

**PENGUJIAN TOTAL FENOLIK, ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI,
FRAKSI ETIL ASETAT DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
MENGUNAKAN METODE *Ultrasound-Assisted Extraction***

Skripsi

**Oleh
SUCI AINU SELLA
2018031002**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**PENGUJIAN TOTAL FENOLIK, ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI,
FRAKSI ETIL ASETAT DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.)
MENGUNAKAN METODE *Ultrasound-Assisted Extraction***

**Oleh
Suci Ainu Sella**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Program Studi Farmasi
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi : **PENGUJIAN TOTAL FENOLIK, ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI, FRAKSI ETIL ASETAT DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.) MENGGUNAKAN METODE *Ultrasound-Assisted Extraction***

Nama Mahasiswa : **Suci AINU Sella**

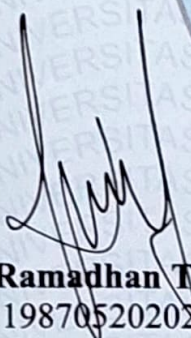
No. Pokok Mahasiswa : 2018031002

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran



1. Komisi Pembimbing


apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si
NIP. 198705202020121015


Afriyani, S.Farm., M.Farm
NIP. 199504172022032022

2. Dekan Fakultas Kedokteran

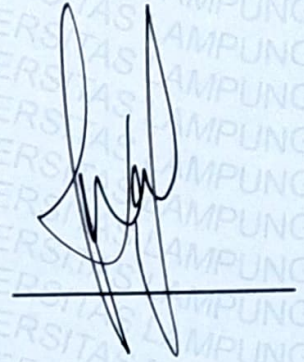


Dr.dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

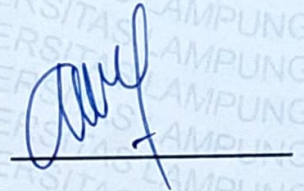
1. Tim Penguji
Ketua

: **apt. Ramadhan Triyandi,**
S.Farm., M.Si



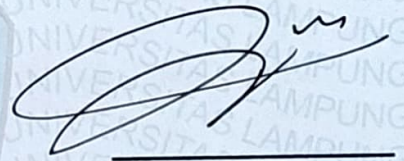
Anggota

: **Afriyani, S.Farm., M.Farm**



Penguji
Bukan Pembimbing

: **apt. Muhammad Iqbal,**
S.Farm., M.Sc



2. Dekan Fakultas Kedokteran



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **23 April 2024**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGUJIAN TOTAL FENOLIK, ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI, FRAKSI ETIL ASETAT DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.) MENGGUNAKAN METODE *Ultrasound-Assisted Extraction*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hak 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, 23 April 2024
Buat Pertanyaan



Suci Ainu Sella
NPM. 2018031002

RIWAYAT HIDUP

Suci Ainu Sella lahir di Bandar Lampung, 27 Oktober 2002. Penulis lahir dari pasangan Bapak Bahnam dan Ibu Hamimah dan merupakan anak pertama dari dua bersaudara, yaitu Nesya Bela Aprilia. Penulis memulai pendidikan formalnya di TK Setia Kawan pada tahun 2006. Lalu, pada tahun 2008 penulis melanjutkan sekolah dasar di SDN 1 Karang Maritim. Kemudian Penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama pada tahun 2014 di SMP Negeri 1 Bandar Lampung. Pada tahun 2017 penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 10 Bandar Lampung. Pada tahun 2020, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis menjalani perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi kemahasiswaan. Penulis diberi kesempatan untuk bergabung dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) Universitas Lampung sebagai Staff Departemen Media Desain Komunikasi dan Informasi (Medkominfo) selama dua tahun. Penulis juga mendapatkan kesempatan untuk bergabung dalam organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina sebagai sekretaris Divisi Kemediaan.

Penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “Pengujian Total Fenolik, Antioksidan Dan Antibakteri, Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Menggunakan Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*”.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

{Bismillahirrahmanirrahim}

إِنَّ اللَّهَ يُحِبُّ الْمُحْسِنِينَ

Sesungguhnya Allah menyukai orang-orang yang berbuat baik.

QS. Al-Baqarah [2] : 195

Untuk Papa, Mama, dan Dede tersayang

SANWACANA

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT karena atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengujian Total Fenolik, Antioksidan Dan Antibakteri, Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Menggunakan Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*”**. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, saran, kritik, dukungan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati dari lubuk hati yang paling dalam, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, Yang Maha Membolak-balikkan hati, Yang Maha Mengetahui, Yang Maha Adil, Yang Maha Pengasih dan Penyayang;
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M. Sc selaku PLT Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Oktafany, S.Ked., M.Pd.Ked selaku Kepala Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
6. Afriyani, S.Farm., M.Farm selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
7. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini;

8. Dosen Pembimbing Akademik semester satu sampai delapan, Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, M. Kes, Sp.KKLP yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama proses studi di Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung,
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
11. Seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
12. Mama dan Bela yang telah memberikan kasih sayang dan doa yang senantiasa mengiringi langkah penulis. Terima kasih juga atas dukungan, semangat, motivasi, nasihat, waktu, dan tenaga sehingga penulis ada di titik ini;
13. Sahabat-sahabat sejawat kak vadi, kak denia, kak fredy, kak rila, delia, ghina, jeje, bila, dan gemi yang telah memberikan motivasi, dukungan, dan bantuan kepada penulis dan telah menjadi sahabat terbaik selama perkuliahan. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
14. Teman-teman penelitian analisis jasmine, putri, monik, nadia, fitri, dan intan yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penelitian yang dilakukan penulis. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
15. Teman-teman asisten praktikum analisis terutama pipit, nopa, agape, misel, fatiya, dan farhan yang telah memberikan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
16. Teman-teman KKN Tanjung Raya Way Tenong yang telah memberikan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;

17. Teman-teman angkatan 2020 yang telah memberikan semangat penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT dan kelak di masa depan dapat menjadi orang-orang sukses;
18. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat dan menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 24 April 2024

Penulis

Suci Ainu Sella

ABSTRACT

TOTAL PHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT, AND ANTIBACTERIAL TEST ETHYL ACETATE FRACTION OF RAMBUTAN LEAVES (*Nephelium lappaceum* L.) USING THE *Ultrasound- Assisted Extraction METHOD*

By

SUCI AINU SELLA

Background: In most cases, secondary metabolite compounds produced by plants are used as targets for compound isolation in experiments to obtain certain pharmacological effects. Rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L.) have various pharmacological properties, including antibacterial and antioxidant properties. The pharmacological properties of plants have been proven to be influenced by the secondary metabolite compounds contained. Phenolic compounds and flavonoids are compounds known to have antibacterial and antioxidant activity. Many factors influence the type and amount of compounds in the extract, such as method, solvent, temperature and extraction time. The *Ultrasound-Assisted Extraction* method is used as a means of increasing the efficiency of extracting desired compounds and is often used in the extraction of thermolabile natural materials.

Method: This research began with extraction of rambutan leaves using the *Ultrasound-Assisted Extraction* method and then continued with multilevel fractionation to obtain the ethyl acetate fraction. The resulting ethyl acetate fraction was tested for the secondary metabolite compounds contained, total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity using the DPPH method, and antibacterial inhibitory power against the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* using the cylindrical diffusion method.

Result: The secondary metabolite compounds contained in rambutan leaves are saponins, alkaloids, phenolics, flavonoids, tannins and triterpenoids. Total phenolic content 324,41 mg GAE/g. Total flavonoid content 145,82 mg QE/g. Effective concentration (IC₅₀) value 19,056 mg/L. The diameter of the inhibition zone against *Staphylococcus aureus* bacteria at concentrations of 20%, 10%, 5%, and 2.5% were 16.33 mm, 11.33 mm, 8 mm, and 4.16 mm, respectively. The diameter of the inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria starts at a concentration of 20%, diameter of inhibition 7 mm.

Conclusion: The ethyl acetate fraction of rambutan leaves has good antioxidant and antibacterial activity.

Keywords: Phenolic, flavonoid, antioxidant, antibacterial, rambutan leaves

ABSTRAK

PENGUJIAN TOTAL FENOLIK, ANTIOKSIDAN, DAN ANTIBAKTERI, FRAKSI ETIL ASETAT DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum* L.) MENGUNAKAN METODE *Ultrasound-Assisted Extraction*

Oleh

SUCI AINU SELLA

Latar Belakang: Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman pada sebagian besar kasus dijadikan target isolasi senyawa pada suatu percobaan untuk mendapatkan efek farmakologis tertentu. Daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki berbagai sifat farmakologis di antaranya sebagai antibakteri dan antioksidan. Sifat farmakologis tanaman telah terbukti dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Banyak faktor yang mempengaruhi jenis dan jumlah kandungan senyawa dalam ekstrak seperti metode, pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi. Metode *Ultrasound-Assisted Extraction* digunakan sebagai sarana meningkatkan efisiensi ekstrak senyawa yang diinginkan dan sering digunakan dalam ekstraksi bahan alam yang *thermolabile*.

Metode: Penelitian ini diawali dengan ekstraksi daun rambutan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* lalu dilanjutkan dengan fraksinasi bertingkat untuk mendapatkan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat yang dihasilkan diuji senyawa metabolit sekunder yang terkandung, kadar total fenolik, kadar total flavonoid, aktivitas antioksidan metode DPPH, dan daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* metode difusi silinder.

Hasil: Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun rambutan adalah saponin, alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Kadar total fenolik 324,41 mg GAE/g. Kadar total flavonoid 145,82 mg QE/g. Nilai IC_{50} 19,056 mg/L. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 10%, 5%, dan 2,5% berturut-turut 16,33 mm, 11,33 mm, 8 mm, dan 4,16 mm. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dimulai pada konsentrasi 20% yaitu 7 mm.

Simpulan: Fraksi etil asetat daun rambutan memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang baik.

Kata kunci: Fenolik, flavonoid, antioksidan, antibakteri, daun rambutan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.3 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Peneliti lain.....	4
1.4.3 Bagi Institut Terkait.....	5
1.4.4 Bagi Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	6
2.1.1 Taksonomi	6
2.1.2 Morfologi.....	6
2.1.3 Kandungan Senyawa.....	8
2.1.4 Aktivitas Biologis	8
2.2 Ekstraksi.....	9

2.2.1	Definisi.....	9
2.2.2	Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	11
2.2.3	Metode Fraksinasi.....	12
2.2.4	Pemilihan Pelarut.....	13
2.3	Senyawa Metabolit Sekunder	15
2.3.1	Definisi.....	15
2.3.2	Senyawa Fenolik.....	16
2.4	Radikal Bebas	17
2.4.1	Definisi.....	17
2.4.2	Antioksidan.....	18
2.4.3	DPPH	19
2.5	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.5.1	Definisi.....	20
2.5.2	Klasifikasi	21
2.5.3	Morfologi.....	22
2.5.4	Patogenesis.....	22
2.5.5	Tatalaksana	23
2.6	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
2.6.1	Definisi.....	23
2.6.2	Klasifikasi	24
2.6.3	Morfologi.....	24
2.6.4	Patogenesis.....	25
2.6.5	Tatalaksana	25
2.7	Metode Uji Antibakteri	26
2.7.1	Definisi.....	26
2.7.2	Metode Difusi	26
2.7.3	Metode Dilusi	28
2.8	Kerangka Teori	30
2.9	Kerangka Konsep.....	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	Identitas Variabel Penelitian	32
3.3.1	Variabel Bebas.....	32
3.3.2	Variabel Terikat	32
3.4	Definisi Operasional	33
3.5	Alat dan Bahan Penelitian.....	34
3.5.1	Alat Penelitian.....	34
3.5.2	Bahan Penelitian	34
3.6	Prosedur Penelitian	34
3.6.1	Determinasi Tanaman Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	34
3.6.2	Preparasi Sampel Daun Rambutan	35
3.6.3	Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Daun Rambutan.....	35
3.6.4	Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Rambutan..	36
3.6.5	Uji Fitokimia Fraksi Daun Rambutan.....	37
3.6.6	Pengukuran Total Fenolik Fraksi Daun Rambutan.....	38
3.6.7	Uji Antioksidan Fraksi Daun Rambutan.....	40
3.6.8	Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Daun Rambutan.....	43
3.7	Alur Penelitian	47
3.8	Pengolahan dan Analisis Data	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		49
4.1	Hasil Penelitian	49
4.1.1	Determinasi Tanaman Rambutan.....	49
4.1.2	Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Rambutan	49
4.1.3	Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	50
4.1.4	Kadar Total Fenolik Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	51
4.1.5	Kadar Total Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	53
4.1.6	Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	55
4.1.7	Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Daun Rambutan.....	57
4.2	Pembahasan.....	62
4.2.1	Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Rambutan	62
4.2.2	Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	64

4.2.3	Kadar Total Fenolik Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	68
4.2.4	Kadar Total Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	69
4.2.5	Uji Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	71
4.2.6	Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Daun Rambutan.....	75
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....		80
5.1	Simpulan	80
5.2	Saran	81

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Klasifikasi Kelas Utama Senyawa Fenolik Berdasarkan Atom Karbon .	7
Tabel 2. Definisi Operasional.....	11
Tabel 3. Hasil Ekstraksi Daun Rambutan	51
Tabel 4. Hasil Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	51
Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan.....	52
Tabel 6. Hasil Pengukuran Total Fenolik Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan...	54
Tabel 7. Hasil Pengukuran Kadar Total Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	57
Tabel 8. Nilai IC ₅₀ Asam Askorbat	59
Tabel 9. Nilai IC ₅₀ Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	59
Tabel 10. Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	60
Tabel 11. Hasil Uji Normalitas Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Tabel 12. Hasil Uji Homogenitas Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Tabel 13. Hasil Uji One Way ANOVA Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Tabel 14. Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
Tabel 15. Hasil Hasil Uji Normalitas Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
Tabel 16. Hasil Uji Kruskal-Wallis Daya Hambat Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
Tabel 17. Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Daun dan Buah Rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.).....	7
Gambar 2. Diagram Skema <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	11
Gambar 3. Mekanisme Ekstraksi Cair-Cair Menggunakan Corong Pisah	13
Gambar 4. Reaksi antara Senyawa Fenol dan <i>Folin-Ciocalteu</i>	17
Gambar 5. Reaksi antara DPPH dan Antioksidan	20
Gambar 6. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada Pewarnaan Gram.....	20
Gambar 7. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Pewarnaan Gram	30
Gambar 8. Difusi Silinder	30
Gambar 9. Kerangka Teori	30
Gambar 10. Kerangka Konsep.....	31
Gambar 11. Alur Penelitian	48
Gambar 12. Kurva Asam Galat Regresi Linear Asam Galat.....	54
Gambar 13. Kurva Persamaan Regresi Linear Kuersetin.....	56
Gambar 14. Kurva Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	58
Gambar 15. Kurva Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan ...	60
Gambar 16. Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	60
Gambar 17. Hasil Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan Terhadap Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	64
Gambar 18. Reaksi Senyawa Saponin Dengan Aquades	70
Gambar 19. Reaksi Senyawa Alkaloid Dengan Reagen	70
Gambar 20. Reaksi Senyawa Fenolik Dengan FeCl ₃	70
Gambar 21 Reaksi Antara Senyawa Fitosterol Dengan H ₂ SO ₄ Pekat	72
Gambar 22. Reaksi Senyawa Fenolik dan Folin-Ciocalteu.....	73
Gambar 23. Reaksi Senyawa Flavonoid dan AlCl ₃	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Surat Izin Penelitian (<i>Ethical Clearence</i>)	100
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi Tanaman	101
Lampiran 3. Proses Ekstraksi	103
Lampiran 4. Proses Fraksinasi	104
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi	105
Lampiran 6. Hasil Skrining Fitokimia	106
Lampiran 7. Pengujian Kadar Total Fenolik	107
Lampiran 8. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Asam Galat	108
Lampiran 9. Hasil Pengukuran Kurva Standar Asam Galat	109
Lampiran 10. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	110
Lampiran 11. Hasil Perhitungan Kadar Total Fenolik Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	111
Lampiran 12. Pengujian Kadar Total Flavonoid	112
Lampiran 13. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Kuersetin	113
Lampiran 14. Hasil Pengukuran Kurva Standar Kuersetin	114
Lampiran 15. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	115
Lampiran 16. Hasil Perhitungan Kadar Total Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	116
Lampiran 17. Pengujian Aktivitas Antioksidan	117
Lampiran 18. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang DPPH	118
Lampiran 19. Hasil Pembacaan Absorbansi Asam Askorbat	119
Lampiran 20. Hasil Perhitungan %inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Asam Askorbat	122

Lampiran 21. Hasil Pembacaan Absorbansi Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	123
Lampiran 22. Hasil Perhitungan %inhibisi dan Nilai IC_{50} Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	126
Lampiran 23. Pengujian Daya Hambat Antibakteri	127
Lampiran 24. Hasil Uji Diameter Zona Hambat Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	128
Lampiran 25. Hasil Analisis Data Diameter Zona Hambat Fraksi Etil Asetat Daun Rambutan	128

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan secara alami menghasilkan senyawa metabolit primer untuk mendukung pertumbuhannya dan senyawa metabolit sekunder untuk bertahan hidup menyesuaikan lingkungan ekologiannya (Teoh, 2016). Terdapat lebih dari 50.000 senyawa metabolit sekunder yang telah diketahui dengan beberapa di antaranya menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai zat aktif ramuan obat dan obat modern untuk meningkatkan kesehatan manusia. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman pada sebagian besar kasus dijadikan target isolasi senyawa pada suatu percobaan untuk mendapatkan efek farmakologis tertentu seperti antioksidan dan antibakteri serta efek farmakologis lainnya (Rusu et al., 2023; Teoh, 2016).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengidentifikasi komponen gabungan dan sifat farmakologis rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Senyawa geranin merupakan senyawa metabolit sekunder yang menunjukkan kemampuan antioksidan yang kuat dalam tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) (Hernández-Hernández et al., 2019; Mendez-Flores et al., 2018; Tsong et al., 2021). Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa bahan kimia fenolik hadir di kulit buah rambutan. Senyawa fenolik ini secara luas diakui sebagai zat bioaktif yang memiliki sifat farmakologis seperti antibakteri, antikanker, antidiabetik, dan antiparasit yang luar biasa (Mendez-Flores et al., 2018). Biji rambutan juga menunjukkan beberapa

aktivitas biologis, termasuk sifat antioksidan, antiproliferatif, antiinflamasi, antiviral, dan antibakteri (Hernández-Hernández et al., 2019).

Hingga saat ini telah banyak agen antibakteri yang ditemukan untuk melawan berbagai infeksi bakteri yang menyerang manusia. Meskipun telah banyak penemuan agen antibakteri baru, bakteri patogen oportunistik salah satunya *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* kerap mengalami evolusi dan peningkatan jumlah bakteri yang resistensi terhadap antibiotik. Hal ini menunjukkan bahwa penemuan alternatif pengganti antibiotik masih sangat dibutuhkan (Heinzinger et al., 2023; Torres et al., 2021). Penemuan senyawa antioksidan juga menarik secara ilmiah dan penting untuk diperhatikan pada saat ini dikarenakan banyaknya manfaat dalam pengaplikasian antioksidan di berbagai aspek farmakologi, kosmetik, teknologi makanan, dan obat-obatan (Zehiroglu & Ozturk Sarikaya, 2019).

Berdasarkan kajian yang dilakukan oleh Barbosa-Pereira et al (2013) kandungan ekstrak bergantung pada pemilihan pelarut serta kualitas sampel bahan dan untuk memastikan produksi ekstrak memiliki sifat antioksidan yang baik dan memenuhi standar untuk pengaplikasian di berbagai sektor pangan, kosmetik dan obat-obatan sangat penting untuk melanjutkan ekstrak ke proses purifikasi. Prosedur lanjutan ini bertujuan untuk menghilangkan komponen inert dan komponen yang tidak diinginkan sehingga meningkatkan efektivitas antioksidan ekstrak sembari meminimalisir atribut bau, warna, serta rasa yang tidak diinginkan (Joshua et al., 2020). Purifikasi ekstrak atau pemurnian ekstrak dapat dilakukan dengan melanjutkan ekstraksi ke tahap fraksinasi. Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa yang banyak digunakan dalam berbagai bidang seperti industri farmasi, makanan, dan minyak. Biasanya fraksinasi digunakan untuk memisahkan sampel menjadi beberapa fraksi yang berbeda (Al-Haj Ibrahim, 2019).

Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait besar kadar total senyawa fenolik terkandung, aktivitas antioksidan dan antibakteri dari fraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Rendemen dari ekstrak dan fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- b. Kandungan kimia dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- c. Kadar total fenolik dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- d. Aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- e. Daya hambat antibakteri dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Adapun tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui kadar total senyawa fenolik, aktivitas antioksidan dan daya hambat antibakteri dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.

1.3.3 Tujuan Khusus

Berikut merupakan tujuan khusus penelitian ini:

- a. Mengetahui rendemen dari ekstrak dan fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- b. Mengetahui kandungan kimia dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- c. Mengetahui kadar total fenolik dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- d. Mengetahui aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- e. Mengetahui daya hambat antibakteri dari fraksi etil asetat hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Diharapkan hasil penelitian ini akan meningkatkan wawasan, informasi, dan minat peneliti dalam bidang farmasi bahan alam.

1.4.2 Bagi Peneliti lain

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi referensi untuk penelitian lanjutan dan dasar untuk mengembangkan pengobatan antibakteri alami serta pengembangan antioksidan berbasis daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.).

1.4.3 Bagi Institut Terkait

Diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi untuk studi lanjutan di Program Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.4 Bagi Masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman masyarakat mengenai pemanfaatan daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebagai agen antioksidan serta antibakteri penunjang alami yang lebih terjangkau.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

2.1.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonomi yang dimilikinya, rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) diklasifikasikan sebagai berikut (Sukmandari et al., 2017)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Orde	: Sapindales
Family	: Sapindaceae
Genus	: <i>Nephelium</i> L.
Spesies	: <i>Nephelium lappaceum</i> L.

2.1.2 Morfologi

Tanaman Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) ini merupakan anggota famili *Sapindaceae* yang berasal dari daerah tropis termasuk Indonesia, Cina, India, Australia, Malaysia, Meksiko, dan Thailand. Asal muasal kata rambut dalam buah rambutan mengacu pada kulit

buah rambutan yang menyerupai “rambut” yang diambil dari bahasa Melayu-Indonesia. Tanaman rambutan, umumnya dapat tumbuh hingga ketinggian 12-20 meter. (Hegde et al., 2023). Daun dari tanaman rambutan mempunyai 2-4 pasang petiolate atau tangkai daun yang berselang-seling, dan bentuk daun menyirip. Ukuran daun berkisar antara 5-28 cm dengan bentuk bulat telur hingga elips. Tulang rusuk daunnya memiliki panjang 7-30 cm dan lebar 3-10 cm, dengan tepi yang lengkap, sedangkan tangkai daunnya tebal dan panjang 0,5-1 cm. Bunganya tergolong apetalous dan berukuran kecil yaitu 2,5-5 mm. Tanaman rambutan bisa bersifat hermafrodit, jantan, atau betina (Tripathi & Karunakran, 2013).

Buah rambutan memiliki kulit kasar, kemerahan, oranye, atau kuning yang dilapisi rambut berdaging. Daging buah (aril) yang menempel pada biji memiliki ketebalan 0,4-0,8 cm, transparan, berair, asam, subasam, atau manis. Bijinya cukup lunak dan berukuran 2-3 cm dengan bentuk lonjong pipih serta memiliki warna coklat mengkilap. (Tripathi & Karunakran, 2013).



Gambar 1. Daun dan Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) (Li et al., 2018)

2.1.3 Kandungan Senyawa

Tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) mengandung berbagai fitokonstituen seperti karbohidrat, alkaloid, steroid dan sterol, glikosida, flavonoid, triterpenoid, tanin, protein dan asam amino serta unsur esensial dalam kulitnya seperti Mn, Fe, Zn, Mg, K, Na, Ca. Pada biji rambutan ditemukan asam lemak seperti oleat, arakidonat, palmitat, stearat, gondoat, behenat, dan palmitoleat. Daging buah rambutan ditemukan mengandung berbagai komposisi kimiawi seperti protein, karbohidrat, kalsium, vitamin C, dan zat besi. Kulit rambutan mengandung senyawa fenolik dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Monrroy et al., 2020; Nethaji et al., 2015; Perumal et al., 2021).

2.1.4 Aktivitas Biologis

Berdasarkan kajian dan penelitian sebelumnya rambutan *Nephelium lappaceum* L. diketahui memiliki sejumlah sifat farmakologis sebagai berikut: Kulit rambutan memiliki sifat antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yaitu senyawa *geraniin* yang merupakan salah satu antioksidan potensial (Widowati et al., 2015). Radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel oksidatif dapat distabilkan dengan antioksidan (Tsong et al., 2021) Kulit buah rambutan memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan aktif *Salmonella typhi* berdasarkan uji pada ekstrak etanol kulit rambutan, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* pada ekstrak air, eter, dan metanol. Komponen fenolik primer yang ditemukan dalam ekstrak metanol kulit rambutan adalah *geraniin*, *ellagic acid*, *quercetin*, *rutin*, dan *chorilagin*. Biji buah rambutan juga memiliki sifat antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Phuong et

al., 2020). Kandungan fitokimia dalam tanaman rambutan seperti flavonoid, tanin, polifenol, kuersetin, katekin, dan *epigallocatechin gallate* mencegah penyerapan glukosa, yang pada gilirannya merangsang pelepasan insulin sehingga menurunkan kadar glukosa darah. Kapasitas geraniin untuk menghentikan pembentukan menyebabkan kemampuannya menurunkan kadar glukosa darah (Muhtadi et al., 2015).

Pada tikus yang diberi aloksan, ekstrak etanol kulit buah rambutan dan durian dapat menurunkan kadar glukosa darah. Ekstrak etanol kulit buah rambutan mengandung *epigallocatechin gallate*, quercetin, dan geraniin, yang semuanya menunjukkan aktivitas antihiperlikemia (Muhtadi et al., 2016). Berdasarkan kajian oleh Khaizil et al. (2013) ekstrak kulit rambutan ditemukan memiliki dampak antiproliferatif pada garis sel MDA-MB0231 dan MG-63 setelah inkubasi 72 jam. Molekul polifenol yang terkandung dalam ekstrak dipercaya memiliki sifat antikanker dinilai dengan kemampuan untuk menetralkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Meskipun ROS dapat diturunkan dengan antioksidan alami atau sintetik, pengurangan ROS yang tinggi dapat mencegah kanker (Hegde et al., 2023).

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Definisi

Ekstraksi merupakan suatu proses awal dalam pemisahan bahan alam yang diinginkan dari bahan baku dengan melarutkan bahan dalam pelarut tertentu yang pada prosesnya dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk karakteristik pelarut yang digunakan, ukuran partikel bahan baku, rasio solvent dengan zat padat, suhu di mana ekstraksi dilakukan, dan durasi proses ekstraksi (Q.-W. Zhang et al., 2018). Ekstraksi mengacu pada proses mengisolasi komponen aktif biologis

dari tanaman dengan menggunakan pelarut spesifik dan mengikuti protokol yang ditetapkan. Tujuan utama dari proses ekstraksi adalah untuk secara efektif mengisolasi metabolit tumbuhan yang larut, sementara pada saat yang sama menghilangkan mark seluler yang tidak larut atau residu sehingga dihasilkannya produk ekstrak tanaman (NN Azwanida, 2015). Produk ekstraksi tanaman obat pada umumnya dijadikan sebagai obat herbal atau obat tradisional yang dapat langsung dikonsumsi, atau dibuat untuk tujuan eksperimen (Abubakar & Haque, 2020).

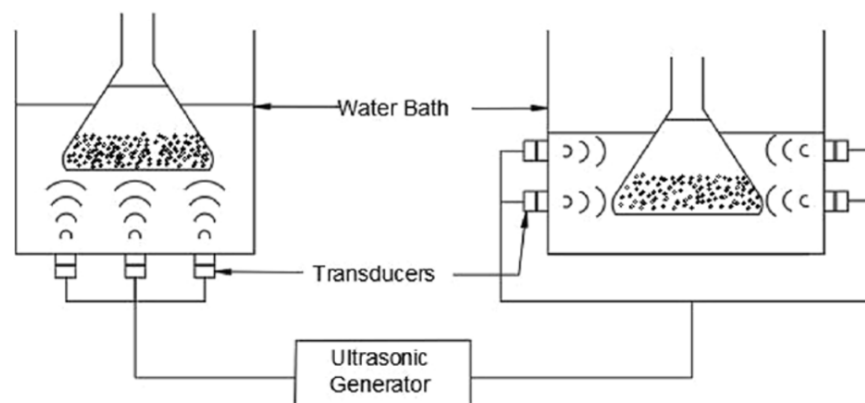
Salah satu jenis ekstraksi yang paling umum adalah ekstraksi menggunakan pelarut. Ada dua jenis ekstraksi: ekstraksi padatan cairan (*solid-liquid extraction*) dan ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*). Dalam ekstraksi padat-cair, pelarut tertentu digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit yang terkandung dalam bahan padat mentah, yang dapat berupa bagian atau seluruh tanaman. Ekstraksi padat-cair merupakan pengambilan atau pemisahan senyawa metabolit terkandung dari bahan padat mentah yang dapat berupa suatu bagian atau keseluruhan tanaman menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi padat-cair secara tradisionalnya telah dinilai memiliki efisiensi ekstraksi yang rendah dan beberapa modifikasi telah diterapkan untuk meningkatkan kinerjanya seperti pemberian energi tambahan pada proses ekstraksi seperti gelombang mikro dan ultrasonik dengan tujuan meningkatkan kinerja dengan memungkinkan pengurangan waktu ekstraksi dan pengurangan konsumsi pelarut organik (Priego-Capote, 2021; Wardani, 2022).

Ekstraksi cair-cair merupakan pengambilan atau pemisahan senyawa metabolit terlarut yang terkandung dalam suatu jenis pelarut dengan dicampurkannya jenis pelarut lain yang satu sama lain tidak dapat bercampur dengan baik (*immiscible*) sehingga senyawa yang ingin dipisahkan dapat tertarik ke dalam jenis pelarut yang baru

ditambahkan tersebut. Ekstraksi cair-cair disebut juga sebagai metode fraksinasi (Wardani, 2022).

2.2.2 Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*

Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) dikenal sebagai ekstraksi ultrasonik atau sonikasi, kerja ekstraksi ini melibatkan penggunaan energi gelombang ultrasonik untuk memfasilitasi proses ekstraksi. Teknik *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) digunakan di berbagai bidang untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa yang diinginkan dengan menggunakan radiasi suara frekuensi tinggi (lebih dari 20 kHz) untuk menghancurkan dinding sel tanaman dan meningkatkan area permukaan yang terkena zat obat, sehingga pelarut lebih mudah memasuki dan metabolit sekunder terkandung dalam ekstrak kasar akan keluar (Abubakar & Haque, 2020; Altemimi et al., 2017).



Gambar 2. Diagram Skema *Ultrasound-Assisted Extraction* (Sanjaya et al., 2022)

Penggunaan ultrasonik pada saat ekstraksi menyebabkan kavitasi yang meningkatkan disolusi larut, difusi, dan transfer panas sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi. Keuntungan lain dari *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) adalah kemampuannya untuk mengurangi jumlah pelarut dan energi yang digunakan, serta suhu dan waktu

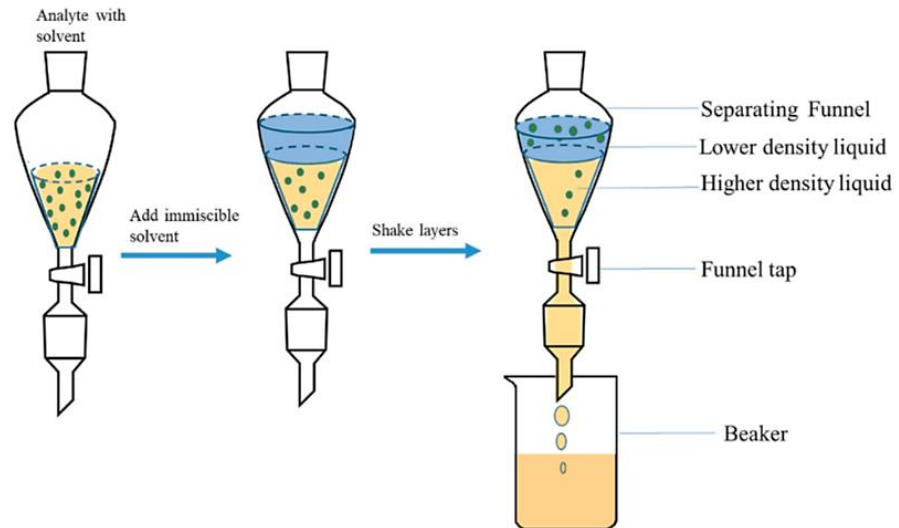
ekstraksi yang lebih singkat. *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) sering digunakan dalam proses ekstraksi berbagai bentuk bahan alam karena cocok untuk ekstraksi bahan kimia yang *thermolabile* dan tidak stabil (Barba et al., 2016; Chemat et al., 2017; Q.-W. Zhang et al., 2018).

2.2.3 Metode Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan ekstrak tanaman menjadi fraksi yang berbeda. Selain itu, fraksi dapat dibagi menjadi bagian (jenis fraksi) yang mengandung berbagai zat fraksi terlarut yang dapat digunakan untuk memperoleh bahan kimia murni terkandung. Fraksinasi menurut Sarker et al (2006) dilakukan dengan beberapa metode yaitu metode ekstraksi cair-cair, kromatografi kolom, kromatografi cair vakum, *solid-phase extraction*, *size-exclusion chromatography* (Abubakar & Haque, 2020; Hamuel, 2012; Wardani, 2022).

Fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair adalah pemisahan suatu kelompok senyawa terlarut dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam suatu jenis pelarut dengan menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda dan tidak saling bercampur antar keduanya. Pada proses fraksinasi disarankan untuk menambahkan pelarut dalam urutan meningkatnya polaritas saat melakukan fraksinasi yang membutuhkan banyak pelarut (Abubakar & Haque, 2020; Hamuel, 2012). Dalam proses fraksi, pelarut yang dipilih dimasukkan dalam urutan yang sesuai dengan naiknya polaritas. Proses fraksinasi ini dapat dimulai dengan pelarut n-hexane, yang memiliki polaritas terendah, dan berakhir dengan pelarut air, yang memiliki polaritas tertinggi (Abubakar & Haque, 2020). Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dapat dilakukan dengan

menggunakan corong pisah (*separating funnel*) seperti yang terlihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Mekanisme Ekstraksi Cair-Cair Menggunakan Corong Pisah (Targuma et al., 2021)

Keberadaan dua jenis pelarut dengan sifat yang berbeda meliputi polaritas dan massa jenisnya dalam suatu corong pisah menyebabkan terbentuknya dua fase atau lapisan atas dan bawah. Fase yang terbentuk didapat dari percampuran ekstrak yang telah dilarutkan dengan penambahan jenis pelarut yang lain dengan cara dikocok dan kemudian di diamkan beberapa saat. Lapisan atas akan menunjukkan pelarut dengan masa jenis yang lebih rendah dan sebaliknya, lapisan bawah akan menunjukkan pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih besar. Peran corong pisah adalah memudahkan pemisahan antara kedua fase atau lapisan yang terbentuk dengan mudah (Wardani, 2022).

2.2.4 Pemilihan Pelarut

Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh beberapa aspek, termasuk tingkat ekstraksi, rentang senyawa yang diekstrak, metode pengolahan ekstrak, dan efisiensi biaya dari pelarutan ekstraksi dan senyawa

sasaran. Karakteristik yang diinginkan dari pelarut ekstraksi meliputi atribut seperti toksisitas minimal, penguapan mudah pada suhu rendah, solubilitas yang menguntungkan dari molekul yang diinginkan, dan volatilitas yang memadai. Perbedaan jenis polaritas pelarut akan dapat menarik senyawa yang berbeda. Tanaman terdiri dari berbagai macam bahan kimia bioaktif yang memiliki berbagai polaritas. Penggunaan pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol umumnya digunakan dalam ekstraksi senyawa polar, begitu pun untuk pelarut semi polar seperti etil asetat untuk ekstraksi senyawa semi polar dan pelarut non polar seperti dan n-heksan untuk ekstraksi senyawa non polar (Abubakar & Haque, 2020; Altemimi et al., 2017; Y. Zhang et al., 2022).

Menurut prinsip hukum kesamaan dan intermisibilitas pelarut (*like dissolves like*), jenis pelarut yang memiliki nilai polaritas mendekati polaritas zat aktif akan meningkatkan efektivitas ekstraksi, sedangkan pelarut dengan nilai polarisasi yang jauh berbeda secara signifikan dari zat aktif akan mendapatkan hasil ekstraksi yang tidak optimal (Y. Zhang et al., 2022). Pada proses fraksinasi untuk mengisolasi senyawa terkandung pada ekstrak tanaman, pelarut yang akan digunakan dipilih dengan cara mengikuti tingkat polaritas suatu pelarut, biasanya dimulai dengan pelarut paling non polar seperti n-heksan, dan berakhir dengan pelarut yang lebih polar seperti air (Abubakar & Haque, 2020; Sahira Banu & Cathrine, 2015). Untuk keperluan pengujian fitokimia, pelarut alkohol khususnya etanol dan metanol lebih disukai dan lebih umum digunakan pada ekstraksi tanaman (Y. Zhang et al., 2022).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

2.3.1 Definisi

Metabolit sekunder dari tumbuhan adalah senyawa organik dengan konfigurasi kiral yang benar untuk melakukan aktivitas biologis, namun tidak terlibat langsung dalam fungsi utama seperti pertumbuhan normal, perkembangan, atau reproduksi tumbuhan. Mereka menyediakan mekanisme pertahanan terhadap berbagai faktor biotik dan abiotik dan merupakan molekul yang relatif kecil yang menunjukkan keragaman struktural dan kimia. (Krause & Tobi, 2013; Torgbo et al., 2022).

Berbeda dengan metabolit primer yang hadir di seluruh kerajaan tanaman, metabolit sekunder terbatas pada hanya beberapa jenis tanaman saja. Meskipun metabolit sekunder tidak secara langsung terlibat dalam perkembangan tanaman, produk sampingan dari molekul metabolit sekunder membantu spesies beradaptasi untuk bertahan hidup. Tanaman harus beradaptasi dan melindungi diri mereka sendiri untuk hidup dalam sistem biologis alami karena mereka tidak dapat hanya bergerak menjauh dari predator. (Dhaniaputri et al., 2022; Isah, 2019).

Metabolit sekunder secara luas dapat diklasifikasikan menjadi asam fenolik sederhana, terpen, flavonoid, xanthone, stilbenes, dan lignan atau polifenol yang lebih kompleks yang mencakup tanin terkondensasi dan terhidrolisis. Senyawa ini berpotensi menjadi bahan aktif dalam obat resep dan non-resep dan kosmetik serta suplemen makanan dan produk kesehatan alami. Aktivitas antimikroba dan antibiofilm dari senyawa fenolik yang berasal dari tanaman terhadap berbagai mikroorganisme, serta toksisitas dan keamanan yang rendah, telah dilaporkan (Torgbo et al., 2022).

2.3.2 Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik ialah bagian dari metabolit sekunder yang sebagian besar ditemukan pada spesies tumbuhan dan menunjukkan banyak variasi struktural. Senyawa fenolik memiliki struktur kimia dengan satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin aromatik yang digabungkan menjadi satu gugus hidroksil atau lebih (Alara et al., 2021). Senyawa fenolik dan polifenol ini adalah salah satu senyawa paling penting yang ada pada tumbuhan dimana setiap kelompoknya memberikan mekanisme aksi yang berbeda yang berkaitan dengan karakteristik struktural senyawa yang dimiliki sehingga memungkinkan senyawa tersebut untuk memberikan sifat antioksidan (Vuolo et al., 2019; Wardani, 2022).

Berdasarkan jumlah cincin fenol dan hubungan struktural antara cincin pada senyawa fenolik, senyawa fenolik dapat dikelompokkan dan diklasifikasikan sebagai fenol sederhana, asam fenolat, flavonoid, xanton, stilben, dan lignan. Berdasarkan jumlah atom karbon yang dimiliki, senyawa fenolik diklasifikasikan sebagaimana pada tabel berikut (Vuolo et al., 2019).

Tabel 1. Klasifikasi Kelas Utama Senyawa Fenolik

Jumlah atom karbon	Kerangka dasar	Kelas	Contoh
6	C ₆	Fenol sederhana Benzokuinon	Katekol, hidrokuinon 2,6-Dimetoksibenzokuinon
7	C ₆ -C ₁	Asam fenolat	p-hidroksibenzoat, salisilat
8	C ₆ -C ₂	Asetofenon Asam fenil asetat	3-asetil-6-metoksibenzaldehid p-hidroksi fenil asetat
9	C ₆ -C ₃	Asamhidroksi sinamat Fenilpropana kumarin isokumarin Kromon	kafeat, ferulat Mirisitin, eugenol Umbelliferon, aeskuletin Bergenin Eugenin
10	C ₆ -C ₄	Naptokuinon	Juglone, plumbagin
13	C ₆ - C ₁ -C ₆	Xanthone	Mangiferin

Radikal bebas dikenal juga sebagai ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang mencakup berbagai jenis oksigen, termasuk hidrogen peroksida. Produksi hidrogen peroksida terjadi di dalam sel selama aktivitas seperti pernapasan dan respon imunitas sel. Fungsi hidrogen peroksida adalah sebagai oksidatif yang kuat. ROS pada penelitian sebelumnya telah dikaitkan dengan perkembangan kanker karena telah terbukti bahwa sel kanker telah mengandung ROS, peningkatan ROS dapat membahayakan tubuh dengan berbagai cara. (Baliyan et al., 2022; Ye et al., 2015).

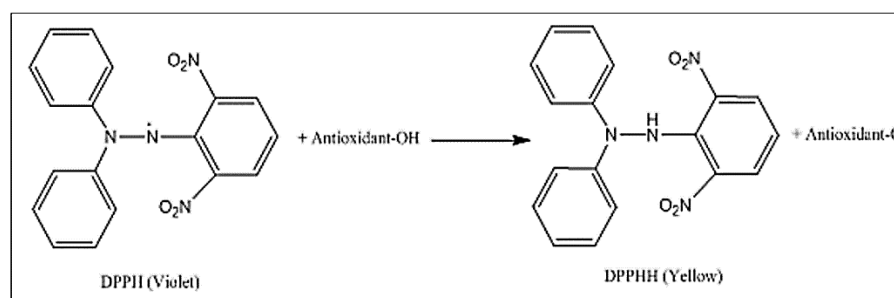
2.4.2 Antioksidan

Antioksidan adalah zat kimia yang memiliki kemampuan untuk menghambat dan menghentikan proses oksidasi dari molekul lain. Oksidasi adalah proses kimia yang memiliki potensi untuk menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kerusakan yang disebabkan oleh ROS dapat dikurangi dengan menggunakan antioksidan, hal ini dikarenakan potensi antioksidan untuk menyumbangkan elektron yang dapat menetralkan produksi radikal bebas. Antioksidan berguna dalam menurunkan dan mencegah kerusakan lebih lanjut melalui respons radikal bebas. Antioksidan, seperti thiols atau asam askorbat dapat secara efektif mengakhiri reaksi rantai radikal bebas (Salehi et al., 2018).

Beberapa jenis tanaman memproduksi metabolit sekunder seperti polifenol dan flavonoid yang menunjukkan sifat antioksidan (Baliyan et al., 2022). Antioksidan tanaman umumnya termasuk dalam tiga kategori utama: 1) vitamin terutama asam askorbat dan alfa tokoferol asetat, 2) polifenol termasuk flavonoid, asam fenolik, stilben, dan lignan, dan 3) terpenoid (Abeyrathne et al., 2022; Jideani et al., 2021)

2.4.3 DPPH

DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan molekul senyawa radikal stabil yang dapat larut dalam metanol dan ditandai dengan warna ungu tua dengan serapan maksimum pada 515 nm. Untuk mengukur aktivitas antioksidan, uji aktivitas antioksidan dengan DPPH telah banyak digunakan pada senyawa murni dan ekstrak dari tanaman. Antioksidan dalam sampel uji akan bereaksi dengan DPPH dengan memberikan elektron atau atom hidrogen. Akibatnya, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) akan direduksi menjadi DPPH-H (*2,2-difenil-1-hidrazin*) atau DPPH-R yang merupakan hidrazin analog tersubstitusi. Reaksi ini ditandai dengan berubahnya warna larutan antioksidan yang dicampurkan dengan DPPH dari warna ungu menjadi kehilangan warna (bening) atau menjadi warna kuning pucat yang berikutnya diamati dengan pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Mfotie Njoya, 2021).



Gambar 5. Reaksi antara DPPH dan antioksidan (Sukandiarsyah et al., 2023).

Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH, diperlukan perhitungan persentase konsentrasi efektif (IC_{50}). Besar nilai IC_{50} digunakan sebagai tolak ukur tingkat kemampuan suatu antioksidan mereduksi radikal bebas dengan memasukkan 50 pada nilai y dalam persamaan regresi $y = ax + b$ sehingga diketahui besar nilai konsentrasi efektif yang dimiliki sampel tersebut (Katrin & Bendra, 2015).

Sampel uji yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 mg/L dianggap memiliki tingkat aksi antioksidan yang sangat kuat. Jika nilai IC_{50} masuk dalam rentang 50-100 mg/L maka tergolong memiliki tingkat aksi antioksidan yang kuat, sedangkan jika IC_{50} sampel masuk dalam rentang 101-250 mg/L tergolong antioksidan sedang, jika IC_{50} sampel masuk dalam rentang 250-500 mg/L tergolong memiliki aksi antioksidan lemah (Sari, 2019).

2.5 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.5.1 Definisi

Staphylococcus aureus adalah mikroorganisme yang berkolonisasi secara presisten pada populasi manusia, dan tinggal di saluran hidung dan di tempat lain seperti tenggorokan, kulit, selangkangan, aksila, dan usus pada sekitar 20-30% populasi manusia (Foster & Geoghegan, 2015; Howden et al., 2023). Kolonisasi adalah kejadian pertumbuhan bakteri yang tidak menunjukkan gejala infeksi, meskipun tidak berbahaya namun merupakan faktor risiko berkembangnya infeksi berikutnya (sering disebabkan oleh strain kolonisasi), yang dapat berkisar dari infeksi ringan pada kulit dan jaringan lunak hingga infeksi invasif yang serius, termasuk osteomielitis dan artritis septik, bakteremia atau septikemia, pneumonia, dan endokarditis. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat bersifat akut, berulang, atau kronis dan persisten (Howden et al., 2023; Tong et al., 2015).

Staphylococcus aureus ini ditandai dengan sifat oportunistanya yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas besar secara global dikarenakan memiliki kemampuan untuk berkembang dan berpotensi menyebabkan infeksi yang berkisar dari *superficial* hingga invasif, di bawah kondisi lingkungan yang beragam, termasuk atmosfer aerobik dan anaerobik dan dapat menimbulkan risiko yang signifikan bagi

kehidupan seseorang. Walau telah menjadi permasalahan yang diperhatikan secara global, bakteri ini memiliki sejarah evolusi yang sangat panjang dan kejadian infeksi MRSA yang tidak mudah untuk diatasi hingga saat ini. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* atau MRSA, telah dikenal menyebabkan infeksi parah kepada individu yang dirawat di rumah sakit, dan juga tidak terkecuali pada anak-anak dan orang dewasa yang sehat di luar rumah sakit (Foster & Geoghegan, 2015; Howden et al., 2023; Murray et al., 2021).

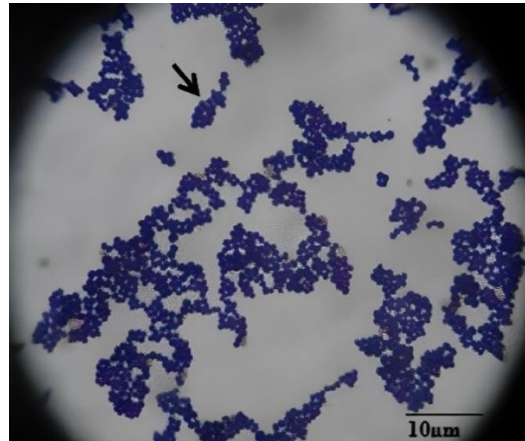
Pada uji kehadiran bakteri *Staphylococcus aureus* dalam plasma, suspensi sel *Staphylococcus aureus* akan mengalami koagulasi karena ikatan koagulase dengan faktor serum yang sebabkan konversi fibrinogen menjadi fibrin sehingga terjadi pembentukan trombus. Karakteristik berupa produksi enzim koagulase oleh *Staphylococcus aureus* yang ditemukan pada manusia berfungsi sebagai alat tes diagnostik yang penting. Hal ini dikarenakan, spesies *Staphylococcus* lainnya tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan koagulase secara kolektif (disebut sebagai *staphylococcus*- koagulase negatif). Adanya perbedaan ini penting secara signifikan karena *staphylococcus* negatif koagulasi menunjukkan virulensi yang lebih rendah dalam sebabkan infeksi oportunistik (Murray et al., 2021).

2.5.2 Klasifikasi

Berdasarkan klasifikasi yang dimilikinya, *Staphylococcus aureus* diklasifikasikan sebagai berikut (Foster & Geoghegan, 2015; Mir et al., 2022)

Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Orde	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 6. Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Pewarnaan Gram (Jahan et al., 2015)

2.5.3 Morfologi

Staphylococcus aureus adalah jenis coccus gram-positif yang memiliki bentuk khas. Menurut bahasa Yunani, Staphyle memiliki arti bentuk anggur, dan coccus memiliki arti bulat atau bola, sedangkan aureus diartikan sebagai warna emas seperti matahari. Dalam sampel klinis, bakteri ini biasanya diamati sebagai sel individu, pasangan, atau rantai pendek. Koloni mikroskopiknya berbentuk seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* menghasilkan pigmen berwarna kuning dan ukurannya berkisar dari 0,5 hingga 1,5 μm dalam diameter (Murray et al., 2021; Radji, 2009).

2.5.4 Patogenesis

Staphylococcus dapat memasuki tubuh melalui saluran pernafasan, tusukan jarum dan folikel rambut. Pada lesi manusia, *Staphylococcus* dapat ditemukan dalam peradangan yang membengkak dan menyakitkan (furunkel) atau abses lokal lainnya, yang dapat

menyebabkan nekrosis jaringan. Frunkel disebabkan oleh infeksi *Staphylococcus aureus* yang menginvasi bagian dalam folikel rambut. Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* ini lebih sering terjadi di ketiak, leher, wajah, dan anus, meskipun dapat terjadi di seluruh tubuh (Chylen Setiyo & Jamilatur, 2020).

2.5.5 Tatalaksana

Pengobatan yang diberikan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* yang sensitif terhadap metisillin MSSA adalah penisilin anti-*stafilococcus* atau cefazolin. Obat ini telah menunjukkan keunggulan klinis sebagai antibiotik spektrum luas dan juga memberikan perlindungan terhadap *Staphylococcus aureus*. Sedangkan untuk infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap MRSA diberikan terapi pengobatan dengan vancomycin atau daptomycin menyesuaikan kondisi klinis nya (Lam & Stokes, 2023).

2.6 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

2.6.1 Definisi

Pseudomonas aeruginosa umumnya menunjukkan resistensi terhadap beberapa kategori antibiotik dan obat-obatan terapeutik dan disinfektan, membuatnya tidak mudah mengelola infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini. Bakteri ini menunjukkan persyaratan diet yang rendah, toleransi terhadap suhu yang luas yaitu 4°C hingga 42°C. Bakteri patogen ini kerap disebut sebagai mikroorganisme "oportunistik" karena infeksi yang jarang terjadi pada individu yang sehat. Dari sudut pandang klinis, individu yang paling berisiko adalah mereka dengan sistem kekebalan tubuh yang rusak, seperti pasien yang didiagnosis dengan fibrosis kista (CF), kanker, AIDS, individu dengan perangkat medis yang berada di dalam rumah, mereka yang telah mengalami luka bakar dan luka mata, dan individu dengan luka

diabetes yang tidak sembuh (Diggle & Whiteley, 2020; Murray et al., 2021).

2.6.2 Klasifikasi

Berdasarkan klasifikasi kingdom yang dimilikinya, *Pseudomonas aeruginosa* diklasifikasikan sebagai berikut (Diggle & Whiteley, 2020);

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

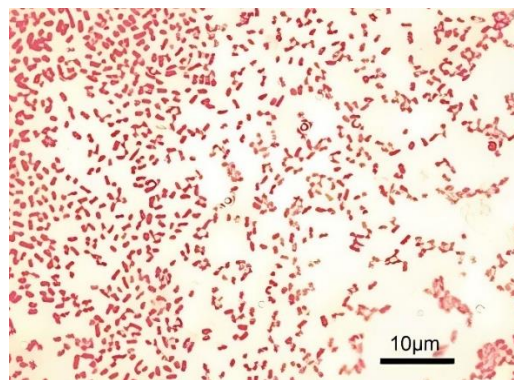
Kelas : Gamma Proteobacteria

Orde : Pseudomonadales

Family : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 7. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Pewarnaan Gram (Wilson MG & Pandey S, 2023)

2.6.3 Morfologi

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri heterotrophic, motile, gram-negatif bakteri berbentuk batang sekitar 1–5 μ m panjang dan 0.5–1.0 μ m lebar. Bakteri patogen ini dapat tumbuh secara aerob

(menggunakan oksigen) melalui respirasi aerob dan juga respirasi anaerob (tidak menggunakan oksigen) dengan memiliki nitrat sebagai akseptor dari elektron terminal. Pada pertumbuhan anaerobik *Pseudomonas aeruginosa* dengan arginin sangat lambat karena kemampuan fermentasi yang mendukung pertumbuhan tersedia terbatas (Diggle & Whiteley, 2020).

2.6.4 Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa memiliki banyak faktor virulensi, termasuk adhesin, toksin, dan enzim. Bakteri patogen ini tergolong oportunistik dan dapat tumbuh di berbagai jenis lingkungan alam. Pasien dengan neutropenic atau *imunocompromised* akan rentan terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa*, dan juga pasien dengan fibrosis kista, pasien dengan luka terbakar, dan individu yang menerima antibiotik spektrum luas (Murray et al., 2021).

2.6.5 Tatalaksana

Pseudomonas aeruginosa memiliki resistensi alami terhadap sejumlah antibiotik karena sifat yang dimilikinya. Penggunaan kombinasi *beta-laktam/beta-lactamase-inhibitor* (BL/BLI) seperti piperacillin-tazobactam dengan tindakan antipseudomonal seperti ceftazidime, cefepime, dan cefoperazone biasanya merupakan pilihan pertama untuk obat beta-laktam untuk *Pseudomonas aeruginosa*. Salah satu antibiotik beta-laktam untuk mengatasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah cefepime dan carbapenems, seperti meropenem, imipenem, dan doripenem, adalah obat kedua lini untuk sepsis *Pseudomonas aeruginosa* (Zakhour et al., 2022).

2.7 Metode Uji Antibakteri

2.7.1 Definisi

Pengujian daya hambat antibakteri dapat dimanfaatkan untuk pengembangan obat baru, epidemiologi dan memprediksikan hasil intervensi terapeutik. Kegagalan pengobatan antibiotik karena meningkatnya resistensi bakteri menyebabkan penemuan antibakteri baru untuk mengobati infeksi hingga saat ini masih menjadi tugas yang sangat penting. Bahkan di masa kini, penemuan produk antibakteri alami berbahan dasar tanaman dan sebagai salah satu sumber senyawa obat baru sangat dibutuhkan.

Kemampuan daya hambat antibakteri *in-vitro* suatu ekstrak atau senyawa obat murni dapat diuji dan dievaluasi menggunakan berbagai prosedur laboratorium. Metode-metode pengujian ini dapat digunakan untuk analisis daya hambat antibakteri. Metode difusi cakram, bersama dengan metode dilusi agar adalah teknik yang paling umum dan mendasar untuk digunakan.

2.7.2 Metode Difusi

Terdapat tiga metode difusi yang umum digunakan meliputi metode difusi cakram kertas, metode difusi silinder, dan metode difusi lubang atau sumuran (Rahmawati, 2019).

1) Difusi Cakram Kertas

Berdasarkan protokol uji antibakteri menggunakan cakram kertas yang dikenal secara luas, cawan agar diinokulasi dengan inokulum standar dari mikroorganisme uji. Selanjutnya, cakram kertas bundar dengan diameter kira-kira 6 mm, yang berisi zat uji dengan konsentrasi yang telah ditentukan, ditempatkan secara hati-hati pada permukaan media agar. Cawan petri ditempatkan dalam

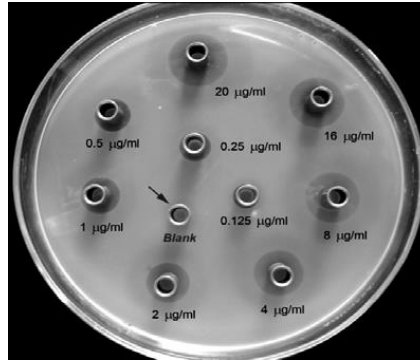
inkubator dan diberi kondisi lingkungan yang optimal. Dalam prosedur eksperimental, zat antibakteri dalam cakram kertas yang akan diamati meresap ke dalam media agar. Selanjutnya akan terjadi penghambatan proses pertumbuhan dan perkecambahan dari mikroorganisme yang diteliti dengan terlihatnya bagian tak keruh di sekeliling cakram kertas. Setelah itu, lebar diameter zona dimana terjadi penghambatan pertumbuhan dinilai secara kuantitatif (Balouiri et al., 2016).

2) Difusi Sumuran Agar

Metode ini mirip dengan prosedur yang digunakan pada difusi cakram. Agar di dalam cawan petri yang telah padat diinokulasi dengan bakteri dengan dilubangi sesuai tempat yang telah ditentukan, lalu lubang yang telah dibuat diisi dengan zat antibakteri uji, lalu diinkubasi. Setelah diinkubasi dengan metode yang sesuai menggunakan antibakteri uji, selanjutnya dapat dihitung zona hambatan yang muncul di sekeliling lubang (Balouiri et al., 2016; Rahmawati, 2019).

3) Difusi Silinder

Metode ini menggunakan alat tambahan berupa pencadangan silinder yang akan diletakkan di permukaan media agar yang telah diinokulasi. Agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri dilubangi lalu kemudian diisi dengan zat antibakteri uji, lalu diinkubasi. Setelah inkubasi selesai, pencadangan silinder diangkat dan daerah yang menghambat perkembangan mikroba diukur. (Rahmawati, 2019).



Gambar 8. Difusi Silinder (Abdelaziz et al., 2012)

Kekuatan daya hambat antibakteri pada metode difusi cakram, difusi sumuran dan difusi silinder diukur berdasarkan diameter zona hambat antibakteri berupa zona jernih yang dihasilkan dengan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$diameter = \frac{(Dv - Dc) - (Dh - Dc)}{2}$$

Dengan Dv sebagai diameter vertikal zona hambat, Dh sebagai diameter horizontal zona hambat, dan Dc sebagai diameter cakram, sumuran, atau silinder. Kategori kekuatan daya hambat bakteri untuk diameter ≤ 5 mm tergolong lemah, 6-10 mm (sedang), 11-20 mm (kuat), dan ≥ 21 mm (sangat kuat) (Winastri et al., 2020).

2.7.3 Metode Dilusi

Metode dilusi dapat dilaksanakan dengan menggunakan dua metodologi operasional, yaitu teknik pengenceran pembenihan cair dan teknik pengenceran agar. Tujuan utama penggunaan pendekatan dilusi adalah untuk menilai aktivitas antibakteri secara kuantitatif. Protokol pengujian metode dilusi umumnya melibatkan pelarutan zat antibakteri dengan media agar atau cairan penyemaian (kaldu). Selanjutnya bakteri yang akan diuji diinokulasi ke dalam media yang telah disiapkan, dilanjutkan dengan inkubasi semalaman.

Istilah MBC (*minimum bactericidal concentration*) mengacu pada konsentrasi terendah dari agen antibakteri untuk menghentikan pertumbuhan bakteri pada agar, misal pemberian agen antibakteri konsentrasi 8 $\mu\text{g/mL}$ didapati masih adanya pertumbuhan bakteri, pada konsentrasi 16 $\mu\text{g/mL}$ juga masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dengan pengurangan koloni bakteri dan selanjutnya pada 32 $\mu\text{g/mL}$ tidak lagi tumbuh koloni bakteri, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 32 $\mu\text{g/mL}$ adalah MBC dari agen antibakteri tersebut (Balouiri et al., 2016; Rahmawati, 2019).

1) Dilusi Pembenuhan Cair

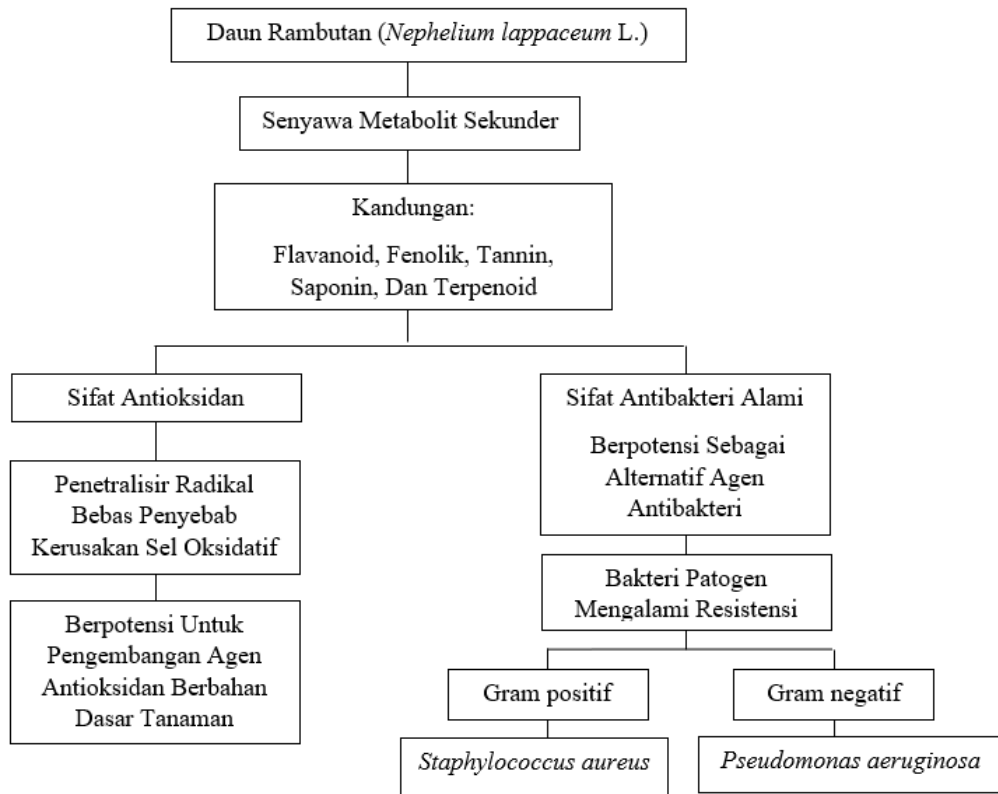
Metode ini terbagi menjadi dua jenis berdasarkan besar volume pengencerannya yaitu mikrodilusi volume yang digunakan berkisar 0,05 mL sampai dengan 1 mL dan volume yang digunakan dalam makrodilusi lebih dari 1 mL. Secara umum, konsentrasi pengenceran yang dibuat dua kali lipat dari konsentrasi agen antibakteri misalnya 4, 8, 16, 32, dan 64 $\mu\text{g/mL}$, di dalam media pembenuhan cair (Rahmawati, 2019).

2) Dilusi Agar

Metode ini melibatkan berbagai konsentrasi agen antibakteri yang akan ditambahkan ke media agar cair, umumnya konsentrasi dibuat dua kali lipat dari konsentrasi agen antibakteri (Rahmawati, 2019).

2.8 Kerangka Teori

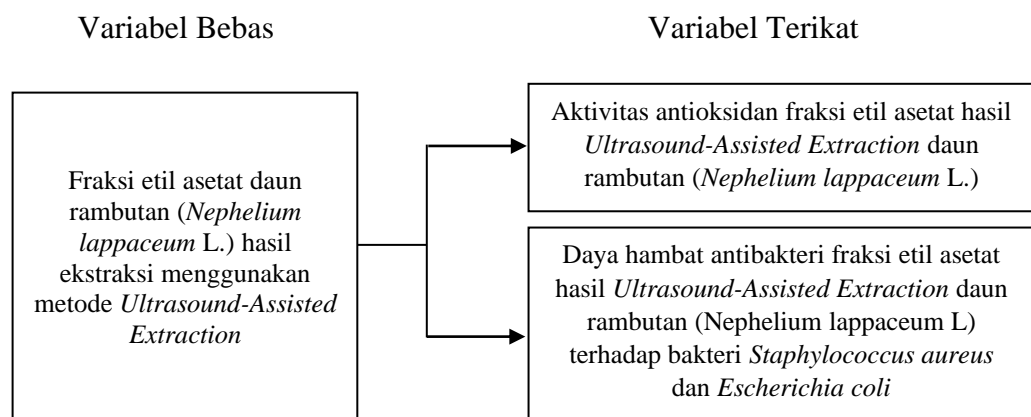
Kerangka teori pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 9. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 10. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium. Ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dilakukan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* dengan pelarut metanol yang berikutnya dilanjutkan dengan purifikasi dengan melakukan fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Pengukuran total fenolik yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dan asam galat sebagai standar pembanding untuk menghitung kadar total fenolik pada masing-masing fraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Pengujian daya hambat antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi silinder untuk dapat mengukur diameter zona hambat fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada penelitian ini metode uji DPPH digunakan bersama dengan perhitungan persentase IC₅₀ untuk selanjutnya dapat menentukan besar aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat yaitu Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas

Lampung untuk melakukan determinasi tanaman, Laboratorium Kimia Farmasi Analisa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung untuk ekstraksi dan fraksinasi sampel, serta pengujian meliputi uji fitokimia, uji total fenolik, dan uji aktivitas antioksidan, dan di Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung untuk uji aktivitas antibakteri fraksi hasil ekstraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November – Januari 2024.

3.3 Identitas Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat hasil *Ultrasound-Assisted Extraction* daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan fraksi etil asetat hasil *Ultrasound-Assisted Extraction* daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L) dan daya hambat antibakteri fraksi etil asetat hasil *Ultrasound-Assisted Extraction* daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Merupakan fraksi etil asetat dan fraksi metanol yang didapat dengan melakukan fraksinasi bertingkat dari hasil <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i> daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	-	Fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Kategori
2.	Kadar total fenolik	Kadar total fenolik terkandung pada fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Menghitung kadar total fenolik yang terkandung pada fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.) menggunakan metode <i>Folin Ciocalteu</i> dengan larutan asam galat sebagai pembanding	Kadar total fenolik (mg/GAE/g)	Rasio
3.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Menghitung konsentrasi efektif (IC_{50}) menghambat radikal bebas dari fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.) menggunakan metode uji DPPH dan menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif	Nilai IC_{50} (mg/L)	Rasio
4.	Daya hambat antibakteri	Daya hambat antibakteri yang dimiliki oleh fraksi etil asetat daun rambutan untuk menghambat pertumbuhan bakteri	Menggunakan metode difusi silinder untuk menghitung diameter zona hambat di sekeliling silinder sampel fraksi etil asetat daun rambutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Diameter zona hambat (mm)	Rasio

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *handscoon*, masker, jas laboratorium, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, plastik wrap, gunting, kertas saring, rak dan tabung reaksi, labu ukur, batang pengaduk, corong kaca, kaca arloji, neraca analitik, kertas perkamen, kertas aluminium, pipet volume, *bulb filler*, pipet tetes, tip, mikro pipet, *hot plate*, kapas, jarum ose, cawan petri, lampu bunsen, lidi steril, lilin, korek api, penggaris, pinset, *Ultrasound bath*, corong pisah dan statif, *rotary evaporator*, labu alas bulat, *laminar air flow*, oven, autoklaf, inkubator, spektrofotometer UV-Vis dan kuvet.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), pelarut metanol 96%, pelarut metanol *pro analysis*, akuades, n-heksan, etil asetat, HCl pekat, H₂SO₄ pekat, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Wagner*, FeCl₃, pereaksi *Lc Bourchart*, kloroform, NaNO₂ 5%, asam asetat glasial 5%, serbuk DPPH, serbuk asam askorbat, asam galat, Na₂CO₃, reagen *Folin-Ciocalteu*, media *Nutrient Agar*, DMSO (*Dimethylsulfoxide*) 5%, media *Trypticase Soy Broth*, larutan standar 0,5 *Mc Farland*, NaCl 0,9%, antibiotik amoksisillin, dan bakteri biakan (*Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Determinasi tanaman adalah proses penetapan suatu tanaman dengan tujuan mengetahui kebenaran spesies sampel dari tanaman yang

dilakukan determinasi (Ekayani et al., 2021). Determinasi atau identifikasi tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.6.2 Preparasi Sampel Daun Rambutan

Persiapan sampel bahan tanaman untuk tujuan analisis melibatkan beberapa langkah penting. Langkah pertama adalah pencucian di awal untuk menghilangkan bahan pengotor yang tidak diinginkan. Berikutnya dilakukan pengeringan untuk menghambat proses metabolisme yang terjadi dan enzim tanaman dapat bekerja dengan baik. Pengeringan secara alami dapat dilakukan dengan dianginkan di udara terbuka atau ruangan semi terbuka yang memiliki sirkulasi udara bebas namun tidak terpapar sinar matahari langsung. Berikutnya dilakukan penggilingan sampel menjadi serbuk untuk tujuan homogenisasi sampel yang berikutnya dapat dilanjutkan dengan pengayakan (Krakowska-Sieprawska et al., 2022).

3.6.3 Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Daun Rambutan

1) Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*

Ekstraksi ini dilakukan dengan melakukan perendaman campuran serbuk simplisia daun rambutan dengan pelarut metanol 96% dengan perbandingan ekstrak dan pelarut sebesar 1:7 dengan lama waktu ekstraksi 30 menit pada frekuensi 40 kHz dan suhu 40°C menggunakan *Ultrasound bath*. Setelah selesai, lakukan penyaringan dengan kertas saring dan pisahkan filtrat yang terkumpul dan lakukan pemekatan filtrat hingga diperoleh ekstrak kental (Mendez-Flores et al., 2018).

2) Metode Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan perbandingan pelarut 1:1 menggunakan corong pisah dengan memasukkan ekstrak kental daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dalam 100 mL metanol-air dan 100 mL n-heksan ke dalam corong pisah. Corong pisah di tutup rapat dan dikocok hingga homogen dan didiamkan hingga terpisah menjadi dua lapisan. Pisahkan fraksi n-heksan dan fraksi metanol ke dalam wadah yang terpisah lalu masukkan kembali residu fraksi metanol ke dalam corong pisah, ulangi hingga fraksi n-heksan yang di dapat jernih untuk mendapatkan fraksi n-heksan. Selanjutnya fraksi metanol di fraksinasi menggunakan etil asetat dengan cara yang serupa dengan proses fraksi yang melibatkan n-hexane sehingga didapat fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Ketiga fraksi yang telah didapat selanjutnya dilakukan pemekatan pada *rotary evaporator* (Eso et al., 2019).

3.6.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi Daun Rambutan

Rendemen adalah perbandingan berat bahan mentah (simplisia) yang menghasilkan ekstrak, dan nilai rendemen dapat menunjukkan jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman (Senduk et al., 2020). Dihitung rendemen ekstrak metanol dan fraksi etil asetat daun rambutan dengan rumus berikut (Evelina M et al., 2020):

$$\text{Rendemen Ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan (g)}}{\text{berat simplisia yang digunakan (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Fraksi (\%)} = \frac{\text{bobot fraksi yang dihasilkan (g)}}{\text{berat ekstrak yang digunakan (g)}} \times 100\%$$

3.6.5 Uji Fitokimia Fraksi Daun Rambutan

Penelitian ini melakukan pengujian fitokimia untuk memastikan kandungan senyawa metabolit aktif yang terkandung dalam daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) (Kancherla et al., 2019).

1) Uji Alkaloid

a. Uji *Mayer*

Tambahkan beberapa tetes pereaksi *mayer* pada 1 mL ekstrak dalam tabung reaksi dan terbentuknya endapan berwarna kekuningan atau putih mengindikasikan adanya senyawa alkaloid (Kancherla et al., 2019).

b. Uji *Dragendorff*

Tambahkan 1 mL pereaksi *dragendorff* pada 2 mL ekstrak dalam tabung reaksi dan terbentuknya warna jingga kemerahan mengindikasikan adanya senyawa alkaloid (Kancherla et al., 2019).

2) Uji Saponin

Uji forth: Tambahkan 2 mL akuades pada 1 mL ekstrak di dalam tabung reaksi lalu kocok hingga homogen. Terbentuknya buih atau lapisan busa mengindikasikan adanya saponin (Perumal et al., 2021).

3) Uji flavonoid

Uji Zink Hidroklorida: Tambahkan 100 mg serbuk zink pada 1 mL ekstrak di dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 8 mL H₂SO₄ pekat. Dihasilkannya warna merah mengindikasikan adanya flavonoid (Shaikh & Patil, 2020).

4) Uji fenolik dan tanin

Uji FeCl: Tambahkan 2 mL larutan FeCl 5% pada 1 mL ekstrak dalam tabung reaksi dan warna biru tua menunjukkan adanya senyawa fenolik dan tanin (Nortjie et al., 2022).

5) Uji fitosterol

Uji *Salkowski*: Tambahkan beberapa tetes kloroform ke dalam 1 mL ekstrak dalam tabung reaksi lalu disaring. Filtratnya kemudian dicampur dengan beberapa tetes H₂SO₄ pekat, dikocok dan didiamkan beberapa menit. Terbentuknya warna kuning keemasan menunjukkan adanya fitosterol (Marami et al., 2021).

6) Uji terpenoid

Uji *Salkowski*: Tambahkan 2 mL kloroform dan 3 mL asam sulfat pekat dengan hati-hati pada 5 mg ekstrak dalam tabung reaksi. Terbentuknya warna merah bata mengindikasikan adanya senyawa terpenoid (Nortjie et al., 2022).

3.6.6 Pengukuran Total Fenolik Fraksi Daun Rambutan

Pengukuran total fenolik yang terkandung dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dan asam galat sebagai standar. Untuk mengetahui berapa kandungan total fenolik yang terdapat pada fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seperti yang telah dilakukan oleh Rahman et al., (2021) dengan modifikasi.

1) Pembuatan larutan induk asam galat 100 mg/L

- a. Pada pembuatan larutan induk asam galat 100 mg/L timbang 10 mg serbuk asam galat dengan seksama larutkan dengan 1 mL metanol pro analisis dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas.

b. Pembuatan larutan Na_2CO_3 , 7,5%

Sebanyak 7,5 g serbuk Na_2CO_3 yang telah ditimbang dengan seksama dilarutkan dengan 80 mL akuades dilanjutkan dengan pemanasan hingga larut sepenuhnya lalu didiamkan selama 24 jam kemudian saring larutan tersebut menggunakan kertas saring dan masukkan dalam labu ukur 100 mL, cukupkan dengan akuades sampai tanda batas.

2) Analisis kadar total fenolik masing-masing fraksi daun rambutan menggunakan spektrofotometer UV- Vis

a. Penetapan panjang gelombang maksimal

Panjang gelombang maksimal asam galat didapat dengan pengukuran absorbansi larutan blanko. Larutan blanko asam galat dibuat dengan memasukkan 300 μl larutan induk asam galat ke dalam labu ukur 10 mL lalu tambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu*, 2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, dan 5 mL akuades. Selanjutnya lakukan inkubasi selama 60 menit pada suhu kamar, setelahnya tambahkan akuades sampai tanda batas dan homogenkan larutan.

b. Penetapan kurva baku asam galat

Kurva baku asam galat dihasilkan dari pengukuran beberapa konsentrasi larutan asam galat. Larutan asam galat dibuat berdasarkan pengenceran larutan induk asam galat 100 mg/L dengan seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/L. Siapkan labu ukur 10 mL untuk tiap seri konsentrasi. Pipet 1 mL larutan asam galat 1 mg/L ke dalam labu ukur 10 mL lalu tambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu*, 2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, dan 5 mL akuades. Selanjutnya lakukan inkubasi selama 60 menit pada suhu kamar, setelahnya tambahkan akuades sampai tanda batas dan homogenkan larutan. Lakukan hal yang sama pada pembuatan larutan seri konsentrasi asam galat lainnya

yang akan dibuat. Lakukan pengukuran absorbansi pada kelima seri konsentrasi larutan asam galat yang telah dibuat pada panjang gelombang absorbansi maksimum asam galat yang diketahui. Setelah nilai absorbansi tiap seri konsentrasi diketahui maka kurva baku dapat dibuat dengan persamaan regresi linier $y = bx+a$.

c. Penetapan kadar total fenolik fraksi daun rambutan

Penetapan kadar total fenolik dilakukan pada etil asetat diperoleh dengan menghitung milligram ekivalen asam galat per gram yang terkandung pada ekstrak (GAE/g). Pada penelitian ini larutan induk fraksi etil asetat yang akan digunakan dibuat dengan 50 mg fraksi dilarutkan dengan 50 mL metanol 80%. Pipet 100 μ l larutan fraksi ke dalam labu ukur 10 mL lalu tambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu*, 2 mL larutan Na_2CO_3 7,5%, dan 5 mL akuades. Selanjutnya lakukan inkubasi selama 60 menit pada suhu kamar, setelahnya tambahkan akuades sampai tanda batas dan homogenkan larutan. Lakukan pengujian absorbansi tiap larutan fraksi etil asetat diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum asam galat yang diketahui dengan 3 kali pengulangan sampel uji. Setelahnya dapat dihitung total kadar senyawa fenolik (GAE/g) yang terkandung pada fraksi etil asetat daun rambutan.

3.6.7 Uji Antioksidan Fraksi Daun Rambutan

Uji antioksidan fraksi daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur absorbansi DPPH dalam sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk berikutnya dapat mengetahui aktivitas antioksidan yang terdapat pada fraksi etil

asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan menggunakan larutan asam askorbat sebagai kontrol positif dan larutan DPPH tanpa sampel sebagai kontrol negatif (Rahman et al., 2021).

1) Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM

Larutan radikal stabil DPPH dibuat 0,4 mM sebanyak 50 mL. Sebanyak 7,88 mg serbuk DPPH (BM 394,32 g/mol) ditimbang dengan seksama, masukkan pada labu ukur 50 mL cukupkan dengan metanol pro hingga tanda batas untuk membuat larutan stok. Kemudian letakkan larutan DPPH dalam wadah gelap untuk menghindari larutan dari cahaya untuk menghindari kerusakan (Rahman et al., 2021).

2) Pembuatan larutan blanko dan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan blanko dibuat menggunakan larutan DPPH sebanyak 1 mL dan ditambahkan pelarut metanol pro analisis hingga 4 mL dan dihomogenkan dan dipindahkan ke tabung reaksi dan lapisi bagian luar tabung reaksi dengan kertas aluminium dan simpan dalam ruang gelap selama 30 menit untuk tujuan inkubasi. Tentukan panjang gelombang maksimum DPPH larutan blanko dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Rahman et al., 2021).

3) Pembuatan larutan kontrol positif dari asam askorbat 1000 mg/L

Antioksidan jenis asam askorbat digunakan sebagai standar atau pembanding untuk analisis antioksidan pada penelitian ini dengan membuat beberapa konsentrasi standar asam askorbat. Pada penelitian ini larutan asam askorbat induk 1000 mg/L dibuat dengan menimbang dengan seksama 10 mg serbuk asam askorbat lalu dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, cukupkan dengan

metanol pro analisis hingga tanda batas, tutup labu ukur dan kocok hingga homogen. Berikutnya dilakukan pengenceran menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/L. Tiap seri konsentrasi tersebut di pipet 1 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dan metanol 3 mL dan homogenkan. Tiap tabung reaksi diberi label dan permukaannya dilapisi dengan kertas aluminium. Simpan tabung reaksi tersebut dalam ruangan gelap selama 30 menit untuk inkubasi (Rahman et al., 2021).

4) Pembuatan larutan sampel uji

Larutan sampel fraksi etil asetat daun rambutan dibuat dari larutan induk 1000 mg/L dengan melarutkannya menggunakan metanol pro analisis sehingga didapat larutan induk pada labu ukur. Berikutnya dibuat 5 seri konsentrasi larutan sampel dari larutan induk fraksi etil asetat daun rambutan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Untuk perlakuannya adalah dengan memipet sebanyak 1 mL larutan sampel fraksi ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dan metanol pro analisis sebanyak 3 mL dan homogenkan. Tiap tabung reaksi diberi label dan permukaannya dilapisi dengan kertas aluminium. Simpan tabung reaksi tersebut dalam ruangan gelap selama 30 menit untuk inkubasi.

5) Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Pengukuran absorbansi larutan uji telah dilakukan inkubasi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal DPPH.

6) Perhitungan nilai IC_{50} larutan sampel uji

IC_{50} adalah besar konsentrasi efektif suatu sampel uji untuk antioksidan dalam kemampuannya untuk hambat aktivitas

antioksidan sebanyak 50% berdasarkan daya inhibisi atau daya hambat dalam persen, Rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Absorbansi kontrol adalah absorbansi 1 mL DPPH 0,4 mM dan 3 mL metanol pro analisis dan Absorbansi sampel adalah absorbansi dari larutan yang diujikan.

3.6.8 Uji Daya Hambat Antibakteri Fraksi Daun Rambutan

Uji daya hambat antibakteri fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) ini dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang dihasilkan fraksi etil asetat daun rambutan. Uji daya hambat antibakteri pada penelitian ini memiliki prosedur sebagai berikut:

1) Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat berbahan dasar kaca yang akan digunakan seperti tabung reaksi, erlenmeyer dan gelas kimia disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm, dan alat berbahan dasar logam menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2-3 jam. Sedangkan, untuk alat lain seperti jarum ose dan pinset disterilkan menggunakan alkohol 70% dan setelahnya lakukan pemijaran di atas lampu bunsen (Alina et al., 2017; Armaleni et al., 2019)

2) Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Media *nutrient agar* pada penelitian ini dibuat berdasarkan Alina et al (2017) yaitu 23 g serbuk *nutrient agar* disuspensikan dengan 1 L akuades. Larutan *nutrient agar* dipanaskan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* diatas *hot plate* hingga tersuspensi sempurna. Steriliasai media agar yang telah dihasilkan

menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Siapkan cawan petri steril dan tuangkan media agar steril yang barusaja dibuat dan biarkan memadat (Alina et al., 2017).

3) Peremajaan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Peremajaan bakteri adalah proses penumbuhan bakteri uji dalam cawan petri yang telah berisi media agar yang telah dibuat. Pertama sterilisasi ose dengan pemijaran di atas api bunsen. Lakukan pemijaran cawan petri yang berisi media nutrient agar menggunakan api bunsen dan pijarkan mulut tabung stok kultur bakteri dengan api bunsen lalu ambil biakan bakteri *Staphylococcus aureus* atau *Pseudomonas aeruginosa* dari stok kultur menggunakan ose dan goreskan dengan hati-hati bakteri dari ose secara zig-zag di atas permukaan *nutrient agar*. Berikutnya lakukan pemijaran kembali mulut tabung stok bakteri dan pinggiran cawan petri berisi biakan bakteri yang telah dibuat dengan api Bunsen untuk tujuan Sterilisasi. Lakukan inkubasi cawan petri berisi biakan bakteri dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C (Misna & Diana, 2016).

4) Pembuatan Inokulum Bakteri

Siapkan inokulum dengan memasukkan satu koloni bakteri yang telah diremajakan ke dalam tabung steril berisi 5 mL *Tryptic Soy Broth* (TSB). Setelah itu, inkubasi selama dua jam di dalam inkubator pada suhu 37°C. Untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, lakukan hal yang sama (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

5) Pembuatan Larutan *Mc Farland* 0,5

Larutan *Mc Farland* 0,5 pada penelitian ini dibuat dengan melarutkan 0,05 mL larutan BaCl₂ 1% dengan 9,95 mL larutan

H₂SO₄ 1% dan dikocok hingga homogen. Larutan *Mc Farland* digunakan dalam penelitian ini sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri (Rosmania & Yanti, 2020).

6) Pembuatan Suspensi bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan pipet 300 µl inokulum bakteri dengan mikropipet pada larutan 5 mL *Tryptic Soy Broth* (TSB) di dalam tabung reaksi. Bandingkan tingkat kekeruhan bakteri hingga sesuai dengan standar kekeruhan larutan *Mc Farland* yang telah dibuat yaitu *Mc Farland* 0,5 yang setara dengan 1×10^8 CFU/mL suspensi bakteri (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

7) Pembuatan Larutan Uji

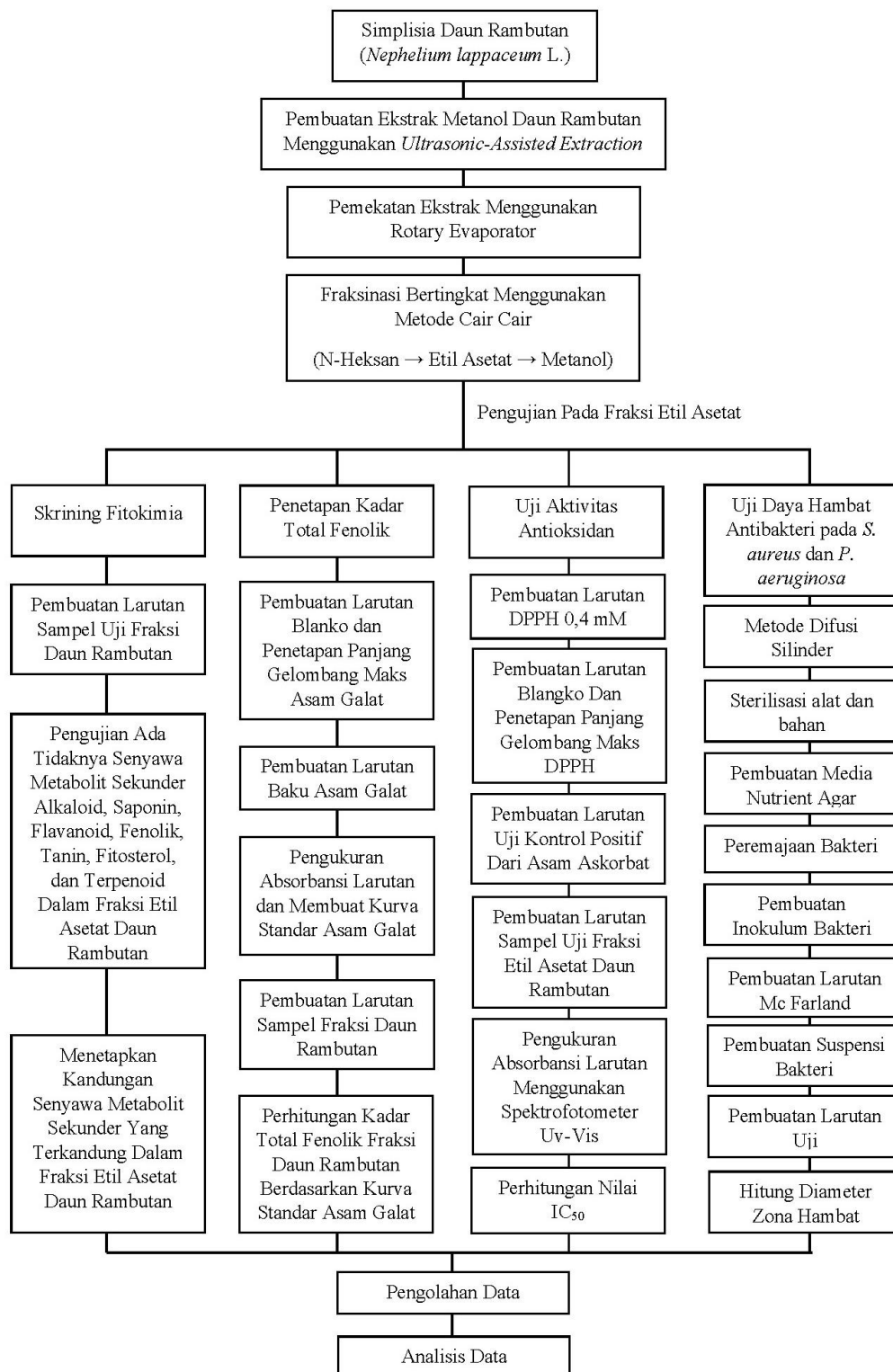
Fraksi etil asetat daun rambutan dilarutkan dengan *dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksisilin 0,1% dan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% berdasarkan Alina et al., (2017) dengan modifikasi.

8) Diameter Zona Hambat

Uji daya hambat fraksi daun rambutan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan menggunakan metode difusi silinder. Permukaan media *nutrient agar* dalam cawan petri dituangkan 100 µl suspensi bakteri dengan teknik aseptis, berikutnya ratakan dan diamkan selama 5 menit. Berikan penanda pada cawan petri yang akan digunakan untuk memudahkan pengujian. Selanjutnya letakkan enam silinder steril di atas permukaan media *nutrient agar* yang telah diberi suspensi bakteri menggunakan pinset sesuai posisi yang telah ditandai. Tuangkan 100 µl larutan uji fraksi etil asetat daun rambutan (2,5% ; 5% ; 10% ; 20%), amoksisilin 0,1% sebagai kontrol positif, dan

pelarut DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Cawan petri uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. Hasil dapat diamati setelah inkubasi selesai. Sebelum pengamatan angkat silinder menggunakan pinset, selanjutnya ukur diameter daerah bening di sekeliling yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Perlakuan ini diulang sebanyak 3 kali. (Irmayanti & Harnis, 2022)

3.7 Alur Penelitian



Gambar 11. Alur Penelitian

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang terkumpul dalam penelitian ini akan diolah menggunakan perangkat lunak *Statistical Packages for Social Science* (SPSS) untuk menganalisis data dengan tujuan memudahkan peneliti dalam menggunakan statistik (Ahyar et al., 2020). Penelitian ini menggunakan analisis bivariat untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun rambutan hasil fraksinasi bertingkat yang dihasilkan melalui ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction*. Pengujian normalitas distribusi data dan homogenitas digunakan untuk mengawali analisis data daya hambat antibakteri. Uji statistik *One Way ANOVA* digunakan jika data daya hambat antibakteri memiliki distribusi normal, dan uji statistik *Kruskal-Wallis* digunakan jika data tidak terdistribusi normal.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang di ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* memiliki persentase rendemen sebesar 55,77%. Fraksi etil asetat daun rambutan dari fraksinasi bertingkat menghasilkan persentase rendemen sebesar 18%.
2. Fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, dan triterpenoid.
3. Fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki kadar total fenolik sebesar 324,41 mg GAE/g dan kadar total flavonoid sebesar 145,82 mg QE/g.
4. Fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki nilai IC_{50} sebesar 19,056 mg/L sedangkan asam askorbat sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} sebesar 10,998 mg/L.
5. Fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menunjukkan daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada tiap konsentrasi uji (20%, 10%, 5%, dan 2,5%) dan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi uji 20%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan:

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan metode ekstraksi atau fraksinasi yang berbeda.
2. Perlu dilakukannya perhitungan kadar senyawa metabolit sekunder lain yang terkandung dalam sampel agar dapat diketahui jumlah senyawa metabolit sekunder secara lebih spesifik.
3. Perlu dilakukannya identifikasi lebih lanjut seperti gugus fungsi yang terkandung terkait daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan spektrofotometer FTIR.
4. Perlu dilakukannya peningkatan konsentrasi fraksi etil asetat daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* agar dapat mengetahui konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri ini.
5. Perlu dilakukan pengujian lainnya seperti antikanker, antidiabetes, dan antiinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelaziz, A. A., Elbanna, T. E., & Gamaleldeen, N. M. (2012). Validated microbiological and HPLC methods for the determination of moxifloxacin in pharmaceutical preparations and human plasma. *Brazilian Journal of Microbiology*, *43*(4), 1291–1301. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400008>
- Abeyrathne, E. D. N. S., Nam, K., Huang, X., & Ahn, D. U. (2022). Plant- and Animal-Based Antioxidants' Structure, Efficacy, Mechanisms, and Applications: A Review. *Antioxidants*, *11*(5), 1025. <https://doi.org/10.3390/antiox11051025>
- 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. https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_175_19
- Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (*Ficus Carica* Linn) Dengan Pelarut Air, Metanol Dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil*, *1*(1), 38–47.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, *4*, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Al-Haj Ibrahim, H. (2019). Introductory Chapter: Fractionation. In *Fractionation*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78050>
- Alina, R., Hidayati, S. N., & Antares, D. andrea. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kulit Buah Rambutan (*Nephellium lappaceum* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E. Coli* Penyebab Diare. *Media Farmasi Indonesia*, *12*(2). <https://mfi.stifar.ac.id/MFI/article/view/15/8>
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D., & Lightfoot, D. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, *6*(4), 42. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>

- Armaleni, A., Nasir, N., & Agustien, A. (2019). Antagonis *Pseudomonas fluorescens* indogenous terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum*). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 6(1), 119. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2019.v06.-i01.p19>
- Baharun, K., Rukmi, I., Lunggani, A. T., & Fachriyah, E. (2013). Daya Antibakteri Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* roxb.) Terhadap *Bacillus Subtilis* Dan *Staphylooccus Aureus* Secara In Vitro. In *Jurnal Biologi* (Vol. 2, Issue 4).
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C.-M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.006>
- Bhardwaj, R., Pareek, S., Sagar, N. A., & Vyas, N. (2020). Bioactive Compounds of *Annona*. In *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts* (pp. 37–62). https://doi.org/10.1007/978-3-030-30182-8_5
- Cabral, C. E., & Klein, M. R. S. T. (2017). Phytosterols in the Treatment of Hypercholesterolemia and Prevention of Cardiovascular Diseases. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 109(5), 475–482. <https://doi.org/10.5935/abc.20170158>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chen, L.-Y., Cheng, C.-W., & Liang, J.-Y. (2015). Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food Chemistry*, 170, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.038>

- Chylen Setiyo, R., & Jamilatur, R. (2020). *Bakteriologi Dasar*. Umsida Press.
- de Menezes, B. B., Frescura, L. M., Duarte, R., Villetti, M. A., & da Rosa, M. B. (2021). A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV–Vis spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, *1157*, 338398. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338398>
- Dhaniaputri, R., Suwono, H., Amin, M., & Lukiati, B. (2022). *Introduction to Plant Metabolism, Secondary Metabolites Biosynthetic Pathway, and In-Silico Molecular Docking for Determination of Plant Medicinal Compounds: An Overview*. <https://doi.org/10.2991/absr.k.220406.053>
- Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, *166*, 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>
- Djordjević, M., Djordjević, M., Starowicz, M., & Krupa-Kozak, U. (2024). Plant-Based Antioxidants in Gluten-Free Bread Production: Sources, Technological and Sensory Aspects, Enhancing Strategies and Constraints. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *13*(2). <https://doi.org/10.3390/antiox13020142>
- Ekayani, M., Juliantoni, Y., & Hakim, A. (2021). Uji Efektivitas Larvasida Dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Losio Antinyamuk Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L.) Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Jurnal Inovasi Penelitian*, *2*(4).
- Eso, A., Mulyawati, S. A., & Rahmawati, E. (2019). Uji Daya Hambat Fraksi N-Heksan dan Etil Asetat Rumpun Laut Cokelat (*Sargassum* sp.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* (Inhibitory Effect of N-Hexane and Ethyl Acetate Fraction of *Sargassum* sp. Seaweeds against *Staphylococcus aureus*). *Medula*, *7*(1).
- Evelina M, N., Benedicta I, R., & Hesti Y, T. (2020). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fucifolia* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi. *Prosiding Seminar Nasional*.
- Fawwaz, M., Pratama, M., & Hasrawati, A. (2020). Total Carotenoids, Antioxidant and Anticancer Effect of *Penaeus monodon* Shells Extract. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *11*(4), 11293–11302. <https://doi.org/10.33263/BRIAC114.1129311302>
- Febrina, L., Riris, I. D., & Silaban, S. (2017). Uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan antioksidan dari ekstrak air tumbuhan binara (*Artemisia vulgaris* L.). *Jurnal Pendidikan Kimia*, *9*(2), 311–317. <https://doi.org/10.24114/jpkim.v9i2.7621>

- Foster, T. J., & Geoghegan, J. A. (2015). *Staphylococcus aureus*. In *Molecular Medical Microbiology* (pp. 655–674). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00037-8>
- Godlewska, K., Pacyga, P., Najda, A., & Michalak, I. (2023). Investigation of Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Biologically Active Plant-Derived Natural Products. *Molecules*, 28(14), 5572. <https://doi.org/10.3390/molecules28145572>
- Goud, B. J., & Poornima D. (2018). Preliminary Qualitative Phytochemical Screening And Fluorescence Analysis Of Methanolic Leaf Extract Of *Artemisia Absinthium*. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(11), 412–417. www.ejbps.com
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hamuel, J. (2012). Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents. In *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech. <https://doi.org/10.5772/26052>
- Hanifa, N. I., Wirasisya, D. G., Muliani, A. E., Utami, S. B., & Sunarwidhi, A. L. (2021). Phytochemical Screening of Decoction and Ethanolic Extract of *Amomum dealbatum* Roxb. Leaves. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 510–518. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2758>
- Hegde, K., Rai, T. P., & Shabaraya, R. (2023). Review Article A brief review on Pharmacological potential of *Nephelium lappaceum* L. In *Review on Pharmacological Potential of Nephelium lappaceum* (Vol. 85).
- Heinzinger, L. R., Pugh, A. R., Wagner, J. A., & Otto, M. (2023). Evaluating the Translational Potential of Bacteriocins as an Alternative Treatment for *Staphylococcus aureus* Infections in Animals and Humans. *Antibiotics*, 12(8), 1256. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081256>
- Hernández-Hernández, C., Aguilar, C. N., Rodríguez-Herrera, R., Flores-Gallegos, A. C., Morlett-Chávez, J., Govea-Salas, M., & Ascacio-Valdés, J. A. (2019). Rambutan(*Nephelium lappaceum* L.): Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 85, 201–210. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.01.018>
- Howden, B. P., Giulieri, S. G., Wong Fok Lung, T., Baines, S. L., Sharkey, L. K., Lee, J. Y. H., Hachani, A., Monk, I. R., & Stinear, T. P. (2023).

Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. *Nature Reviews Microbiology*, 21(6), 380–395. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00852-y>

- Ibroham, M. H., Jamilatun, S., & Kumalasari, I. D. (2022). A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan Di Indonesia Sebagai Antioksidan Alami. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*. <http://jurnal.umj.ac.-id/index.php/semnaslit>
- Irmayanti, N., & Harnis, Z. E. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) Pada Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Farmasi Dan Herbal*, 5(1).
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Jahan, M., Rahman, M., Parvej, M., Chowdhury, S., Haque, M., Talukder, M., & Ahmed, S. (2015). Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* from raw cow milk in Bangladesh. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2(1), 49. <https://doi.org/10.5455/javar.2015.b47>
- Jannah, R., Husni, M. A., & Nursanty, R. (2017). INHIBITION TEST OF METHANOL EXTRACT FROM SOURSOP LEAF (*Annona muricata* Linn.) AGAINST *Streptococcus mutans* BACTERIA*. *Jurnal Natural*, 17(1), 23–30. <https://doi.org/10.24815/jn.v17i1.6823>
- Jideani, A. I. O., Silungwe, H., Takalani, T., Omolola, A. O., Udeh, H. O., & Anyasi, T. A. (2021). Antioxidant-rich natural fruit and vegetable products and human health. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 41–67. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1866597>
- Joshua, P. E., Anosike, C. J., Asomadu, R. O., Ekpo, D. E., Uhuo, E. N., & Nwodo, O. F. C. (2020). Bioassay-guided fractionation, phospholipase A₂ -inhibitory activity and structure elucidation of compounds from leaves of *Schumannia phyton magnificum*. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 1078–1085. <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1839510>
- Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K., & Komaram, R. B. (2019). Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro). *Maedica*, 14(4), 350–356. <https://doi.org/10.26574/maedica.2019.14.4.350>
- Katrin, K., & Bendra, A. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 21–31. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3332>

- Kaur, I., Batra, V., Kumar Reddy Bogireddy, N., Torres Landa, S. D., & Agarwal, V. (2023). Detection of organic pollutants, food additives and antibiotics using sustainable carbon dots. *Food Chemistry*, 406, 135029. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.135029>
- Koca, M., Gülçin, İ., Üç, E. M., Bilginer, S., & Aydın, A. S. (2023). Evaluation of antioxidant potentials and acetylcholinesterase inhibitory effects of some new salicylic acid-salicylamide hybrids. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 20(7), 1535–1543. <https://doi.org/10.1007/s13738-023-02775-0>
- Krakowska-Sieprawska, A., Kielbasa, A., Rafińska, K., Ligor, M., & Buszewski, B. (2022). Modern Methods of Pre-Treatment of Plant Material for the Extraction of Bioactive Compounds. *Molecules*, 27(3), 730. <https://doi.org/10.3390/molecules27030730>
- Krause, J., & Tobi, G. (2013). Discovery, Development, and Regulation of Natural Products. In *Using Old Solutions to New Problems - Natural Drug Discovery in the 21st Century*. InTech. <https://doi.org/10.5772/56424>
- Kumari Shrestha, Y., & Krishna Shrestha, S. (2023). Fundamentals of Colorimetry. In *Advances in Colorimetry [Working Title]*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.112344>
- Lam, J. C., & Stokes, W. (2023). The Golden Grapes of Wrath – Staphylococcus aureus Bacteremia: A Clinical Review. *The American Journal of Medicine*, 136(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2022.09.017>
- Li, W., Zeng, J., & Shao, Y. (2018). Rambutan— Nephelium lappaceum. In *Exotic Fruits* (pp. 369–375). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00048-4>
- Lizcano, S. C., Dávila, J. A., & Hernández, V. (2019). Fruit Agroindustrial Wastes for Preparing Beverages for Medicinal Purposes by Supercritical Fluid Extraction Technology: Andes Berry (*Rubus glaucus* benth) Case. *Production and Management of Beverages*, 151–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00005-5>
- Lu'ma, A. D., & Anggarani, M. A. (2022). Determination of Flavonoid Concentration, Phenolic Concentration, and Antioxidant Activity of *Allium cepa* L Extract. *Prisma Sains : Jurnal Pengkajian Ilmu Dan Pembelajaran Matematika Dan IPA IKIP Mataram*, 10(3), 658. <https://doi.org/10.33394/j-ps.v10i3.5394>
- Marami, L. M., Dilba, G. M., Babele, D. A., Sarba, E. J., Gizaw, A., Bune, W. M., Bayu, M. D., Admasu, P., Mekbeb, A., Tadese, M., Abdisa, K., & Bayisa, D. (2021). Phytochemical Screening and in-vitro Evaluation

of Antibacterial Activities of *Echinops amplexicaulis*, *Ruta chalepensis* and *Salix subserrata* Against Selected Pathogenic Bacterial Strains in West Shewa Zone, Ethiopia. *Journal of Experimental Pharmacology*, *Volume 13*, 511–520. <https://doi.org/10.2147/JEP.S305936>

- Mendez-Flores, A., Hernández-Almanza, A., Sáenz-Galindo, A., Morlett-Chávez, J., Aguilar, C., & Ascacio-Valdés, J. (2018). Ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican variety) husk. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *11*(12), 676. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.248339>
- Mfotie Njoya, E. (2021). Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. In *Cancer* (pp. 349–357). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819547-5.00031-6>
- Mir, M. A., Rasool, U., Aisha, S., Alshehri, B., & Hamadani, S. S. (2022). Human pathogenic microbes (bacterial and fungal) and associated diseases. *Human Pathogenic Microbes: Diseases and Concerns*, 1–30. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-96127-1.00002-4>
- Misna, M., & Diana, K. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, *2*(2), 138–144. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5990>
- Monrroy, M., Araúz, O., & García, J. R. (2020). Active Compound Identification in Extracts of *N. lappaceum* Peel and Evaluation of Antioxidant Capacity. *Journal of Chemistry*, *2020*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/4301891>
- Muhtadi, M., Haryoto, H., Sujono, T., & Suhendi, A. (2016). Antidiabetic and Antihypercholesterolemia Activities of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) and Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Fruit Peel Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 190–194. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60427>
- Muhtadi, Primarianti, A. U., & Sujono, T. A. (2015). Antidiabetic Activity of Durian (*Durio Zibethinus* Murr.) and Rambutan (*Nephelium Lappaceum* L.) Fruit Peels in Alloxan Diabetic Rats. *Procedia Food Science*, *3*, 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.028>
- Muliasari, H., Sopiah, B., Yuanita, E., & Ningsih, B. N. S. (2023). Free-Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of Red and Green Poinsettia Leaves (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) from Lombok Island. *Makara Journal of Science*, *27*(4). <https://doi.org/10.7454-/mss.v27i4.1349>

- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2021). *Medical Microbiology* (9th ed.). Elsevier.
- Naparło, K., Soszyński, M., Bartosz, G., & Sadowska-Bartosz, I. (2020). Comparison of Antioxidants: The Limited Correlation between Various Assays of Antioxidant Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(14). <https://doi.org/10.3390/molecules25143244>
- Nayaken, P. O., Hakim, A. R., & Alawiyah, T. (2023). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Determination of Total Alkaloid Content of Kirinyuh Leaf Extract (*Chromolaena odorata*) Based on Different Extraction Methods. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 6(2), 194–200.
- Nethaji, R., Thooyavan, G., Mullai Nilla K, & Ashok K. (2015). Phytochemical Profiling, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Methanol Extract in Rambutan Fruit (*Nephelium Lappacium*) Epicarp Against The Human Pathogens. *International Journal of Current Innovation Research*, 1(9), 201–206.
- Ngibad, K. (2019). Phytochemical Screening of Sunflower Leaf (*Helianthus annuus*) and Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) Plant Ethanol Extract. *Borneo Journal of Pharmacy*, 2(1), 24–30. <https://doi.org/10.33084/bjop.v2i1.689>
- NN Azwanida. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03). <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Nofita, D., Fika, R., Fadjria, N., & Afriandi. (2023). Chimica et Natura Acta Extraction and Determination of Total Phenolic and Flavonoid in Kapok Leaves (*Ceiba pentandra* L.) using Ethanol as Solvent. *Chimica et Natura Acta*, 11(1), 41–45. <https://doi.org/10.24198/cna.v11.n1.44664>
- Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review. *Plants*, 11(15), 2011. <https://doi.org/10.3390/plants11152011>
- Mala, D. N., & Taufikurohmah, T. (2015). Sintesis Nanopartikel Platina Dengan Variasi Ion Ag + Dan Uji Aktvitasnya Sebagai Peredam Radikal Bebas. *UNESA Journal of Chemistry*, 4(1).
- Olszowy-Tomczyk, M. (2021). How to express the antioxidant properties of substances properly? *Chemical Papers*, 75(12), 6157–6167. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01799-1>

- Pallawagau, M., Yanti, N. A., Jahiding, M., Kadidae, L. O., Asis, W. A., & Hamid, F. H. (2019). Penentuan Kandungan Fenolik Total Liquid Volatile Matter dari Pirolisis Kulit Buah Kakao dan Uji Aktivitas Antifungi terhadap *Fusarium oxysporum*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 15(1), 165. <https://doi.org/10.20961/alchemy.15.1.24678.165-176>
- Pangaribuan, F. X. R., Sitorus, S., & Saleh, C. (2016). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl). *Jurnal Atomik*, 1(2), 81–85.
- Pereira, G. A., Arruda, H. S., & Pastore, G. M. (2018). Modification and validation of Folin-Ciocalteu assay for faster and safer analysis of total phenolic content in food samples. *Brazilian Journal of Food Research*, 9(1), 125. <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v9n1.6062>
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>
- Perumal, A., Alsalhi, M. S., Kanakarajan, S., Devanesan, S., Selvaraj, R., & Tamizhazhagan, V. (2021). *Phytochemical evaluation and anticancer activity of rambutan (Nephelium lappaceum) fruit endocarp extracts against human hepatocellular carcinoma (HepG-2) cells*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.027>
- Phuong, N. N. M., Le, T. T., Van Camp, J., & Raes, K. (2020). Evaluation of antimicrobial activity of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108539. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108539>
- Priego-Capote, F. (2021). Solid–liquid extraction techniques. In *Analytical Sample Preparation With Nano- and Other High-Performance Materials* (pp. 111–130). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822139-6.00002-X>
- Rahmadeni, Y., Febria, F. A., & Bakhtiar, A. (2019). Potensi Pakih Sipasan (*Blechnum orientale*) sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 6(2), 224. <https://doi.org/10.24843/-metamorfosa.2019.v06.i02.p12>
- Rahmawati, D. (2019). *Mikrobiologi Farmasi: Dasar-Dasar Mikrobiologi untuk Mahasiswa Farmasi*. Pustaka Baru Press.

- Raposo, F., Borja, R., & Gutiérrez-González, J. A. (2024). A comprehensive and critical review of the unstandardized Folin-Ciocalteu assay to determine the total content of polyphenols: The conundrum of the experimental factors and method validation. *Talanta*, 272, 125771. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125771>
- Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76. <https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.564>
- Royani, A., Hanafi, M., Julistiono, H., & Manaf, A. (2023). The total phenolic and flavonoid contents of Aloe vera and Morinda citrifolia extracts as antibacterial material against *Pseudomonas aeruginosa*. *Materials Today: Proceedings*, 72, 2796–2802. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.06.466>
- Rumaolat, W. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. 2-*TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 10(2), 93–97. <https://doi.org/10.33846/2trik10204>
- Rusu, A. V., Trif, M., & Rocha, J. M. (2023). Microbial Secondary Metabolites via Fermentation Approaches for Dietary Supplementation Formulations. *Molecules*, 28(16), 6020. <https://doi.org/10.3390/molecules28166020>
- Sahira Banu, K., & Cathrine, L. (2015). General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS)*, 2(4), 25–32. www.arcjournals.org
- Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P., Sharifi-Rad, M., Kumar, P., & Sharifi-Rad, J. (2018). Antioxidants: Positive or Negative Actors? *Biomolecules*, 8(4), 124. <https://doi.org/10.3390/biom8040124>
- Salsabila, G., Soulissa, A. G., & Widyarman, A. S. (2022). Antibiofilm Effect of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum* L.) against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* (in vitro). *E-GiGi*, 10(1), 103. <https://doi.org/10.35790/eg.v10i1.39050>
- Sanjaya, Y. A., Tola, P. S., & Rahmawati, R. (2022). Ultrasound-assisted Extraction as a Potential Method to Enhanced Extraction of Bioactive Compound. *Nusantara Science and Technology Proceedings*. <https://doi.org/10.11594/nstp.2022.2729>
- Sari, L. M. (2019). *Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksisitas Biji Pinang pada Karsinoma Sel Skuamosa Mulut*. Syiah Kuala University Press.

- Sebastian, J., & Widyarman, A. S. (2021). Roselle flower petals extract inhibits periodontal pathogenic biofilms. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 6(2), 102–105. <https://doi.org/10.15562/jdmfs.v6i2.1122>
- 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. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.-2020.v8.i2i.8834>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences*, 34(7), 795–800. <https://doi.org/10.2116/analsci.18P014>
- Styawan, A. A., & Rohmanti, G. (2020). Determination Of Flavonoid Levels Of Alcl3 Methode In The Extract Of Metanol Flowers (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 6(2), 134–141. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v6i2-.3912>
- Suharyani, I., Susilo, R., Zahrah Salsabila, D., Putri Septiyati, T., & Rahmasari, Y. (2022). Review: Modifikasi Struktur Amoksisilin Dan Uji Aktivasnya Sebagai Antibakteri Secara In Vitro. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2). <https://scholar.google.com>
- Sukandiarsyah, F., Purwaningsih, I., & Ratnawaty, G. J. (2023). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Metode DPPH. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 9(1), 62–70. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i1.299>
- Sukmandari, N. S., Dash, G. K., Jusof, W. H. W., & Hanafi, M. (2017). A review on *Nephelium lappaceum* L. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(8), 2819–2827. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.-2017.00498.X>
- Supriatna, D., Mulyani, Y., Rostini, I., Untung, M., & Agung, K. (2019). Aktivitas Antioksidan, Kadar Total Flavonoid Dan Fenol Ekstrak

- Metanol Kulit Batang Mangrove Berdasarkan Stadia Pertumbuhannya. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 2, 35–42.
- Syahir, A., Sulaiman, S., Mel, M., Othman, M., & Zubaidah Sulaiman, S. (2020). An Overview: Analysis of ultrasonic-assisted extraction's parameters and its process. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 778(1), 012165. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/778/1/012165>
- Targuma, S., Njobeh, P. B., & Ndungu, P. G. (2021). Current Applications of Magnetic Nanomaterials for Extraction of Mycotoxins, Pesticides, and Pharmaceuticals in Food Commodities. *Molecules*, 26(14), 4284. <https://doi.org/10.3390/molecules26144284>
- Teng, H., Chen, L., Huang, Q., Wang, J., Lin, Q., Liu, M., Lee, W. Y., & Song, H. (2016). Ultrasonic-Assisted Extraction of Raspberry Seed Oil and Evaluation of Its Physicochemical Properties, Fatty Acid Compositions and Antioxidant Activities. *PLOS ONE*, 11(4), e0153457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153457>
- Teoh, E. S. (2016). Secondary Metabolites of Plants. In *Medicinal Orchids of Asia* (pp. 59–73). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5
- Thawabteh, A., Juma, S., Bader, M., Karaman, D., Scrano, L., Bufo, S., & Karaman, R. (2019). The Biological Activity of Natural Alkaloids against Herbivores, Cancerous Cells and Pathogens. *Toxins*, 11(11), 656. <https://doi.org/10.3390/toxins11110656>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR-00134-14>
- Torgbo, S., Rugthaworn, P., Sukatta, U., & Sukyai, P. (2022). Biological Characterization and Quantification of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Peel Extract as a Potential Source of Valuable Minerals and Ellagitannins for Industrial Applications. *ACS Omega*, 7(38), 34647–34656. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c04646>
- Torres, M. R., Slate, A. J., Ryder, S. F., Akram, M., Iruzubieta, C. J. C., & Whitehead, K. A. (2021). Ionic gold demonstrates antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* strains due to cellular ultrastructure damage. *Archives of Microbiology*, 203(6), 3015–3024. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02270-1>
- Tripathi, P., & Karunakran, G. (2013). *Fruit Production in India*. Narendra Publishing House.

- Tsong, J. L., Goh, L. P. W., Gansau, J. A., & How, S.-E. (2021). Review of *Nephelium lappaceum* and *Nephelium ramboutan-ake*: A High Potential Supplement. *Molecules*, 26(22), 7005. <https://doi.org/10.3390/molecules26227005>
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. In *Bioactive Compounds* (pp. 33–50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Wardani, T. S. (2022). *Isolasi dan Analisis Tumbuhan Obat*. Pustaka Baru Press.
- Widowati, W., Maesaroh, M., Fauziah, N., Erawijantari, P. P., & Sandra, F. (2015). Free Radical Scavenging and Alpha/Beta-glucosidases Inhibitory Activities of Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Peel Extract. *The Indonesian Biomedical Journal*, 7(3), 157. <https://doi.org/10.18585/inabj.v7i3.180>
- Wilson MG, & Pandey S. (2023, August 8). *Pseudomonas aeruginosa*. StatPearls Publishing.
- Winastri, N. L. A. P., Muliastri, H., & Hidayati, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Air Perasan dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corniculata* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*, 19(2). <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v19i2.3786>
- Wintola, O., & Afolayan, A. (2015). The antibacterial, phytochemicals and antioxidants evaluation of the root extracts of *Hydnora africana* Thunb. used as antidiarrheic in Eastern Cape Province, South Africa. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 307. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0835-9>
- Yang, Y., Laval, S., & Yu, B. (2021). Chemical Synthesis of Saponins. In *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* (Vol. 79, pp. 63–150). <https://doi.org/10.1016/bs.accb.2021.10.001>
- Yasir, J. W., Momuat, L. I., & Pontoh, J. (2021). Efektivitas Antioksidan dari Ekstrak Bunga Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) dan Potensinya Sebagai Antihiperkolesterolemia. *JURNAL ILMIAH SAINS*, 21(2), 182. <https://doi.org/10.35799/jis.v21i2.32555>
- Ye, Z.-W., Zhang, J., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2015). Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1850(8), 1607–1621. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.010>
- Zakhour, J., Sharara, S. L., Hindy, J.-R., Haddad, S. F., & Kanj, S. S. (2022). Antimicrobial Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Severe Sepsis. *Antibiotics*, 11(10), 1432. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101432>

- Zehiroglu, C., & Ozturk Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4757–4774. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, 17(1). <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>