

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK dan FRAKSI dari DAUN PURING ANTING (*Codiaeum variegatum* var. *Pictum*.F. *Appendiculatum*) pada BAKTERI *E.coli* dan *S.aureus*

Maria Sindy¹, Rollando², Muhammad Hilmi Afthoni³

Universitas Ma Chung, Universitas Ma Chung, Universitas Ma Chung

Email korespondensi: 612010032@student.machung.ac.id, ro.llando@machung.ac.id, muhhammad.hilmi@machung.ac.id

Abstrak

Penyakit infeksi tergolong jenis penyakit yang penyebabnya karena infeksi dari mikroorganisme seperti bakteri. Bakteri yang sering menyebabkan infeksi antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tanaman yang dapat dijadikan alternatif adalah tanaman puring anting (*Codiaeum variegatum* var. *Pictum*.F. *Appendiculatum*) yang merupakan tanaman perdu dengan bentuk daun memanjang dan kecil yang terhubung dengan tulang daun.

Penelitian ini bertujuan guna mengetahui aktivitas anti bakteri fraksi aktif dan ekstrak daun puring anting terhadap *E.coli* dan *S. aureus* menggunakan uji difusi cakram, serta kandungan metabolit sekunder pada fraksi aktif daun puring anting. Dalam penelitian ini, dipilih pelarut etanol 96% untuk mengekstraksi daun puring anting dan difraksi pelarut yang digunakan n-heksana, kloroform, dan metanol 80%.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi aktif daun puring anting yang terdapat pada fraksi metanol 80%, dan hasil uji antibakteri dengan metode uji difusi cakram menunjukkan penghambatan *E.coli* dan *S.aureus* masing-masing adalah $5,4000 \pm 2,0553$ mm (1000 µg/ml) dan $5,2250 \pm 3,2043$ mm (30,125 µg/ml). Dalam fraksi metanol 80% tereteksi metabolit sekunder seperti saponin, steroid, dan alkaloid.

Kata kunci : *E.coli*, *S. aureus*, puring anting, disc diffusion test, ekstrak etanol 96% fraksi metanol 80%.

Abstract

Irresistible sicknesses are infections brought about by microorganisms like microscopic organisms. Some bacteria that often cause infection are Escherichia coli and Staphylococcus aureus. One kind of plant that can be utilized as an option is puring anting (Codiaeum variegatum var. Pictum.F. Appendiculatum) which is a shrub with elongated leaves and small leaves connected by leaf bones.

This study was directed to decide the antibacterial action of the concentrate and the dynamic part of puring anting leaves against E.coli and S. aureus utilizing the circle dissemination test technique, as well as the substance of auxiliary metabolites in the dynamic part of puring anting leaves. In this study, puring anting leaves were extracted using 96% ethanol solvent and difracted using 80% methanol, n-hexane, and chloroform as solvents.

The results of this study showed that the active fraction of puring anting leaves contained in the methanol fraction of 80%, and the aftereffects of the antibacterial test utilizing the circle dissemination test technique showed that the restraint of S.aureus and E.coli respectively was 5.4000 ± 2.0553 mm. (1000 µg/ml) and 5.2250 ± 3.2043 mm (30.125 µg/ml). The secondary

metabolites contained in the 80% methanol fraction are alkaloids, steroids and saponins

Keywords: *E.coli*, *S. aureus*, puring anting, disc diffusion test, 96% ethanol extract, 80% methanol fraction.

Pendahuluan

Penyakit infeksi dapat diartikan sebagai penyakit yang diakibatkan oleh mikroorganisme seperti bakteri. Beberapa bakteri yang sering menyebabkan infeksi adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* adalah basil Gram-negatif dan tergolong dalam famili Enterobacteriaceae. *Escherichia coli* adalah patogen umum dari usus besar manusia dan terlibat dalam pemecahan sisa makanan. Bakteri ini juga dapat menyebabkan diare karena menghasilkan enterotoksin yang dikenal sebagai enterotoksigenik *E. coli* (ETEC) dan memiliki kemampuan untuk menyerang epitel usus yang disebut enterotoksigenik *E. coli* (EIEC). *Staphylococcus aureus*, di sisi lain, adalah bakteri gram positif, bulat, dan umumnya ditemukan pada mukosa hidung, kulit, dan folikel rambut. *Staphylococcus aureus* dapat menginfeksi jaringan atau organ apa pun di dalam tubuh dan menyebabkan tanda-tanda khas: penyakit dengan peradangan lokal, nekrosis, dan abses (Rollando, 2019).

Pengobatan infeksi dengan antibiotik saat ini semakin meningkat dan berkembang. Selain itu, bakteri *E.coli* dan *S.aureus* ialah patogen yang kerap resistensi pada berbagai macam antibiotik. Ini dapat menyebabkan infeksi yang serius dan hanya bisa diberikan pengobatan dengan antibiotik alternatif yang sangat terbatas, untuk memilih agen antibakteri yang tepat untuk pengobatan sangat sulit. Banyak penelitian menunjukkan bahwa resistensi ini dapat menyebabkan peningkatan biaya pengobatan, mortalitas, morbiditas, dan dapat menurunkan kualitas pelayanan medis (Josua et al., 2021). Oleh karena itu, sebagai pengobatan alternatif, perlu dicari senyawa baru yang berpotensi sebagai agen antibakteri yang dapat mengatasi masalah penyakit infeksi. Senyawa antibakteri adalah senyawa kimia atau biologis sintesis dan alami yang membantu menghambat aktivitas dan pertumbuhan bakteri.

Puring (*Codiaeum variegatum* B.) merupakan tumbuhan perdu yang termasuk ke dalam famili Euphorbiaceae. Ada begitu banyak jenis tanaman puring yang ada di Indonesia sekitar 260 jenis. Tanaman ini memiliki bentuk dan warna daun yang beragam seperti kuning, hijau, merah dan coklat, sehingga banyak digunakan sebagai tanaman hias aneka warna (Gogahu et al., 2016). Tanaman puring anting (*Codiaeum variegatum*



var.Pictum.F.Appendiculatum) merupakan salah satu dari berbagai jenis tumbuhan puring yang digunakan sebagai alternatif obat.

Secara empiris telah digunakan sebagai tanaman penyembuh luka pascapersalinan dan luka sayat pada kulit. Pada hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fattimatunisa dkk (2021), ditemukan adanya aktivitas antibakteri pada sediaan salep tanaman puring yang memiliki diameter zona hambat pada formula 1, 2, dan 3 sebesar 6,25 mm; 7,55 mm; dan 9,23 mm; yang tergolong ke dalam zona hambat sedang, pada formula 4 tergolong zona ke dalam zona hambat kuat karena memiliki diameter zona hambat sebesar 11,68 mm, selain itu juga pada ekstrak tanaman puring terdapat banyak metabolit sekunder seperti steroid, flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan fenol.

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak fraksi daun puring anting (*Codiaeum variegatum* var.Pictum.F.Appendiculatum) menggunakan metode *disc diffusion* (Kirby bauer) terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Tinjauan Pustaka

Tanaman puring atau croton (*Codiaeum variegatum* B.), sebelumnya dikenal sebagai tumbuhan pendamping kuburan dan pagar tanaman, namun kini tanaman puring menjadi tanaman yang banyak diminati masyarakat umum, karena bentuk dan warna daunnya yang unik, khas dan berwarna-warni, banyak diminati dan menarik perhatian masyarakat dengan mengoleksi tanaman ini. Tanaman puring memiliki 260 jenis yang dibudidayakan di Indonesia (Gogahu et al., 2016), salah satunya adalah tanaman puring anting (*Codiaeum variegatum* var.Pictum.F.Appendiculatum) atau yang dikenal sebagai tanaman Tuntung di wilayah Kalimantan Tengah (Amir dan Soendjoto, 2018) dan di luar negeri dikenal sebagai tanaman *mother and daughter*. Nama tumbuhan ini berdasarkan bentuk daunnya yang memanjang, dengan daun-daun kecil yang saling terhubung oleh tulang daun. Puring anting merupakan salah satu jenis tanaman puring yang disebut *appendiculatum* yang warna daunnya berubah dari hijau menjadi merah, tulang daun kuning dan merah (Sulistiana, 2016). Tanaman daun puring anting dapat ditinjau pada gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Puring Anting

Selama ini sangat sulit untuk menamakan tanaman puring karena banyaknya jenis dari tanaman ini, penyebabnya adalah minimnya literatur yang membahas tentang tanaman ini. Di Indonesia maupun di luar negeri, tanaman puring sering diberi nama sesuai daerah tersebut (lokal, sehingga ada beberapa nama untuk tanaman puring. Penamaan tanaman puring di Indonesia seringkali didasarkan pada bentuk daunnya, contohnya Concord dan Jet yang berbentuk daun seperti pesawat terbang, ada juga yang berdasarkan nama hewan, seperti ekor ayam, kura-kura, burung wallet, gelatik dan kenari.

Menurut hasil pengujian yang dilakukan, tanaman puring mengandung senyawa flavonoid, fenol, saponin, tanin, alkaloid dan steroid, selain itu juga memiliki beragam manfaat, antara lain anti kanker, obat diare berdarah, anti fungi, dan analgesik. Tanaman puring juga dapat menyerap polutan sebagai tanaman anti polusi (Fatimatunnisa dkk., 2021).

Escherichia coli termasuk bakteri negatif yang tergolong ke dalam genus *Escherichia* dan *Enterobacteriaceae*, yang dapat memecah glukosa dengan menghasilkan gas, berbentuk basil, dan bermigrasi menggunakan flagela peritrika, namun ada juga yang tidak bergerak. *E. coli* berbentuk batang, panjang 2,5 m, diameter 0,8 m, dan memiliki ujung berbentuk hemispherical. *E. coli* diklasifikasikan sebagai flora normal tubuh manusia, terutama di usus bagian bawah, dan produksi kolisin, yang bekerja dengan melindungi saluran cerna dari patogen usus. Namun, ketika *E. coli* memasuki kandung kemih, itu menyebabkan sistitis atau peradangan pada dinding bagian dalam kandung kemih.

Staphylococcus aureus adalah bakteri kokus Gram-positif yang tersusun dalam kelompok seperti bentuk buah anggur. Karena *Staphylococcus aureus* ditemukan di kulit, dapat ditemukan di bagian belakang hidung, folikel rambut, bisul, dan luka. Bakteri ini adalah bagian dari flora normal manusia. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni di permukaan sel-sel yang mati. *Staphylococcus aureus* termasuk dalam genus *Staphylococcus*, yang tumbuh dengan cepat dalam kondisi aerob, dengan adanya CO₂, dan memiliki diameter 0,7-1,2 m. *Staphylococcus aureus* termasuk dalam famili *Micrococcaceae* dari organisme uniseluler berbentuk bola, tidak membentuk spora.

Antimikroba umumnya dimaksudkan untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Agen antibakteri adalah senyawa atau zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, terutama patogen yang dapat merugikan manusia. Dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh pertumbuhan bakteri dikenal sebagai KHM dan KBM yang merupakan konsentrasi terendah yang dapat menekan pertumbuhan bakteri dalam zat antibakteri. Antibakteri terdapat dua jenis, agen bakteriostatik yaitu bakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisida yaitu bakteri yang membunuh bakteri. Oleh karena itu, agen antibakteri bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dan reproduksi bakteri bahkan bekerja dengan cara membunuh bakteri. Aktivitas antibakteri menghambat proses sintesis protein, sintesis dinding sel, dan sintesis asam nukleat (DNA/RNA),

dan atau dengan menghambat sintesis metabolit esensial (Sari, 2017).

Maserasi merupakan jenis ekstraksi yang prosedurnya sederhana. Prosedur ini dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar selama 3-5. Metode ini diulang beberapa kali untuk memastikan bahwa semua analit benar-benar terekstraksi.

Fraaksinasi adalah suatu proses dalam memisahkan senyawa tertentu dari campuran (padat, cair, larutan, suspensi, atau isotop) dibagi menjadi sejumlah kecil (fraksi). Prinsip dari fraaksinasi adalah proses ekstraksi senyawa dari ekstrak menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur, tetapi pelarut tersebut sering digunakan dalam proses fraksi adalah n-heksana (non-polar) dan asetat, etil (semi-polar) dan metanol (polar). Diketahui bahwa senyawa non-polar larut dalam pelarut non-polar, dan senyawa polar larut dalam pelarut polar. Ekstrak yang dihasilkan masih merupakan campuran dari senyawa yang berbeda, dan sulit untuk memisahkan ekstrak dengan teknik pemisahan tunggal untuk memisahkan senyawa tunggal (Sari, 2017). Proses fraksi dapat dilakukan dengan ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah, dimana dua pelarut yang tidak saling bercampur ditempatkan dalam corong pisah, diaduk, dan dibiarkan beberapa saat. Senyawa organik dibagi menjadi setiap fase sesuai dengan kelarutannya dalam fase ini, membentuk dua lapisan, lapisan atas dan lapisan bawah, yang dapat dipisahkan dengan membuka corong pemisah (Surbakti, 2015).

Metode difusi cakram adalah metode uji sensitivitas yang dikembangkan oleh Kirby dan A.W. Bouer. Tujuan dari metode ini adalah untuk menentukan sensitivitas atau resistensi patogen aerob dan anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antibakteri. Kertas cakram yang berisi senyawa antibakteri diletakkan pada permukaan media agar-agar tempat mikroorganisme uji ditanam dan baca hasilnya. Adanya senyawa antibakteri dapat dilihat di sekitar kertas cakram atau dengan ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada cakram sehingga membentuk zona bening di sekitar daerah tersebut.

Ciprofloxacin merupakan jenis antibiotik kuinolon yang memiliki sifat bakterisidal selama fase pertumbuhan bakteri karena menghambat enzim DNA girase bakteri dan menghambat sintesis DNA. Ciprofloxacin secara umum merupakan agen antibakteri terbaik yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan *E.coli*, dan ciprofloxacin memiliki aktivitas antibakteri tertinggi, terbukti dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Sumanpaow (2018).

Salah satu cara untuk mengidentifikasi kadar metabolit sekunder dari bahan alam adalah dengan skrining fitokimia. Proses ini adalah tahap awal untuk mengetahui kandungan fitokimia tertentu dalam bahan alam atau hewani yang diteliti. Skrining fitokimia dapat dilakukan secara kualitatif, semi-kuantitatif, dan kuantitatif, tergantung pada kebutuhan dan tujuan. Metode skrining fitokimia kualitatif dapat dilakukan dengan reaksi warna atau dengan uji tabung yang berisi reagen tertentu. Adapun hal yang dapat mempengaruhi proses penyaringan fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak

tepat tidak mampu secara baik dan sempurna menarik bahan aktif yang diinginkan (Vifta dan Advistasari, 2018).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental di laboratorium dengan metode difusi yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri menggunakan metode uji difusi cakram, penentuan nilai KHM dan KBM.

Alat

Dalam penelitian ini menggunakan alat sebagai berikut, toples, *waterbath*, evaporator, cawan porselen, pipet, autoklaf, kawat ose, spiritus, petri, pinset, tabung reaksi, inkubator, mikropipet 10-1000 μ l, rak tabung reaksi, *microwave*, *hotplate*, labu ukur 5-10 ml, beaker glass 500-1000 mL, corong pisah, gelas ukur 5 ml 10,50,100 mL, kapas steril, blender, kain hitam, batang pengaduk, aluminium foil, ayakan no. 40, sendok, botol vial, kertas cakram (*paper disc*), Ultrasonik.

Bahan

Dalam penelitian ini menggunakan bahan diantaranya adalah ekstrak daun puring anting (*Codiaeum variegatum* var.*Pictum.F.Appendiculatum*), aquadest, Etanol 70%-96%, bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, media *nutrient agar* (NA) (HIMEDIA M001-500 G), media *nutrient broth* (NB) (HIMEDIA M002-100 G), Ciprofloxacin 500 mg (Generik, Novell), HCl, kloroform, methanol, DMSO 50 %, Aquades, n-heksana, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, Mg, H₂SO₄.

Prosedur Penelitian

Pembuatan simplisia daun puring anting

Tanaman puring anting diambil dari desa tewah Kalimantan Tengah. Proses pembuatan simplisia daun puring anting yang sudah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir sampai semua kotoran hilang, kemudian potong kecil-kecil, setelah itu potongan daun dijemur dan ditutup dengan kain berwarna hitam. Dihaluskan daun kering dan dilakukan pengayakan pada saringan no 40 mesh.

Pembuatan ekstrak daun puring anting

Dibuat ekstrak daun puring anting dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. 500 g simplisia daun puring anting direndam dengan 2000 mL pelarut selama 24 jam dan dilakukan dua kali remaserasi.

Pembuatan fraksi daun puring anting

Ekstrak pekat daun puring anting yang diperoleh dimasukkan kedalam corong pisah sebanyak 20 g kemudian dilarutkan dengan n-heksana sebanyak 200 mL dan dikocok hingga larut, pada lapisan n-heksana yang larut dipindahkan ke erlenmeyer, dan lapisan n-heksana yang tidak larut ditambahkan pelarut kloroform sebanyak 200 mL dan diaduk hingga larut, pada bagian kloroform yang larut dengan sampel dipindahkan ke erlenmeyer, dan lapisan kloroform yang tidak larut ditambahkan larutan metanol sebanyak 200 mL diaduk hingga larut, pada bagian lapisan methanol yang larut dalam metanol dimasukkan kedalam erlenmeyer. Kemudian pada setiap lapisan n-heksana,

kloroform, dan metanol yang larut dievaporasi.

Pembuatan media NA dan NB

Untuk menyiapkan Nutrient Agar Media (NA) , ditimbang NA sebanyak 10,5 g, masukkan ke dalam erlenmeyer, tambahkan 350 mL Aquadest, aduk rata hingga terbentuk suspensi dan panaskan hingga bahan larut. Kemudian, timbang NB 0,78 g, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer, tambahkan 60 ml aquades, dan panaskan sampai larut. Kemudian masukkan kedua media NA dan NB ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dan sterilkan sampai 15 menit (Sari, 2017).

Pembuatan suspensi bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan media NB

Untuk *E. coli* dan *S. aureus*, siapkan masing-masing media NB dalam tabung reaksi 5 mL dan diambil setiap bakteri dari biakan bakteri murni lalu ditumbuhkan dalam setiap tabung berisi larutan yang mengandung NB menggunakan kawat ose. Selain itu, masing-masing bakteri dikultur dalam media NB selama 24 jam menggunakan suhu 37°C (Latifah, 2018).

Skrining aktivitas fraksi daun puring anting terhadap pertumbuhan bakteri dengan metode *disc diffusion test*

Metode difusi cakram (Kirby dan Bauer) digunakan dalam penelitian ini. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menimbang 10 mg n-heksana, kloroform, dan metanol lalu melarutkannya dalam labu ukur 10 ml menggunakan pelarut DMSO 50%. Setiap fraksi kemudian dibuat beberapa rangkaian konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 62,105 µg/ml, dan 30,125 µg/ml. Sebuah kultur dari suspensi bakteri *E. coli* dan *S. aureus* diinokulasi ke dalam setiap cawan petri menggunakan *spreader glass* dengan media NA dan masing-masing media diberi nama. Selanjutnya masing-masing fraksi diteteskan larutan uji serta kontrol positif dan negatif sebanyak 50 µL pada kertas cakram 6 mm yang kemudian diletakkan ke atas media NA lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Amati dan ukur dengan jangka sorong jika terdapat zona bening pada setiap media (Sari, 2017).

Pembuatan larutan induk dan pengenceran fraksi aktif

Fraksi aktif daun puring anting ditimbang 10 mg kemudian dilarutkan kedalam labu ukur 10 mL menggunakan pelarut DMSO 50% dan didapatkan konsentrasi 1.000 µg/mL , lalu buat dalam 5 konsentrasi yang sudah ditentukan yaitu 1000 µg/mL, 500 µg/ml, 250 µg/ml , 62,105 µg/ml, dan 30,125 µg/ml.

Uji antibakteri dengan penentuan nilai KHM₉₀ dan KBM

Nilai KHM₉₀ ditentukan menggunakan metode makrodilusi dengan 5 tabung reaksi. Inokulum bakteri uji dibuat menggunakan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya, lima tabung reaksi diisi dengan 5 ml media NB dan 500 µL suspensi bakteri ditambahkan, dan 200 µL sampel uji dengan konsentrasi berbeda ditambahkan

sambil divorteks. Absorbansi akhir suspensi bakteri selanjutnya diukur dengan instrumen spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 620 nm sebelum dan 24 jam setelah inkubasi. Penentuan nilai KBM dilakukan dengan mengambil larutan uji KHM yang tidak keruh atau menandakan tidak adanya tanda-tanda pertumbuhan bakteri pada tabung reaksi sebanyak 3 µL lalu digoreskan pada media NA steril tanpa penambahan mikroba dan senyawa uji, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Parameter yang digunakan untuk menentukan nilai MBC adalah dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media NA agar, ditandai dengan ada tidaknya daerah atau bintik putih kekuningan pada media NA agar, goresan pada media agar NA yang terlihat jernih setelah diinkubasi dapat ditetapkan sebagai nilai KBM.

Uji skrining fitokimia

Senyawa fraksi aktif daun puring anting di analisis dengan metode uji tabung, hal ini dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi metanol 80% daun puring anting.

Alkaloid

Ditimbang 0,1 g fraksi metanol 80% daun puring anting dan masukkan kedalam tabung reaksi kemudian larutkan dengan HCl (p) lalu disaring dan tambahkan pereaksi Dragendorff dan Mayer sebanyak 2-3 tetes. Pada pereaksi Dragendorff dan Mayer identifikasi senyawa alkaloid dapat dilihat apabila ada endapan jingga dan putih.

Flavonoid

Ditimbang fraksi metanol 80% daun puring anting 0,1 g, dimasukkan ke tabung reaksi dan larutkan dalam metanol 2-3 ml kemudian panaskan di *waterbath*, selanjutnya tambahkan Mg dan HCl pekat sebanyak 2 ml. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Terpenoid

Ditimbang fraksi metanol 80% daun puring anting sebanyak 0,1 g dan dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian larutkan dalam 2-3 mL metanol hingga larut. Selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat ke dalam larutan. Adanya senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau ungu.

Steroid/Triterpenoid

Ditimbang fraksi metanol 80% sebanyak 0,1 g dan masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan kedalam 2 mL kloroform selanjutnya ditambahkan 10 tetes asam asetan anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Jika terdapat senyawa steroid maka ditandai dengan terbentuknya warna hijau dan warna merah untuk triterpenoid.

Saponin

Ditimbang fraksi metanol 80% daun puring anting sebanyak 0,1 g dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL aquadest panas dan dikocok kuat-kuat. Dikatakan positif terdapat senyawa saponin jika ada pembentukan busa 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit tetap kontans.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi

Pembuatan ekstrak daun puring anting menghasilkan sebanyak 80,786 g dari 500 g serbuk simplisia daun puring anting dan didapatkan hasil randemen 16,157%. Setiap tumbuhan memiliki kadar ekstrak yang berbeda-beda, berdasarkan komposisi, kualitas, dan aktivitasnya, meskipun berasal dari spesies yang sama, sehingga diperlukan standarisasi ekstrak untuk mengetahui konsistensi senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Jumlah ekstrak yang didapatkan bisa saja dipengaruhi oleh beberapa hal seperti banyaknya simplisia, eluen yang digunakan, dan kehalusan dari simplisia. Semakin halus bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sehingga dapat menghasilkan randemen yang lebih banyak, karena kehalusan simplisia berhubungan dengan luas permukaan simplisia yang akan bersentuhan dengan eluen selama proses ekstraksi (Sari, 2017).

Hasil fraksi

Hasil rendemen fraksi daun puring anting untuk masing-masing fraksi pelarut yaitu fraksi n-heksana 53,200%, fraksi kloroform 57,110%, dan fraksi metanol 108,330% 80%. Pada hasil fraksi tersebut diperoleh hasil fraksi yang berbeda ini mungkin disebabkan oleh perbedaan derajat kepolaran masing-masing senyawa, dan ditemukan bahwa fraksi methanol 80% memiliki kepolaran paling tinggi dibandingkan dengan dua fraksi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam daun puring anting sebagian bersifat polar, sehingga lebih banyak senyawa yang terekstraksi dengan pelarut polar seperti metanol 80%.

Hasil uji aktivitas antibakteri daun puring anting

Metode *disc diffusion test* merupakan metode pengujian dengan prinsip kerja dimana *paperdisc* yang telah diberikan zat antibakteri diletakkan ke atas media NA yang telah diinokulasikan bakteri. Pada pengujian antibakteri menggunakan metode *disc diffusion test* parameter yang digunakan adalah akan terlihatnya zona bening atau zona hambat disekitar *paper disc* yang digunakan sebagai parameter positif karena adanya respon dari senyawa aktif atau larutan uji yang diberikan. Hasil uji antibakteri dengan metode *disc diffusion* menggunakan hasil ekstraksi dan fraksinasi yang berbeda yaitu etanol 96%, fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi metanol 80% dengan 5 seri konsentrasi 1000 µg/mL, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 62,105 µg/ml, dan 30,125 µg/ml, dapat dilihat pada gambar tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil diameter zona hambat *E.coli* metode *disc diffusion*

| | Konsentrasi (µg/mL) | Diameter zona hambat (±SD) |
|-------------|---------------------|----------------------------|
| N-Heksan | 30,125 | 2,6250±0,7425 |
| | 62,105 | 1,8000±0,3182 |
| | 250 | 2,8000±0,4950 |
| | 500 | 2,3750±0,3142 |
| | 1000 | 3,1500±0,1620 |
| | Rata-Rata | 2,5500±0,4064 |
| Klorofom | 30,125 | 3,3500±1,0198 |
| | 62,105 | 2,5250±0,5884 |
| | 250 | 4,2250±0,9572 |
| | 500 | 3,8500±0,1871 |
| | 1000 | 4,9500±0,4861 |
| | Rata-Rata | 3,7800±0,6481 |
| Metanol 80% | 30,125 | 4,3333±0,7418 |
| | 62,105 | 3,7333±0,8633 |
| | 250 | 3,3750±2,3383 |
| | 500 | 3,5250±0,8452 |
| | 1000 | 5,4000±2,0553 |
| | Rata-rata | 4,0733±1,3688 |
| Ekstrak | 30,125 | 2,0000±0,9513 |
| | 62,105 | 2,4167±1,2847 |
| | 250 | 2,9500±1,0700 |
| | 500 | 2,3167±1,2207 |
| | 1000 | 2,0000±0,7874 |
| | Rata-rata | 2,3367±1,0628 |
| kontrol (+) | | 16,5500±2,1664 |
| Kontrol (-) | - | - |



Tabel 2. Hasil diameter zona hambat *S.aureus* metode disc diffusion

| | Konsentrasi (µg/mL) | Diameter zona hambat (±SD) |
|-------------|---------------------|----------------------------|
| N-Heksan | 30,125 | 2,7750±1,5963 |
| | 62,105 | 1,6500±0,9124 |
| | 250 | 1,4000±0,4583 |
| | 500 | 1,0250±0,4265 |
| | 1000 | 1,1250±1,1787 |
| Klorofom | Rata-Rata | 1,5950±0,9144 |
| | 30,125 | 1,8750±0,6750 |
| | 62,105 | 2,2000±2,3048 |
| | 250 | 2,0000±2,5941 |
| | 500 | 4,7750±2,6092 |
| Metanol 80% | Rata-Rata | 2,7750±2,2217 |
| | 30,125 | 5,2250±3,2043 |
| | 62,105 | 3,2750±2,9664 |
| | 250 | 1,8750±1,5056 |
| | 500 | 2,2750±1,2008 |
| Ekstrak | 1000 | 3,7500±1,8187 |
| | Rata-rata | 3,2800±2,1391 |
| | 30,125 | 2,9500±0,6062 |
| | 62,105 | 2,6500±1,0536 |
| | 250 | 3,1000±0,0433 |
| Kontrol (+) | 500 | 2,3000±1,1627 |
| | 1000 | 2,5750±1,4038 |
| | Rata-rata | 2,7150±0,8539 |
| Kontrol (-) | - | - |

Berkaitan dengan hasil sesuai Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri yang baik untuk melawan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah fraksi metanol 80%. Zona hambat yang baik berasal dari fraksi metanol 80% *Escherichia coli* yang ditemukan pada konsentrasi tertinggi 1000 µg/ml g/mL dengan diameter zona hambat 5,4000 ± 2,0553 mm, sedangkan konsentrasi *S. aureus* terendah adalah 5,2250 ± 3,2043 mm. Maka dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dan fraksi metanol 80% daun puring anting, semakin besar diameter zona hambat untuk bakteri uji dan dapat dikatakan bahwa semakin meningkat konsentrasi ekstrak dan fraksi maka semakin banyak senyawa antibakteri yang dilepaskan, dan semakin mudah senyawa tersebut menembus sel bakteri dengan mekanismenya masing-masing. Perbedaan diameter zona hambat pada uji difusi cakram dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan metabolit sekunder pada ekstrak. Faktor lain yang dapat mempengaruhi perbedaan zona hambat adalah suhu inkubasi, waktu pemasangan cakram, dan jarak cakram antibakteri (Alfiah, 2015).

Hasil uji nilai KHM fraksi aktif daun puring anting

Dari hasil pengujian larutan dengan fraksi metanol 80% terhadap uji nilai KHM *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada seri konsentrasi yang berbeda

(30,125 µg/mL, 62,105 µg/mL, 250 µg/mL, 500 g/mL), dan 1000 µg/mL) menunjukkan bahwa ada selaput putih kekuningan yang melayang atau mengapung dan kekeruhan berkembang setelah 24 jam inkubasi. KHM untuk fraksi metanol 80% dipilih pada konsentrasi 1000 µg/ml. Hal ini dibandingkan dengan KHM senyawa antibakteri dengan KHM 500-1000 µg/ml termasuk senyawa antibakteri lemah. Pada kontrol positif tidak didapatkan selaput putih yang mengambang dan tidak ada kekeruhan yang menunjukkan pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini membuktikan bahwa kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri. Sebaliknya, pada kontrol negatif, terdapat selaput yang mengapung dan larutan uji keruh, menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

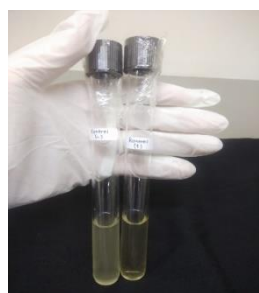
Berdasarkan semua variasi konsentrasi terhadap sampel bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (30,125 µg/ml, 62,105 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1000 µg/ml) karena adanya selaput yang mengambang ada di semua larutan uji, dan kekeruhan muncul di semua larutan uji, yang menunjukkan bahwa ada pertumbuhan bakteri. Hasil uji KHM fraksi metanol 80% terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara visual dapat ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji KHM secara visual

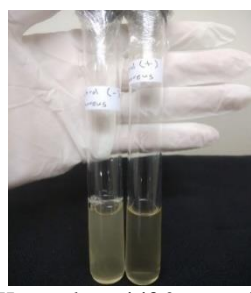
| NO. Tabung Reaksi | Seri Konsentrasi (µg/ml) | Hasil pengamatan | |
|-------------------|--------------------------|------------------|-----------------|
| | | <i>E.coli</i> | <i>S.aureus</i> |
| 1 | 30,125 | - | - |
| 2 | 62,105 | - | - |
| 3 | 250 | - | - |
| 4 | 500 | - | - |
| 5 | 1000 | - | - |
| 6 | K. Positif (+) | + | + |
| 7 | K. Negatif (-) | - | - |

Keterangan : (+) kekeruhan sama dengan kontrol positif tidak adanya kekeruhan ; (-) kekeruhan lebih dari kontrol positif/ adanya kekeruhan.

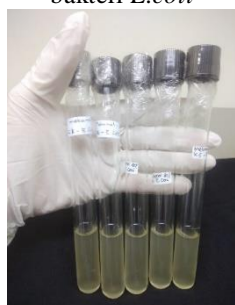




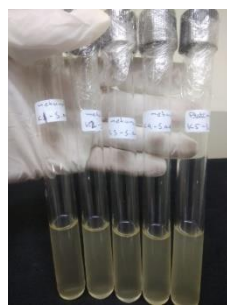
Kontrol positif & negatif bakteri *E.coli*



Kontrol positif & negatif bakteri *S.aureus*



Bakteri *E.coli*



Bakteri *S.aureus*

Gambar 2. Hasil uji KHM pada larutan uji fraksi metanol terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

Pada uji KHM dilakukan pengukuran nilai absorbansi pada semua konsentrasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 620 nm sebagai nilai absorbansi akhir. Jika nilai absorbansi akhir sesudah inkubasi masing-masing konsentrasi lebih besar dari pada nilai absorbansi akhir sebelum inkubasi berarti masih terjadi pertumbuhan bakteri. Namun, jika absorbansi akhir sesudah inkubasi lebih kecil dibandingkan absorbansi akhir sebelum inkubasi maka menandakan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Hasil uji KHM daun puring anting dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada tabel 4 dan 5 berikut ini.

Tabel 4. Hasil uji KHM fraksi aktif daun puring anting terhadap bakteri *E.coli*

| Konsentrasi fraksi metanol 80% daun puring anting (µg/mL) | Rata-rata | | Keterangan |
|---|------------------|------------------|------------|
| | Sebelum inkubasi | Sesudah inkubasi | |
| 30,125 | 0,5682 | 0,7077 | Naik |
| 62,105 | 0,5524 | 0,7258 | Naik |
| 250 | 0,5840 | 0,6699 | Naik |
| 500 | 0,5522 | 0,7472 | Naik |
| 1000 | 0,7366 | 0,7899 | Naik |
| Kontrol (+) | 0,1087 | 0,0807 | Turun |
| Kontrol (-) | 0,6314 | 0,8172 | Naik |

Tabel 5. Hasil uji KHM fraksi daun puring anting terhadap bakteri *S.aureus*

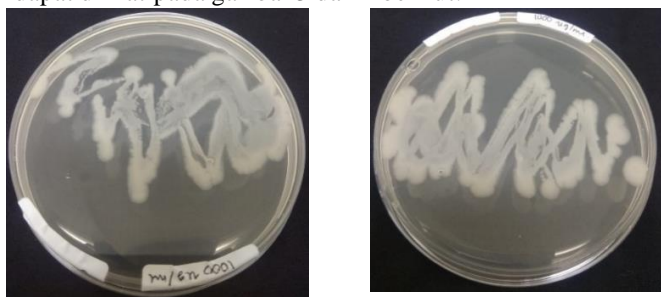
| Konsentrasi fraksi metanol 80% daun puring anting (µg/mL) | Rata-rata | | Keterangan |
|---|------------------|------------------|------------|
| | Sebelum inkubasi | Sesudah inkubasi | |
| 30,125 | 0,2223 | 0,4390 | Naik |
| 62,105 | 0,2334 | 0,4966 | Naik |
| 250 | 0,2490 | 0,6974 | Naik |
| 500 | 0,2313 | 0,5906 | Naik |
| 1000 | 0,2463 | 0,6809 | Naik |
| Kontrol (+) | 0,4169 | 0,2457 | Turun |
| Kontrol (-) | 0,3699 | 0,9362 | Naik |

Hasil dari pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 620 nm dapat dilihat nilai absorbansi akhir dari tiap larutan uji dimana pada semua seri konsentrasi nilai absorbansi akhir terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* setelah diinkubasi selama 24 jam meningkat dan dapat dibandingkan dengan nilai absorbansi sebelum diinkubasi. Meningkatnya nilai absorbansi akhir pada semua seri konsentrasi larutan uji menandakan bahwa adanya pertumbuhan bakteri yang terjadi pada larutan tersebut, karena secara visual dapat dilihat bahwa larutan uji terlihat lebih keruh dari sebelumnya dan terdapat selaput berwarna putih kekuningan yang melayang atau mengapung didalam larutan uji ditabung reaksi. Hal ini membuktikan bahwa tidak ada terjadinya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* pada uji KHM menggunakan larutan uji fraksi metanol 80% karena adanya pertumbuhan bakteri pada larutan uji. Peningkatan nilai absorbansi pada semua variasi konsentrasi bukan sepenuhnya karena pertumbuhan bakteri, namun kemungkinan juga dipengaruhi oleh kepekatan konsentrasi yang terjadi pada konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga dapat mempengaruhi penyerapan cahaya oleh sel-sel bakteri yang mati di dalam larutan.

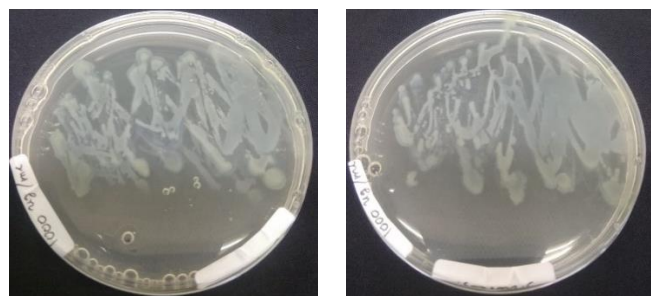
Hasil uji KBM

Kadar bunuh minimum merupakan dimana konsentrasi minimum yang dapat membunuh perkembangbiakan dari bakteri dan pada konsentrasi yang memberikan zona jernih pada media agar NA dengan pengamatan secara langsung. Prosedur uji KBM yaitu dengan menguji hasil larutan uji konsentrasi tertinggi pada uji KHM yaitu 1000 µg/mL, karena pada uji KHM semua larutan uji ditumbuhi bakteri. Uji KBM dilakukan dua kali replikasi menggunakan cawan petri. Dengan adanya nilai

KBM yang dihasilkan, maka dapat diketahui bahwa konsentrasi minimal pada larutan uji yang digunakan dapat membunuh bakteri dan dapat diketahui bahwa konsentrasi minimal pada larutan sampel yang digunakan dapat bekerja secara efektif sebagai antibakteri. Perolehan hasil uji KBM dapat dilihat pada gambar 3 dan 4 berikut.



Replikasi 1
Replikasi 2
Gambar 3. Hasil uji KBM *E.coli* konsentrasi 1000 µg/mL.



Replikasi 1
Replikasi 2
Gambar 4. Hasil uji KBM *S.aureus* konsentrasi 1000 µg/mL.

Setelah dilakukan pengujian dan inkubasi selama 24 jam, hasil pengujian KBM ditunjukkan pada Gambar dan 5. Pada *E. coli*, pertumbuhan bakteri masih terlihat selama replikasi 1 dan replikasi. 2, dan pada *S. aureus* baik klon 1 maupun ulangan 2 memiliki bercak kuning-putih dengan ukuran lebih kecil dari pada *E. coli*.

Konsentrasi tertinggi yang digunakan adalah 1000 g/ml dalam penelitian ini. *E. Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* selalu ditumbuhkan pada media NA. Oleh karena itu, nilai MBC untuk penelitian ini lebih besar dari konsentrasi 1000 g/ml. Hal ini dapat terjadi karena uji KHM sebelumnya tidak memberikan nilai MIC untuk larutan uji. Oleh karena itu, larutan sampel yang digunakan dalam uji KHM memiliki konsentrasi tertinggi 1000 g/mL yang ditampilkan selama uji KHM. Jika terdapat kekeruhan pada larutan uji dan uji KHM menggunakan spektrofotometer maka nilai absorbansinya meningkat, menandakan bahwa bakteri tumbuh dalam larutan tersebut.

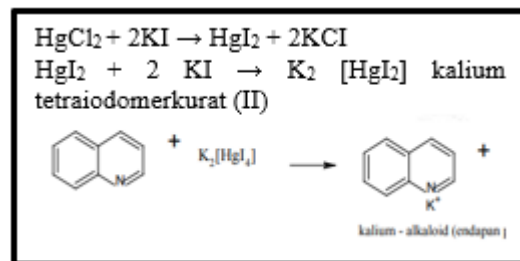
Hasil uji skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendapatkan informasi awal tentang tanaman mengenai jenis metabolit sekunder yang ada pada tanaman yang diteliti. Berikut ini merupakan hasil uji skrining fitokimia pada fraksi metanol 80% daun puring anting.

Tabel 6. Hasil uji skrining fitokimia daun

| Metabolit Sekunder | Pereaksi | Hasil pengujian | Literatur | Hasil |
|----------------------|-------------|--|-----------------------------------|------------|
| Alkaloid | Dragendorff | Warna hijau kecoklatan | Endapan jingga dan endapan putih. | - |
| | Mayer | Warna kuning dan terbentuk endapan putih | Merah, kuning sampai jingga | + |
| Flavonoid | | Warna hijau pekat | Merah, kuning sampai jingga | - |
| Terpenoid | | Warna hijau bening | Merah atau ungu | - |
| Steroid/Triterpenoid | | Hijau | Hijau, merah | +(steroid) |
| Saponin | | Warna hijau dan berbusa | Berbusa | + |

Hasil uji fitokimia pada Tabel 6 menunjukkan bahwa daun puring anting memiliki senyawa alkaloid. Karena atom nitrogen memiliki pasangan elektron bebas, ia dapat digunakan untuk membentuk ikatan koordinasi dengan ion logam. Diduga bahwa nitrogen dari alkaloid bereaksi dengan ion K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) untuk membentuk kompleks alkaloid kalium yang diendapkan sehingga pada uji meyer terbentuk endapan berwarna putih. Reaksi yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 5.

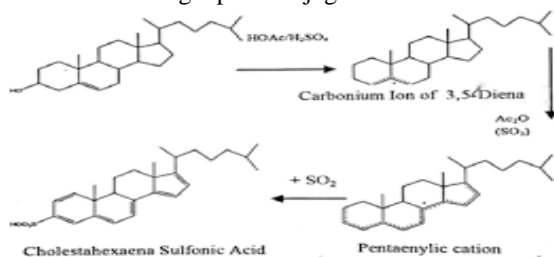


Gambar 5. Reaksi Mayer (Natalia, 2016)

Senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Mekanisme

kerja alkaloid yang terkandung pada fraksi metanol 80% daun puring anting (*Codiaeum variegatum* var. *Pictum*. F. *Appendiculatum*) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga terjadinya lisis pada lapisan dinding sel bakteri atau lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh mengakibatkan kematian pada sel tersebut. Selain itu alkaloid juga dapat menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri (Anggraini, 2019).

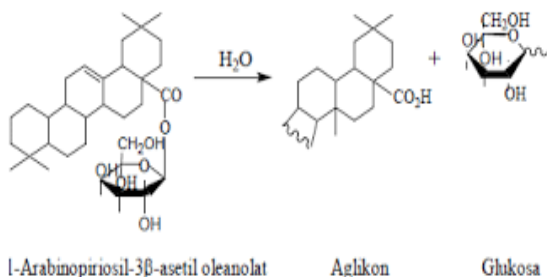
Pada hasil uji skrining fitokimia senyawa steroid/triterpenoid menunjukkan adanya warna hijau gelap yang artinya pada daun puring anting terdapat senyawa steroid. Terbentuknya warna hijau dikarenakan oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat anhidrad, hal ini menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi.



Gambar 6. Reaksi steroid/triterpenoid (Iskandar, 2020)

Mekanisme kerja senyawa steroid sebagai agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri berkaitan dengan kerentanan terhadap membran lipid dan komponen steroid yang dapat merusak membran lipid dan membocorkan liposom bakteri (Madduluri et. al., 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan fosfolipid membran sel yang menembus senyawa lipofilik, mengakibatkan penurunan integritas membran, perubahan morfologi membran sel, dan kerapuhan dan lisis sel (Sudarmi, et al., 2017).

Hasil uji fitokimia senyawa saponin pada daun puring anting menunjukkan adanya gelembung-gelembung atau busa yang terbentuk setelah proses pengocokan di atas permukaan larutan. Hal ini disebabkan adanya gugus hidrofilik yang mengikat air dan gugus hidrofobik yang mengikat udara. Dalam struktur misel, gugus polar mengarah ke luar dan gugus non-polar mengarah ke dalam karena inilah saponin dapat membentuk busa.



Gambar 7. Reaksi hidrolisis saponin dalam air

Saponin dapat digunakan sebagai agen antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran bakteri dan saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri karena surfaktan saponin mirip dengan deterjen (Sani, 2013). Mekanisme kerja dari senyawa saponin yaitu didasarkan pada denaturasi protein. Saponin akan berdifusi melintasi membran sel, lalu mengganggu membran dan menyebabkan kebocoran di sitoplasma dan keluar dari sel sehingga terjadi kematian pada sel bakteri (Sudarmi dkk., 2017).

Dalam penelitian ini belum terdapat senyawa flavonoid dan terpenoid yang teridentifikasi dalam penelitian ini. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh pemilihan metode yang tidak tepat untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dan terpenoid dalam penelitian ini. Uji flavonoid pada penelitian ini dilakukan uji Wilstater. Selain uji Wilstater, senyawa flavonoid juga dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode lain yaitu uji Bate-Smith dan uji NaOH 10%. Selain itu, faktor lain yang dapat menyebabkan identifikasi alkaloid dan terpenoid juga merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder pada tanaman, ketinggian tempat tanaman tumbuh, pH tanah, kelembapan, dan intensitas sinar matahari (Sudarmi, dkk., 2017).

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Sehubungan dengan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil uji *disc diffusion* didapatkan fraksi aktif daun puring anting yaitu pada fraksi metanol 80% yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan diameter zona hambat secara berurutan yaitu 5,4000±2,0553 (lemah) dan 5,2250±3,2043 (lemah).
2. Nilai KHM₉₀ dan KBM fraksi metanol 80% daun puring anting terhadap *E.coli* dan *S. aureus* yaitu > 1000 µg/mL.
3. Terdapat senyawa metabolit sekunder alkaloid, steroid, dan saponin pada fraksi metanol 80% daun puring anting.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diberikan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji antibakteri pada tanaman daun puring anting terhadap bakteri lainnya.
2. Diharapkan penelitian lanjut untuk melakukan uji skrining fitokimia pada ekstrak daun puring anting dengan metode KLT.
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai skrining fitokimia bagian-bagian lain pada tanaman puring anting, karena belum banyaknya penelitian yang ditemukan mengenai tumbuhan ini.

Daftar Pustaka

- Alfiah, Raniyanti Rieska., Khotimah, Siti., Turnip, Masnur., 2015, Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania Micrantha* Kunth) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans*. Jurnal Protobiont.
- Anir, Soendjoto., M.A., 2018, Tumbuhan Yang Dimanfaatkan Sebagai Obat Oleh Masyarakat Dayak Bakumpai Yang Tinggal Di Tepian Sungai Karau, Desa Muara Plantau, Kabupaten Barito Timur, Kalimantan Tengah, Indonesia, Universitas Lambung Mangkurat, **3 : 127–132**.
- Fatimatunnisa, I., Slamet, S., Rahmatullah, S., Pambudi, D.B., 2021, Uji Efektivitas Antibakteri Sediaan Salep Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum Variegatum* (L.) Rumph. Ex A.Juss) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, Pros, Semin, Nas, Kesehatan, **1 : 1005–1015**.
- Febriyanti, M., 2013, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Daun Ekor Kucing (*Acalypha Hispida* Burm. F) Dengan Metode Penghambatan Reduksi Water Soluble Tetrazolium Salt-1 (WST-1), Fitofarmaka : Jurnal Ilmiah Farmasi.
- Gogahu, Y., Nio, S.A., Siahaan, P., 2016, Konsentrasi Klorofil Pada Beberapa Varietas Tanaman Puring (*Codiaeum Variegatum* L.), Jurnal Mipa, **5 : 76**. <https://doi.org/10.35799/Jm.5.2.2016.12964>
- Hermanus, Y.O., 2001, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Rebusan Daun Puring (*Codiaeum Variegatum* Bl.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Secara Invitro, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Illing, I., Safitri, W., Erfiana, E., 2017, Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen, Dinamika, **8 : 66–84**.
- Iskandar, D., 2020, Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun *Uncaria Tomentosa* Sebagai Bahan Utama Dalam Pembuatan Teh, J. Teknol, Technoscientia, **153–158**.
- Josua, E., Wewengkang, D., Suoth, E., 2021, *Antibacterial Activity Test Of Extracts And Fractions Of Sponge Liosina Paradoxa From Mantehage Island Waters*, **10 : 7**.
- Julianto, Tatang Shabur., 2019, Fitokimia Tinajauan Metabolit Sekunder Dan Skrining Fitokimia, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Kasenda, J.C., 2016, Formulasi Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha Hispida* Burm. F) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*, Pharmacon.
- Latifah, N., 2018, Aktivitas Gel Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica* Val) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*, Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
- Leba, M.A.U., 2017, Ekstraksi Dan Real Kromatografi, Cetakan Pertama, Ed. Deepublish, Yogyakarta.
- Madziga, H. A., Sanni, S., & Sandabe, U.K., 2010, *Phytochemical And Elemental Analysis Of Acalypha Wilkesiana Leaf*, Journal Of American Science.
- Muamaroh, A., 2018, Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Puring (*Codiaeum Variegatum* L.) Pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss Webster (Doctoral Dissertation).
- Natalia, A.H.S., 2016, Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun *Uncaria Tomentosa* Sebagai Bahan Utama Dalam Pembuatan The, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Oktavia, Farida Dwi., Sutoyo, Suyatno., 2021, Skrining Fitokimia Kandungan Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella Doederleinii*, Jurnal Kimia Riset.
- Ritan, Y.E.H., Wewengkang, D.S., Siampa, J.P., 2021, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi *Alga Caulerpa Racemosa* Dari Perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*, Pharmacon, **10 : 905**.
- Rollando, R., 2019, Senyawa Antibakteri Dari Fungi Endofit, Pertama, Ed., Cv., Seribu Bintang, Malang.
- Rohmatika, A., Putri, O. K., 2019, Aktivitas Infungi Ekstrak Etanol 70% Daun Teh-Tehan (*Acalypha Siamensis*) Terhadap *Candida Albicans* (Doctoral Dissertation). Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.
- Sari, Y., 2017, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dan Senyawa Aktif Daun Kardia (*Bellucia Pentamera Naudin*) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*, **61**.
- Siadi, K., 2012, Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar *Jatropha Curcas* Sebagai Biopestisida Yang Efektif Dengan Penambahan Larutan NaCl, Jurnal MIPA, **7**.
- Sudarwati, T.P.L., 2018, Buku Ajar Praktikum Mikrobiologi, 1st Ed. Gresik: Graniti, Kota Baru Driyorejo.
- Sulistiana, S., 2016, Tanaman Puring (*Codiaeum Variegatum*) Sebagai Pendegradasi Polutan Menuju Lingkungan Sehat. **38**.
- Sumadewi, N.L.U., Puspaningrum, D.H.D., 2018, Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Pada Daun



Puring (*Codiaeum Variegatum*) Dengan Pelarut Air, Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksana, Universitas Dhayana Pura Bali.

Sumampouw, O., 2018, Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado (*The Sensitivity Test Of Antibiotics To Escherichia Coli Was Caused The Diarrhea On Underfive Children In Manado City*), **2598–2095**.

Surbakti, W.R., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi N-Heksana Serta Fraksi Etil Asetat Herba Sawi Tanah (*Adesnostemma Lavenia* (L.) Kuntze) Terhadap Beberapa Bakteri, Medan Usu.

Tarakanita, Novita Sari., Satriadi, Trisnu., Jauhari, Ahmad. 2019, Potensi Keberadaan Fitokimia Kalamalaka

(*Phyllantus Emblica*) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh, Jurnal Sylva Scienceae.

Vifta, R.L., Advistasari, Y.D., 2018, Skrining Fitokimia, Karakterisasi, Dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa* B.), **1 : 7**.

Wahyuni, Ni.A., 2020, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap *Klebsiella Pneunomiae* Secara In Vitro. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.

