

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Propionibacterium acnes***

(Skripsi)

**Oleh
JAZAUL FARIHA AL HANIF
2018031041**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Propionibacterium acnes***

Oleh
Jazaul Fariha Al Hanif

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI

Pada
Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI
EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Propionibacterium acnes***

Nama Mahasiswa : **Jazaul Fariha Al Hanif**

No. Pokok Mahasiswa : 2018031041

Program Studi : Farmasi

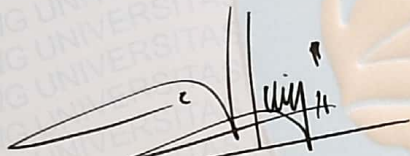
Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

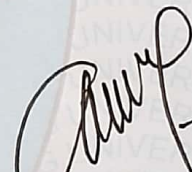
Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2



apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm
NIP. 199405182022032019



Afriyani, M.Farm
NIP. 199504172022032022

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran



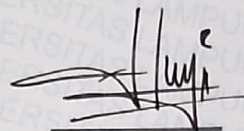
Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm



Sekretaris

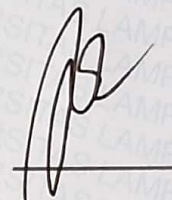
: Afriyani, S.Farm., M.Farm



Penguji

: dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes

Bukan Pembimbing



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc

NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 5 Juli 2024

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

Skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Propionibacterium acnes***” adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 5 Juli 2024

Pembuat Pernyataan



Jazaul Fariha Al Hanif

NPM. 2018031041

RIWAYAT HIDUP

Jazaul Fariha Al Hanif lahir di Dusun Muhajirun Kecamatan Natar pada tanggal 26 Februari 2001. Penulis lahir dari pasangan Bapak Amron BMS dan Ibu Sri Nurhayati, dan merupakan anak kelima dari lima bersaudara. Penulis memiliki empat orang kakak dengan kakak pertama bernama Muhammad Burhanuddin Robbani, kakak kedua bernama Luthfiana Fitri Amalia, kakak ketiga bernama Ahmad Faqih Afiena Nura, dan kakak keempat bernama Kholida Dzatullubi. Penulis menempuh pendidikan sekolah dasar di MI Al-Fatah Natar sejak tahun 2007 hingga tahun 2012, kemudian melanjutkan pendidikan tingkat menengah pertama di MTS Al-Fatah Natar hingga tahun 2016. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan tingkat menengah atas di MA Al-Fatah Natar dan lulus di tahun 2019. Penulis mengikuti program menghafal qur'an di Rumah Tahfidz Salahuddin selama 6 bulan. Di tahun 2020 penulis melanjutkan pendidikan di jenjang perkuliahan dan diterima menjadi mahasiswa baru di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama menempuh pendidikan di bangku perkuliahan penulis berkesempatan menjadi asisten praktikum pada mata kuliah Praktikum Kimia Organik, Praktikum Farmasetika, dan Praktikum Teknologi Formulasi Sediaan Steril. Selain itu penulis juga memperoleh kesempatan mengikuti kegiatan pengabdian masyarakat bersama beberapa Dosen Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penulis juga aktif mengikuti kegiatan kemahasiswaan dengan bergabung dalam organisasi di tingkat fakultas dan program studi. Menjadi sekretaris departemen kemuslimahan FSI Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dan menjadi wakil kepala departemen pendidikan dan kelimuan Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Bismillahirrahmanirrahim

لَا تَحْزَنْ إِنَّ اللَّهَ مَعَنَا

“Janganlah engkau bersedih sesungguhnya Allah bersama Kita”

Q.S. Attaubah : 40

Karya ini kupersembahkan untuk keluargaku tercinta
Bapak, Ibu, Mas Burhan, Mba Nana, Mas Afien, Mba Ida, Teh
Umi, Mba Fitri, Kak Wahid, Akhtar, dan Azka

-Ika-

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil alamiin. Puji Syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT, karena atas berkah, nikmat, dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes*”**. Tak lupa pula penulis ucapkan semoga sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada suri tauladan kita Nabi Muhammad SAW.

Penulis menyadari bahwa selama menempuh perkuliahan dan menyelesaikan skripsi di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penulis memperoleh bantuan, bimbingan, nasihat, kritik, serta saran yang membangun dari berbagai pihak. Sehingga dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah mengaruniakan kesehatan, kesabaran, dan keberkahan selama penulis menjalani perkuliahan, penelitian, hingga selesai penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. sebagai Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Evy Kurniawaty, S.Ked., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
4. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M. selaku Kepala Jurusan Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
5. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm. selaku Pembimbing Pertama yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran, serta bersabar dalam memberikan arahan, dan masukan kepada penulis selama proses penyusunan skripsi.
6. Afriyani, M.Farm. selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran, serta bersabar dalam memberikan arahan, dan masukan kepada penulis selama proses penyusunan skripsi.

7. dr. Tri Umiyana Soleha, S.Ked., M.Kes. sebagai Pembahas yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran, serta memberikan saran dan kritik yang membangun dalam penyempurnaan penyusunan skripsi.
8. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik serta Kepala Laboratorium Kimia Farmasi yang telah membimbing serta memberikan arahan kepada penulis selama masa perkuliahan dan selama penulis melakukan penelitian di Laboratorium Kimia Farmasi.
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang dengan sabar membimbing serta mengajarkan ilmunya yang bermanfaat selama masa perkuliahan.
10. Seluruh laboran yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian di Laboratorium Kimia Farmasi, Laboratorium Farmasetika Fakultas Kedokteran, Laboratorium Botani, dan Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
11. Seluruh staf dan civitas akademika yang telah membantu penulis selama pemberkasan penelitian hingga skripsi ini dapat dibuat dengan sebaik-baiknya.
12. Bapak Amron dan Ibu Nurhayati atas semua cinta, doa, dukungan, dan nasihatnya. Terima kasih telah menjadi orang tua yang luar biasa bagi penulis, membersamai setiap langkah perjalanan hidup penulis, serta memberikan inspirasi dan kekuatan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
13. Mas Burhan, Mba Nana, Mas Apin, Mba Ida, Kak Wahid, Teh Umi, dan Mba Fitri atas doa, dukungan, perhatian dan semangatnya selama penulis menjalankan perkuliahan dan menyusun skripsi ini. Terima kasih telah menjadi kakak sekaligus teman terbaik yang dapat diandalkan, selalu siap membantu kapanpun penulis butuhkan.
14. Akhtar dan Azka sebagai keponakan tersayang. Terima kasih telah menjadi *mood booster* bagi penulis dengan segala tingkah lucu dan menggemaskannya.

15. Nobar The Moon Family yang telah kebersamai penulis, menjadi partner asisten praktikum, dan partner berjuang selama masa perkuliahan hingga penyusunan skripsi. Ais, Asyfa, Monik, Sekar, Jeen, dan Fadyla, terima kasih atas dukungan dan sarannya yang membangun. Setiap momen yang penulis lalui bersama kalian merupakan kenangan yang berharga.
16. Alifah dan Dek Kayla atas segala dukungan dan doanya selama penulis menjalankan perkuliahan hingga penyusunan skripsi. Terima kasih telah menjadi sahabat terbaik sekaligus teman curhat yang siap mendengarkan keluh kesah penulis.
17. Teman-teman “Trombosit” angkatan 2020 atas kerjasama dan bantuannya selama masa perkuliahan. Setiap tantangan dan kebahagiaan yang telah dilalui membuat perjalanan perkuliahan ini menjadi lebih bermakna. Semoga kita semua dapat meraih kesuksesan.
18. NCT, EXO, Aespa dan Mark Lee atas karya-karyanya yang menjadi penyemangat selama penulis menyelesaikan skripsi.
19. Diriku Sendiri, terima kasih untuk tidak menyerah dan bertahan hingga titik ini, perjalanan masih panjang, semoga semua cita-cita kita bisa terwujud.
20. Seluruh pihak yang mendukung penulis selama penyusunan skripsi yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi banyak orang serta menjadi tambahan pengetahuan dan informasi bagi penulis.

Bandar Lampung, 5 Juli 2024

Penulis



Jazaul Fariha Al Hanif

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING OF COMBINATION ETHANOL EXTRACTS OF GUAVA LEAVES (*Psidium guajava* L.) AND BETEL LEAVES (*Piper betle* L.) AGAINST THE GROWTH OF *Propionibacterium acnes*

By

JAZAUL FARIHA AL HANIF

Background : *Propionibacterium acnes* is a bacteria that causes acne. Long-term antibiotic use for acne can lead to resistance. Guava leaves (*Psidium guajava* L.) and green betel leaves (*Piper betle* L.) can be used as alternative therapy to reduce antibiotic resistance. This study aims to determine the antibacterial activity of a combination of guava and green betel leaves in inhibiting *Propionibacterium acnes*.

Method : This experimental laboratory study employed a post-test only control group design. Guava leaves and green betel leaves were extracted using the maceration method with 70% ethanol as the solvent. The extraction concentrations used were 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% w/v with a combination ratio 1:1. Antibacterial activity was tested using the well diffusion method. Data on the diameter of the inhibition zone were analyzed using One-Way ANOVA.

Results : The results showed that the combination of guava leaf extract and betel leaf extract inhibited *Propionibacterium acnes*, with average inhibition zone of 7.10 mm, 9.80 mm, 12.23 mm, 12.11 mm, and 11.48 mm.

Conclusion : There is antibacterial activity from the combination of ethanol extracts of guava leaves and betel leaves against the growth of *Propionibacterium acnes*.

Keywords: Antibacterial, Betel Leaves, Combination, Guava Leaves
Propionibacterium acnes.

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Propionibacterium acnes*

Oleh

JAZAUL FARIHA AL HANIF

Latar Belakang : *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri penyebab jerawat. Penggunaan antibiotik jangka panjang untuk mengobati jerawat dapat menyebabkan resistensi. Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat digunakan sebagai terapi alternatif untuk mengurangi resistensi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi daun jambu biji dan daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Metode : Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan desain *post-test only control group design*. Daun jambu biji dan daun sirih hijau diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% b/v dengan perbandingan kombinasi 1:1. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau mampu menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* dengan rata-rata zona hambat sebesar 7,10 mm, 9,80 mm, 12,23 mm, 12,11 mm, dan 11,48 mm.

Simpulan : Terdapat aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Kata Kunci : Antibakteri, Daun Jambu Biji, Daun Sirih Hijau, Kombinasi, *Propionibacterium acnes*.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iiv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Bagi Institusi.....	5
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti	5
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
1.5 Batasan Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	7
2.1.1 Klasifikasi Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	7
2.1.2 Morfologi Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	8
2.1.3 Manfaat Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	9
2.1.4 Kandungan Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.).....	9
2.2 Tanaman Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	10
2.2.1 Klasifikasi Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.).....	10
2.2.2 Morfologi Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.).....	11

2.2.3	Manfaat Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	11
2.2.4	Kandungan Daun Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L.)	12
2.3	Metabolit Sekunder	13
2.3.1	Fenolik	13
2.3.2	Terpen	13
2.3.3	Senyawa yang Mengandung Nitrogen	13
2.4	Ekstraksi	14
2.4.1	Definisi Ekstraksi	14
2.4.2	Metode Ekstraksi Konvensional	14
2.4.3	Jenis Pelarut	17
2.5	<i>Propionibacterium acnes</i>	18
2.5.1	Klasifikasi <i>Propionibacterium acnes</i>	18
2.5.2	Morfologi Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	19
2.6	Antibiotik	20
2.6.1	Definisi dan Klasifikasi Antibiotik	20
2.7	Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	24
2.7.1	Metode Difusi Agar	24
2.7.2	Metode Dilusi Agar	27
2.8	Media Kultur Bakteri	27
2.9	Kerangka Teori	29
2.10	Kerangka Konsep	29
2.11	Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN		31
3.1	Desain Penelitian	31
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.2.1	Tempat Penelitian	31
3.2.2	Waktu Penelitian	32
3.3	Identifikasi Variabel	32
3.3.1	Variabel Bebas	32
3.3.2	Variabel Terikat	32
3.3.3	Variabel Kontrol	32
3.4	Definisi Operasional	33
3.5	Alat dan Bahan	34

3.5.1 Alat	34
3.5.2 Bahan	34
3.6 Sampel Penelitian	34
3.7 Prosedur Penelitian.....	34
3.7.1 Determinasi Tanaman	34
3.7.2 Pembuatan Simplisia	35
3.7.3 Pembuatan Ekstrak	35
3.7.4 Skrining Fitokimia	36
3.7.5 Pembuatan Larutan Uji	38
3.7.6 Pembuatan Larutan Kontrol Positif	39
3.7.7 Sterilisasi Alat	39
3.7.8 Pembuatan Media	39
3.7.9 Uji aktivitas Antibakteri.....	41
3.8 Alur Penelitian.....	42
3.9 Pengolahan dan Analisis Data	42
3.10 Etika Penelitian.....	43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
4.1 Hasil Penelitian	44
4.1.1 Determinasi Tanaman	44
4.1.2 Pembuatan Simplisia	44
4.1.3 Ekstraksi Simplisia	45
4.1.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	45
4.1.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	46
4.2 Pembahasan.....	50
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	59
5.1 Simpulan.....	59
5.2 Saran.....	59
5.3 Keterbatasan Penelitian	59
DAFTAR PUSTAKA.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional.....	33
Tabel 2. Pembuatan Larutan Ekstrak Tunggal dan Kombinasi	38
Tabel 3. Bobot Simplisia Basah dan Kering Daun Jambu Biji dan Sirih Hijau	44
Tabel 4. Hasil Ekstrak Kental Daun Jambu Biji dan Daun Sirih Hijau	45
Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Daun Jambu Biji	46
Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji	47
Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau	47
Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak	48
Tabel 9. Hasil Analisis Statistik	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Tanaman Daun Jambu Biji	7
Gambar 2. Quercetin	9
Gambar 3. Tanaman Daun Sirih Hijau	10
Gambar 4. Struktur Chavicol	12
Gambar 5. <i>Propionibacterium acnes</i>	18
Gambar 6. Metode Sumuran.	25
Gambar 7. Metode Difusi Cakram	26
Gambar 8. Kerangka Teori	29
Gambar 9. Kerangka Konsep	29
Gambar 10. Alur Penelitian.....	42
Gambar 11. Diameter Zona Hambat	49

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acne vulgaris atau biasa disebut jerawat merupakan salah satu kondisi dermatologi yang paling banyak ditemui oleh dokter kulit di seluruh dunia (Cruz *et al.*, 2023). Menurut studi Dermatologi Kosmetik Indonesia yang dilakukan sejak tahun 2006 hingga 2009 menunjukkan hasil bahwa terdapat peningkatan jumlah penderita jerawat sebanyak 60-90%. Kondisi ini umumnya dimulai pada fase pubertas ketika hormon seks mulai diproduksi dan banyak terjadi pada remaja dan dewasa muda (Leung *et al.*, 2020). Remaja wanita pada usia 14-17 tahun mempunyai prevalensi sebesar 83-85%, sedangkan pada laki-laki usia 16-19 tahun memiliki prevalensi yang lebih tinggi yaitu sebesar 95-100% (Tan & Firmansyah, 2021).

Jerawat adalah penyakit inflamasi kronis pada unit *pilosebacea* yang dapat muncul dengan adanya lesi non-inflamasi dan inflamasi. Kejadian munculnya jerawat dengan lesi non-inflamasi dan inflamasi dapat terjadi baik di daerah wajah, dada, punggung, dan lengan atas. Lesi non-inflamasi pada jerawat dapat ditandai dengan munculnya komedo, sedangkan pada lesi inflamasi ditandai dengan timbulnya papula, pustula, nodul, dan kista (Sifatullah & Dzulkarnain, 2021; Listiawan *et al.*, 2022). Timbulnya jerawat lesi non-inflamasi dan inflamasi dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor diantaranya hormon, pola makan, kebiasaan sehari-hari, usia, genetik, kelainan kulit, psikis,

cuaca, infeksi bakteri (seperti *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*), pekerjaan, kosmetik, dan penggunaan bahan kimia lainnya (Imasari *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2020).

Propionibacterium acnes merupakan jenis bakteri penyebab utama terjadinya jerawat (Baraga *et al.*, 2022). Bakteri ini merupakan bakteri anaerob gram positif yang menjadi penghuni utama mikrobiota kulit manusia normal dan mendominasi unit *pilosebaceous*. *Propionibacterium acnes* banyak ditemui pada bagian kulit yang kaya akan kelenjar *sebaceous* seperti wajah dan batang tubuh bagian atas. Namun bakteri ini juga dapat ditemukan pada bagian tubuh lain seperti saluran pencernaan, mulut, dan prostat (McLaughlin *et al.*, 2019). *Propionibacterium acnes* memainkan peran dalam patogenesis jerawat, yaitu dengan memproduksi lipase yang menguraikan asam lemak bebas dari lipid kulit. Ketika asam lemak berinteraksi dengan sistem imun tubuh, hal ini bisa menimbulkan peradangan jaringan dan menyebabkan munculnya jerawat (Afifi & Erlin, 2018).

Salah satu terapi untuk mengatasi jerawat yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* adalah penggunaan antibiotik. Antibiotik merupakan jenis senyawa yang dihasilkan secara sintetis atau alami yang dapat menghambat proses biokimia dalam suatu organisme, khususnya pada kasus infeksi bakteri (Anggraini *et al.*, 2020). Contoh antibiotik yang biasa digunakan untuk pengobatan jerawat akibat bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu tetrasiklin, klindamisin, dan eritromisin (Pribadhi *et al.*, 2023). Namun penggunaan antibiotik ini dalam jangka panjang dapat memberikan efek samping pada kulit berupa iritasi kulit, selain itu penggunaan antibiotik yang tidak rasional akan berakibat pada resistensinya bakteri (Salahudin & Cahyanto, 2020).

Tren pengobatan saat ini menunjukkan bahwa masyarakat lebih menyukai penggunaan tanaman herbal jika dibandingkan dengan cara medis. Hal ini diakibatkan pengobatan dengan tanaman herbal memiliki risiko efek samping yang lebih rendah jika dibandingkan pengobatan dengan cara medis (Kalsum *et al.*, 2021). Jenis tanaman herbal yang diketahui dan telah banyak diteliti memiliki aktivitas antibakteri adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Penelitian oleh Niken *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memiliki kandungan senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Sementara itu, daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dilaporkan mengandung senyawa fenol, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan triterpenoid (Kiko *et al.*, 2023). Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja berbeda-beda.

Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) telah diketahui memiliki khasiat terhadap bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes* dengan beberapa konsentrasi, dan konsentrasi terbaik ada pada 200 mg/ml dengan nilai zona hambat sebesar 13,02 mm (Afifi & Erlin, 2018). Daun sirih juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% menghasilkan zona hambat sebesar 9,05 mm, 11,50 mm, 12,18 mm, dan 13,53 mm (Dewi *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh Wirahmi *et al.*, (2021) diperoleh hasil bahwa kombinasi daun jambu biji dan daun sirih hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat terbesar yaitu sebesar 10,3 mm pada perbandingan kombinasi konsentrasi 75% daun jambu biji dan 25% daun sirih hijau.

Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak tanaman yang dikombinasikan dapat memiliki aktivitas hambat terhadap bakteri lebih besar. Penelitian yang dilakukan oleh Suayasa *et al.*, (2022) yang

mengombinasikan daun sirih hijau dengan daun legundi menghasilkan nilai zona hambat yang tergolong kuat yaitu sebesar 11,73%, hal ini menandakan bahwa dengan mengombinasikan kedua tanaman ini menimbulkan efek sinergisme. Efek sinergisme merupakan efek yang saling menguatkan saat dua tanaman dikombinasikan. Efek ini muncul akibat adanya kesamaan kandungan metabolit sekunder pada kedua tanaman ini yaitu flavonoid, saponin dan tanin.

Efek sinergisme yang dihasilkan dari pengombinasian tanaman tersebut memperkuat alasan mengapa pengombinasian daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) perlu diteliti. Adanya kesamaan kandungan metabolit sekunder pada kedua tanaman ini diharapkan dapat menghasilkan efek sinergisme sehingga diperoleh hasil yaitu aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang lebih kuat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes*?
- 1.2.2 Apa saja jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam kombinasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berperan terhadap aktivitas antibakteri?
- 1.2.3 Berapakah konsentrasi paling efektif dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung dalam kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berperan terhadap aktivitas antibakteri.
2. Mengetahui konsentrasi paling efektif dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini antara lain:

1.4.1 Manfaat Bagi Institusi

Diharapkan penelitian ini dapat menambah sumber referensi mengenai aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.), serta dapat menjadi bahan perbandingan mengenai hal-hal yang belum dijelaskan pada penelitian ini.

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat memperluas wawasan dan pengetahuan peneliti tentang aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau

(*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes*.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Diharapkan penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan masyarakat tentang manfaat dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes*.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan Penelitian ini dibuat untuk menghindari pelebaran fokus penelitian sehingga lebih terarah dan tujuan dari penelitian dapat tercapai. Adapun batasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.5.1 Parameter penelitian ini hanya berfokus pada hasil nilai zona hambat yang terbentuk dari pemberian konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau.
- 1.5.2 Metode pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode difusi sumuran.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

2.1.1 Klasifikasi Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)



Gambar 1. Tanaman Daun Jambu Biji (Ugbogu *et al.*, 2022)

Klasifikasi Daun Jambu Biji menurut (López *et al.*, 2021). Mengacu pada Sistem Informasi Taksonomi Terpadu adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Viridiplantae
Infrakingdom : Streptophyta
Superdivisi : Embriophyta
Divisi : Traqueofita
Subdivisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida

Superordo : Rosanae
Ordo : Myrtales
Family : Myrtaceae
Genus : *Psidium*
Spesies : *P. guajava* L

2.1.2 Morfologi Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Jambu biji merupakan tanaman asli Amerika tengah dan Amerika latin. Tanaman ini mudah tumbuh pada berbagai jenis tanah, sehingga saat ini tanaman jambu biji telah tersebar luas di negara-negara tropis dan subtropis (Naseer *et al.*, 2018; Nursanty *et al.*, 2023). Jambu biji telah ditanam dan dimanfaatkan sebagai buah penting di berbagai daerah seperti India, Indonesia, Pakistan, Bangladesh dan Amerika Selatan. Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi gangguan kesehatan yaitu batang, daun, buah, dan biji (Nursanty *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2021).

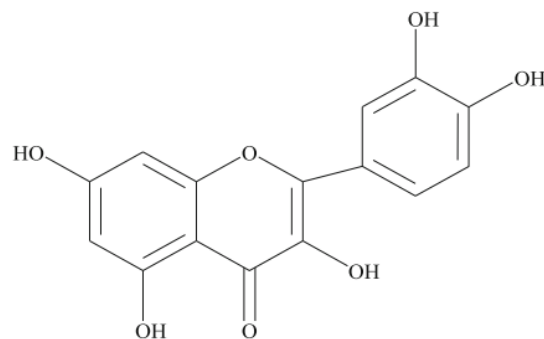
Tanaman jambu biji merupakan pohon kecil yang selalu hijau dengan tinggi berkisar 3-10 meter (Tousif *et al.*, 2022). Daunnya memiliki panjang 2-6 inci dengan lebar 1-2 inci, berwarna hijau tua, tepi daun rata, bentuknya elips, lonjong, dan ujungnya berbentuk tumpul, memiliki urat bening dan menonjol, serta mengeluarkan aroma harum saat dihancurkan (Biswas *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2021; Naseer *et al.*, 2018). Bunganya berwarna putih dengan 5 kelopak dan memiliki banyak benang sari ditengahnya. Buahnya berukuran sedang hingga besar dengan bobot berkisar 100-250 g, berbentuk bulat atau *piriform* sesuai dengan jenis tanamannya dan beraroma sedap. Kulit buahnya berwarna hijau hingga kuning, dan dagingnya berwarna putih atau merah sesuai jenis kultivarnya (Tousif *et al.*, 2022).

2.1.3 Manfaat Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Daun Jambu biji diketahui mempunyai aktivitas farmakologis dan saat ini telah dimanfaatkan secara luas sebagai obat tradisional di daerah subtropis di seluruh dunia. Daun jambu biji sering digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti demam, vertigo, disentri, diare, gastroenteritis, hipertensi, diabetes, penyakit kuning, karies gigi, serta pereda nyeri dan luka (Naseer *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2021). Selain itu daun jambu biji berkhasiat menurunkan reaksi alergi, serta terbukti efektif menyembuhkan pilek dan batuk dengan cara mengurangi pembentukan lendir dan menjaga saluran pernapasan (Kafle *et al.*, 2018).

2.1.4 Kandungan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Daun jambu biji kaya akan metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin, vitamin, minyak atsiri, dan alkohol seskuiterpen. Kandungan utama daun jambu biji meliputi rutin, naringenin, asam galat, katekin, epikatekin, kaemferol, isoflavonoid, serta flavonoid seperti quercetin yang diketahui bertindak sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi (Kumar *et al.*, 2021).



Gambar 2. Quercetin (Sumber: Naseer *et al.*, 2018)

Quercetin merupakan salah satu jenis flavonol, salah satu subkelas dari senyawa flavonoid. Quercetin memiliki tiga cincin dan lima gugus hidroksil (Dwiwina *et al.*, 2023). Quercetin bekerja sebagai antibakteri yaitu dengan mengkoagulasikan protein yaitu dengan menginaktivasi enzim-enzim serta mengganggu dinding sel, oleh sebab itu memiliki sifat bakterisida yang baik (Yunita *et al.*, 2019).

2.2 Tanaman Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

2.2.1 Klasifikasi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)



Gambar 3. Tanaman Daun Sirih Hijau (Sakinah *et al.*, 2020).

Menurut Patel *et al.*, (2019) klasifikasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Ordo	: Piperales
Family	: Piperaceae
Subfamily	: Piperioideae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper betle</i> L

2.2.2 Morfologi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Sirih merupakan tanaman merambat yang tersebar di seluruh Indonesia, dan banyak ditemui di pekarangan rumah. Tanaman sirih dapat hidup dengan baik pada ketinggian 200-1000 mdpl dengan rata-rata curah hujan sekitar 2250-4750 mm per tahun. Tumbuhan ini dapat tumbuh di kawasan hutan dengan kondisi tanah yang lembab (Sakinah *et al.*, 2020). Bagian dari tanaman sirih yang paling sering digunakan dan diteliti adalah daunnya (Nayaka *et al.*, 2021).

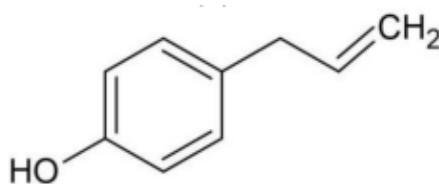
Tanaman sirih merupakan tanaman menjalar yang bercirikan batangnya agak berkayu, daunnya panjang berukuran 10-20 cm, berbentuk bulat telur lebar, agak berbentuk hati, helai daunnya gundul, mengkilat, berwarna hijau hingga kekuningan dengan ujung meruncing, dan tangkai daunnya berukuran 2-5 mm. Daun sirih memiliki aroma yang khas, pedas, dan hangat (Biswas *et al.*, 2022; Patel *et al.*, 2019; Sakinah *et al.*, 2020).

2.2.3 Manfaat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Daun sirih telah banyak dimanfaatkan dalam sistem pengobatan tradisional. Tanaman ini digunakan untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti pilek, batuk, asma bronkial, sakit perut, rematik, serta penyakit lainnya seperti bisul, bau mulut, konjungtivitis, pembengkakan gusi, sembelit, luka pada kulit (Biswas *et al.*, 2022). Di Indonesia daun sirih dapat digunakan sebagai douching vagina, sebagai obat kumur di Thailand dan India, sebagai pengobatan untuk masalah gigi, radang dan nyeri sendi, serta sakit kepala di Malaysia. Selain itu rebusan daun sirih juga dapat dimanfaatkan sebagai tonik atau astringen (Nayaka *et al.*, 2021).

2.2.4 Kandungan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Piper betle L. adalah salah satu tanaman yang banyak diteliti, beberapa penelitian mengungkapkan bahwa tanaman ini mengandung berbagai macam senyawa metabolit sekunder yang aktif secara biologis (Biswas *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun sirih (*Piper betle* L.) antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenolat, dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Florenly *et al.*, 2022). Senyawa lainnya yang terkandung dalam daun sirih yaitu minyak atsiri sebesar 4,2% yang kandungannya sebagian besar terdiri dari betephenol, caryophyllen (sisquiterpen), chavicol, cavibetol, estragol, dan terpenes. Salah satu senyawanya yaitu chavicol diketahui memiliki daya bakterisidal lima kali lebih kuat dibandingkan fenol (Wirahmi *et al.*, 2021).



Gambar 4. Struktur Chavicol (Nayaka *et al.*, 2021)

Kavikol sebagai antibakteri bekerja dengan membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasikan protein sel. Struktur tiga dimensi protein yang terganggu oleh kerja kavikol mengakibatkan berubahnya struktur protein terbuka menjadi tidak beraturan tanpa merusak kerangka kovalen, hal ini menyebabkan protein mengalami denaturasi. Meskipun deretan asam amino yang dimiliki protein masih tetap utuh setelah mengalami denaturasi, aktivitas biologisnya mengalami gangguan sehingga protein gagal menjalankan fungsinya dengan baik (Sadiah *et al.*, 2022).

2.3 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia organik yang diproduksi oleh organisme seperti tumbuhan, jamur, atau bakteri sebagai hasil proses metabolisme. Metabolit sekunder berperan penting sebagai bentuk pertahanan diri tumbuhan. Metabolit sekunder umumnya dikategorikan berdasarkan keragaman struktural, biosintesis, dan fungsinya yang luas (Zandavar & Babazad, 2023). Berdasarkan jalur biosintesisnya metabolit sekunder terbagi menjadi 3 kelas utama yaitu, fenolik, terpen, serta senyawa yang mengandung nitrogen (Twaij & Hasan, 2022).

2.3.1 Fenolik

Senyawa fenolik disintesis melalui jalur fenilpropanoid dan asam shikimat. Senyawa fenolik ditemukan dalam jaringan tanaman, sayuran, dan buah-buahan. Senyawa ini memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih substituen hidroksil yang dapat dibagi menjadi beberapa kelas antara lain, kumarin, furano-kumarin, lignin, flavonoid, isoflavonoid, dan tanin (Bruce 2022; Twaij & Hasan, 2022).

2.3.2 Terpen

Terpen merupakan kelompok metabolit yang beragam secara struktural. Terpen terdiri dari unit isoprena yang dapat dimodifikasi melalui reaksi siklisasi sehingga mudah dikenali. Metabolit ini diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isoprena dalam kerangka karbonnya. Klasifikasi ini meliputi monoterpen, sesquiterpen, diterpene, sesterterpene, triterpene, sesquaterpene, tetraterpen, dan politerpen (Twaij & Hasan, 2022).

2.3.3 Senyawa yang Mengandung Nitrogen

Alkaloid merupakan salah satu senyawa yang mengandung nitrogen dalam senyawa organik sikliknya. Senyawa ini

sebagian besar larut di dalam air. Alkaloid memiliki beberapa senyawa yang termasuk ke dalam golongannya antara lain kafein, nikotin, kokain dan morfin yang dikenal karena efek ansiolitik, analgesik, dan halusinogennya, serta umumnya memiliki efek fisiologis pada sistem saraf pusat (Twaij & Hasan, 2022).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode untuk memisahkan komponen dari campurannya menggunakan suatu pelarut (Fauziyah *et al.*, 2022). Terdapat beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengisolasi senyawa aktif yang berasal dari tanaman yaitu, maserasi, soxhletasi, reflux, sonikasi, destilasi dan masih banyak lagi (Septiani *et al.*, 2021). Penggunaan metode ekstraksi yang berbeda dapat mempengaruhi jumlah ekstrak dan kandungan senyawa yang diperoleh, serta mempengaruhi mutu dari ekstrak yang dihasilkan (Fauziyah *et al.*, 2022).

2.4.2 Metode Ekstraksi Konvensional

1. Maserasi

Maserasi adalah salah satu jenis metode ekstraksi konvensional yang sangat sederhana, bisa dilakukan dimana saja dan paling murah karena pada prosesnya hanya memerlukan wadah yang sederhana, tidak memerlukan pemanasan sehingga memperkecil kemungkinan rusak atau terurainya bahan alam. Namun metode ini memerlukan waktu yang lebih lama bila dibandingkan dengan metode lainnya. Proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain banyaknya sampel yang digunakan,

pemilihan pelarut, dan waktu ekstraksi yang tepat. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dilakukan dengan proses perendaman sampel dalam pelarut ekstraksi yang sesuai (Susanty & Bachmid, 2016; Tambun *et al.*, 2021).

2. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi kontinu otomatis dengan efisiensi ekstraksi tinggi yang memerlukan waktu serta membutuhkan pelarut lebih sedikit dibanding metode maserasi dan perkolasi. Metode ekstraksi ini memerlukan temperatur yang tinggi sehingga besar kemungkinan terjadinya degradasi termal (Zhang *et al.*, 2018). Metode ini disebut soxhletasi karena menggunakan alat yang disebut soxhlet. Alat ini memiliki beberapa bagian yaitu sumber panas, labu alas bulat, ekstraktor soxhlet, dan kondensor (Tambun *et al.*, 2021).

3. Reflux

Reflux merupakan suatu metode ekstraksi berupa proses ekstraksi padat-cair dengan cara pemanasan yang dilakukan pada suhu didih tertentu, dengan pelarut yang menguap dan kemudian terkondensasi kembali secara berulang dalam jangka waktu tertentu tanpa kehilangan pelarut dan pada metode ini terdapat pendinginan balik (Chua *et al.*, 2016; Susanty & Bachmid, 2016). Metode ini sering diterapkan dalam industri jamu karena efisiensinya, kemudahan pengoperasiannya, dan karena dapat menghemat biaya (Chua *et al.*, 2016). Namun metode ini tidak dapat digunakan untuk ekstraksi bahan alam yang bersifat termolabil (Zhang *et al.*, 2018).

4. Dekokta

Dekokta merupakan metode ekstraksi yang melibatkan ekstraksi panas secara terus menerus menggunakan pelarut berupa air dengan volume tertentu. Simplisia yang telah menjadi serbuk ditempatkan pada suatu wadah tertentu kemudian dituangkan air dan diaduk, lalu dilakukan pemanasan untuk mempercepat proses ekstraksi. Proses ini dapat berlangsung selama kurang lebih 15 menit. Perbandingan antara pelarut dan simplisia biasanya berkisar 4:1 atau 16:1. Metode ini dapat digunakan untuk ekstraksi bahan alam yang larut dalam air dan tidak bersifat termolabil (Abubakar & Haque, 2020).

5. Destilasi

Merupakan teknik pemurnian yang bekerja dengan memanaskan senyawa cair hingga menguap, lalu mengumpulkan dan mendinginkan uap tersebut sehingga kembali menjadi cair. Metode ini memanfaatkan perbedaan titik didih komponen dalam campuran cairan, sehingga komponen dengan titik didih terendah akan menguap terlebih dahulu. Ketika uap ini didinginkan, ia akan mengembun menjadi cairan murni yang disebut destilat (Wahyudi & Gusmarwani, 2017).

6. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses kontinyu dimana pelarut yang sudah jenuh secara terus-menerus digantikan oleh pelarut yang baru (Zhang *et al.*, 2018). Proses ekstraksi ini menggunakan alat khusus yang disebut perkolator, berupa bejana kaca berbentuk kerucut sempit yang pada kedua ujungnya terbuka (Abubakar & Haque, 2020).

2.4.3 Jenis Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi tanaman obat disebut juga menstruum. Pemilihan pelarut ditentukan oleh jenis tanaman, bagian tanaman yang diekstraksi, senyawa bioaktif, serta ketersediaan pelarut (Abubakar & Haque, 2020). Pelarut untuk proses ekstraksi dapat terbagi menjadi tiga berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu pelarut yang bersifat polar, contohnya etanol dan metanol, semi polar yaitu etil asetat, serta non-polar seperti n-heksan (Hidayah *et al.*, 2016).

Penentuan pelarut dalam proses ekstraksi didasarkan pada prinsip “*like dissolve like*” yang memiliki arti senyawa polar hanya akan larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa semi polar dan non-polar akan larut dalam pelarut yang sejenis dengan sifatnya. Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi adalah faktor penting yang berpengaruh signifikan terhadap komposisi kimia dan aktivitas biologis dari ekstrak tanaman (Simorangkir *et al.*, 2019).

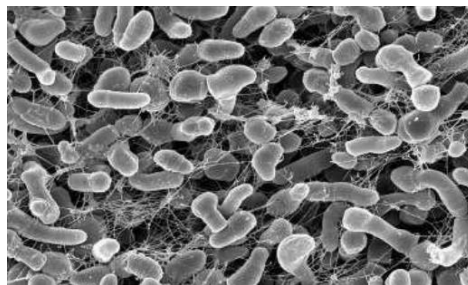
Senyawa-senyawa yang dapat larut dalam pelarut polar antara lain flavonoid, alkaloid kuartener, karotenoid, komponen fenolik, tanin, asam amino, gula, dan glikosida (Agusman *et al.*, 2022; Noviyanty *et al.*, 2019). Pelarut semi polar dapat menarik senyawa fenol, alkaloid, aglikon, terpenoid, dan glikosida likopen, vitamin C, dan beta karoten (Agusman *et al.*, 2022; Sulistiani & Isworo, 2022). Sedangkan pada pelarut non polar senyawa yang dapat ditarik yaitu alkaloid dalam bentuk basa, triterpenoid, likopen, karotenoid lilin, lipid, dan minyak yang sifatnya mudah menguap (Agusman *et al.*, 2022; Sulistiani & Isworo, 2022).

1. Etanol 70%

Etanol 70% merupakan salah satu jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Pelarut ini bersifat lebih polar bila dibandingkan dengan etanol 96% karena pada etanol 70% memiliki persentase air lebih tinggi, sehingga lebih banyak mengandung gugus OH yang sifatnya sangat polar (Wahyudi & Minarsih, 2023). Pelarut etanol memiliki beberapa kelebihan diantaranya sifatnya yang universal, lebih aman dan tidak beracun dibandingkan dengan metanol, serta harganya yang murah (Dwiwina *et al.*, 2023). Kelebihan lainnya dari pelarut etanol 70% yaitu dapat menarik senyawa fitokimia dengan lebih maksimal, hal ini disebabkan karena etanol 70% mengandung air yang cukup banyak yaitu sebesar 30% sehingga pada proses ekstraksi sebagian senyawa akan tertarik oleh etanol dan sebagian lainnya dapat tertarik oleh air. Senyawa-senyawa yang dapat tertarik dalam senyawa polar meliputi asam amino, gula, alkaloid, flavonoid, glikosida flavonoid, dan klorofil. Selain itu, menggunakan pelarut polar seperti etanol 70% pada proses ekstraksi dapat menghasilkan nilai rendemen yang tinggi (Sani *et al.*, 2014).

2.5 *Propionibacterium acnes*

2.5.1 Klasifikasi *Propionibacterium acnes*



Gambar 5. *Propionibacterium acnes* (Zahrah *et al.*, 2018)

Klasifikasi *Propionibacterium acnes* menurut (Harefa *et al.*, 2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Divisi : Actinobacteria
Kelas : Actinobacteridae
Bangsa : Actinomycetales
Marga : Propionibacteriaceae
Genus : Propionibacterium
Spesies : *Propionibacterium acnes*

2.5.2 Morfologi Bakteri *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes adalah mikroorganisme pleomorfik yang termasuk dalam kategori bakteri gram positif. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam kondisi anaerob fakultatif, yang berarti dapat berkembang biak tanpa adanya oksigen, dan pertumbuhannya cenderung lambat. Ciri-ciri *Propionibacterium acnes* dapat diamati melalui pewarnaan gram positif, dimana bakteri ini memiliki bentuk batang panjang dengan ujung melengkung, menyerupai gada atau basil. Pewarnaan bakteri ini tidak merata dan terlihat bermanik-manik. Ukuran bakteri ini berkisar antara 0,5 hingga 0,8 nm untuk lebar, 3 hingga 4 nm untuk panjang, serta bisa berbentuk bulat atau kokoid. Beberapa strain *Propionibacterium acnes* dapat menjadi patogen bagi hewan dan tanaman, meskipun umumnya tidak bersifat toksigenik. Habitat utama bakteri ini adalah kulit, terutama dalam folikel *sebacea*, namun juga dapat ditemukan di konjungtiva, uretra, saluran pernafasan bagian atas, paru-paru, dan usus besar (Pariury *et al.*, 2021).

2.6 Antibiotik

2.6.1 Definisi dan Klasifikasi Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang dapat membunuh ataupun menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme, khususnya bakteri (Pratiwi *et al.*, 2020). Antibiotik berdasarkan perbedaan sifatnya terbagi menjadi dua jenis yaitu, spektrum luas dan sempit. Antibiotik spektrum luas (*broad-spectrum*) memiliki aktivitas meliputi bakteri gram negatif maupun gram positif, beberapa antibiotik dengan *broad-spectrum* yaitu sefalosporin, ampisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan rifampisin. Sedangkan antibiotik spektrum sempit (*narrow-spectrum*) hanya memiliki aktivitas terhadap salah satu golongan bakteri saja, seperti antibiotik penisilin-G, penisilin V (kanamisin, klindamisin, eritromisin) hanya efektif pada bakteri gram negatif saja, adapun antibiotik yang efektif hanya pada bakteri gram positif antara lain, streptomisin, polimiksin-B, gentamisin, dan asam nalidiksat (Krisdianto & Walid, 2023).

Antibiotik berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi menjadi tiga kategori besar yaitu, antibiotik yang bekerja pada dinding sel (β -laktam, glycopeptide, daptomycin, dan colistin), antibiotik yang menghambat sintesis protein baru (aminoglikosida, makrolida, tetrasiklin dan glisiklin, kloramfenikol, dan klindamisin), dan antibiotik yang mengincar DNA atau proses replikasinya (rifamisin, trimetoprim-sulfametoxazol), kuinolon, dan metronidazol) (Anggita *et al.*, 2022). Antibiotik juga dapat digolongkan berdasarkan struktur kimia atau molekulnya yang meliputi beta-laktam, makrolida, tetrasiklin, kuinolon, aminoglikosida, sulfonamida, glikopeptida, dan oksazolidinon (Etebu & Ariekpar, 2016).

Berikut merupakan pengklasifikasian antibiotik berdasarkan struktur kimia atau molekulnya:

1. Beta-laktam

Golongan antibiotik ini memiliki cincin tiga karbon dan satu nitrogen yang sangat reaktif. Struktur ini mampu mengganggu protein penting yang dimiliki oleh bakteri dalam mensintesis dinding selnya. Antibiotik golongan beta-laktam mampu mengikat protein pengikat penisilin (PBP) yang bertanggung jawab untuk menghubungkan unit peptida secara silang selama sintesis peptidoglikan, sehingga proses sintesis peptidoglikan terganggu dan pada akhirnya mengakibatkan lisis dan kematian sel. Antibiotik golongan beta-laktam yang sering ditemui yaitu penisilin, sefalosporin, monobaktam, dan karbapenem (Etebu & Ariekpar, 2016).

2. Makrolida

Makrolida memiliki ciri khas berupa cincin laktosa makrosiklik yang terdiri dari 14,15, atau 16 anggota dengan gula deoksi yang tidak biasa seperti L-cladinose dan D-desosamine yang terikat padanya. Antibiotik ini memiliki aktivitas yang lebih luas dari pada penisilin. Makrolida bertindak dengan cara membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara menghambat secara efektif sintesis protein bakteri. Cara kerjanya adalah dengan mengikat ribosom bakteri, sehingga mencegah penambahan asam amino ke dalam rantai polipeptida selama proses sintesis protein. Beberapa antibiotik golongan makrolida yaitu eritromisin, azitromisin, dan klaritromisin (Etebu & Ariekpar, 2016).

3. Tetrasiklin

Antibiotik ini memiliki empat cincin hidrokarbon dan dikenal dengan nama akhiran -siklin. Antibiotik ini memiliki mekanisme kerja pada ribosom bakteri dengan cara mengganggu penambahan asam amino ke rantai polipeptida selama sintesis protein pada organel bakteri. Contoh beberapa kelompok antibiotik ini antara lain tetrasiklin, oksitetrasilin, doksisisiklin, limesiklin, meklosiklin, dan metasiklin (Etebu & Ariekpar, 2016).

4. Kuinolon

Struktur kuinolon umumnya terdiri dari dua cincin, namun generasi terbaru dari kuinolon memiliki struktur cincin tambahan yang memungkinkan kuinolon memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang lebih luas terhadap beberapa bakteri terutama bakteri anaerob. Antibiotik yang termasuk dalam golongan ini antara lain, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, levofloxacin, dan enrofloxacin (Etebu & Ariekpar, 2016; Fomnya *et al.*, 2021).

5. Aminoglikosida

Aminoglikosida merupakan senyawa gula 3-amino yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Aminoglikosida termasuk golongan antibiotik berspektrum luas yang efektif melawan bakteri gram positif maupun negatif. Aktivitas antibakterinya dengan cara menghambat sintesis protein pada bakteri dengan mengikat salah satu sub unit ribosom. Salah satu antibiotik golongan aminoglikosida yang umum ditemukan pada pengobatan TBC yaitu streptomisin (Etebu & Ariekpar, 2016).

6. Sulfonamida

Sulfonamid merupakan antibiotik berspektrum luas yang mampu menghambat bakteri gram positif dan negatif. Antibiotik ini secara luas digunakan dalam pengobatan berbagai infeksi seperti tonsilitis, septicemia, meningococcal meningitis, dan masih banyak lagi. Beberapa antibiotik yang masuk ke dalam golongan ini antara lain sulfadiazine, sulfamethizole, dan sulfamethoxazol (Etebu & Ariekpar, 2016; Fomnya *et al.*, 2021).

7. Glikopeptida

Glikopeptida merupakan golongan antibiotik yang tersusun dari peptida siklik dari 7 asam amino yang terikat pada 2 gula. Pengikatan antibiotik golongan ini terhadap targetnya melalui pembentukan 5 ikatan hidrogen dengan tulang punggung peptida obat. Antibiotik golongan ini antara lain vancomycin, teichoplanin, talavancin, ramoplanin, dan decaplanin (Etebu & Ariekpar, 2016; Fomnya *et al.*, 2021).

8. Oksazolidinon

Oksazolidinon merupakan kelompok antibiotik yang baru disetujui penggunaannya pada tahun 2000. Linezolid adalah antibiotik pertama dari golongan ini yang disintesis. Mekanisme kerja dari antibiotik ini belum sepenuhnya diketahui, namun diperkirakan oksazolidinon mampu menghambat sintesis protein dengan mengikat situs P subunit ribosom 50S. Linezolid dan tedizolid merupakan antibiotik yang masuk ke dalam golongan ini (Etebu & Ariekpar, 2016; Fomnya *et al.*, 2021).

2.7 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik yang digunakan untuk menentukan seberapa besar konsentrasi suatu zat atau senyawa yang dapat mempengaruhi mikroorganisme, berdasarkan besarnya nilai zona hambat yang terbentuk. Uji ini dapat dilakukan dengan berbagai metode, termasuk metode difusi agar dan dilusi. Dari ketiga metode tersebut, difusi agar adalah metode yang paling umum digunakan dalam analisis aktivitas antibakteri (Nurhayati *et al.*, 2020; Sari *et al.*, 2022).

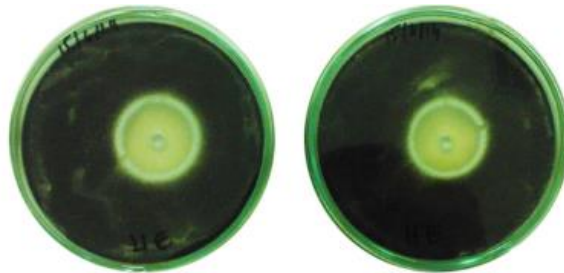
2.7.1 Metode Difusi Agar

Metode difusi agar adalah salah satu metode yang paling sering digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri. Metode ini dikategorikan menjadi tiga cara pengujian yaitu, metode sumuran, cakram, dan silinder. Prinsip kerja metode ini yaitu terjadinya difusi senyawa antibakteri ke dalam media padat yang telah diinokulasikan mikroba uji. Hasil pengamatan menunjukkan terbentuknya zona hambat, yaitu area bening di sekitar cakram atau sumuran yang menandakan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020).

1. Metode Sumuran

Metode sumuran merupakan salah satu jenis metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan cara membuat lubang tegak lurus pada media padat yang sebelumnya telah diinokulasikan bakteri uji untuk kemudian diisi oleh sampel yang akan diuji. Setelah itu dilakukan inkubasi dan diamati pertumbuhan bakterinya untuk melihat terbentuk atau tidaknya zona hambat disekitar lubang. Banyaknya lubang dan letak lubang yang dibuat disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan (Sari & Febriawan, 2021).

Metode ini memiliki kelebihan yaitu, kemudahan dalam mengukur zona hambat karena aktivitas antibakteri dari senyawa bekerja dari permukaan agar hingga ke dasar media, selain itu metode sumuran memungkinkan senyawa antibakteri berkontak langsung dengan media agar yang telah diinokulasikan bakteri, sehingga senyawa antibakteri terserap secara langsung dan terjadi kontak langsung dengan bakteri (Sari & Febriawan, 2021). Metode ini juga memiliki kekurangan yaitu kesulitan dalam membuat sumuran, seperti adanya agar yang tersisa pada media yang dipakai untuk membuat lubang sumuran, selain itu media agar untuk membuat sumuran rentan mengalami pecah atau retak di sekeliling lubang sumuran yang mengakibatkan terhambatnya proses meresapnya antibiotik atau antibakteri ke dalam media sehingga akan mempengaruhi zona hambat yang terbentuk saat melakukan uji aktivitas antibakteri (Nurhayati *et al.*, 2020).



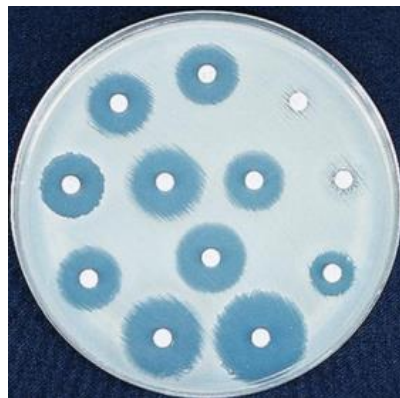
Gambar 6. Metode Sumuran (Balouiri *et al.*, 2016).

2. Metode Difusi Cakram

Metode ini melibatkan penggunaan kertas cakram sebagai penyerap bahan antibakteri yang kemudian dijenuhkan dalam larutan uji, lalu ditempatkan di atas media yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan bakteri uji. Setelah itu inkubasi dilakukan selama 18-24 jam pada suhu 35°C.

Zona bening di sekitar kertas cakram diamati untuk melihat keberadaan atau ketiadaan pertumbuhan bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020).

Metode cakram memiliki kelebihan yaitu pengujiannya lebih cepat, dan pengerjaannya sederhana. Metode ini memiliki kekurangan yaitu besaran diameter zona yang terbentuk dapat dipengaruhi oleh tumpukan kertas yang menyusun cakram disk, tumpukan kertas yang semakin tinggi menyebabkan diameter zona hambat yang terbentuk semakin kecil (Kirtanayasa, 2022; Nurhayati *et al.*, 2020; Sari dan Febriawan, 2021).



Gambar 7. Metode Difusi Cakram (Mahon & Lehman, 2023).

3. Metode Silinder

Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan silinder yang terbuat dari aluminium di atas media padat yang sebelumnya sudah diinokulasikan bakteri, kemudian tiap silinder diletakkan sedemikian rupa di atas media padat untuk kemudian diisi dengan senyawa antibakteri yang akan diujikan, lalu dilakukan inkubasi selama 24 jam dan amati terbentuknya zona bening di sekeliling silinder. Diameter zona hambat berupa area bening tersebut diukur

menggunakan alat khusus yaitu jangka sorong (Tenda *et al.*, 2017).

2.7.2 Metode Dilusi Agar

Metode ini dianggap sebagai metode terbaik untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*), hal ini disebabkan karena metode dilusi dapat mengestimasi konsentrasi agen antimikroba yang diuji pada media agar. Metode ini memungkinkan pengukuran aktivitas antimikroba secara kuantitatif terhadap bakteri serta jamur. Ada dua jenis metode dilusi, yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair digunakan untuk menentukan nilai MIC, sementara dilusi padat digunakan untuk menilai MBC (Balouiri *et al.*, 2016; Sari *et al.*, 2022).

MIC merupakan konsentrasi terendah suatu agen antibakteri dalam menghambat pertumbuhan strain uji suatu organisme dalam kondisi *in vitro* dan dikontrol secara ketat yang dinyatakan dalam mg/L ($\mu\text{g/mL}$) (Krochmal dan Witcher, 2021). Sedangkan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) adalah konsentrasi agen antimikroba terendah yang mampu membunuh 99,9% bakteri uji. MBC dapat dilihat dari ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada cawan petri setelah inkubasi (Mahon & Lehman, 2023; Septya *et al.*, 2023).

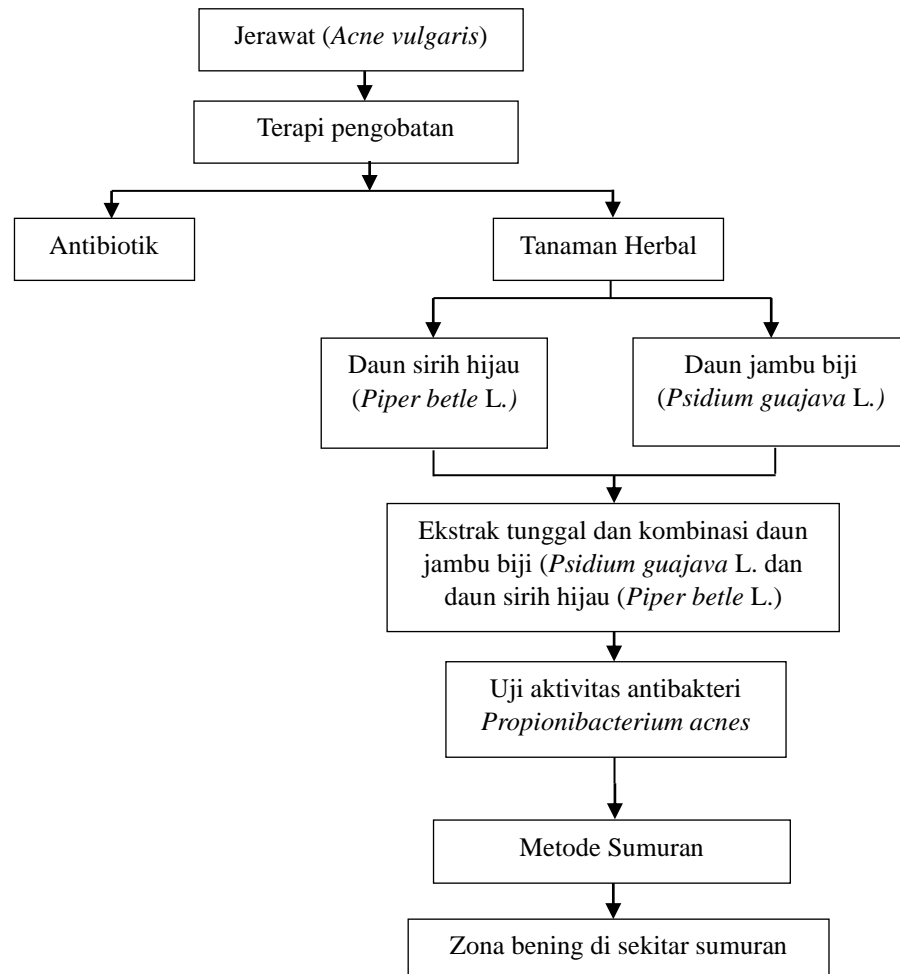
2.8 Media Kultur Bakteri

Media kultur merupakan bahan yang mengandung nutrisi campuran yang digunakan untuk mengembangbiakan mikroorganisme. Nutrisi pada media tersebut dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk kemudian molekul-molekul kecilnya dirakit sebagai komponen penyusun sel mikroorganisme. Pembuatan media kultur ini bertujuan

untuk menyediakan campuran nutrient yang seimbang yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroorganisme yang baik (Atmanto *et al.*, 2022). Media kultur perlu memuat komponen-komponen yang dibutuhkan oleh organisme dalam proporsi yang tepat. Aspek pentingnya adalah ketersediaan sumber energi, berbagai unsur makro dan mikro, vitamin dan komponen lainnya. Selain itu pH media harus sesuai dan sterilisasi sangat penting untuk dilakukan agar organisme yang dibiakkan bisa membentuk kultur murni (Atmanto *et al.*, 2022).

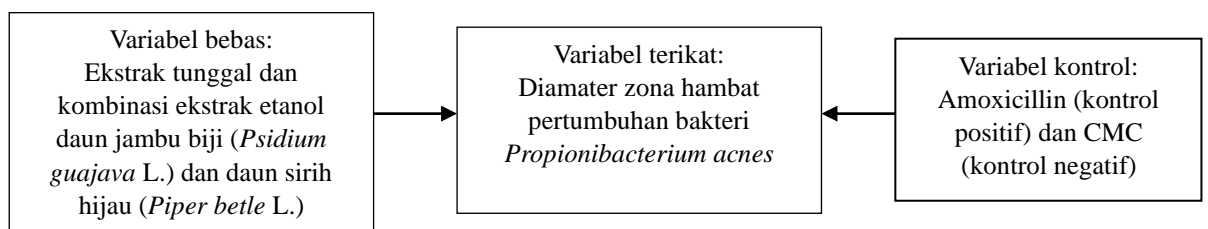
Media kultur dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelas yaitu, komposisi kimia, bentuk fisik dan tipe fungsional. Berdasarkan komposisi kimianya, media dibagi menjadi media kaya (*complex media*) dan media tertentu (*defined media*), *nutrient agar* merupakan contoh *complex media*. Berdasarkan bentuk fisiknya, media dapat dibagi menjadi media cair, semi padat, dan padat. Sedangkan berdasarkan tipe fungsional yaitu media untuk menghitung jumlah bakteri; isolasi bakteri; membedakan kelompok bakteri; menganalisis aspek biokimia dan karakteristik pertumbuhan bakteri; serta menjaga kultur di dalam laboratorium (Rachmat & Shovitri, 2021).

2.9 Kerangka Teori



Gambar 8. Kerangka Teori

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 9. Kerangka Konsep

2.11 Hipotesis

H0: Tidak terdapat perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dari pemberian konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

H1: Adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dari pemberian konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain penelitian yaitu *post-test only control group design*. Pada desain penelitian ini melibatkan dua kelompok yang masing-masing kelompok ini dipilih secara acak (random). Kelompok pertama merupakan kelompok eksperimen, yaitu kelompok yang akan diberikan intervensi, dalam hal ini berupa kombinasi ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Sedangkan kelompok lainnya yaitu kelompok kontrol, yaitu kelompok yang tidak diberikan perlakuan, dalam hal ini tidak mendapatkan perlakuan berupa pemberian variasi konsentrasi, tetapi diberikan Amoxicillin sebagai kontrol positif, dan CMC 0,1% sebagai kontrol negatif (Hardani *et al.*, 2020).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani, Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dan UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga bulan Maret 2024.

3.3 Identifikasi Variabel

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu kombinasi dosis ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dengan konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100% (b/v), Amoxicillin (K+), CMC (K-).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu terbentuknya zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini terdiri dari kontrol positif yaitu amoxicillin dan kontrol negatif yaitu CMC. Amoxicillin dipilih sebagai kontrol positif karena efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif (berspektrum luas) (Trevor *et al.*, 2015). Sedangkan CMC dipilih sebagai kontrol negatif karena tidak memiliki sifat antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil dari pengujian (Khaharap, 2023).

3.4 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel bebas				
Variasi konsentrasi kombinasi ekstrak daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) serta ekstrak tunggal dari kedua tanaman tersebut	Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan perbandingan masing-masing konsentrasi 1:1, serta ekstrak tunggal masing-masing tanaman dengan konsentrasi yang sama.	Timbangan /Neraca analitik	Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.) dan daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) serta ekstrak tunggal dari kedua tanaman tersebut menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan perbandingan kombinasi ekstrak 1:1. Keterangan kombinasi: 20% = 0,6 g (0,3 g:0,3 g) 40% = 1,2 g (0,6 g:0,6 g) 60% = 1,8 g (0,9 g:0,9 g) 80% = 2,4 g (1,2 g:1,2 g) 100% = 3 g (1,5 g:1,5 g)	Ordinal
Variabel Terikat				
Diameter zona hambat	Zona hambat merupakan daerah bening di sekeliling sumuran berisi kombinasi ekstrak daun jambu biji dan daun sirih hijau pada media pertumbuhan bakteri yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak tersebut terhadap bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> .	Mistar	Terbentuk diameter zona hambat (mm): ≤ 5 mm (lemah) 6-10 mm (sedang) 11-20 mm (kuat) ≥ 21 mm (sangat kuat) (Winastri <i>et al.</i> , 2020).	Rasio
Variabel Kontrol				
Amoxicillin	Amoxicillin merupakan antibiotik β-lactam berspektrum luas yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif.	Timbangan/ Neraca analitik	Larutan Amoxicillin sebagai kontrol negatif dengan bobot 100 mg/ml	Rasio
CMC	CMC (Carboxymethyl Cellulose) merupakan bahan yang dapat membentuk sistem dispersi koloid.	Timbangan/ Neraca analitik	Larutan CMC sebagai kontrol negatif dengan konsentrasi 0,1% (100 mg/100 ml)	Rasio

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: pisau, gunting, toples kaca, batang pengaduk, timbangan analitik, corong, *chopper*, oven, kain saring, kertas saring, *rotary evaporator*, cawan petri, jarum ose, tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, lampu spiritus, *autoclave*, rak tabung reaksi, jangka sorong, aluminium foil, penjepit kayu, mikropipet, *blue tip steril*, *yellow tip steril*, *hot plate*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: tanaman daun jambu biji dan daun sirih hijau, etanol 70%, aqua destilata, Mg, HCl pekat, FeCl₃ 10%, HCl 2N, asam sulfat pekat, pereaksi mayer, kloroform, media Nutrien agar, media MHA, kultur murni *Propionibacterium acnes*, antibiotik Amoxicillin, CMC, NaCl 0,9%, aquadest, larutan *Mc Farland* 0,5.

3.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Dusun Satya Sakti, Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengidentifikasi kebenaran dan mencegah kesalahan dalam proses pengumpulan tanaman yang akan diteliti (Klau & Hesturini, 2021).

Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani FMIPA Universitas Lampung.

3.7.2 Pembuatan Simplisia

Sampel daun jambu biji dan daun sirih hijau yang masih segar ditimbang masing-masing sebanyak 8 kg. Sampel disortasi basah kemudian dicuci menggunakan air mengalir, selanjutnya dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara kombinasi yaitu dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam dan oven pada suhu 50°C selama 4 jam (Andi Wijaya, noviana, 2022.; Husni *et al.*, 2014). Sampel yang sudah kering disortasi untuk menghilangkan pengotor yang masih tersisa dan selanjutnya dihaluskan menggunakan *chopper* hingga diperoleh simplisia serbuk.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak

Simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang telah menjadi serbuk diekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut dan simplisia yaitu 1:5 (Hita *et al.*, 2020).

1. Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Sebanyak 500 g serbuk daun jambu biji dimasukkan ke dalam toples kaca, kemudian ditambahkan 2,5 L etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan diberikan intervensi berupa pengadukan setiap hari dan dilakukan pergantian pelarut etanol 70% dua kali masing-masing sebanyak 1,25 L (Hita *et al.*, 2020). Maserat disaring dengan menggunakan kain dan kertas saring, lalu dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Serbuk daun sirih hijau sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam toples kaca, kemudian ditambahkan 2,5 L etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan diberikan intervensi berupa pengadukan setiap hari dan dilakukan pergantian pelarut etanol 70% dua kali masing-masing sebanyak 1,25 L (Hita *et al.*, 2020). Maserat disaring menggunakan kain dan kertas saring, lalu dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

3. Rendemen Ekstrak

Ekstrak kental daun jambu biji dan daun sirih hijau dihitung rendemennya dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Jumlah bobot ekstrak kental (g)}}{\text{Jumlah bobot simplisia kering (g)}} \times 100\%$$

(Dewatisari *et al.*, 2018).

3.7.4 Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Sampel ekstrak sebanyak 0,5 ml ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 0,5 ml HCl pekat tetes demi tetes. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, kuning, atau coklat (Kartikasari *et al.*, 2022).

2. Uji Fenol

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 2%. Terbentuknya larutan hitam kebiruan menunjukkan adanya senyawa fenol (Kartikasari *et al.*, 2022).

4. Uji Saponin

Sampel ekstrak sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquades. Kocok sampel dengan kuat selama 30 detik. Sampel ekstrak positif mengandung saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil (Kartikasari *et al.*, 2022).

5. Uji Tanin

Sampel ekstrak sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu direaksikan dengan 3 tetes FeCl_3 10%. Sampel ekstrak positif mengandung tanin ditandai dengan timbulnya warna hitam kebiruan (Kartikasari *et al.*, 2022).

6. Uji Alkaloid

Sampel ekstrak sebanyak 0,5 ml ditambahkan 5 tetes kloroform dan 5 tetes pereaksi mayer (1 g KI yang dilarutkan dalam 20 ml aquades, ditambahkan 0,271 g HgCl_2 sampai larut). Timbulnya warna putih kecoklatan menandakan sampel positif alkaloid (Kartikasari *et al.*, 2022).

7. Uji Terpenoid/Steroid

Ekstrak sebanyak 0,5 ml ditambahkan 0,5 ml asam asetat glasial dan 0,5 ml asam sulfat pekat. Timbulnya warna merah atau kuning menandakan ekstrak positif mengandung terpenoid. Sedangkan positif steroid ditandai dengan timbulnya warna biru, ungu, atau hijau (Kartikasari *et al.*, 2022).

3.7.5 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang akan dibuat yaitu larutan uji kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau serta ekstrak tunggal dari masing-masing tanaman, dengan konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% (b/v). Pengenceran kombinasi ekstrak dan ekstrak tunggal menggunakan rumus berikut, dimana (%) merupakan variasi konsentrasi yang akan digunakan, (b) merupakan bobot ekstrak, dan v merupakan volume dari pelarut (Suyasa *et al.*, 2022):

$$\% = \frac{b}{v} \times 100$$

Pelarut yang akan digunakan kali ini yaitu CMC 0,1%. Pembuatan CMC 0,1% dilakukan dengan cara mengembangkan 100 mg CMC menggunakan 100 mL aquades (Khaharap, 2023). Masing-masing konsentrasi ekstrak disuspensikan dalam 3 mL CMC 0,1%.

Tabel 2. Pembuatan Larutan Ekstrak Tunggal dan Kombinasi

Konsentrasi	Perlakuan	Komposisi Konsentrasi Ekstrak		
		Ekstrak Daun Jambu biji	Ekstrak Daun Sirih hijau	CMC
20%	Ekstrak tunggal daun jambu biji	0,6 gram		3 ml
	Ekstrak tunggal daun sirih hijau		0,6 gram	3 ml
	Kombinasi ekstrak 1:1	0,3 gram	0,3 gram	3 ml
40%	Ekstrak tunggal daun jambu biji	1,2 gram		3 ml
	Ekstrak tunggal daun sirih hijau		1,2 gram	3 ml
	Kombinasi ekstrak 1:1	0,6 gram	0,6 gram	3 ml
60%	Ekstrak tunggal daun jambu biji	1,8 gram		3 ml
	Ekstrak tunggal daun sirih hijau		1,8 gram	3 ml
	Kombinasi ekstrak 1:1	0,9 gram	0,9 gram	3 ml
80%	Ekstrak tunggal daun jambu biji	2,4 gram		3 ml
	Ekstrak tunggal daun sirih hijau		2,4 gram	3 ml
	Kombinasi ekstrak 1:1	1,2 gram	1,2 gram	3 ml
100%	Ekstrak tunggal daun jambu biji	3 gram		3 ml
	Ekstrak tunggal daun sirih hijau		3 gram	3 ml
	Kombinasi ekstrak 1:1	1,5 gram	1,5 gram	3 ml

3.7.6 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif dibuat dengan cara menggerus tablet Amoxicillin Trihydrate 500 mg hingga menjadi serbuk, lalu dilarutkan dalam 50 mL aquades steril (Hayati *et al.*, 2022).

3.7.7 Sterilisasi Alat

Sebelum dilakukan penelitian aktivitas antibakteri, alat-alat yang akan digunakan harus menjalani proses sterilisasi terlebih dahulu. Proses sterilisasi dilakukan dengan cara membungkus alat-alat tersebut. Alat-alat yang dapat tahan terhadap pemanasan akan disterilkan di dalam oven pada suhu 160°C selama 2 jam. Alat Ose dan pinset disterilkan dengan cara dipanaskan diatas api spiritus (Wulan & Fardin, 2016; Wulandari *et al.*, 2021). Sementara itu, alat yang berskala dan alat yang tidak tahan terhadap pemanasan akan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Suhu ini merupakan kondisi yang sangat efektif dalam membunuh spora jamur serta bakteri. (Alydrus & Khofifah, 2022; Wulandari *et al.*, 2021).

3.7.8 Pembuatan Media

1. Pembuatan Media Agar Miring

Media NA sebanyak 0,46 g dilarutkan dalam 20 ml aquades (23 g/1000 ml) pada labu erlenmeyer dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* untuk memastikan media dapat tercampur merata. Selanjutnya media dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml dan ditutup dengan menggunakan *aluminium foil*. Media disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C untuk mencegah kemungkinan kontaminasi mikroba yang tidak dibutuhkan. Media yang sudah steril

didiamkan pada suhu ruang selama \pm 30 menit hingga memadat pada kemiringan 30° (Alouw *et al.*, 2022).

2. Peremajaan Bakteri

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu biakan murni bakteri *Propionibacterium acnes*. Proses peremajaan bakteri dilaksanakan dengan langkah awal yaitu mengambil satu ose inokulum dari bakteri *Propionibacterium acnes*. Inokulum ini kemudian digoreskan secara merata di permukaan media agar miring secara aseptis. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C dan dibiarkan selama 24 jam (Rohadi *et al.*, 2022).

3. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri uji ini melibatkan pengambilan sejumlah satu ose bakteri dari kultur bakteri yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya Inokulum dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% lalu dikocok. Setelah itu, kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan kekeruhan larutan standar *McFarland* (Rohadi *et al.*, 2022).

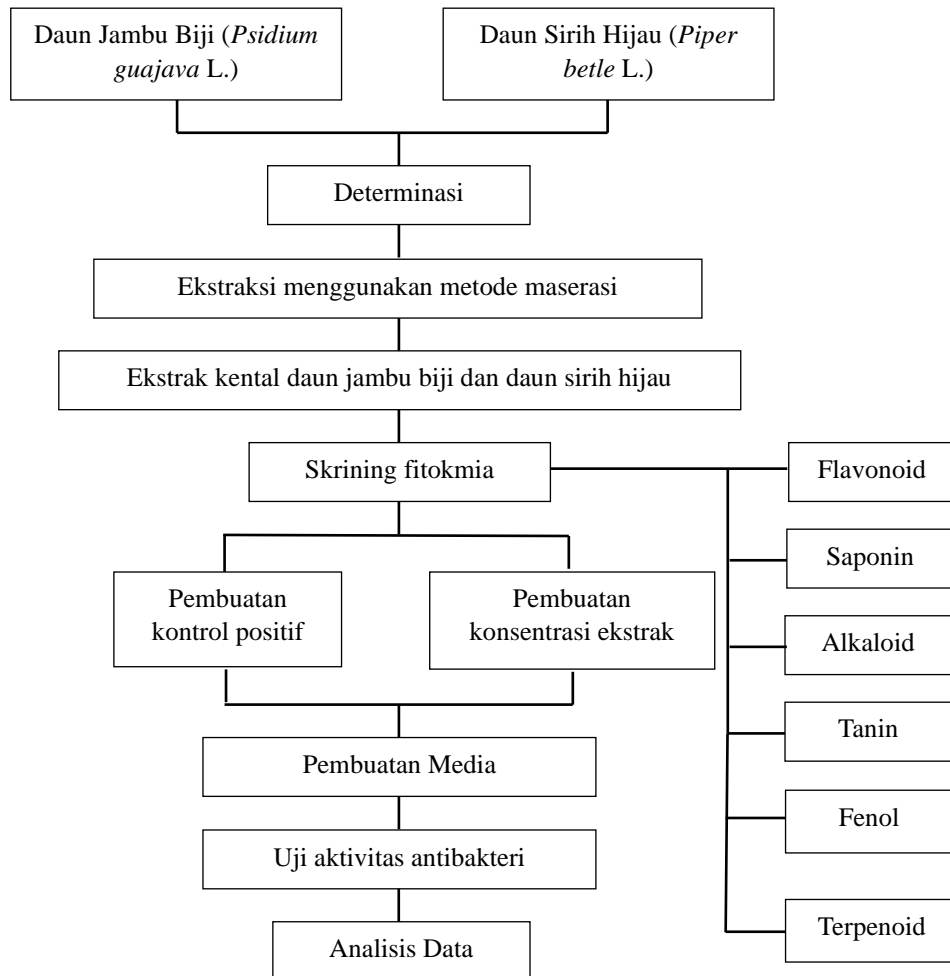
4. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA sebanyak 38 g dilarutkan dalam 1000 mL aquades di dalam erlenmeyer, kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mencapai titik didih. Selanjutnya media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Media yang telah steril dituang secara aseptis ke dalam cawan petri steril dan biarkan hingga memadat (Ningsih *et al.*, 2023; Sari *et al.*, 2022).

3.7.9 Uji aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi sumuran (*well-diffusion method*) dan akan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (triplo) dengan tujuan untuk mengetahui tingkat ketelitian serta ketepatan dari hasil yang telah dilakukan (Fadhilah *et al.*, 2019). Pengujian ini dilakukan dengan menuangkan sebanyak 1 ml suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* ke dalam cawan petri, diikuti dengan penambahan media MHA, lalu campuran media dan bakteri di goyang secara memutar agar tercampur merata dan didiamkan selama 10 menit hingga media memadat. Selanjutnya dibuat lubang sumuran berdiameter 6 mm dengan menggunakan blue tip steril secara aseptis (Kusuma Wardani *et al.*, 2020; Ningsih *et al.*, 2023; Bassy *et al.*, 2023). Masing-masing konsentrasi ekstrak (20%, 40%, 60%, 80%, 100%), CMC 0,1% (K-), dan Amoxicillin (K+) dimasukkan sebanyak 50 µl ke dalam sumuran secara aseptis menggunakan mikropipet. Kultur diletakkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, zona hambatan yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan penggaris/mistar (Bassy *et al.*, 2023; Rahmaningtyas *et al.*, 2022).

3.8 Alur Penelitian



Gambar 10. Alur Penelitian

3.9 Pengolahan dan Analisis Data

Data zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yang diperoleh dari penelitian ini diuji normalitas datanya dengan menggunakan uji Shapiro-wilk untuk mengetahui apakah data penelitian tersebut terdistribusi normal atau tidak (Trisia *et al.*, 2020). Analisis data selanjutnya dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dari pemberian konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih

hijau (*Piper betle* L.) dengan menggunakan uji One-Way ANOVA jika data terdistribusi normal, atau uji Kruskal-wallis jika data tidak terdistribusi normal. Analisis statistik penelitian ini dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%.

3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, instansi dimana penelitian ini dilakukan dengan nomor etik yaitu 476/UN26.18/PP.05.02.00/2024. Lembar persetujuan etik dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Determinasi Tanaman

Berdasarkan determinasi tanaman yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini merupakan daun jambu biji yang masuk ke dalam famili *Mirtaceae* dengan nama spesies yaitu *Psidium guajava* L. serta daun sirih hijau dengan nama famili *Piperaceae* dan nama spesies *Piper betle* L. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1 dan 2**.

4.1.2 Pembuatan Simplisia

Dari proses ini diperoleh bobot simplisia basah dan kering dengan rincian yang tertera pada **tabel 3**.

Tabel 3. Bobot Simplisia Basah serta Kering Daun Jambu Biji dan Sirih Hijau

Tanaman	Bobot Simplisia Basah (Kg)	Bobot Simplisia Kering (Kg)
Daun Jambu Biji	7	4,9
Daun Sirih Hijau	7	5,3

4.1.3 Ekstraksi Simplisia

Hasil ekstraksi simplisia daun jambu biji dan daun sirih hijau menggunakan pelarut etanol 70% pada penelitian ini menghasilkan ekstrak kental dan nilai rendemen yang dapat dilihat pada **tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Ekstrak Kental serta Nilai Rendemen Daun Jambu Biji dan Daun Sirih Hijau

Simplisia	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun jambu biji	500	57,7	11,54
Daun sirih hijau	500	41,4	8,28

Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa bobot ekstrak daun jambu biji sebesar 57,7g dengan persentase rendemen sebesar 11,54%. Angka ini menunjukkan hasil yang lebih besar bila dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau yang berbobot 41,4g dengan persentase rendemen sebesar 8,28%. Ekstrak daun jambu biji yang diperoleh dihasilkan warna hijau kehitaman. Sedangkan pada daun sirih hijau ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat kehitaman.

4.1.4 Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan **tabel 5** diperoleh hasil bahwa daun jambu biji dan daun sirih hijau positif kuat mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid, hal ini dapat diamati dari perubahan warna yang terjadi. Namun untuk senyawa alkaloid yang terkandung pada kedua ekstrak diperoleh hasil positif lemah, dan untuk senyawa steroid diperoleh hasil negatif dengan tidak terjadinya

perubahan warna. Sedangkan pada senyawa fenolik memiliki hasil yang berbeda pada kedua ekstrak. Ekstrak daun jambu biji diketahui mengandung senyawa fenolik sedikit lebih banyak dibanding dengan ekstrak daun sirih hijau ditandai dengan perbedaan warna dari hasil yang diperoleh.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jambu Biji dan Daun Sirih Hijau

Senyawa	Perubahan Warna		Hasil	
	Teori	Observasi	Jambu Biji	Sirih Hijau
Flavonoid	Merah, kuning, atau coklat	Kuning	+++	+++
Fenolik	Hitam kebiruan	Hitam	+++	++
Saponin	Terbentuk buih yang stabil	Terdapat buih	+++	+++
Tanin	Hitam kebiruan	Hitam	+++	+++
Alkaloid	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan	+	+
Terpenoid	Merah atau kuning	Merah kekuningan	+++	+++
Steroid	Biru, ungu, atau hijau	Tidak terjadi perubahan warna	-	-

Keterangan:

+++	= Positif kuat
++	= Positif
+	= Positif lemah
-	= Negatif

4.1.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dalam bentuk tunggal dan kombinasi terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan adanya zona hambat. Pada ekstrak tunggal daun jambu biji daya hambat terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 60% dengan rata-rata diameter

zona hambat yang terbentuk sebesar 11,93 mm. Hasil dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Daya hambat
	R1	R2	R3	Rata-rata	
20%	11,00	9,35	10,60	10,31	Sedang
40%	11,30	10,50	10,65	10,81	Sedang
60%	11,80	12,25	11,75	11,93	Kuat
80%	8,90	11,00	11,30	10,40	Sedang
100%	10,65	9,85	10,25	10,25	Sedang
K(+)	31,75	30,82	30,13	30,90	Sangat kuat
K(-)	0,00	0,00	0,00	0,00	Tidak ada

Keterangan:

K (+) : Kontrol Positif (Amoxicillin)

K (-) : Kontrol negatif (CMC)

R1 : Replikasi 1

R2 : Replikasi 2

R3 : Replikasi 3

Ekstrak daun sirih hijau menghasilkan daya hambat yang lebih baik dibandingkan ekstrak daun jambu biji. Konsentrasi 80% menjadi konsentrasi terbaik dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*. Besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi ini dapat dilihat pada **tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Daya Hambat
	R1	R2	R3	Rata-Rata	
20%	10,15	10,10	10,70	10,31	Sedang
40%	11,25	11,45	11,45	11,38	Kuat
60%	15,25	14,25	14,10	14,53	Kuat
80%	15,15	16,00	16,55	15,90	Kuat
100%	14,70	15,70	15,80	15,40	Kuat
K(+)	31,75	30,82	30,13	30,90	Sangat kuat
K(-)	0,00	0,00	0,00	0,00	Tidak ada

Keterangan:

K(+): Kontrol Positif (Amoxicillin)

K(-): Kontrol Negatif (CMC)

R1 : Replikasi 1

R2 : Replikasi 2

R3 : Replikasi 3

Ekstrak kombinasi daun jambu biji dan daun sirih hijau menghasilkan daya hambat yang lebih baik dibanding ekstrak tunggal daun jambu biji, namun tidak lebih baik dibandingkan ekstrak tunggal daun sirih hijau. Pada ekstrak kombinasi rerata ukuran diameter zona hambat terbesar yaitu 12,23 mm yang dihasilkan oleh konsentrasi 60%. Data diameter zona hambat ekstrak kombinasi daun jambu dan daun sirih hijau dapat dilihat pada **tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji dan Daun Sirih Hijau

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				Daya Hambat
	R1	R2	R3	Rata-Rata	
20%	7,70	5,45	8,15	7,10	Sedang
40%	9,95	10,00	9,70	9,80	Sedang
60%	12,80	12,15	11,75	12,23	Kuat
80%	12,20	12,55	11,60	12,11	Kuat
100%	11,20	11,40	11,85	11,48	Kuat
K(+)	31,75	30,82	30,13	30,90	Sangat kuat
K(-)	0,00	0,00	0,00	0,00	Tidak ada

Keterangan:

K(+) : Kontrol Positif (Amoxicillin)

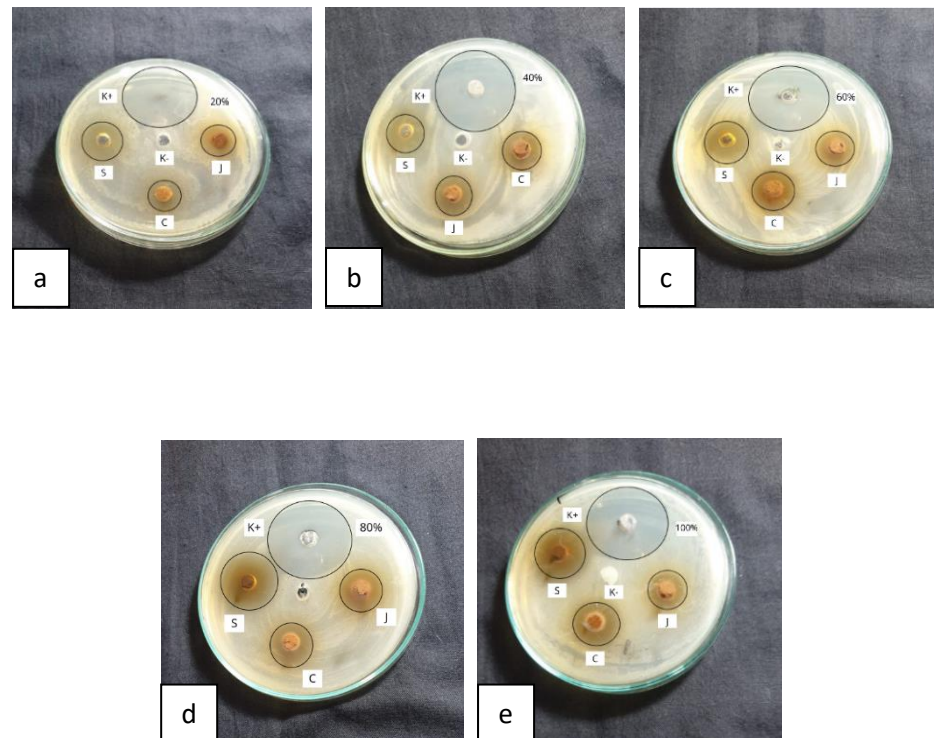
K(-) : Kontrol Negatif (CMC)

R1 : Replikasi 1

R2 : Replikasi 2

R3 : Replikasi 3

Berdasarkan ketiga tabel diatas kemampuan daya hambat terbaik terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* ditunjukkan oleh kontrol positif yaitu amoxicillin, dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 30,90 mm. **Gambar 11** menunjukkan gambaran diameter zona hambat pada masing-masing kategori ekstrak di tiap konsentrasinya.



Gambar 11. Diameter Zona Hambat

Keterangan: (a) Konsentrasi ekstrak 20%, (b) Konsentrasi ekstrak 40%; (c) Konsentrasi ekstrak 60%; (d) Konsentrasi ekstrak 80%; (e) Konsentrasi ekstrak 100%

4.1.6 Perbedaan Zona Hambat Ekstrak Tunggal dan Kombinasi

Perbedaan zona hambat yang terbentuk dari ekstrak tunggal daun jambu biji dianalisis datanya menggunakan uji One-Way ANOVA. Sedangkan data ekstrak kombinasi dan ekstrak tunggal daun sirih hijau dianalisis datanya menggunakan uji Kruskal-wallis. Perbedaan zona hambat dari ekstrak tunggal serta kombinasi dari daun jambu dan daun sirih hijau dikatakan bermakna apabila nilai *p value* <0,05. Berdasarkan pengujian data yang telah dilakukan diperoleh nilai *p value* dari ketiga kategori ekstrak <0,05. Sehingga nilai ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna dari zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dari masing-masing kategori ekstrak. Hasil dapat dilihat pada **tabel 9**.

Tabel 9. Perbedaan Zona Hambat Ekstrak Tunggal dan Kombinasi

Kategori	Analisis Statistik	p value
Ekstrak Daun Jambu Biji	One-Way ANOVA	0,000*
Ekstrak Daun Sirih Hijau	Kruskal-wallis	0,008*
Ekstrak Kombinasi	Kruskal-wallis	0,000*

Keterangan :

*: Terdapat perbedaan bermakna

4.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Dusun Satya Sakti Kecamatan Way Jepara. Penelitian ini diawali dengan melakukan determinasi tanaman untuk memastikan kebenaran dari tanaman yang digunakan dengan melihat dari ciri morfologi tanaman tersebut, dan diperoleh hasil bahwa sampel yang digunakan merupakan daun jambu biji dengan spesies *Psidium guajava* L. dan daun sirih hijau berspesies *Piper betle* L.

Pengumpulan tanaman daun jambu biji dan daun sirih hijau diperoleh hasil bobot basah dari masing-masing daun yang telah disortasi yaitu 7 kg. Sementara itu untuk bobot kering dari kedua daun tersebut setelah dilakukan sortasi kering yaitu sebesar 4,9 kg untuk daun jambu biji serta 5,3 kg untuk daun sirih hijau. Berkurangnya bobot dari masing-masing daun disebabkan oleh proses pengeringan yang sebelumnya telah dilakukan. Proses ini mengakibatkan terjadinya penguapan air serta beberapa senyawa yang mudah menguap yang terkandung di dalam kedua tanaman (Purwanti et al., 2018).

Simplisia kering yang telah terkumpul dihaluskan dengan menggunakan *chopper* untuk memaksimalkan proses ekstraksi. Semakin kecil bentuk daun akan menghasilkan luas permukaan yang semakin besar, hal ini akan memperbesar interaksi antara daun dan pelarut, dengan begitu senyawa-senyawa yang tertarik juga akan semakin banyak (Riduana et al., 2021).

Ekstraksi simplisia daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan selama tiga hari melalui proses pergantian pelarut di setiap harinya. Pergantian pelarut ini bertujuan untuk memaksimalkan penarikan senyawa yang terkandung dalam kedua tanaman tersebut. Pelarut yang digunakan dalam jangka panjang akan mengalami kejenuhan, sehingga efektivitasnya dalam menarik senyawa akan berkurang, itu sebabnya perlu digunakan pelarut yang baru (Asworo & Widwastuti, 2023). Dari proses maserasi ini dihasilkan ekstrak kental daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) sebanyak 57,7 gram dengan rendemen 11,54% dan ekstrak kental daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebanyak 41,4 gram dengan rendemen 8,28%.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari nilai rendemen antara lain, proses ekstraksi dan penggunaan pelarut yang sesuai. Menurut Senduk *et al.*, (2020) durasi waktu selama proses ekstraksi akan mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan, semakin lama proses ekstraksi maka semakin tinggi pula metabolit sekunder yang dapat ditarik keluar sehingga menghasilkan nilai rendemen yang semakin tinggi. Selain itu penggunaan pelarut pada proses ekstraksi juga akan mempengaruhi nilai rendemen yang diperoleh, hal ini didasarkan pada prinsip *like dissolve like*, yang artinya suatu senyawa akan larut dalam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama, seperti senyawa yang bersifat polar akan larut pada pelarut polar, begitupun sebaliknya (Nurjannah *et al.*, 2022).

Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan skrining fitokimia dan diperoleh hasil bahwa ekstrak daun jambu biji positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid dan terpenoid, namun negatif mengandung senyawa steroid. Penelitian terdahulu oleh Ngene *et al.*, (2019) menunjukkan hasil serupa bahwa pada ekstrak

daun jambu biji positif mengandung senyawa-senyawa tersebut dan juga positif mengandung steroid. Hasil yang sama diperoleh pada ekstrak daun sirih hijau yang diketahui positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid, serta negatif mengandung steroid. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.*, (2020) bahwa daun sirih hijau mengandung keenam senyawa tersebut dan juga mengandung steroid.

Adanya perbedaan hasil kandungan senyawa steroid pada penelitian ini dan penelitian yang dilakukan oleh Ngene *et al.*, (2019) dan Kumar *et al.*, (2020) disebabkan oleh lokasi pengambilan sampel yang berbeda. Menurut Andrianto *et al.*, (2020) tanaman yang diambil dari daerah yang berbeda dapat memiliki kandungan senyawa fitokimia yang berbeda pula. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa fitokimia pada suatu tanaman antara lain genotipe, kondisi geografis, dan interaksi agro-biofisika.

Dari hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan diketahui bahwa senyawa-senyawa tersebut menjadi agen antibakteri yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan mekanisme penghambatan yang berbeda-beda. Fenol sebagai agen antibakteri mampu menghilangkan kemampuan bakteri dalam menginfeksi yaitu dengan adanya aktivitas yang dimiliki oleh gugus karboksil pada hidrokarbon aromatik yang membentuk kompleks dengan protein bakteri ekstraseluler. Selain itu fenol dapat menyebabkan kerusakan pada protein tiga dimensi sehingga mengganggu struktur kovalen bakteri gram positif hingga menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri (Lubis *et al.*, 2020). Selain senyawa fenol yang bekerja sebagai antibakteri, terdapat pula senyawa terpenoid. Terpenoid bertindak sebagai agen antibakteri dengan merusak membran serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri (Dasor *et al.*, 2021).

Senyawa flavonoid memiliki mekanismenya sendiri dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu dengan mengganggu konsentrasi kalium bakteri gram positif sehingga menyebabkan disfungsi membran sitoplasma (Lubis *et al.*, 2020). Senyawa lainnya yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu tanin. Tanin dapat menghambat produksi enzim dan reaksi enzimatik pada bakteri serta mampu merubah konsentrasi kalium. Selain itu sebagai agen antibakteri tanin memiliki efek penghambatan terhadap enzim reverse transkriptase serta DNA topoisomerase yang menyebabkan tidak terjadinya pembentukan sel pada bakteri (Niken *et al.*, 2022).

Saponin bekerja sebagai agen antibakteri dengan menghasilkan kompleks polisakarida di dalam dinding sel. Pada saat saponin berinteraksi dengan dinding sel, saponin menyebabkan kerusakan pada struktur tersebut dan membran sel, sehingga mengakibatkan lisisnya bakteri (Niken *et al.*, 2022). Berbeda dengan Alkaloid, senyawa ini memiliki kemampuan untuk mengganggu unsur-unsur penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri yang menyebabkan kematian bakteri (Niken *et al.*, 2022).

Proses selanjutnya yaitu pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam bentuk tunggal dan kombinasi terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, 100% (b/v). Pengukuran diameter zona hambat ekstrak tunggal daun jambu biji menghasilkan nilai zona hambat yang bervariasi pada tiap konsentrasinya. Ekstrak etanol daun jambu biji dalam bentuk tunggal pada konsentrasi 20% dapat menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*, dengan ukuran zona hambat yang terbentuk sebesar 10,31 mm, sementara daya hambat terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu dihasilkan oleh konsentrasi 60% dengan nilai zona hambat sebesar 11,93 mm yang masuk ke dalam kategori daya hambat kuat. Hasil ini selaras dengan

penelitian yang dilakukan oleh Afifi dan Erlin, (2017) bahwa pada konsentrasi 25 mg/mL ekstrak daun jambu biji dapat menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter zona hambat sebesar 8,45 mm, dan konsentrasi terbaik dalam menghambat bakteri ini yaitu 200 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 13,02 mm.

Selain daun jambu biji daun sirih hijau juga memiliki daya hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu pada konsentrasi 20% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 10,31 mm. Berbeda dengan ekstrak etanol daun jambu biji, pada ekstrak etanol daun sirih hijau daya hambat terbaik dimiliki oleh konsentrasi 80% yang menghasilkan zona hambat sebesar 15,90 mm dan termasuk ke dalam kategori kuat. Hasil ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Herdiana *et al.*, 2023, bahwa ekstrak daun sirih hijau pada konsentrasi 5% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter zona hambat sebesar 3,32 mm, dan konsentrasi 15% menghasilkan zona hambat sebesar 8,69 mm yang masuk ke dalam kategori daya hambat sedang.

Berdasarkan hasil data diameter zona hambat yang diperoleh diketahui bahwa ekstrak tunggal daun sirih hijau (*Piper betle* L.) lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dibandingkan ekstrak tunggal daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Hal ini diduga karena adanya aktivitas antibakteri dari senyawa chavicol yang dimiliki oleh daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Chavicol merupakan senyawa turunan fenol yang memiliki aktivitas antibakteri lima kali lebih baik dari senyawa fenol biasa (Pangesti *et al.*, 2017). Sehingga meskipun pada uji skrining fitokimia senyawa fenol yang terkandung di dalam ekstrak daun jambu biji lebih banyak, daya hambat dari ekstrak etanol daun jambu biji tidak lebih kuat dibanding ekstrak etanol daun sirih hijau.

Pada pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau diperoleh hasil daya hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang lebih baik dari ekstrak etanol daun jambu biji, namun tidak lebih baik dari ekstrak etanol daun sirih hijau. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau pada konsentrasi 60% memiliki nilai zona hambat terbaik yang masuk ke dalam kategori kuat yaitu zona hambat yang terbentuk sebesar 12,23 mm. Pada konsentrasi yang sama nilai zona hambat ini lebih baik dibanding ekstrak etanol daun jambu biji memiliki nilai zona hambat sebesar 10,81. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat efek sinergisme antara ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Efek sinergisme ini dapat timbul akibat adanya kesamaan kandungan senyawa yang dimiliki oleh kedua tanaman tersebut (Suyasa *et al.*, 2022).

Selain nilai zona hambat dari ekstrak tunggal dan kombinasi, pada penelitian ini juga diperoleh nilai zona hambat dari kontrol positif yaitu amoxicillin sebesar 30,90 mm yang berarti memiliki daya hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* sangat kuat. Hasil ini jauh lebih besar bila dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dari masing-masing ekstrak tunggal maupun kombinasi dari daun jambu biji dan daun sirih hijau. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi menghasilkan daya hambat yang tidak lebih efektif dari kontrol positif yaitu Amoxicillin.

Selain itu dari hasil pengujian aktivitas antibakteri yang telah dilakukan tidak diperoleh peningkatan nilai zona hambat yang signifikan dari peningkatan konsentrasi ekstrak. Pada penelitian ini nilai zona hambat yang terbentuk semakin meningkat dari konsentrasi 20%, 40%, dan 60%, namun mengalami penurunan pada konsentrasi 80% dan 100%. Hal ini dapat disebabkan oleh kekentalan atau viskositas ekstrak yang

semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi, mengingat pada penelitian ini tidak ada perbedaan jumlah volume pelarut, dimana pelarut yang digunakan yaitu sebanyak 3 mL di tiap konsentrasi. Menurut (Wolde *et al.*, 2018) ekstrak dengan viskositas lebih tinggi memiliki daya hambat yang lebih kecil, karena ekstrak tersebut memiliki laju difusi yang lebih rendah untuk menghambat lebih banyak populasi bakteri. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Meilaningrum *et al.*, (2021) melaporkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin rendah ekstrak tersebut dapat larut sehingga hal ini dapat mempengaruhi kemampuan zat aktif ekstrak untuk berdifusi ke dalam media sehingga menurunkan kemampuan ekstrak dengan konsentrasi tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada media.

Hasil daya hambat yang telah diperoleh dari pengujian aktivitas antibakteri ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu pada proses inkubasi bakteri. Proses ini harus sesuai dengan jenis bakteri yang diujikan, seperti pada penelitian ini menggunakan bakteri *Propionibacterium acnes* yang merupakan bakteri anaerob fakultatif sehingga pada inkubasinya seharusnya menggunakan *anaerobic jar* agar bakteri dapat tumbuh dengan optimal. Namun pada penelitian ini proses inkubasi tidak menggunakan alat tersebut, sehingga kondisi lingkungan hidup bakteri tidak sesuai yang berdampak pada hasil akhir dari pengujian aktivitas antibakteri itu sendiri. Penelitian yang dilakukan oleh DeMars *et al.*, (2016) melaporkan bahwa keberadaan oksigen pada kondisi lingkungan bakteri anaerob fakultatif dapat mengubah fisiologi dan tingkat pertumbuhan bakteri tersebut, yang selanjutnya akan mempengaruhi kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri. Dalam kondisi aerob (adanya oksigen), bakteri ini mungkin menunjukkan pola resistensi yang berbeda dibandingkan dalam kondisi anaerob. Oleh karena itu, pengujian dalam kondisi yang tidak tepat dapat memberikan hasil yang tidak akurat atau tidak konsisten.

Selanjutnya data nilai zona hambat yang diperoleh diolah dan dianalisis menggunakan SPSS 20. Data yang diperoleh diuji normalitas datanya terlebih dahulu dengan menggunakan uji Shapiro-wilk. Berdasarkan uji ini diperoleh hasil yaitu data nilai zona hambat dari ekstrak tunggal daun jambu biji dan ekstrak kombinasi memiliki data yang terdistribusi normal dengan nilai *p value* sebesar $>0,05$. Namun untuk analisis data nilai zona hambat daun sirih hijau diperoleh hasil yaitu data tidak terdistribusi normal. Hasil uji normalitas data nilai zona hambat daun sirih hijau dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

Uji homogenitas pada data hasil pengukuran nilai zona hambat ekstrak tunggal daun jambu biji diperoleh hasil data yang homogen dengan nilai *p value* sebesar 0,334. Pada data hasil pengukuran nilai zona hambat ekstrak etanol daun sirih hijau diperoleh hasil data yang juga homogen dengan nilai *p value* sebesar 0,273. Namun pada hasil pengukuran nilai zona hambat kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji dan daun sirih hijau diperoleh data yang tidak homogen dengan nilai *p value* sebesar 0,032. Sehingga dengan hasil uji normalitas dan homogenitas ini, data yang memenuhi syarat untuk dilakukannya uji parametrik One-Way ANOVA hanya data hasil pengukuran nilai zona hambat ekstrak etanol daun jambu biji, sedangkan kedua data lainnya menggunakan uji non parametrik yaitu uji Kruskal-wallis. Hasil uji homogenitas daun jambu biji dapat dilihat pada **Lampiran 10**, untuk daun sirih hijau pada **Lampiran 11**, dan untuk kombinasi kedua tanaman pada **Lampiran 12**.

Selanjutnya yaitu dilakukan uji parametrik One-Way ANOVA untuk data nilai zona hambat ekstrak daun jambu biji dan uji non parametrik Kruskal-wallis untuk data ekstrak kombinasi serta ekstrak tunggal daun sirih hijau. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui adakah perbedaan yang bermakna (signifikan) dari zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Pada pengujian One-Way ANOVA untuk ekstrak daun jambu biji diperoleh

nilai *p value* sebesar 0,000 dan pada uji Kruskal-wallis untuk ekstrak kombinasi dan ekstrak tunggal daun sirih hijau diperoleh hasil masing-masing 0,000 dan 0,008. Maka dengan ini H₀ ditolak dan H₁ diterima, yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) dari zona hambat yang terbentuk pada masing-masing ekstrak di tiap konsentrasinya.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan yaitu:

1. Kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar lubang sumuran. Namun daya hambat yang dihasilkan masih kurang efektif bila dibandingkan dengan kontrol positifnya yakni Amoxicillin.
2. Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid.
3. Konsentrasi terbaik dari kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu pada konsentrasi 60% dengan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 12,3 mm.

5.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan *anaerobic jar* pada saat proses inkubasi bakteri.

5.3 Keterbatasan Penelitian

1. Pada proses inkubasi bakteri tidak menggunakan *anaerobic jar*, hal ini dapat menjadi faktor yang berpengaruh pada hasil zona hambat dari ekstrak yang diujikan pada bakteri *Propionibacterium acnes*, karena bakteri ini merupakan jenis bakteri anaerob fakultatif yang artinya dapat tumbuh dan hidup dengan optimal dalam keadaan tidak adanya oksigen, namun pertumbuhannya cenderung tidak optimal jika terdapat oksigen.
2. Keterbatasan peneliti dalam hal pengalaman dan keahlian dalam menjalankan metode laboratorium seperti teknik *pipetting*, sterilisasi alat atau pengukuran bisa menjadi faktor lainnya yang mempengaruhi hasil akhir dari penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10.
- Afifi, R., & Erlin, E. (2018). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Terhadap Zona Hambat Bakteri *Propionibacterium acnes* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(2), 321–330.
- Agusman, I., Diharmi, A., & Sari, N. I. (2022). Identifikasi Senyawa Bioaktif Pada Fraksi Ekstrak Rumput Laut Merah (*Eucheuma cottonii*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 9(2), 60.
- Ahmad Krisdianto, N., & Walid, M. (2023). Gambaran Tingkat Pengetahuan Obat Antibiotik Secara Rasional Pasien di Apotek Kimia Farma Pematang Sari. *Jurnal*
- Alouw, G. E., Fatimawali, & Lebang, J. S. (2022). Antibacterial Activity Test of Ethanol Extraction from Jamaican Cherry Leaves (*Muntingia calabura* L.) on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria Using Well Diffusion Method. *Pharmacy Medical Journal*, 5(1), 36–44.
- Alydrus, N. L., & Khofifah, N. (2022). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Indonesian Health Journal*, 1(1), 56–61.
- Andrianto, D., Husnawati, Hermita, S., & Haryanti, S. (2020). Classification of betel leaves (*Piper betle*) from 15 ethnics in Eastern Indonesia based on phytochemicals fingerprint analysis. *Biodiversitas*, 21(1), 252–257.
- Anggita, D., Nuraisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46–58.
- Anggraini, W., Puspitasari, M. R., Atmaja, R. R. D., & Sugihantoro, H. (2020). Pengaruh Pemberian Edukasi Terhadap Tingkat Pengetahuan Psien Rawat Jalan Tentang Penggunaan Antibiotik di RSUD Kanjuruhan Kabupaten Malang. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 6(1), 57–62.

- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2).
- Atmanto, Y. , K. , A. , A., Asri, L. A., & Kadir, N. A. (2022). Media Pertumbuhan Kuman. *Jurnal Medika Hutama*, 4(1), 3069–3075.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Baraga, P. V., Mahyarudin, M., & Rialita, A. (2022). Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Isolat Bakteri Endofit Kunyit (*Curcuma longa* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 103–120.
- Bassy, Lukman. L., Tunny, R., & Sahari, S. , W. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Mentimun (*Cucumis sativus* L) Asal Desa Waimital Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(2), 164–175.
- Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D., & Yadav, A. (2013). Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology*, 2013, 1–7. [htt](#)
- Biswas, P., Anand, U., Saha, S. C., Kant, N., Mishra, T., Masih, H., Bar, A., Pandey, D. K., Jha, N. K., Majumder, M., Das, N., Gadekar, V. S., Shekhawat, M. S., Kumar, M., Radha, Proćków, J., Lastra, J. M. P. de la, & Dey, A. (2022). Betelvine (*Piper betle* L.): A comprehensive insight into its ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological, biomedical and therapeutic attributes. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26(11), 3083–3119.
- Chua, L. S., Latiff, N. A., & Mohamad, M. (2016). Reflux Extraction and Cleanup Process by Column Chromatography for High Yield of Andrographolide enriched Extract. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(2), 64–70.
- Cruz, S., Vecerek, N., & Elbuluk, N. (2023). Targeting Inflammation in Acne: Current Treatments and Future Prospects. *American Journal of Clinical Dermatology*, 1–14.
- Dasor, A. Y. C., Sanam, M. U. E., & Ndaong, N. A. (2021). Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Metang (*Lunasia amara blanco*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kajian Veteriner*, 9(3), 157–163. <https://doi.org/10.35508/jkv.v9i3.5661>

- DeMars, Z., Biswas, S., Amachawadi, R. G., Renter, D. G., Volkova, V. V. (2016). Antimicrobial Susceptibility of Enteric Gram Negative Facultative Anaerobe Bacili in Aerobic versus Anaerobic Conditions. *Plos One*, 11(5), 1-12.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197.
- Dewi, R., Febriani, A., & Wenas, D. M. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan Khamir *Malassezia furfur*. *Sainstech Farma*, 12(1), 32–38.
- Dwiwina, R. G., Achadiyani, Dhianawaty, D., Defi, I. R., & Atik, N. (2023). Preliminary Identification and Quantification of Quercetin Concentration and Its Comparison in *Psidium Guajava* L. (Guava) Fruit Ethanol Extract 50% and 70%. *Pharmacognosy Journal*, 15(2), 399–405.
- Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 1, 90–101.
- Fardin, & Wulan, C. (2016). Test Activities Antibacterials Methanol Extract Mushrooms Termites (*Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim.) Against Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. *Majalah Farmasi Nasional*, 13, 46–54.
- Fauziyah, R., Widyasanti, A., & Rosalinda, S. (2022). Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Sisa Pelarut dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Kimia Padjadjaran*, 1, 18–25.
- Florenly, F., Novelya, N., Janiar, M., Miranda, M., Hai, L. Q. P. D., & Quang, P. M. (2022). Nano-Green Betel Leaf Extracts (*Piper betle* L.) Inhibits the Growth of *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. *E-GiGi*, 10(2), 154.
- Fomnya Joseph, H., Ibrahim Ngulde, S., Ahmed Amshi, K., Joseph Fomnya, H., & Bilbonga, G. (2021). Antibiotics: Classifications and mechanism of resistance. *Article in International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*.
- Hayati, A. R., Singkam, A. R., & Jumiarni, D. (2022). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Theobroma cacao* L. terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 5(1), 31–40. h
- Hidayah, N., Khoirotun Hisan, A., Solikin, A., Mustikaningtyas, D., Biologi, J., & Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, F. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak

- Sargassum muticum Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas Staphylococcus aureus. *Journal of Creativity Students*, 1(1), 1–9.
- Hita, I. , P. , G. , A. , P., Arimbawa, P. E., & Windydaca Bp, D. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. *Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 9(2), 49–54.
- Husni, A., Putra, D. R., & Bambang Lelana, I. Y. (2014). Aktivitas Antioksidan Padina sp. pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 9(2), 165.
- Imasari, T., & Emasari, F. A. (2021). Deteksi Bakteri Staphylococcus sp. Penyebab Jerawat Dengan Tingkat Pengetahuan Perawatan Wajah Pada Siswa Kelas XI di SMK Negeri 1 Pagerwojo. *Jurnal Sintesis*, 2(2), 58–65.
- Kafle Veterinray Officer, A., Anantha Padmanabha Swamy Pharma, S., Sangita Mohapatra, S., Reddy, I., Nehru, J., Officer, V., Kafle, A., & Chapagain, M. (2018). A Review on Medicinal Properties of Psidium guajava. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(4), 44–47.
- Kalsum, U., Farid, N., Inayah, N., & Arman, M. (2021). Potential Test of Green Betel (Piper Betle L.) Leaf Extract Cream In Combination With Basil Leaf Extraction (Ocimumsanctum L.) as Anti Ance. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 7(3), 2579–4558.
- Karnirius Harefa, Barita Aritonang, & Ahmad Hafizullah Ritonga. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Markisa Ungu (Passiflora Edulis Sims) Terhadap Bakteri Propionibacterium Acnes. *Jurnal Multidisiplin Madani*, 2(6), 2743–2758.
- Kartikasari, D., Ristia Rahman, I., & Ridha, A. (2022). Uji Fitokimia pada daun Kesum (Polygonum minus Huds.) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 35–42.
- Khaharap, E. (2023). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Tawas Ut (Ampelocissus Rubiginosa Lauterb) pada Eschericia Coli dan Staphylococcus aureus Secara In Vitro. *Jurnal Surya Medika*, 9(1), 289–298.
- Kiko, P. T., Taurina, W., & Andrie, M. (2023). Karakterisasi Proses Pembuatan Simplisia Daun Sirih Hijau (Piper Betle) Sebagai Sediaan Obat Penyembuhan Luka. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(1).
- Kirtanayasa, I. , G. , Y. , A. (2022). Literatur Review : Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak Tanaman Terhadap Bakteri Klebsiella Pneumonia. *Gema Agro*, 27(2), 107–111.
- Klau, M. H. C., & Hesturini, R. J. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (Clinacanthus nutans (Burm F) Lindau) Terhadap

- Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1), 6–12. <https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59>
- Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Sneha Nair, M., Maheshwari, C., Sasi, M., Prajapati, U., Hasan, M., Singh, S., Changan, S., Prajapat, R. K., Berwal, M. K., & Satankar, V. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Foods*, 10(4), 1–20.
- Kumar, S. S., Pauly, S. V., & G., S. (2020). Phytochemical Screening of Inflorescence of Piper Betle. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 89–92.
- Kusuma Wardani, A., Fitriana, Y., Malfadinata, S., Program Studi Farmasi, D., Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram, F., Program Studi Farmasi, M., & Ilmu Kesehatan, F. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat *Staphylococcus epidermidis* Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1).
- Leung, A. K. C., Barankin, B., Lam, J. M., Leong, K. F., & Hon, K. L. (2020). Dermatology: How to Manage Acne Vulgaris. In *Drugs Context* (Vol. 10, pp. 1–18). Bioexcel Publishing LTD.
- Listiawan, M. Y., Fajrin, F. M., Rahmadewi, R., Hidayati, A., Sawitri, S., Indramaya, D. M., Setiabudi, R. J., & Wardiana, M. (2022). Clinical Profile and Treatment of Acne Vulgaris Patients. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 34(3), 156–161.
- López, J. E. A., Flores-Gallegos, A. C., Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, K. N., Martínez, G. A., & Aguilar, C. N. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit and Valorization of Industrialization by-Products. *Processes*, 9(6), 1–17.
- Lubis, R. R., Marlisa, & Wahyuni, D. D. (2020). Antibacterial activity of betle leaf (*Piper betle* L) extract on inhibiting *Staphylococcus aureus* in conjungtivitis patient. *Am J Clin Exp Immunol*, 9(1), 1–5.
- Mahon, C. R., & Lehman, D. C. (2023). *Textbook of Diagnostic Microbiology* (C. R. Mahon & D. C. Lehman, Eds.; 7th Edition). Elsevier.
- McLaughlin, J., Watterson, S., Layton, A. M., Bjourson, A. J., Barnard, E., & McDowell, A. (2019). *Propionibacterium acnes* and acne vulgaris: New insights from the integration of population genetic, multi-omic, biochemical and host-microbe studies. *Microorganisms*, 7(5), 1–29.
- Meilaningrum, A. N., Putri, N. E. K., & Sastyarina, Y. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kombinasi Umbi Bawang Tiwai dan Kulit Buah Lemon Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 13, 8–13.

- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., & Rahman, M. (2018). The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience*, 4(1), 1–8.
- Nayaka, N. M. D. M. W., Sasadara, M. M. V., Sanjaya, D. A., Yuda, P. E. S. K., Dewi, N. L. K. A. A., Cahyaningsih, E., & Hartati, R. (2021). Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules*, 26(8), 1–21.
- Ngene, A. C., Aguiyi, J. C., Chibuike, C. J., Ifeanyi, V. O., Ukaegbu-Obi, K. M., Kim, E. G., C. Ohaeri, U., & Onyemegbulem, B. O. (2019). Antibacterial Activity of *Psidium guajava* Leaf Extract against Selected Pathogenic Bacteria. *Advances in Microbiology*, 09(12), 1012–1022.
- Ningsih, S. N., Winahyu, D. A., & Retnaningsih, A. (2023). Antibacterial Activity Test of Durian Skin Extract Ointment (*Durio zibethinus* L.) Against *Staphylococcus aureus* With Well Diffusion Method. *Jurnal Analis Farmasi*, 8(2), 295–306.
- Noviyanty, A., Salingkat, C. A., & Syamsiar. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Ekstraksi Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Riset Kimia*, 5(3), 271–279.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurjannah, I., Ayu, B., Mustariani, A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 4(1), 23–36.
- Nursanty, R., Padzil, K. N. B. M., Ramli, N. I. B., Mahyudin, N. A., Jaafar, A. H. Bin, & Rukayadi, Y. (2023). Phytochemical Analysis of Ethanolic *Psidium guajava* Leaves Extract Using GC-MS and LC-MS. *Biodiversitas Journal*, 24(5), 2723–2732.
- Pangesti, D. R., Cahyono, E., & Ersanghono Kusumo. (2017). Perbandingan Daya Antibakteri Ekstrak dan Minyak Piper betle L. terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3), 270–278.
- Pariury, J. A., Paul Christian Herman, J., Rebecca1, T., Veronica, E., Kamasan, G., & Arijana, N. (2021). Potensi Kulit Jeruk Bali (*Citrus Maxima* Merr) Sebagai Antibakteri *Propionibacterium acne* Penyebab Jerawat. *Hang Tuah Medical Journal*, 19(1), 119–131.

- Patel, N. M., Jain, D. D., Suryawanshi, H. P., & Pawar, S. P. (2019). Phytopharmacological Study of Piper Betle Leaf. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, 05(11), 964–971.
- Pratiwi, A. I., Wiyono, W. I., & Jayanto, I. (2020). Pengetahuan Dan Penggunaan Antibiotik Secara Swamedikasi Pada Masyarakat Kota. *Jurnal Biomedik: JBM*, 12(3), 176.
- Pribadhi, A. N., Mastuti, S., & Purwaningrum, E. (2023). Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Probiotik Dalam Melawan Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis. *Jurnal Indobiosains*, 5(1), 1–7.
- Rachmat, S. S., & Shovitri, M. (2021). Studi Literatur Tentang Teknik Liofilisasi untuk Preservasi Bakteri. *Jurnal Teknik ITS*, 10(2), 17–22.
- Rahmaningtyas, W., Fery Yuniarto, P., & Savitri, L. (2022). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes. *Jurnal Mahasiswa Kesehatan*, 4(1), 53–61.
- Rahmi Fadhilah, F., Pitono, A. J., & Fitriah, G. (2019). Uji Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli Menggunakan Ekstrak Rimpang Kunyit Curcuma domestica val. 9(2), 35–45.
- Riduana, T. K., Isnindar, I., & Luliana, S. (2021). Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (Premna serratifolia Linn.) dan Kayu Secang (Caesalpinia sappan Linn.). *Media Farmasi*, 17(1), 16.
- Rohadi, D., Hidayati, R., & Aprian, A. (2022). Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes. *Jurnal Medimuh*, 2(2), 99–106.
- Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Kajian Daun Sirih Hijau (Piper betle L) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128.
- Sakinah, D., Misfadhila, S., & Author, C. (2020). Review of Traditional Use, Phytochemical and Pharmacological Activity of Piper betle L. *Galore International Journal of Health Sciences and Research*, 5(3), 59–66.
- Salahudin, F., & Cahyanto, H. A. (2020). Aktivitas Antibakteri Propionibacterium acnes dan Formulasi Ekstrak Etanol Biji Pinang (Areca catechu, L) dalam Krim Anti Jerawat. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*, 12(1), 21.
- Sampath Kumar, N. S., Sarbon, N. M., Rana, S. S., Chintagunta, A. D., Prathibha, S., Ingilala, S. K., Jeevan Kumar, S. P., Sai Anvesh, B., & Dirisala, V. R. (2021). Extraction of bioactive compounds from Psidium guajava leaves and its utilization in preparation of jellies. *Springer Open*, 11(1).
- Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., & Maligan, J. M. (2014). Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis chuii. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 121–126.

- Santos, Z. M. Q. Dos, Velho, M. C., Zan, F. R., Rech, V. C., & Ourique, A. F. (2020). Review of Clinical Factors That Cause Acne Vulgaris. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8(9), 434–447.
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), 105–114.
- Sari, Z. A. A., & Febriawan, R. (2021). Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby Bauer Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Medika Utama*, 2(4), 1156–1162. <http://jurnalmedikahutama.com>
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15.
- Septiani, G., Susanti, S., & Sucitra, F. (2021). Effect of Different Extraction Method on Total Flavonoid Contents of *Sansevieria trifasciata* P. Leaves Extract. *Jurnal Farmasi Galenika*, 7(2), 143–150.
- Septya, E. N., Amelia, R., & Suharyani, I. (2023). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Extract of NADES Nail Henna Leaves Against *Bacillus Cereus* Bacteria Ekstrak. *Consilium Sanitatis: Journal of Health Science and Policy*, 1(1), 1–8.
- Sifatullah, N., & Zulkarnain. (2021). Jerawat (Acne vulgaris): Review Penyakit Infeksi Pada Kulit. *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals With Biodiversity in Confronting Climate Change*, 19–23. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>
- Simorangkir, M., Nainggolan, B., & Silaban, S. (2019). Potensi Antibakteri Ekstrak n-Hexane, Etil Asetat, Etanol Daun Sarang Banua (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) Terhadap *Salmonella enterica*. *Jurnal Biosains*, 5(2), 92–98.
- Sulistiani, R. P., & Isworo, J. T. (2022). Efektivitas Jenis Pelarut dan Metode Ekstraksi dari Daun Talas (*Colocasia esculenta* L. Schoot). *Jurnal Gizi*, 11(2), 68–76.
- Susanty, L.), & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87–93.
- Suyasa, I. B. O., Trisna Bagus Wibawa, Janurianti, N. M. D., & Putu Diah Wahyuni. (2022). Antibacterial Activity of Legundi Leaf Extract (*Vitex trifolia* L.) with Betel Leaf Extract (*Piper betle* L.) against *Staphylococcus*

- aureus. *Sustainable Environment Agricultural Science Journal*, 6(2), 112–118.
- Tambun, R., Alexander, V., & Ginting, Y. (2021). Performance Comparison of Maceration Method, Soxhletation Method, and Microwave-assisted Extraction in Extracting Active Compounds From Soursop Leaves (*Annona muricata*): A review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1122(1), 012095.
- Tan, S. T., & Firmansyah, Y. (2021). New Drug Formulations for Acne Vulgaris-Pathogenesis Based Treatment of Acne vulgaris. *Jurnal Medika Hutama*, 2(4), 1021–1026.
- Tenda, P. E., Lenggu, M. Y., & Ngale, S. M. (2017). Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Faloak Tree Skin (*Sterculia* sp.) On Staphylococcus Aureus Bacteria Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Faloak (*Sterculia* sp.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal Info Kesehatan*, 15(1), 227–239.
- Tousif, M. I., Nazir, M., Saleem, M., Tauseef, S., Shafiq, N., Hassan, L., Hussian, H., Montesano, D., Naviglio, D., Zengin, G., & Ahmad, I. (2022). *Psidium guajava* L. An Incalculable but Underexplored Food Crop: Its Phytochemistry, Ethnopharmacology, and Industrial Applications. *Molecules*, 27(20), 1–34.
- Trevor, A. J., Katzung, B. G., & Kruidering-Hall Marieke. (2015). *Pharmacology Examination and Board Review* (11th Edition). Mc Graw Hill Education.
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A., N. (2018). Uji AKtivities Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus Dengan metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136–143.
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14.
- Ugbogu, E. A., Emmanuel, O., Uche, M. E., Dike, E. D., Okoro, B. C., Ibe, C., Ude, V. C., Nwabu Ekweogu, C., & Chinyere Ugbogu, O. (2022). The Ethnobotanical, Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Psidium guajava* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(5), 1–25.
- Umilia Purwanti, N., Luliana, S., & Sari, N. (2018). Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Pharmacy Medical Journal*, 1(2), 63–72.
- Wahyudi, A. T., & Minarsih, T. (2023). Pengaruh Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak

- Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*). *Indonesian Journal Pharmacy and Natural Product*, 6(1), 30–38.
- Wahyudi, J. J., & Gusmarwani, R. S. (2017). Pemurnian Bioetanol Fuel Grade Dari Pemurnian Crude Ethanol (Variabel Distilasi-Ekstraksi). *Jurnal Inovasi Proses*, 2(2), 43–48.
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengeringan. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 185–194.
- Wirahmi, N., Masrijal, C., D., P, Amri, Z., Ikhsan, & Triyansyah, I., T. (2021). Formulation and Antibacterial Activity of Natural Disinfectant Combination of *Psidium guajava* and *Piper betle* Leaf Infusion Against *Staphylococcus aureus*. *Advances in Health Sciences Research*, 40, 91–97.
- Wolde T., Kuma H., Trueha K., & Yabeker A. (2018). Anti-Bacterial Activity of Garlic Extract against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Pharmacovigilance*, 06(01).
- Wulandari, S., Nisa, Y., S., Taryono, Indiarti, S., Sayekti, Rr., R., S. (2021) Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Journal of Agrotechnology Innovation*, 4(2), 16-19.
- Yunita, E., Fatimah, S., Yulianto, D., Trikuncahyo, V., & Khodijah, Z. (2019). Anti-Inflammatory Potential of Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Leaves: Study In Silico. *Akfarindo*, 4(2), 42–50.
- Zahrah, H., Mustika, A., & Debora, K. (2018). Aktivitas Antibakteri dan Perubahan Morfologi Dari *Propionibacterium acnes* Setelah Pemberian Ekstrak *Curcuma Xanthorrhiza*. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 20(3), 160–169.
- Zandavar, H., & Babazad, M. A. (2013). *Secondary Metabolites: Alkaloids and Flavonoids in Medicinal Plants*. www.intechopen.com
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. In *Chinese Medicine* (Vol. 13, Issue 1, pp. 1–26). BioMed Central Ltd.