

EKSTRAKSI ANTIBAKTERI DARI DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* Linn.) MENGUNAKAN METODE ULTRASONIK

Extraction of Antibacterial from Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Leaves Using Ultrasonic Method

Anik Ardianti^{1*}, Joni Kusnadi¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: anikardianti@gmail.com

ABSTRAK

Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) merupakan tanaman perdu tropis yang berkhasiat sebagai obat berbagai penyakit. Kandungan alkaloid, saponin, tanin, dan polifenol daun ini berpotensi sebagai antibakteri. Antibakteri dari daun berenuk diekstrak menggunakan metode ultrasonik. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun berenuk. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok yang disusun secara faktorial dengan dua faktor, rasio bahan : pelarut (1:9, 1:10, dan 1:11 (b/v) sebagai faktor I dan lama ekstraksi (10, 20, dan 30 menit) sebagai faktor II. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap parameter yang diteliti. Perlakuan terbaik diperoleh dari rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit dengan rendemen 26.24%, total fenol 825.40 $\mu\text{g/g}$, aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 18.33 KHM 50% dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sebesar 22.33 mm KHM 25%.

Kata Kunci: Antibakteri, Berenuk, Ultrasonik

ABSTRACT

*Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) are tropical shrubs used as traditional medicine for illnesses. Its alkaloid, saponin, tannin, and polyphenol are potentially as antibacterial. The antibacterial was extracted using ultrasonic method. This research's goals are to uncover the influence of sample : solvent ratio and extraction period toward antibacterial activity of berenuk leaves extract. Randomized block design with two factors was used in this study, sample : solvent ratio (1:9, 1:10, and 1:11 (w/v)) as factor I and extraction period (10, 20, and 30 minutes) as factor II. Results showed that the samples gave a significant difference ($\alpha=0.05$) toward the studied parameters. The best treatment was obtained by using sample : solvent ratio of 1:10 and 20 minutes extraction period, which resulted yield 26.24%, total phenolic content 825.40 $\mu\text{g/g}$, antibacterial activity of *Escherichia coli* ATCC 25922 was 18.33 mm MIC 50% and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 was 22.33 mm MIC 25%.*

Keywords: Antibacterial, Berenuk, Ultrasonic

PENDAHULUAN

Kejadian keracunan pangan masih sering terjadi di Indonesia. Di tahun 2010 tercatat 592 kasus dan 94 insiden keracunan nasional yang disebabkan oleh makanan [1]. Untuk mengurangi jumlah kasus keracunan pangan bisa dilakukan dengan pengaplikasian bahan pengawet pada saat proses pengolahan pangan. Pengawet dari bahan alami cenderung dipilih oleh konsumen. Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) merupakan tanaman perdu tropis yang berkhasiat sebagai obat berbagai penyakit. Kandungan alkaloid, saponin, tanin, dan

polifenol berpotensi sebagai antibakteri [2]. Sifat antibakteri yang ditambahkan pada makanan sangat penting untuk meningkatkan umur simpan makanan dan memberikan rasa aman pada konsumen [3].

Metode ultrasonik atau yang biasa dikenal dengan *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) merupakan teknik ekstraksi yang cepat, lebih sedikit mengkonsumsi energi, dan memungkinkan pengurangan pelarut, sehingga menghasilkan produk yang murni dan *yield* yang lebih tinggi. Metode ini telah diterapkan untuk mengekstrak komponen makanan seperti komponen aroma [4], antioksidan [5], pigmen [6], dan antibakteri [7]. Proses kavitasi yang terjadi selama sonikasi menyebabkan pecahnya dinding sel, akibatnya meningkatkan kontak pelarut dengan bahan yang diekstrak [2].

Penggunaan gelombang ultrasonik pada proses ekstraksi diharapkan dapat menghasilkan ekstrak dengan rendemen, total fenol, dan aktivitas antibakteri yang optimal. Selain itu selama ini belum ada informasi mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak daun berenuk menggunakan metode ekstraksi ultrasonik. Oleh karena itu diperlukan penelitian mengenai pengaruh rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi pada metode ultrasonik terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun berenuk (*Crescentia cujete* Linn.).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Bahan

Daun berenuk diperoleh dari Karangbesuki, Malang. Bahan lainnya yaitu etanol 96%, kultur *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), alkohol 70%, spiritus, akuades, reagen Folin-Ciocalteu, dan Na_2CO_3 .

Alat

Alat yang digunakan antara lain pengering kabinet, blender kering (National), ayakan 60 mesh, timbangan analitik (Mettler Denver AA 200), gelas ukur (Pyrex), Erlenmeyer 250 mL (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), cawan petri (Normax), botol kaca, *ultrasonic bath* (Branson 2210), *rotatory evaporator* (Buchi B-490), kompor listrik (Maspion S-300 220V), autoklaf (HL-36 AE Hiramaya, Jepang), mikropipet *non fixed* 1000 μL (*finnpipette labssystem*), tip, ose, bunsen, bor 5 mm, inkubator (WTB Binder), dan spektrofotometer (Unico uv-2100).

Desain Penelitian

Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor. Rasio bahan : pelarut (1:9, 1:10, dan 1:11 (b/v) sebagai faktor I dan lama ekstraksi (10, 20, dan 30 menit) sebagai faktor II. Analisis data menggunakan analisis ragam, kemudian dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) atau *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan selang kepercayaan 5%. Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode *multiple attribute* [8].

Tahapan penelitian

Penelitian dilakukan dalam tiga tahap, yaitu:

1. Pembuatan serbuk daun berenuk

Daun berenuk segar disortasi dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Kemudian dikeringkan dengan pengering kabinet suhu 50 °C selama 4 jam. Daun berenuk kering digiling dengan blender kering. Setelah itu diayak 60 mesh [9]. Setelah itu dilakukan analisis kadar air [10].

2. Ekstraksi serbuk daun berenuk

Serbuk daun berenuk ditimbang sebanyak 20 gram dan dimasukkan ke dalam gelas beker, kemudian ditambahkan pelarut etanol sesuai dengan rasio bahan : pelarut yang akan diteliti. Diekstraksi dengan *ultrasonic bath* frekuensi 40 kHz selama 10, 20, dan 30 menit. Kemudian disaring dengan penyaring vakum sehingga diperoleh filtrat yang bebas ampas. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada tekanan ± 200 mBar, suhu 40°C selama ± 60 menit. Ekstrak yang didapat kemudian disemprot dengan gas nitrogen untuk menghilangkan sisa pelarut [11]. Setelah itu dilakukan analisis rendemen [12] dan total fenol [13].

3. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun berenuk

Nutrient Agar (NA) yang telah disterilisasi didinginkan hingga suhu 45°C . setelah itu kultur bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 masing-masing dituang kedalam cawan petri steril sebanyak 60 μL kemudian ditambahkan NA yang telah disiapkan sebelumnya masing-masing sebanyak ± 20 mL. Diinkubasi pada suhu 27°C selama 30 menit supaya agar memadat, setelah itu dibuat empat sumuran dengan diameter 5 mm. Kemudian dimasukkan 70 μL ekstrak daun berenuk kedalam masing-masing sumuran. Diinkubasi pada suhu 4°C untuk penyerapan ekstrak daun berenuk ke agar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati zona bening setiap 60 menit [14].

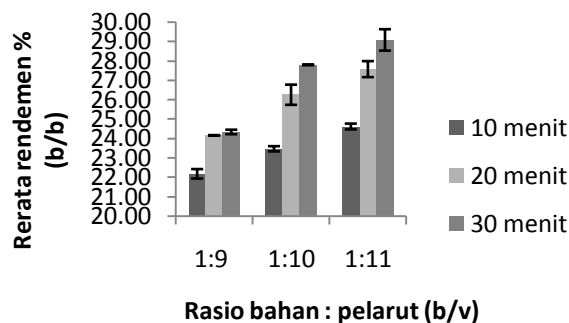
Metode Penelitian

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun berenuk adalah metode uji difusi sumur, sedangkan pengujian KHM dan KBM ekstrak daun berenuk menggunakan metode dilusi. Perhitungan rendemen ekstrak daun berenuk menggunakan metode gravimetri. Metode spektrofotometri digunakan untuk analisis total fenol ekstrak daun berenuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Rendemen Ekstrak Daun Berenuk

Hasil analisis rerata rendemen ekstrak daun berenuk akibat perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi berkisar antara 22.16%-29.06%. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$). Rerata rendemen ekstrak daun berenuk disajikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Rerata Rendemen Ekstrak Daun Berenuk

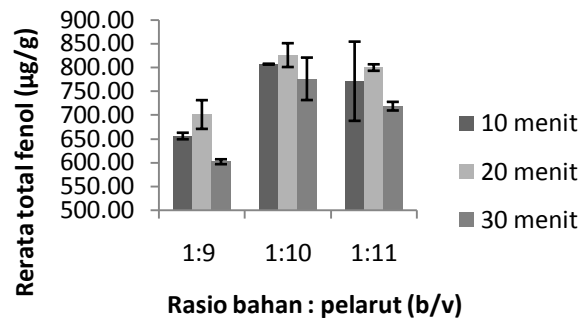
Gambar 1 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun berenuk cenderung meningkat dengan semakin meningkatnya rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi.

Rendemen tertinggi terdapat pada rasio bahan : pelarut 1:11 dan lama ekstraksi 30 menit yaitu sebesar 29.06%, hal ini karena jumlah pelarut yang digunakan semakin banyak

sehingga kontak antara bahan dengan pelarut lebih besar sehingga berpotensi memaksimalkan proses ekstraksi dan diperoleh rendemen ekstrak daun berenuk yang lebih besar. Begitu juga dengan lama ekstraksi, semakin lama proses ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar sehingga hasilnya juga bertambah besar. Waktu ekstraksi harus mencukupi dan tepat untuk mendapatkan jumlah rendemen maksimal [15].

2. Total Fenol Ekstrak Daun Berenuk

Hasil analisis rerata total fenol ekstrak daun berenuk akibat perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi berkisar antara 601.23 $\mu\text{g/g}$ -825.40 $\mu\text{g/g}$. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap kadar total fenol ekstrak daun berenuk. Rerata total fenol ekstrak daun berenuk disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Rerata Total Fenol Ekstrak Daun Berenuk

Gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut meningkatkan total fenol ekstrak daun berenuk sampai rasio bahan : pelarut 1:10, setelah itu konstan sampai rasio bahan : pelarut 1:11. Sedangkan perlakuan lama ekstraksi menghasilkan total fenol konstan dari lama ekstraksi 10 menit sampai 20 menit setelah itu terjadi penurunan total fenol pada lama ekstraksi 30 menit, khususnya pada rasio bahan : pelarut 1:9 dan 1:11.

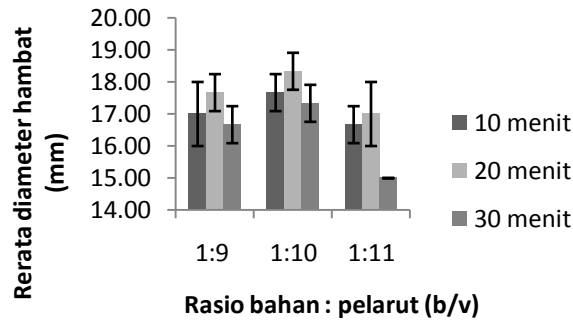
Total fenol tertinggi didapatkan dari perlakuan rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit. Hal ini karena jumlah pelarut yang digunakan semakin banyak sehingga kontak antara bahan dengan pelarut lebih besar sehingga berpotensi memaksimalkan proses ekstraksi dan diperoleh total fenol ekstrak daun berenuk yang lebih besar. Jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak [16]. Begitu juga dengan lama ekstraksi, dalam proses ekstraksi saat larutan menjadi jenuh, penambahan waktu tidak memberikan konsentrasi yang nyata [9].

3. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Berenuk Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

Hasil analisis rerata diameter hambat ekstrak daun berenuk akibat perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 berkisar antara 15.00 mm-18.33 mm. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap diameter hambat ekstrak daun berenuk terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Rerata diameter hambat ekstrak daun berenuk terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 disajikan dalam Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi menghasilkan diameter hambat ekstrak daun berenuk terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 konstan, kecuali pada rasio bahan : pelarut 1:11 lama ekstraksi 30 menit terjadi penurunan diameter hambat.

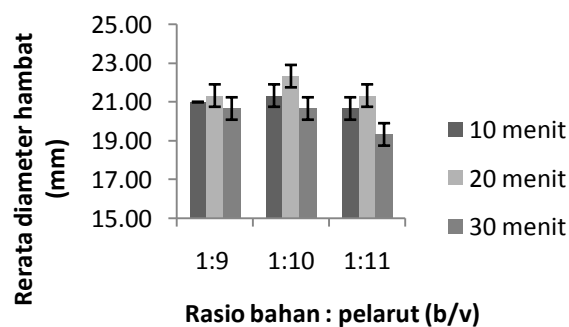
Diameter hambat tertinggi didapatkan dari perlakuan rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit. Hal ini karena jumlah pelarut yang lebih banyak akan mengekstrak senyawa antibakteri lebih besar pula, karena kesempatan bersentuhan antara bahan dengan pelarut besar. Namun Setelah titik jenuh larutan, tidak akan terjadi peningkatan hasil ekstraksi dengan penambahan pelarut, hal ini yang terjadi pada rasio bahan : pelarut 1:11. Waktu ekstraksi berbanding lurus dengan hasil ekstraksi. Diduga lama ekstraksi 20 menit merupakan lama ekstraksi yang optimal untuk mengekstrak senyawa antibakteri dari daun berenuk. Penurunan diameter hambat pada lama ekstraksi 30 menit diduga karena peningkatan temperatur. Salah satu faktor yang dapat menurunkan kavitas adalah temperatur, sehingga proses ekstraksi tidak bisa berjalan optimal [17].



Gambar 3. Grafik Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Rerata Diameter Hambat Ekstrak Daun Berenuk Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922

4. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Berenuk Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Hasil analisis rerata diameter hambat ekstrak daun berenuk akibat perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 berkisar antara 19.33 mm-22.33 mm. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap diameter hambat ekstrak daun berenuk terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Rerata diameter hambat ekstrak daun berenuk terhadap ATCC 29213 disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Pengaruh Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Rerata Diameter Hambat Ekstrak Daun Berenuk Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi menghasilkan diameter hambat ekstrak daun berenuk terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 konstan, kecuali pada rasio bahan : pelarut 1:10 dan 1:11 lama ekstraksi 30 menit terjadi penurunan diameter hambat.

Diameter hambat tertinggi didapatkan dari perlakuan rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit. Hal ini karena jumlah pelarut yang lebih banyak akan mengekstrak senyawa antibakteri lebih besar pula, karena kesempatan bersentuhan antara bahan dengan pelarut besar, akan tetapi jumlah pelarut yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak [16]. Hal ini yang terjadi pada rasio bahan : pelarut 1:11. Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar sehingga hasil yang diperoleh bertambah sampai titik jenuh larutan [18]. Diduga lama ekstraksi 20 menit merupakan lama ekstraksi yang optimal untuk mengekstrak senyawa antibakteri dari daun berenuk. Ekstraksi daun sambiloto dengan sonikasi 20 menit sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat 7.40 mm [19]. Penurunan diameter hambat pada lama ekstraksi 30 menit diduga karena peningkatan temperatur. Salah satu faktor yang dapat menurunkan kavitasasi adalah temperatur [17].

5. Pemilihan Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit. Hasil ekstraksi perlakuan terbaik kemudian dibandingkan dengan perlakuan kontrol yaitu dengan penggoyangan selama 4 jam pada suhu ruang kemudian dilakukan uji t. Perbandingan hasil ekstraksi perlakuan terbaik dengan kontrol disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Hasil Ekstraksi Perlakuan Terbaik dengan Kontrol

Parameter	Perlakuan terbaik	Kontrol	Notasi (uji t 5%)
Rendemen	26.24	23.50	Nyata
Total fenol	825.40	423.78	Nyata
Antibakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	18.33	17.33	Tidak nyata
Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	22.33	18.67	Nyata

Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan terbaik ekstrak daun berenuk dengan sonikasi menghasilkan nilai yang lebih besar dari pada kontrol, kecuali pada parameter antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Gelombang ultrasonik dapat memfasilitasi pembengkakan (*swelling*) dan hidrasi sehingga dapat memperluas pori-pori dinding sel. Hal ini akan meningkatkan proses difusi dan transfer massa [2]. Pada metode penggoyangan, proses difusi dan transfer massa terjadi secara lambat karena tidak ada bantuan dari gelombang yang membawa energi yang dapat memfasilitasi proses pembengkakan dan hidrasi sel melainkan ekstraksi hanya terjadi karena proses tumbukan antar sel sehingga hasil yang diperoleh juga lebih rendah dari pada hasil ekstraksi menggunakan metode ultrasonik.

Beberapa keuntungan dari metode ultrasonik dibandingkan dengan metode lain adalah meningkatkan rendemen dan mempercepat proses ekstraksi, meningkatkan transfer massa, distrupsi sel, dan meningkatkan efek penetrasi [21]. Gelombang ultrasonik dapat memfasilitasi pembengkakan (*swelling*) dan hidrasi sehingga dapat memperluas pori-pori dinding sel. Hal ini akan meningkatkan proses difusi dan transfer massa [2].

6. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KHM) Ekstrak Daun Berenuk

Pengujian KHM dan KBM pada *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dapat menunjukkan kemampuan ekstrak daun berenuk sebagai antibakteri yang bersifat menghambat atau membunuh bakteri uji. Hasil uji KHM dan KBM terhadap bakteri uji masing-masing disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai KHM ekstrak daun berenuk terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 50% dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 adalah 25%. KHM ekstrak daun berenuk terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 lebih besar

daripada KHM terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Salah satu penyebab perbedaan KHM ini adalah struktur dinding sel pada masing-masing bakteri. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan peptidoglikan lebih banyak, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Sedangkan bakteri Gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan dan membran luar berupa bilayer yang berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel.

Tabel 2. Hasil Uji KHM Ekstrak Daun Berenuk Terhadap Bakteri Uji

Bakteri	Konsentrasi ekstrak (%)												
	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	Ks	K-	K+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+

Tabel 3 menunjukkan bahwa sampai konsentrasi 100%, ekstrak daun berenuk tidak menunjukkan kemampuan membunuh bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, sehingga dalam penelitian ini KBM ekstrak daun berenuk belum dapat ditentukan. Dapat disimpulkan dari hasil tersebut bahwa ekstrak daun berenuk hanya menunjukkan kemampuan untuk menghambat bakteri (bakteriostatik).

Tabel 3. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Berenuk Terhadap Bakteri Uji

Bakteri	Konsentrasi ekstrak hasil positif KHM (%)	Hasil uji
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100	Tumbuh
	50	Tumbuh
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	100	Tumbuh
	50	Tumbuh
	25	Tumbuh

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi dengan ultrasonik memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap rendemen, total fenol ekstrak daun berenuk, dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Perlakuan terbaik diperoleh dari rasio bahan : pelarut 1:10 dan lama ekstraksi 20 menit dengan rendemen 26.24%, total fenol 825.40 $\mu\text{g/g}$, aktivitas antibakteri (diameter hambat) terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 18.33 dengan KHM 50% dan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 sebesar 22.33 mm dengan KHM 25%.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2011. Data Kasus Keracunan. Dilihat 12 Desember 2012. <<http://ik.ppom.go.id/data-kasus-keracunan>>.
- 2) Vinatoru, M. 2001. An Overview of The Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive Principles from Herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 301-313.
- 3) Singh, G., P. Marimuthu, H.S. Murali, and A.S. Bawa. 2005. Antioxidative and Antibacterial Potentials of Essentials Oils and Extract Isolated From Various Spice Materials. *Journal of Food Safety*, 25, 130-145.

- 4) Xia, T., S. Shi, and X. Wan. 2006. Impact of Ultrasonic-Assisted Extraction on The Chemical and Sensory Quality of Tea Infusion. *Journal Food Engineering*, 74, 557-560.
- 5) Han, H., H.D. Zhang, S.S. Luo, and K. Luo. 2011. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Total Phenol from Betel (*Areca catechu* L.) Nut Seed and Evaluation of Antioxidant Activity *in Vitro*. *African Journal of Biotechnology*, 10 (46): 9289-9296.
- 6) Zou, T.B., M. Wang., R. Y. Gan, and W. H. Ling. 2011. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins from Mulberry, Using Response Surface Methodology. *International Journal Molecular Science*, 12, 3006-3017.
- 7) Lou, Z., H. Wang, J. Li. S. Zhu, W. Lu, and C. Ma. 2011. Effect of Simultaneous Ultrasonic/Microwave Assisted Extraction on The Antioxidant and Antibacterial Activities of Burdock Leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (22): 5370-5377.
- 8) Zeleny, M. 1982. Multiple Criteria Decision Making. Mc. Graw Hill. New York.
- 9) Kurniati, S. 2011. Ekstraksi Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* var *Ayamurasaki*) Menggunakan Ultrasonik *Bath*. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- 10) Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Minuman. Liberty. Yogyakarta.
- 11) Philip, K., S.N.A. Malek, W. Sani, S.K. Shin, S. Kumar, H.S. Lai, L.G. Serm, and S.N. Rahman. 2009. Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants from Malaysia. *American Journal of Applied Sciences*, 6 (8): 1613-1617.
- 12) Yuwono, S.S. dan T. Susanto. 1998. Pengujian Fisik Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- 13) Sharma, G.N. 2011. Phytochemical Screening and Estimation of Total Phenolic Content in *Aegle marmelos* Seeds. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2 (3), 27-29.
- 14) Jagessar, R., A. Mars, and G. Gomes. 2008. Selective Antimicrobial Properties of *Phyllanthus acidus* Leaf Extract Against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Using Stokes Disc Diffusion, Well Diffusion, Streak Plate and A Dilution Method. *Nature and Science*, 2 (6): 24-38.
- 15) Zhou, H.Y. and C.Z. Liu. 2006. Ultrasound-Assisted Extraction of Solanesol from Tobacco Leaves. *Journal of Chromatography*, 1129, 135-139.
- 16) Susanto, W.H. 1999. Teknologi Lemak dan Minyak Makan. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- 17) Brennan, J.G. 2006. Food Processing Handbook. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim. Germany.
- 18) Effendi, F.D. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Jati (*Tectona grandis*) Metode *Microwave-Assisted Extraction* Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- 19) Arbianti, R., T.S. Utami, H. Hermansyah, dan A. Widyasari. 2008. Ekstraksi Daun Sambiloto dengan Metode Sonikasi dan Pengaruhnya pada Kenaikan Indeks Bias dan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*. *Jurnal Teknologi Proses*, 7 (2): 161-166.
- 20) Yang, Y. and F. Zhang. 2008. Ultrasound-Assisted Extraction of Rutin and Quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 308-303.
- 21) Wang, L. and C.L. Weller. 2006. Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 300-312.