik golongan flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terbaik pada konsentrasi 15 %.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Mahasiswa DIII Farmasi angkatan 2017, Wening Harsanti, dan Junia Ayu Rahmatika, yang membantu penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

Agustina, W., Sumpono, Elvia, R., 2017. AKTIVITAS ASAP CAIR CANGKANG BUAH Hevea braziliensis SEBAGAI ANTI BAKTERI *Staphylococcus aureus*. Alotrop 1, 6–9.
 Chana, A., Ashfaq, M., Mastoi, S., 2006. Effect of Ciprofloxacin On Growing Cartilage in Albino Rat Pups. J Ayub

Med Coll Abbottabad 18:50.
 Darsana, I., Besung, I., Mahatmi, H., 2012. Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro. Indones. Med. Veterinus 1, 337–351.
 Erlinda, T., Nikham, 2012. UJI BAHAN BAKU ANTIBAKTERI DARI BUAH MAHKOTA DEWA (Phaleria Macrocarpa (Scheff) Boerl .) HASIL IRADIASI GAMMA DAN ANTIBIOTIK TERHADAP BAKTERI PATOGEN. Pros. Pertem. Ilm. Ilmu Pengetah. dan Teknol. Bahan 2012 168–174.
 Fitriah, Mappiratu, Prismawiryanti, 2017. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TANAMAN JOHAR (*Cassia siamea* Lamk.) DARI BEBERAPA TINGKAT KEPOLARAN PELARUT. kovalen 3, 242–251.
 Harbone, J.B., 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, 2st ed. ITB, Bandung.
 Jawetz, Melnick, Adelberg, 1995. Mikrobiologi Kedokteran, 20th ed, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
 Ji, Y.S., Dian, N., Rinanda, T., 2012. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP *Streptococcus pyogenes* SECARA IN VITRO. J. Kedokt. Syiah Kuala 12, 31–36.
 Joung, H., yeul Kwon, D., gi Choi, J., Young Shin, D., Sil Chun, S., Beob Yu, Y., Dong, W.S., 2010. Antibacterial and synergistic effects of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* under light intensity 212–215. <https://doi.org/10.1007/s11418-010-0388-7>
 Ngajow, M., Abidjulu, J., Kamu, V.S.,

2013. Antibacterial Effect of Matoa Stem (*Pometia pinnata*) peels Extract to *Staphylococcus aureus* Bacteria In Vitro. *J. MIPA UNSRAT* 2, 128–132.
- Nugraha, A.T., Firmansyah, M.S., Jumaryatno, P., 2017. Profil Senyawa Dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon. *J. Ilm. Farm.* 13, 14–20.
- Rahardhian, M.R.R., Murti, B.T., Wigati, D., Suharsanti, R., Wigati, D., Putri, C.N., 2019a. Solvent concentration effect on total flavonoid and total phenolic contents of *Averrhoa bilimbi* leaf extract. *Pharmaciana* 9, 137–144. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v9i1>
- Rahardhian, M.R.R., Suharsanti, R., Sugihartini, N., Lukitaningsih, E., 2019b. In Vitro Assessment of Total Phenolic, Total Flavonoid and Sunscreen Activities of Crude Ethanolic Extract of Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Fruits and Leaves. *J. Glob. Pharma Technol.* 11, 308–313.
- Salim, Z., Ernawati, M., 2017. Info Komoditi Tanaman Obat, Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan.
- Saputri, A.D.S., 2018. Aktivitas Antibakteri, Antidiabetes Dan Penyembuhan Ulkus Diabetik Ekstrak Etanol Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*). Tesis, Univ. Setia Budi.
- Sari, R., Muhani, M., Fajriaty, I., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis* Antibacterial Activity of Ethanolic Leaves Extract of Agarwood (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Against *Staphylococcus aureus*. *Pharm Sci Res* 4, 143–154.
- Suharsanti, R., Sugihartini, N., Lukitaningsih, E., Rahardhian, M.R.R., 2019. Effect of Different Solvent on Total Phenolic, Total Flavonoid, and Sun Protection Factor of Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *J. Glob. Pharma Technol.* 11, 154–162.
- Trisia, A., Philyria, R., Toemon, A.N., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior J.* 17, 136–143. <https://doi.org/10.33084/anterior.v17i2.12>
- Utami, C.R., Rahardhian, M.R.R., Sulistyarini, I., 2016. Aktivitas Antibakteri Pigmen Karotenoid Khamir *Phaffia Rhodozyma* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus Subtilis* Atcc 6231 Secara In Vitro. *J. Ilm. Cendekia Eksakta* 1–8.
- Valentová, K., Moncion, A., De Waziers, I., Ulrichová, J., 2004. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. *Cell Biol. Toxicol.* 20, 109–120. <https://doi.org/10.1023/B:CBTO.0000027931.88957.80>
- Verawati, V., Nofiandi, D., Petmawati, P., 2017. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *J. Katalisator* 2, 53. <https://doi.org/10.22216/jk.v2i2.1744>
- Wisher, D., 2012. Martindale: The Complete Drug Reference. 37th ed. J. Med. Libr. Assoc. <https://doi.org/10.3163/1536-5050.100.1.018>