

**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea  
americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN  
*Pseudomonas aeruginosa***

**(Skripsi)**

**Oleh**  
**UMNIYAH TSABITAH ZAHRANI**  
**2118031050**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea  
americana* Mill.) DAN DAUN PEPEWA (Carica papaya L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN  
*Pseudomonas aeruginosa***

**Oleh**  
**UMNIYAH TSABITAH ZAHRANI**

**Skripsi**  
**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar**  
**SARJANA FARMASI**

**Pada**  
**Program Studi Farmasi**  
**Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG**

**2025**

Judul Skripsi

**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN  
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI  
FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea americana*  
Mill.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN  
*Pseudomonas aeruginosa***

Nama Mahasiswa

**Umniyah Tsabitah Zahrani**

No. Pokok Mahasiswa

2118031050

Program Studi

Farmasi

Fakultas

Kedokteran



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

NIP. 199405182022032019

**Atri Sri Ulandari, M. Farm.**

NIP. 199407022023212053

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



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

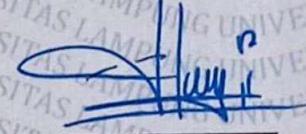
NIP. 197601202003122001

## **MENGESAHKAN**

**1. Tim Pengaji**

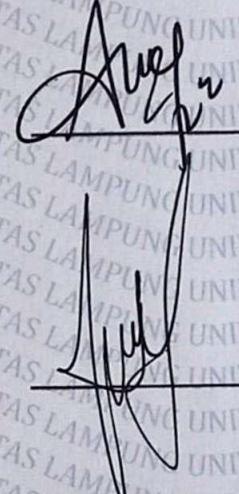
**Ketua**

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



**Sekretaris**

**: Atri Sri Ulandari, M. Farm.**



**Pengaji**

**Bukan Pembimbing : apt. Ramadhan Triyandi, M. Si.**

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



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

**NIP. 197601202003122001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 April 2025**

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Umniyah Tsabitah Zahrani  
Nomor Pokok Mahasiswa : 2118031050  
Tempat Tanggal Lahir : Metro, 4 November 2003  
Alamat : Unit II, Banjar Agung, Tulang Bawang

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul "**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea americana* MILL.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Pseudomonas aeruginosa***" 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 plagiarism.
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, 21 April 2025  
Pembuat Pernyataan,



Umniyah Tsabitah Zahrani  
NPM. 2118031050

## **RIWAYAT HIDUP**

Umniyah Tsabitah Zahrani lahir di Metro, pada tanggal 4 November 2003. Penulis merupakan anak ke-2 dari 4 bersaudara, putri dari pasangan Aris Santoso dan Misiyah. Penulis memulai pendidikan formal di SD Negeri 2 Banjar Agung dan menyelesaiannya pada tahun 2015. Selanjutnya, penulis melanjutkan pendidikan di SMP IT Baitul Muslim Lampung Timur dan lulus pada tahun 2018. Pendidikan menengah atas ditempuh di SMA IT Baitul Muslim Lampung Timur dan diselesaikan pada tahun 2021. Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa di Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

Selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi, penulis aktif dalam berbagai kegiatan akademik maupun organisasi. Penulis pernah bergabung dalam organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina sebagai Sekretaris Departemen Kaderisasi tahun 2022-2023 dan Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) Universitas Lampung sebagai anggota Departemen Media Komunikasi dan Informasi pada tahun 2023 serta sebagai Wakil Kepala Departemen Komunikasi Publikasi dan Informasi pada tahun 2024. Selain itu, semasa perkuliahan penulis juga berkesempatan menjadi bagian dari Asisten Praktikum Teknologi Formulasi Sediaan Steril pada tahun 2025.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يُرِيدُ اللَّهُ بِكُمُ الْيُسْرَ وَلَا يُرِيدُ بِكُمُ الْعُسْرَ

“Allah menghendaki kemudahan bagimu,  
dan tidak menghendaki kesukaran bagimu.”

[Q.S Al-Baqarah: 185]

Persembahan sederhana untuk  
Orang-orang yang aku sayangi,  
Abi, Umi, dan seluruh keluargaku

## **SANWACANA**

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadirat Allah SWT, karena atas curahan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penetapan Kadar Alkaloid Total dan Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Fraksi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*”. Sholawat serta salam tak lupa selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, arahan, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M. Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, S.Ked., SpM., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm., selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan bimbingan, arahan, dukungan dan motivasi selama proses penyusunan skripsi ini;
5. Ibu Atri Sri Ulandari, M.Farm., selaku Pembimbing II dan pembimbing akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan nasihat, bimbingan, dukungan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyusunan skripsi ini;
6. apt. Ramadhan Triyandi, M.Farm., selaku Pembahas yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan semangat, evaluasi, kritik, dan saran membangun kepada penulis;

7. Kedua orangtua penulis, Abi Aris Santoso, S.Pd. (Alm) dan Umi Misiyah, yang selalu memberikan doa dan dukungan baik secara moral maupun materi selama menempuh pendidikan ini;
8. Kakak dan adik penulis serta seluruh keluarga besar yang senantiasa memberikan semangat, bantuan, dukungan, dan doa selama ini;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung telah memberikan ilmu dan bimbingan selama proses perkuliahan, penulis mengucapkan terima kasih atas pengalaman dan pembelajaran yang telah diberikan kepada penulis;
10. Seluruh laboran yang telah membantu selama penulis melakukan penelitian di Laboratorium Kimia Farmasi, Laboratorium Farmasetika Fakultas Kedokteran, Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung;
11. Seluruh tenaga kependidikan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu penulis selama menjalankan studi hingga proses penyelesaian penelitian;
12. Teman satu penelitian dan bimbingan, Michelle yang selalu bersamaai penulis dalam proses penyusunan skripsi;
13. Teman-teman penelitian, Pipit, Nova, Nata, Aga, Ade, Ummi, Niki, dan Dila yang selalu membantu dan memberikan dukungan selama proses penyelesaian penelitian;
14. Teman-teman rumah, Qila, Salju, Salma, Nadia, dan Vira, yang selalu bersamai penulis, menjadi keluarga bagi penulis, dan memberikan motivasi, doa, serta dukungan;
15. Seluruh teman-teman angkatan 2021 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah menjadi bagian perjalanan hidup penulis dalam menjalani perkuliahan ini;
16. Keluarga besar organisasi FSI Ibnu Sina dan Himafarsi Unila, yang telah memberikan pengalaman berorganisasi dan menjadi wadah pengembangan diri penulis;
17. Seluruh angkatan Farmasi Universitas Lampung yang telah memberikan doa, dukungan, motivasi, dan bantuan kepada penulis selama ini;

18. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu per satu yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan sehingga penulis terbuka terhadap kritik dan saran membangun. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang banyak.

Bandar Lampung, April 2025  
Penulis,

Umniyah Tsabitah Zahrani

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF TOTAL ALKALOID CONTENT AND TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF A COMBINATION OF AVOCADO LEAF FRACTIONS (*Persea americana* Mill.) AND PAPAYA LEAVES (*Carica papaya* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Pseudomonas aeruginosa*

Created By  
Umniyah Tsabitah Zahrani

**Background:** The use of antibiotics to treat bacterial infections is often followed by the incidence of antibiotic resistance which can complicate treatment. This study aims to determine the total alkaloid content and antibacterial activity of a combination of avocado leaf fractions and papaya leaves against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

**Methods:** This study used a laboratory experimental design on n-hexane, ethyl acetate, and water fractions with a fraction concentration of 400 mg/mL and a combination of 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, and 0:2 (w/w) ratios. Total alkaloid levels were measured using the bromocresol green complex method, while antibacterial activity tests were carried out using the disc diffusion method. Data on total alkaloid levels and inhibition zone diameters were analyzed using the One-Way ANOVA test and the Pearson correlation test.

**Results:** The study produced an ethyl acetate fraction with the highest alkaloid content of 1.937% w/w and showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* of 7.78 mm and *Pseudomonas aeruginosa* of 7.25 mm. The water fraction with the highest alkaloid content of 0.518% w/w only showed weak inhibition against *Staphylococcus aureus* of 1.67 mm, while the n-hexane fraction with an alkaloid content of 0.982% w/w did not show antibacterial activity. Analysis of the total alkaloid content and inhibition zone diameter data showed differences between fraction variables and there was a relationship between the total alkaloid content and the inhibition zone diameter indicated by a negative correlation coefficient.

**Conclusions:** The single papaya leaf ethyl acetate fraction had better results in terms of total alkaloid content, which was 1.937% w/w. The single avocado leaf ethyl acetate fraction had better results in terms of antibacterial testing on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key Words:** Antibacterial, Avocado leaf, Papaya leaf, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRAK

**PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI KOMBINASI FRAKSI DAUN ALPUKAT (*Persea  
americana* Mill.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN  
*Pseudomonas aeruginosa***

Oleh  
**Umniyah Tsabitah Zahrani**

**Latar Belakang:** Penggunaan antibiotik untuk mengatasi penyakit infeksi bakteri seringkali diikuti dengan adanya kejadian resistensi antibiotik yang dapat mempersulit pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar alkaloid total dan aktivitas antibakteri kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium pada fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dengan konsentrasi fraksi 400 mg/mL dan kombinasi perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 (b/b). Kadar alkaloid total diukur menggunakan metode kompleks *bromocresol green*, sedangkan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Data kadar alkaloid total dan diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan uji korelasi Pearson.

**Hasil:** Pada penelitian dihasilkan fraksi etil asetat dengan kadar alkaloid tertinggi sebesar 1,937 %b/b serta menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 7,78 mm dan *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 7,25 mm. Fraksi air dengan kadar alkaloid tertinggi sebesar 0,518 %b/b hanya menunjukkan daya hambat lemah terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 1,67 mm, sementara fraksi n-heksan dengan kadar alkaloid sebesar 0,982 %b/b, tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Analisis data kadar alkaloid total dan diameter zona hambat menunjukkan adanya perbedaan antar variabel fraksi dan terdapat

hubungan antara kadar alkaloid total dengan diameter zona hambat ditandai dengan nilai koefisien korelasi negatif.

**Kesimpulan:** Fraksi etil asetat daun pepaya tunggal memiliki hasil yang lebih baik dalam hal kadar alkaloid total yaitu sebesar 1,937 %b/b. Adapun fraksi etil asetat daun alpukat tunggal memiliki hasil yang lebih baik dalam hal pengujian antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

**Kata Kunci:** Antibakteri, Daun alpukat, Daun pepaya, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	7
1.1    Latar Belakang .....	7
1.2    Rumusan Masalah.....	10
1.3    Tujuan Penelitian .....	10
1.3.1    Tujuan Umum .....	10
1.3.2    Tujuan Khusus .....	10
1.4    Manfaat Penelitian .....	11
1.4.1    Manfaat Bagi Institusi .....	11
1.4.2    Manfaat Bagi Peneliti.....	11
1.4.3    Manfaat Bagi Masyarakat .....	11
1.5    Batasan Penelitian .....	12
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	13
2.1    Tanaman Daun Alpukat .....	13
2.1.1    Klasifikasi Daun Alpukat.....	13
2.1.2    Morfologi Daun Alpukat.....	14
2.1.3    Khasiat Daun Alpukat.....	14
2.2    Tanaman Daun Pepaya (Carica papaya L.).....	15
2.2.1    Klasifikasi Daun Pepaya .....	15
2.2.2    Morfologi Daun Pepaya .....	15
2.2.3    Khasiat Daun Pepaya .....	16
2.3    Senyawa Metabolit Sekunder.....	17
2.3.1    Definisi .....	17
2.3.2    Flavonoid .....	17

2.3.3	Fenolik .....	18
2.3.4	Tanin .....	19
2.3.5	Alkaloid.....	20
2.3.6	Saponin.....	21
2.3.7	Terpenoid .....	21
2.3.8	Steroid .....	22
2.4	Ekstraksi dan Fraksinasi.....	23
2.4.1	Ekstraksi .....	23
2.4.2	Fraksinasi .....	24
2.4.3	Pemilihan Pelarut .....	24
2.5	Bakteri Uji.....	28
2.5.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
2.5.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29
2.6	Antibiotik .....	30
2.6.1	Definisi.....	30
2.6.2	Ciprofloxacin.....	31
2.7	Metode Uji .....	32
2.7.1	Metode Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	32
2.7.2	Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	32
2.8	Kerangka Teori.....	36
2.9	Kerangka Konsep .....	36
2.10	Hipotesis.....	37
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		38
3.1	Desain Penelitian.....	38
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	38
3.2.1	Tempat Penelitian.....	38
3.2.2	Waktu Penelitian .....	39
3.3	Variabel Penelitian .....	39
3.3.1	Variabel Bebas .....	39
3.3.2	Variabel Terikat .....	39
3.3.3	Variabel Kontrol .....	39
3.4	Definisi Operasional.....	40
3.5	Alat dan Bahan Penelitian .....	41
3.5.1	Alat Penelitian.....	41
3.5.2	Bahan Penelitian.....	41
3.6	Prosedur Penelitian.....	41
3.6.1	Determinasi Tanaman .....	42
3.6.2	Pembuatan Simplicia.....	42
3.6.3	Pembuatan Ekstrak.....	42
3.6.4	Pembuatan Fraksi .....	43
3.6.5	Skrining Fitokimia .....	44

3.6.6	Penetapan Kadar Alkaloid Total .....	45
3.6.7	Uji Aktivitas Antibakteri.....	48
3.7	Alur Penelitian .....	52
3.8	Analisis Data .....	52
3.9	Etika Penelitian .....	53
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		54
4.1	Hasil Penelitian .....	54
4.1.1	Determinasi Tanaman .....	54
4.1.2	Hasil Pembuatan Simplicia Serbuk .....	54
4.1.3	Ekstraksi dan Perhitungan Rendemen Ekstrak .....	54
4.1.4	Fraksinasi dan Perhitungan Rendemen Fraksi .....	55
4.1.5	Hasil Skrining Fitokimia .....	56
4.1.6	Hasil Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	58
4.1.7	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri .....	60
4.1.8	Hasil Analisis Hubungan Kadar Alkaloid Total dan Diameter Zona Hambat .....	67
4.2	Pembahasan.....	68
4.2.1	Ekstraksi dan Fraksinasi.....	68
4.2.2	Skrining Fitokimia .....	69
4.2.3	Penetapan Kadar Alkaloid Total .....	70
4.2.4	Uji aktivitas Antibakteri.....	72
4.2.5	Analisis Hubungan antara Kadar Alkaloid Total dan Diameter Zona Hambat .....	76
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		77
5.1	Kesimpulan .....	77
5.2	Saran.....	78
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		79
<b>LAMPIRAN.....</b>		93

## DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 2.1</b> Tingkat Polaritas Pelarut.....	25
<b>Tabel 3.1</b> Definisi Operasional.....	40
<b>Tabel 3.2</b> Pembuatan Larutan Uji Alkaloid Total.....	47
<b>Tabel 3.3</b> Pembuatan Larutan Uji Antibakteri.....	50
<b>Tabel 4.1</b> Bobot Simplicia Daun Alpukat dan Daun Pepaya.....	54
<b>Tabel 4.2</b> Hasil Ekstraksi dan Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	55
<b>Tabel 4.3</b> Bobot Fraksi Kental dan Nilai Rendemen.....	55
<b>Tabel 4.3</b> Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Air.....	56
<b>Tabel 4.4</b> Hasil Skrining Fitokimia Fraksi <i>N</i> -Heksan.....	57
<b>Tabel 4.5</b> Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat.....	57
<b>Tabel 4.8</b> Hasil Penetapan Kadar Alkaloid Total Fraksi Air.....	58
<b>Tabel 4.9</b> Hasil Penetapan Kadar Alkaloid Total Fraksi <i>N</i> -Heksan.....	59
<b>Tabel 4.10</b> Hasil Penetapan Kadar Alkaloid Total Fraksi Etil Asetat.....	60
<b>Tabel 4.11</b> Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi Air pada <i>Staphylococcus aureus</i> .61	61
<b>Tabel 4.12</b> Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi <i>N</i> -Heksan pada <i>Staphylococcus aureus</i> .....	62
<b>Tabel 4.13</b> Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi Etil Asetat pada <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
<b>Tabel 4.14</b> Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi Air pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	64
<b>Tabel 4.15</b> Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi <i>N</i> -Heksan pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	65
<b>Tabel 4.16</b> Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi Etil Asetat pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	66
<b>Tabel 4.19</b> Hubungan Kadar Alkaloid Total dan Aktivitas Antibakteri.....	67

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 2.1</b> Tanaman Daun Alpukat.....	13
<b>Gambar 2.2</b> Tanaman Daun Pepaya.....	15
<b>Gambar 2.3</b> Struktur Umum Flavonoid.....	17
<b>Gambar 2.4</b> Struktur Fenol.....	18
<b>Gambar 2.5</b> Struktur Asam Elagat (Tanin Terhidrolisis).....	19
<b>Gambar 2.6</b> Struktur Kafein.....	20
<b>Gambar 2.7</b> Struktur Saponin Steroid.....	21
<b>Gambar 2.8</b> Struktur Asam Ursolat (Pentacyclic Triterpenes).....	21
<b>Gambar 2.9</b> Struktur Umum Steroid.....	22
<b>Gambar 2.10</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
<b>Gambar 2.11</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29
<b>Gambar 2.12</b> Struktur Kimia Ciprofloxacin.....	31
<b>Gambar 2.13</b> Struktur dan Resonansi Bromocresol Green.....	32
<b>Gambar 2.14</b> Kerangka Teori.....	36
<b>Gambar 2.15</b> Kerangka Konsep.....	36
<b>Gambar 3.1</b> Alur Penelitian.....	52
<b>Gambar 4.1</b> Hasil uji daya hambat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	62
<b>Gambar 4.2</b> Hasil uji daya hambat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
<b>Gambar 4.3</b> Hasil uji daya hambat terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
<b>Gambar 4.4</b> Hasil uji daya hambat terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	65
<b>Gambar 4.5</b> Hasil uji daya hambat terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	66
<b>Gambar 4.6</b> Hasil uji daya hambat terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	67
<b>Gambar 4.7</b> Struktur Piperidin dan Karpain.....	73
<b>Gambar 4.8</b> Struktur Struktur 2,6-dipiperidino-4-bromoiodobenzene dan Struktur 2,6-dipiperidino-4-chloroiodobenzene.....	74

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Persetujuan Etik.....	92
<b>Lampiran 2.</b> Surat Hasil Determinasi Tanaman Alpukat.....	93
<b>Lampiran 3.</b> Surat Hasil Determinasi Tanaman Pepaya.....	95
<b>Lampiran 4.</b> Surat Izin Penggunaan Laboratorium Farmasetika.....	97
<b>Lampiran 5.</b> Surat Izin Penggunaan Laboratorium Kimia Farmasi Analisa....	99
<b>Lampiran 6.</b> Surat Permohonan Penelitian.....	101
<b>Lampiran 7.</b> Surat Pemberian Izin Penelitian.....	102
<b>Lampiran 8.</b> <i>Certificate of Analysis N-Heksan</i> .....	103
<b>Lampiran 9.</b> <i>Certificate of Analysis Etil Asetat</i> .....	104
<b>Lampiran 10.</b> <i>Certificate of Analysis Kafein</i> .....	105
<b>Lampiran 11.</b> <i>Certificate of Analysis Bromocresol Green</i> .....	106
<b>Lampiran 12.</b> <i>Certificate of Analysis Natrium Hidroksida</i> .....	107
<b>Lampiran 13.</b> <i>Certificate of Analysis Natrium Fosfat</i> .....	108
<b>Lampiran 14.</b> <i>Certificate of Analysis Asam Klorida</i> .....	109
<b>Lampiran 15.</b> Diagram Penelitian.....	111
<b>Lampiran 16.</b> Dokumentasi Penelitian.....	119
<b>Lampiran 17.</b> Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi.....	127
<b>Lampiran 18.</b> Perhitungan Pembuatan Reagen dan Dapar Fosfat.....	128
<b>Lampiran 19.</b> Perhitungan Pembuatan Larutan Uji dan Penetapan Kadar Alkaloid Total.....	129
<b>Lampiran 20.</b> Perhitungan Pembuatan Larutan Uji Antibakteri dan Perhitungan Diameter Zona Hambat.....	133
<b>Lampiran 21.</b> Hasil Analisis Statistika.....	136

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Penyakit infeksi merupakan suatu keadaan timbulnya penyakit yang diakibatkan adanya infeksi dari mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur di dalam tubuh (Ayen, *et al.*, 2017). Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah utama terkait kesehatan di masyarakat baik yang terjadi di negara maju maupun negara berkembang. Dalam beberapa tahun terakhir, angka kejadian terjadinya penyakit infeksi semakin meningkat dengan kasus kematian mencapai 3,5 juta orang setiap tahunnya (Anwar, *et al.*, 2023). Saat ini salah satu penyebab infeksi yang masih menjadi perhatian di negara berkembang adalah karena adanya infeksi bakteri patogen (Savitri, *et al.*, 2019).

Bakteri patogen adalah bakteri yang menimbulkan penyakit pada hospes atau inang yang diinfeksi (Kanan, 2019). *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan dua jenis bakteri patogen yang sering ditemukan secara bersamaan pada luka infeksi (Jenul, *et al.*, 2023). Kedua bakteri tersebut merupakan penyebab paling umum dari terjadinya berbagai jenis infeksi, termasuk infeksi luka kronis, infeksi kulit, infeksi saluran pernapasan, dan infeksi sistemik (Deleon, 2014). Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara bersamaan dapat mengakibatkan kondisi pasien yang terinfeksi menjadi lebih buruk jika dibandingkan dengan kasus infeksi tunggal. Hal tersebut dapat diakibatkan karena adanya faktor resistensinya terhadap antibiotik (Hotterbeekx, *et al.*, 2017; Deleon, 2014).

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan pemberian antibiotik (Mandagi, *et al.*, 2022). Penggunaan antibiotik untuk mengatasi penyakit infeksi bakteri seringkali diikuti dengan adanya kejadian resistensi antibiotik yang dapat mempersulit pengobatan (Gupta & Birdi, 2017). Resistensi antibiotik merupakan keadaan ketika bakteri menjadi kebal terhadap efek antibiotik sehingga mengakibatkan pengobatan yang diberikan menjadi tidak efektif (Kemenkes, 2022). Data WHO 2024 memaparkan bahwa kejadian resistensi antibiotik diperkirakan telah mengakibatkan 4,95 juta kematian pada tahun 2019. Adapun kejadian tersebut sebagian besar terjadi di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah (Olaru, *et al.*, 2023). Oleh karena itu, penting untuk menemukan alternatif pengobatan penyakit infeksi bakteri yang lebih efektif, salah satunya dengan eksplorasi kandungan senyawa aktif dari tanaman obat berkhasiat di Indonesia (Gupta & Birdi, 2017).

Indonesia memiliki banyak jenis tanaman obat berkhasiat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat untuk berbagai penyakit (Anwar, *et al.*, 2023). Seiring dengan perkembangan zaman, masyarakat lebih menyukai penggunaan obat tradisional untuk menghindari penggunaan obat kimia (Manik, 2014). Hal ini diakibatkan adanya kepercayaan yang berkembang di masyarakat bahwa pengobatan penyakit berbasis bahan alam menjadi lebih ekonomis, efek samping pengobatan yang relatif rendah, serta keberadaanya yang mudah didapat (Nor, 2018). Terdapat dua tanaman obat berkhasiat yang telah banyak diketahui dan telah diteliti khasiatnya sebagai antibakteri diantaranya adalah tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) dan tanaman pepaya (*Carica papaya* L.).

Daun tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain adalah saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, polifenol, dan quersetin (Rauf, 2017). Penelitian terkait pemanfaatan daun alpukat yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat terbukti mengandung senyawa alkaloid dengan kandungan sebesar 1,87 mg/g (Tuldjanah, *et al.*, 2022). Selain itu, ekstrak daun alpukat juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas*

*aeruginosa* pada konsentrasi 500 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 10,87 mm (Nasri, 2022). Sementara itu, hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun mengkudu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri tertinggi pada konsentrasi 100 % dengan diameter zona hambat sebesar 19,2 mm (Khafipah, 2022).

Selain tanaman alpukat, terdapat juga tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) yang telah lama digunakan sebagai obat untuk beberapa penyakit seperti malaria, jerawat, diare, dan sakit gigi (A'yun, *et al.*, 2015). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun pepaya antara lain alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin (Nor, *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan Alzanando (2022) terhadap ekstrak daun pepaya menunjukkan hasil adanya kandungan senyawa alkaloid total sebesar 165,689 mg/g. Hasil penelitian lain juga menginformasikan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60 % dengan diperolehnya diameter zona hambat terbesar yaitu 16,333 mm (Putri & Trimulyono, 2023). Sementara itu, hasil penelitian kombinasi 30 % ekstrak daun pepaya dengan 70 % daun sirih yang telah dilakukan sebelumnya terbukti memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,17 mm (Zulyani, *et al.*, 2022).

Beberapa penelitian terkait masing-masing tanaman alpukat dan tanaman pepaya maupun kombinasinya telah dilakukan, namun penelitian terkait penetapan kadar alkaloid total serta uji aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi dari daun alpukat dan daun pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* masih sangat terbatas. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar alkaloid total serta gambaran uji aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi dari daun alpukat dan pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Diharapkan dengan adanya hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang lebih komprehensif terkait potensi tanaman alpukat dan pepaya sebagai alternatif dihasilkannya senyawa antibakteri yang dapat bermanfaat dalam pengobatan penyakit infeksi bakteri.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat diambil dari uraian latar belakang di atas adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana gambaran hasil skrining fitokimia dan jumlah kadar alkaloid total dengan variasi perbandingan yang terkandung dalam kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.)?
2. Bagaimana gambaran aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan variasi perbandingan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?
3. Apakah terdapat hubungan antara kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan variasi perbandingan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini memiliki tujuan umum untuk mengetahui jumlah kadar alkaloid total dan aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui jumlah kadar alkaloid total yang terkandung dalam kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.).

2. Mengetahui gambaran aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Mengetahui ada atau tidaknya hubungan antara jumlah kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam mendukung peran institusi dalam mengembangkan potensi pemanfaatan bahan alam khususnya terkait pemanfaatan kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai obat antibakteri.

### 1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya terkait peluang pengembangan obat baru yang berasal dari informasi aktivitas antibakteri kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat bahwa kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat digunakan

sebagai pengobatan alternatif penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri.

### **1.5 Batasan Penelitian**

Batasan penelitian digunakan agar tidak terjadi penyimpangan atau pelebaran pokok rumusan masalah sehingga dapat memfokuskan penelitian. Batasan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Parameter penelitian ini hanya berfokus pada pengujian kandungan total alkaloid dan hasil nilai zona hambat yang terbentuk dari pemberian variasi rasio konsentrasi kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat dan daun pepaya.
2. Metode penetapan kadar alkaloid total yang dilakukan dalam penelitian ini hanya berfokus dengan penggunaan metode kompleks *bromocresol green* (BCG) secara spektrofotometri UV-Vis.
3. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan dalam penelitian ini hanya berfokus dengan penggunaan metode difusi cakram.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Daun Alpukat**

##### **2.1.1 Klasifikasi Daun Alpukat**



**Gambar 2.1** Tanaman Daun Alpukat  
(Setiyanto, *et al.*, 2021)

Menurut Damayanti (2022), tanaman alpukat memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Subdivisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Ranales  
Family : Lauraceae  
Genus : *Persea*  
Spesies : *Persea americana* Mill

### **2.1.2 Morfologi Daun Alpukat**

Pohon alpukat memiliki tinggi 3-10 m, berakar tunggang, batang berkayu, bulat, warnanya coklat, bercabang banyak, serta ranting berambut halus. Daun tunggal, dengan tangkai yang panjangnya 1-5,5 cm, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, serta bertulang menyirip. Ukuran daun (bervariasi dengan) panjang (sekitar) 10-20 cm, lebar 3-10 cm, daun muda berwarna kemerahan dan berambut rapat, daun tua berwarna hijau gundul, serta memiliki rasa pahit. Tanaman alpukat merupakan pohon berukuran sedang dengan banyak cabang dan ditanam karena buahnya yang lezat dan bergizi (Damayanti, 2022). Alpukat diklasifikasikan sebagai tanaman hijau sepanjang tahun (*evergreen*), tetapi beberapa varietas tanaman alpukat dapat kehilangan daunnya untuk sementara waktu sebelum berbunga (Riswanda, *et al.*, 2023).

### **2.1.3 Khasiat Daun Alpukat**

Daun alpukat memiliki banyak kandungan yang terdapat di dalamnya antara lain vitamin E, mineral, zat besi yang berguna sebagai pembentukan sel darah merah, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, polifenol, quersetin, asam lemak yang bersifat tidak jenuh sebagai antioksidan kuat, serta kandungan kalium dan zat filantik yang dapat membantu melancarkan air seni. Daun alpukat merupakan salah satu terapi pengobatan yang memiliki kandungan flavonoid untuk mencegah penyumbatan pada pembuluh darah, antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh, dapat dijadikan obat anti inflamasi, meningkatkan sistem imun dalam tubuh, dan dapat mencegah terjadinya osteoporosis (Arwanda, 2021). Bagian daun alpukat sering digunakan sebagai pengobatan untuk beberapa penyakit. Daun alpukat mengandung beberapa senyawa yang dapat

dapat dimanfaatkan untuk mengobati beberapa jenis penyakit seperti batu ginjal, menurunkan tekanan darah, radang tenggorokan, sebagai anti diuretik, anti hipoglikemia, dan anti bakteri (Rauf, 2017). Pengujian ekstrak daun alpukat pada konsentrasi 500 mg/mL terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat sebesar 10.87 mm (Nasri, 2022).

## 2.2 Tanaman Daun Pepaya (*Carica papaya L.*)

### 2.2.1 Klasifikasi Daun Pepaya



**Gambar 2.2** Tanaman Daun Pepaya  
(Sudarwati & Fernanda, 2019)

Menurut Habtemariam (2019), tanaman alpukat memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Violales
Family	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i> L.
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L

### 2.2.2 Morfologi Daun Pepaya

Tanaman pepaya termasuk dalam famili *Caricaceae* dan merupakan spesies yang secara ekonomi dianggap penting dari genus *Carica*.

Tanaman ini berasal dari Amerika dan benihnya dibawa hingga ke negara tropis dan subtropis di berbagai penjuru dunia (Hewajulige & Dhenkey, 2016). Tanaman pepaya dapat menumbuhkan daun baru secara konsisten sekitar 2 daun baru setiap minggunya. Jumlah daun berperan penting dalam pertumbuhan buah pepaya dan kandungan gula yang terdapat di dalamnya. Daun tanaman pepaya berbentuk daun tunggal yang besar dan juga kokoh. Permukaan pada daun pepaya memiliki jari-jari yang panjang dan bergerigi dengan ujung tangkai daun yang sedikit runcing serta daunnya biasanya memiliki warna hijau tua. Daun pepaya memiliki rentang lebar antara 50-70 cm dengan panjang hingga 90 cm dan dapat berbentuk lobus kedalam serta seringkali terlipat (Zhou, 2020).

### **2.2.3 Khasiat Daun Pepaya**

Kandungan yang terdapat pada daun pepaya antara lain flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, steroid, alkaloid karpain, karikaksantin, violaksantin, pseudokarpain, papain, glikosida, vitamin C dan E, kolin, dan karposid. Daun pepaya juga memiliki kandungan berupa suatu glukosinolat yang dapat disebut sebagai benzil isotiosianat. Selain itu, terdapat mineral yang terkandung dalam daun pepaya yaitu kalium, zat besi, magnesium, zink, tembaga, dan mangan (A'yun, *et al.*, 2015; Waruwu, 2021).

Kandungan senyawa kimia atau metabolit sekunder yang terdapat dalam daun pepaya dapat berperan sebagai aktivitas farmakologi. Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan identifikasi terhadap tanaman daun pepaya sebagai antibakteri, antimalaria, antiinflamasi, dan antihama (Waruwu, 2021). Selain itu, tanaman daun pepaya juga digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi masalah pencernaan seperti konstipasi (sembelit), infeksi saluran kemih, dan masalah hati. Daun pepaya juga memiliki sifat diuretik yang dapat membantu mempercepat proses pembuangan racun dari dalam tubuh serta dapat meningkatkan fungsi hati (Hanifah, 2023). Penelitian Putri dan Trimulyono (2023)

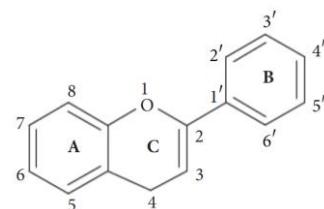
menunjukkan terdapat aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya konsentrasi 60 % terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diperolehnya diameter zona hambat terbesar yaitu 16,333 mm.

## 2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

### 2.3.1 Definisi

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang membantu tanaman sehingga dapat bertahan hidup dalam lingkungan. Metabolit sekunder pada tanaman dapat dikategorikan menjadi terpenoid seperti saponin; fenolik seperti contohnya flavon, lignin, isoorientin, tanin, flavonoid, dan gliserollin; dan senyawa nitrogen seperti sinigrin dan dhurrin. Metabolit sekunder yang berbeda memiliki metabolisme yang berbeda pula sehingga dapat berkontribusi terhadap penekanan dalam pertumbuhan dan perkembangan (Khayri, 2023). Senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari suatu tanaman penghasil metabolit sekunder dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai obat-obatan, pengaroma makanan, bahan baku kosmetik dan lain sebagainya yang diperlukan oleh industri. Senyawa fitokimia yang terdapat pada suatu tanaman dapat diperoleh melalui metode ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai sehingga mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang diekstrak (Waruwu, 2021).

### 2.3.2 Flavonoid



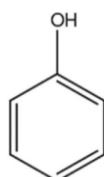
**Gambar 2.3** Struktur Umum Flavonoid  
(Sarian, 2017)

Flavonoid adalah kelompok metabolit sekunder pada tumbuhan yang memiliki struktur polifenol, dan banyak dijumpai dalam buah-buahan,

sayuran, serta beberapa jenis minuman (Khoirunnisa, 2019). Senyawa ini merupakan turunan dari 2-phenyl-benzyl- $\gamma$ -pyrone dan disintesis melalui jalur fenilpropanoid. Subkelas yang terdapat pada flavonoid yaitu diantaranya flavanols, flavanon, flavon, isoflavon, anthocyanidins, dan flavonol. Umumnya subkelas flavonol terdapat dalam bentuk glikosida dengan bentuk umum seperti kaemferol, kuersetin dan mirisetin. Pembagian yang terdapat pada subkelas flavonoid tersebut didasarkan pada sifat-sifat strukturalnya (Alfaridz, 2022; Arifin, 2018).

Flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik yang dapat menyebabkan denaturasi protein sebagai substansi penting dalam struktur bakteri. Komponen sel yang terdenaturasi seperti protein akan mengganggu proses metabolisme bakteri sehingga terjadi lisis yang akan menyebabkan kematian bakteri tersebut. Selain itu, flavonoid juga memiliki fungsi dalam menghambat DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase bakteri sehingga mencegah pertumbuhan bakteri (Nor, *et al.*, 2018). Dalam bidang kesehatan, senyawa flavonoid memiliki efek farmakologi berupa antibakteri, antioksidan, anti inflamasi dan anti diabetes (Alfaridz, 2022).

### 2.3.3 Fenolik

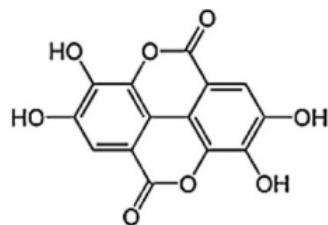


**Gambar 2.4** Struktur Fenol  
(Alara, *et al.*, 2021)

Senyawa dengan lebih banyak atau satu cincin aromatik yang digabungkan dengan satu atau lebih gugus hidroksil biasa disebut dengan fenolik. Senyawa fenolik ini merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang paling umum dengan lebih dari 8000 struktur yang telah diketahui (Alara, *et al.*, 2021). Senyawa fenolik adalah senyawa dengan gugus

hidroksil dan paling banyak ditemukan pada tanaman. Fenolik memiliki jenis struktural yang bervariasi baik berupa fenol sederhana dan kompleks ataupun fenol dengan komponen yang terpolimerisasi. Senyawa fenolik memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan seperti diantaranya yaitu sebagai antioksidan, antikarsinogenik, antimikroba dan lain sebagainya (Diniyah, 2020). Fenol sebagai senyawa antibakteri memiliki mekanisme dengan mendenaturasi protein sel melalui ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein sehingga menyebabkan kerusakan pada struktur protein (Hidayatullah, 2023).

### 2.3.4 Tanin

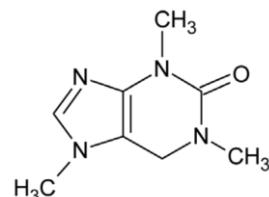


**Gambar 2.5** Struktur Asam Elagat (Tanin Terhidrolisis)  
(Shirmohammadli, 2018)

Tanin merupakan kelompok senyawa kompleks yang tersebar luas di berbagai jenis tumbuhan dan hampir dimiliki oleh semua spesies tumbuhan. Senyawa ini umumnya ditemukan pada bagian spesifik tanaman seperti buah, daun, batang, serta kulit kayu. (Sunani & Hendriani, 2023). Secara umum tanin dapat diklasifikasikan menjadi tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis adalah campuran fenol sederhana seperti contohnya yaitu asam elagat atau asam galat. Seperti namanya, tanin terhidrolisis dapat dihidrolisis oleh asam/basa lemah sehingga menghasilkan asam fenolik dan karbohidrat (Shirmohammadli, 2018). Sedangkan Tanin terkondensasi mengandung polimer flavonoid yang merupakan jenis senyawa fenol. Dalam dunia medis, tanin dikenal memiliki beragam manfaat terapeutik termasuk aktivitas antibakteri, antidiare, antioksidan, dan berfungsi sebagai zat astringen. (Sunani & Hendriani, 2023). Tanin bekerja sebagai antibakteri

dengan menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Saptowo, 2022).

### 2.3.5 Alkaloid



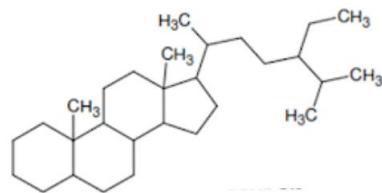
**Gambar 2.6** Struktur Kafein  
(Roberts, 2016)

Alkaloid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder dengan kandungan nitrogen tertinggi yang ditemukan pada jaringan tumbuhan dan hewan. Mayoritas senyawa ini berasal dari tumbuhan, terutama anggota kelompok angiospermae (Ningrum, 2016). Secara alami, alkaloid umumnya terdapat dalam konsentrasi rendah sehingga memerlukan proses isolasi dari campuran senyawa kompleks dalam jaringan tumbuhan. Struktur kimia alkaloid ditandai dengan sistem cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen sebagai heteroatom. Unsur penyusun utamanya meliputi karbon, nitrogen, hidrogen, dan oksigen meskipun beberapa jenis alkaloid tidak mengandung oksigen. Keberadaan atom nitrogen dalam struktur lingkar ini memberikan sifat basa pada senyawa tersebut (Maisarah, 2023).

Senyawa alkaloid dapat dibagi menjadi isoquinolines, pyrroles, pyridines, quinolines, indoles, dan sepuluh jenis alkaloid lainnya berdasarkan strukturnya yang berbeda. Beberapa penelitian sebelumnya yang dilakukan secara *in vivo* dan klinis telah melaporkan bahwa alkaloid memiliki berbagai aktivitas farmakologi beberapa diantaranya yaitu sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, dan aktivitas antibakteri (Yan, *et al.*, 2021). Alkaloid memiliki potensi sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen yang

membentuk peptidoglikan pada sel bakteri. Hal ini mengakibatkan dinding sel tidak terbentuk dengan sempurna, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Tjandra, *et al.*, 2020).

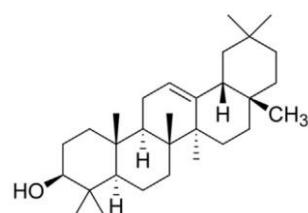
### 2.3.6 Saponin



**Gambar 2.7** Struktur Saponin Steroid  
(Putri, *et al.*, 2023)

Nama 'saponin' berasal dari kata Latin 'sapo' yang artinya yaitu sabun, dan berkaitan dengan kemampuan ekstrak tanaman yang mengandung saponin untuk membentuk busa sabun ketika diaduk dalam air (Timilsena, 2023). Saponin dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antara lain steroid saponin yang dapat dijumpai pada rumput dan triterpenoid saponin yang terdapat pada tanaman kedelai. Berbagai macam sifat biologis yang dapat ditemukan pada senyawa saponin antara lain seperti kemampuan hemolitik, antibakteri, antimoluska, aktivitas antivirus, aktivitas sitotoksik atau antikanker, efek hipokolesterolemia, dan antiprotozoa (Putri, *et al.*, 2023). Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel bakteri dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Saptowo, 2022).

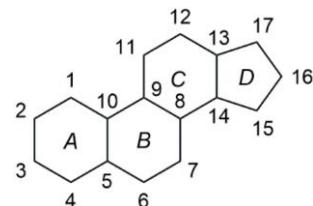
### 2.3.7 Terpenoid



**Gambar 2.8** Struktur Asam Ursolat (Pentacyclic Triterpenes)  
(Ghani, 2020)

Terpenoid adalah senyawa yang berasal dari satuan isoprena atau senyawa terpen. Hal tersebut dikarenakan ketika dalam keadaan alami, terpenoid umumnya diperkaya dengan gugus hidrokarbon, glikosida, eter, alkohol, keton, aldehid, asam karboksilat dan ester. Selain itu, terpenoid juga dianggap sebagai kelompok senyawa bioaktif alami terbesar (Azalia, *et al.*, 2023). Terpenoid terdapat di alam dan memiliki beragam efek biologis termasuk diantaranya yaitu aktivitas antimikroba, antidiabetik, dan antimalaria. Terdapat sekitar 200 jenis triterpenoid dengan karakteristik berbeda, yang secara biologis sebagian besar aktif sebagai agen antioksidan, antivirus, antitumor, dan antiinflamasi (Ghani, 2020). Terpenoid yang terkandung dalam tanaman memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghambat pembentukan lipid dan mengubah struktur membran sel dengan menghambat sintesis ergosterol (Attamimi, 2022).

### 2.3.8 Steroid



**Gambar 2.9** Struktur Umum Steroid  
(Gomes, *et al.*, 2023)

Steroid termasuk dalam golongan senyawa organik baik alami atau sintetis dengan struktur molekul dasarnya dapat terdiri dari 17 atom karbon yang terikat dalam empat cincin menyatu dimana tiga cincin adalah satu cincin siklopentana dan sikloheksana (Gomes, *et al.*, 2023). Senyawa steroid memiliki struktur yang sangat beragam karena adanya gugus fungsi yang teroksidasi dan terikat pada cincin sehingga terjadi oksidasi cincin karbon. Steroid digunakan untuk mengobati penyakit yang diakibatkan oleh kelebihan atau kekurangan hormon, penyakit berbahaya dan kondisi lain seperti radang sendi dan alergi (Nasrudin, *et al.*, 2017). Adapun mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri

disebabkan oleh kemampuan steroid untuk berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik menyebabkan penurunan integritas membran dan perubahan morfologi membran sel, yang akhirnya mengakibatkan terjadinya lisis (Hidayatullah, 2023).

## 2.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

### 2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi tanaman obat adalah proses yang melibatkan pemisahan zat aktif tanaman atau metabolit sekunder dari bahan yang inert atau tidak aktif dengan menggunakan pelarut dan prosedur ekstraksi standar yang sesuai. Jenis metode ekstraksi yang telah diketahui hingga saat ini sangat beragam, baik dengan cara dingin maupun panas. Ekstraksi cara dingin dapat dilakukan dengan metode maserasi dan juga perkolasai, sedangkan ekstraksi cara panas metode yang dapat dilakukan yaitu dengan sokletasi, refluks, infusa, digesti, dan dekok (Samudra, 2022). Metode ekstraksi dapat dipilih secara tepat bergantung pada sifat bahan tanaman, pelarut yang digunakan, suhu, pH pelarut, dan rasio pelarut terhadap sampel serta tujuan penggunaan produk akhir (Abubakar & Haque, 2022).

Salah satu metode ekstraksi yang umum dan sederhana dalam penggunaannya adalah dengan metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang menerapkan prinsip pencapaian kesetimbangan konsentrasi dengan cara merendam bahan dalam pelarut (Fauziyah, *et al.*, 2022). Prinsip ekstraksi dengan metode maserasi yaitu suatu proses ketika larutan penyari yang mengandung senyawa aktif berdifusi ke dalam sel tumbuhan. Difusi tersebut mengakibatkan timbulnya tekanan osmosis yang berada di dalam sel menjadi berbeda dengan keadaan di luar sel. Sehingga senyawa dengan polaritas yang sama dengan pelarut kemudian akan tergeser keluar akibat adanya perbedaan tekanan osmosis antara bagian dalam dan sel. Proses pada metode maserasi dilakukan dengan menempatkan serbuk tanaman dengan pelarut yang sesuai ke

dalam wadah yang inert dan tertutup rapat serta disimpan pada suhu kamar (Mukhriani, 2014). Keuntungan utama ekstraksi dengan metode maserasi antara lain adalah peralatan dan prosedurnya sederhana serta tidak melalui proses pemanasan sehingga bahan alam tidak akan terurai atau rusak (Samudra, 2022).

#### **2.4.2 Fraksinasi**

Fraksinasi adalah proses pemisahan ekstrak tanaman menjadi berbagai fraksi. Proses ini kemudian dapat memisahkan fraksi-fraksi menjadi bagian yang terdiri dari sejumlah senyawa. Beberapa pelarut yang diperlukan dalam proses fraksinasi harus ditambahkan sesuai urutan tingkatan polaritas pelarut. Teknik fraksinasi pada umumnya dapat dilakukan dengan metode cair-cair, metode ini melibatkan pemisahan menggunakan pelarut yang tidak dapat bercampur satu sama lain. Hal tersebut mengakibatkan senyawa yang memiliki sifat polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut ke dalam pelarut non polar, dan senyawa yang memiliki sifat semi polar akan larut ke dalam pelarut semi polar. Fraksinasi dengan metode cair-cair dilakukan dengan cara pengocokan dan memiliki prinsip pemisahan yang didasarkan pada perbedaan tingkat polaritas dan perbedaan bobot jenis antara kedua fraksi (Makalunsenge, 2022).

#### **2.4.3 Pemilihan Pelarut**

Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak tanaman obat disebut juga sebagai menstruum. Pemilihan jenis pelarut dapat bergantung pada bagian tanaman yang akan diekstraksi, jenis tanaman, sifat senyawa bioaktif, dan ketersediaan pelarut. Secara umum pemilihan pelarut harus didasarkan pada prinsip *like dissolve like*, yaitu pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol digunakan untuk ekstraksi senyawa polar, sementara itu pelarut nonpolar seperti contohnya heksana dan diklorometana digunakan dalam ekstraksi senyawa non polar (Jibhkate, 2023).

Menurut polaritasnya, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dapat diklasifikasikan dari yang paling tidak polar yaitu *n*-heksana hingga yang paling polar yaitu air. Selama fraksinasi, pelarut yang dipilih tersebut dapat ditambahkan sesuai dengan urutan peningkatan polaritas, dimulai dari yang paling tidak polar hingga pelarut dengan tingkat polaritas tertinggi (Abubakar & Haque, 2020). Adapun tingkat polaritas pelarut dijelaskan pada **Tabel 2.1**.

**Tabel 2.1.** Tingkat Polaritas Pelarut (Abubakar & Haque, 2020)

Jenis Pelarut	Polaritas
<i>n</i> -Heksana	0,009
Petroleum eter	0,117
Dietil eter	0,117
Etil asetat	0,228
Kloroform	0,259
Diklorometana	0,309
Aseton	0,355
<i>n</i> -Butanol	0,586
Etanol	0,654
Metanol	0,762
Aquades	1,000

### a. Etanol 70 %

Etanol merupakan jenis pelarut volatil untuk senyawa organik dan dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar sehingga dapat larut dengan air. Keunggulan etanol sebagai pelarut yaitu dapat melarutkan ekstrak dalam jumlah yang besar, memiliki perbedaan massa jenis yang signifikan sehingga dapat memisahkan zat terlarut dengan mudah. Selain itu, etanol bersifat non toksik, tidak korosif tidak eksplosif jika berada di udara, dan dapat diperoleh dengan mudah (Utomo, 2016). Seringkali etanol digunakan sebagai pelarut dikarenakan kelarutannya yang relatif tinggi dan memiliki sifat inert sehingga dapat tidak bereaksi dengan komponen yang lain.

Selain itu, salah satu kelemahan dengan menggunakan etanol sebagai pelarut yaitu harganya yang mahal (Prawitasari & Yuniwati, 2019). Salah satu pelarut yang dapat digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol dengan konsentrasi 70 %. Pemilihan pelarut etanol 70 % sebagai pelarut dalam proses maserasi didasarkan atas proses penyarian yang optimal sehingga diharapkan dapat mengandung banyak senyawa aktif yang di dalamnya (Hasanah, 2020).

### **b. *N*-Heksan**

Pelarut *n*-heksan adalah pelarut non-polar yang stabil, mudah menguap dan secara selektif dapat melarutkan serta mengekstrak dalam jumlah besar (Hastuti, 2018). Adapun kelebihan dari *n*-heksan yaitu proses recovery dapat dilakukan dengan proses penguapan pada temperatur didih yang lebih rendah dibandingkan pelarut organik lainnya dikarenakan *n*-heksan memiliki titik didih yang lebih rendah dari pelarut organik lainnya. Selain itu, *n*-heksan juga memiliki harga yang relatif lebih murah dan mudah untuk didapatkan (Kurniasih, *et al.*, 2023).

*N*-heksan merupakan cairan tak berwarna yang sangat mudah menguap dan telah terbukti memiliki efek buruk pada kesehatan manusia. Karena sifat *n*-heksan yang mudah menguap, paparan utamanya adalah melalui inhalasi, diikuti oleh paparan secara oral dan kontak kulit pada tingkat yang lebih rendah. Heksana dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa bioaktif yang bersifat non-polar seperti alkaloid, terpenoid, hidrokarbon aromatik, kumarin atau asam lemak (Cravotto, 2022).

### **c. Etil Asetat**

Etil asetat adalah molekul aromatik bersifat semipolar dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ , yang dapat menarik analit polar maupun

non-polar. Pelarut etil asetat merupakan pelarut semipolar yang umum digunakan dikarenakan harganya yang murah dan aman digunakan serta sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa yang terdapat pada tumbuhan (Farah, 2019). Etil asetat merupakan bagian ester dari etanol dan asam asetat yang dapat digunakan sebagai pelarut dalam tinta, resin, dan sebagai perekat. Pelarut ini sering disingkat sebagai Et OAc, sebutan Et mewakili gugus etil dan OAc mewakili gugus asetat. Pelarut etil asetat baik digunakan dalam proses ekstraksi karena dapat dengan mudah diuapkan, bersifat tidak higroskopis dan memiliki toksisitas yang rendah (Amelia, 2021).

#### **d. Aquades (Air)**

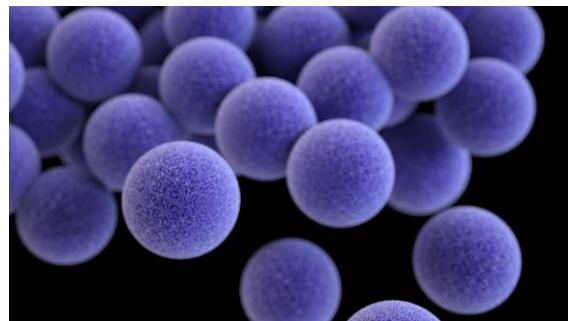
Aquades merupakan pelarut paling polar dan dapat digunakan dalam ekstraksi berbagai senyawa polar (Abubakar & Haque, 2020). Aquades atau air kondensat merupakan air murni karena merupakan air suling tanpa kotoran dan sering digunakan dalam laboratorium. Aquades biasa digunakan sebagai pelarut ataupun untuk membersihkan peralatan laboratorium dari kontaminan. Air murni diperoleh dengan cara destilasi atau penyulingan yang bertujuan untuk memperoleh cairan murni dari cairan yang telah terkontaminasi zat terlarut atau bercampur dengan cairan lain yang memiliki titik didih berbeda (Khotimah, 2017).

Aquades memiliki kelebihan yaitu dapat melarutkan berbagai zat, tidak mudah terbakar, tidak beracun, murah, mudah didapat, dan sangat polar (Abubakar & Haque, 2020). Pelarut aquades memiliki sifat yang netral dan tidak berbahaya serta baik untuk digunakan dikarenakan sangat minim kandungan kadar mineral. Kelemahan aquades yaitu pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama dibandingkan dengan pelarut lainnya karena memiliki titik didih yang lebih tinggi (Prawitasari & Yuniwati, 2019).

## 2.5 Bakteri Uji

### 2.5.1 *Staphylococcus aureus*

#### a. Klasifikasi



**Gambar 2.10** *Staphylococcus aureus* (CDC, 2024)

*Staphylococcus aureus* berdasarkan klasifikasi yang dimilikinya dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Sahli, 2023)

Domain	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

#### b. Morfologi

*Staphylococcus* sp. merupakan sel yang memiliki bentuk bulat (spheres) atau kokus dengan diameter 0,4 hingga 1,2  $\mu\text{m}$  dengan rata-rata 0,8  $\mu\text{m}$ . Hasil pewarnaan dari perbenihan padat menunjukkan susunan bakteri dalam kelompok yang mirip dengan buah anggur, sedangkan hasil pewarnaan perbenihan cair menunjukkan terbentuknya bakteri yang muncul secara tunggal,

berpasangan, atau berantai pendek. *Staphylococcus* sp. membelah sepanjang dua sumbu memanjang sehingga tersusun secara bergerombol (Anas, 2022).

*Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan enzim katalase yang membedakannya dengan *Streptococcus*. Bakteri ini merupakan kelompok bakteri yang dapat memfermentasi karbohidrat termasuk diantaranya manitol dan menghasilkan asam laktat sehingga pada suhu 37°C dapat diidentifikasi dan tumbuh dengan cepat. Bakteri ini memungkinkan untuk bertahan pada kondisi kering dan panas pada suhu 50°C selama kurun waktu 30 menit dan dalam larutan NaCl 9 %. Pada medium padat koloni yang terbentuk berbentuk bulat, memiliki diameter 1-2 mm, warna putih sampai kuning keemasan, tepi yang utuh, kenaikan permukaan melengkung, tekstur halus, opaque, dan basah (Rollando, 2019).

### 2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa*

#### a. Klasifikasi



**Gambar 2.11** *Pseudomonas aeruginosa* (CDC, 2024)

*Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan klasifikasi yang dimilikinya dapat diklasifikasikan sebagai berikut (USDA, 2020)

Domain	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonadales</i>

Famili	: <i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

### **b. Morfologi**

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk basil (batang) dengan ukuran lebar 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,5-3,0  $\mu\text{m}$ , bergerak dengan menggunakan flagel, dan bersifat aerob. Bakteri ini memiliki sifat berupa patogen oportunistik dimana dapat menyebabkan infeksi pada mata, telinga (otitis eksternal), tulang, kulit, saluran pencernaan, sistem saraf pusat, jantung (*endocarditis*), saluran kemih, sistem peredaran pada darah, dan sistem pernafasan (septikemia dan bakterimia) (Beslar, 2022). Bakteri ini biasanya ditemukan dalam biofilm dan menyerang permukaan dalam bentuk planktonik. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri aerob obligat yang tumbuh dengan optimal pada suhu 37°C dan dapat beradaptasi pada suhu tinggi hingga 42°C. Selain itu, bakteri ini juga memiliki resistensi terhadap kadar garam yang tinggi, antiseptik, serta beberapa jenis antibiotik (Rollando, 2019).

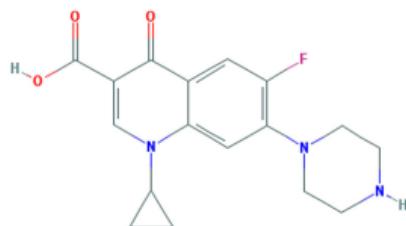
## **2.6 Antibiotik**

### **2.6.1 Definisi**

Antibiotik adalah jenis obat yang digunakan untuk mengobati dan mencegah infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Obat ini berfungsi dengan cara membunuh bakteri atau menghambat pertumbuhannya di dalam tubuh. Antibiotik merupakan komponen yang secara alami maupun sintetis dapat membunuh bakteri. Ada banyak jenis antibiotik yang dapat mempengaruhi bakteri dengan cara berbeda dan biasanya tidak dapat bekerja langsung terhadap virus. Antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri atau organisme eukariotik termasuk tanaman, biasanya dibentuk untuk membunuh bakteri lain dan melindungi diri (Muntasir, *et al.*, 2022).

## 2.6.2 Ciprofloxacin

Antibiotik dapat dikelompokkan menjadi tiga berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu antibiotik yang menargetkan dinding sel bakteri, antibiotik yang menghalangi produksi protein baru, antibiotik yang menargetkan DNA atau replikasi DNA (Anggita, 2022). Ciprofloxacin merupakan antibiotik yang berasal dari golongan fluorokuinolon dalam kelompok antibiotik yang menargetkan DNA atau replikasi DNA. Golongan Fluorokuinolon adalah antibiotik yang sangat efektif, memiliki spektrum aksi yang luas dan banyak digunakan baik pada manusia maupun hewan. Fluorokuinolon bekerja melalui target yang berbeda dibandingkan kelompok antimikroba lainnya, sehingga memberikan keuntungan dalam memerangi berbagai jenis patogen yang resisten terhadap beberapa obat (Tjaboali, 2015).



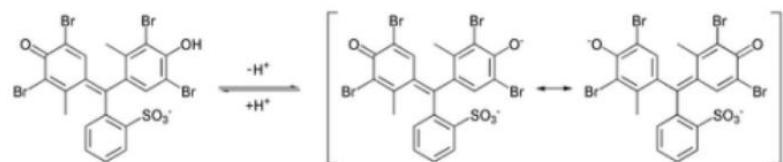
**Gambar 2.12** Struktur kimia Ciprofloxacin  
(Butera & Broderick, 2014)

Ciprofloxacin dapat digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme baik dari bakteri aerobik gram positif dan aerobik gram negatif. Infeksi yang dapat diobati tersebut termasuk infeksi pernapasan tertentu, infeksi saluran kemih, beberapa penyakit menular seksual, septikemia, dan demam tifoid (Butera & Broderick, 2014). Mekanisme kerja ciprofloxacin adalah dengan menghambat kerja enzim DNA gyrase yang berperan dalam pembelahan sel bakteri sehingga dapat menghentikan pertumbuhan bakteri atau bakteriostatik (Muslim, 2020).

## 2.7 Metode Uji

### 2.7.1 Metode Penetapan Kadar Alkaloid Total

Penentuan kadar alkaloid total dapat dilakukan dengan mudah dan sensitif menggunakan metode spektrofotometri tampak dengan *Bromocresol Green* (BCG), tanpa memerlukan instrumen yang kompleks. *Bromocresol Green* (BCG) akan bereaksi secara selektif dengan alkaloid yang mengandung atom nitrogen (Salamah & Ningsih, 2017). Senyawa alkaloid dapat diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis berdasarkan terbentuknya produk berwarna kuning yang dapat digunakan untuk mengukur kadar alkaloid total. Dalam penetapan kadar ini, kafein dapat digunakan sebagai standar karena merupakan senyawa golongan alkaloid. Alkaloid sendiri merupakan senyawa bahan alam yang mengandung nitrogen dan memiliki sifat seperti amina (Mierza, *et al.*, 2022). Adapun reaksi alkaloid dengan BCG membentuk produk berwarna kuning ditunjukkan pada **Gambar 2.13**.



**Gambar 2.13** Struktur dan Resonansi *Bromocresol Green*  
(Salamah & Ningsih, 2017)

### 2.7.2 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Bakteri dapat bertahan hidup di bawah pengaruh kondisi lingkungan yang buruk ataupun ekstrim. Oleh karena itu, untuk menjamin keamanan dan kualitas produk, uji aktivitas antibakteri harus dilakukan pada produk atau sediaan farmasi. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengamati aktivitas antibakteri adalah dengan difusi, dilusi dan *broth microdilusi*. Metode difusi biasa digunakan untuk menguji sensitivitas mikroba terhadap suatu antibiotik yang terdiri dari difusi cakram dan difusi sumuran. Sedangkan metode dilusi biasa digunakan untuk

menentukan KHM dan KBM yang terdiri atas dilusi cair dan agar solid. Broth mikrodilusi juga efektif digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada kelompok bakteri anaerob (Nurul, 2023).

Dalam pengujian antibakteri, digunakan kelompok kontrol sebagai pembanding dalam uji. Kontrol positif yang dapat digunakan dalam pengujian antibakteri berupa ciprofloxacin sedangkan kontrol negatif yang digunakan berupa *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC). Kontrol positif dalam hal ini adalah antibiotik digunakan untuk mengukur pada perbandingan berapa sampel memiliki daya hambat yang sama terhadap pertumbuhan bakteri (Yolandari, 2022). CMC dapat dipilih sebagai kontrol negatif dikarenakan larutan CMC memiliki sifat inert yang berarti tidak mempunyai efek terhadap bakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri (Ramadheni, 2018). Penilaian zona hambat diklasifikasikan berdasarkan kategori diameter zona hambatnya. Diameter 5 mm menunjukkan daya hambat yang lemah, 6-10 mm menunjukkan kekuatan daya hambat yang sedang, 11-20 mm menunjukkan daya hambat yang kuat, dan 21 mm atau lebih menunjukkan daya hambat yang sangat kuat (Katili, 2020).

### **a. Metode Difusi**

#### **1. Difusi Cakram**

Salah satu metode pengujian antibakteri yang paling umum adalah metode difusi cakram *Kirby Bauer*. Sampel pengujian antibakteri yang akan diuji dibiarkan menyerap pada kertas cakram dan kemudian ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri untuk selanjutnya diinkubasi sampai terlihat zona hambat di area di sekitar cakram (Novita, 2016). Tujuan pengujian difusi cakram adalah untuk meningkatkan fleksibilitas dalam memilih obat yang akan diteliti. Metode difusi cakram memiliki banyak keuntungan diantaranya

yaitu mudah untuk dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana, cepat, dan relatif murah (Amelia, 2021; Katili, 2020). Selain itu, metode difusi cakram dapat digunakan untuk menguji banyak sampel dan hasilnya dapat diinterpretasikan dengan mudah (Balouiri, *et al.*, 2016).

## 2. Difusi Sumuran

Prinsip metode uji antibakteri difusi sumuran yaitu dengan dibuatnya lubang pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, kemudian larutan diteteskan pada lubang sumuran tersebut. Kelebihan metode difusi sumuran yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas selain di permukaan atas nutrien agar tetapi juga di bawah nutrien (Allow, 2022). Pengujian antibakteri dengan metode difusi sumuran memiliki kelemahan yaitu jika terdapat sisa agar dalam sumuran maka dapat mengganggu pengujian dan juga jika lubang sumuran yang digunakan memiliki besar yang tidak sama maka akan menyebabkan hasil menjadi tidak stabil (Nurul, 2023; Fatimah, 2021).

### b. Metode Dilusi

Metode dilusi bekerja dengan prinsip pencampuran antimikroba dalam jumlah yang berbeda ke dalam medium bakteriologis yang solid atau cair. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dapat dihitung dengan metode dilusi dengan melihat kekeruhan pada tabung uji (Hasriyani, 2020). Kelebihan metode dilusi adalah dapat menentukan tingkat resistensi secara kuantitatif, sementara kekurangan metode ini adalah membutuhkan proses penggerjaan yang kompleks (Rahmah, 2024).

#### 1. Dilusi Cair

Pengujian antibakteri dengan metode dilusi cair melibatkan pembuatan seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Fitriana, 2019). Keuntungan metode dilusi cair adalah bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata, yang membuat metode menjadi lebih peka (Hasriyani, 2020).

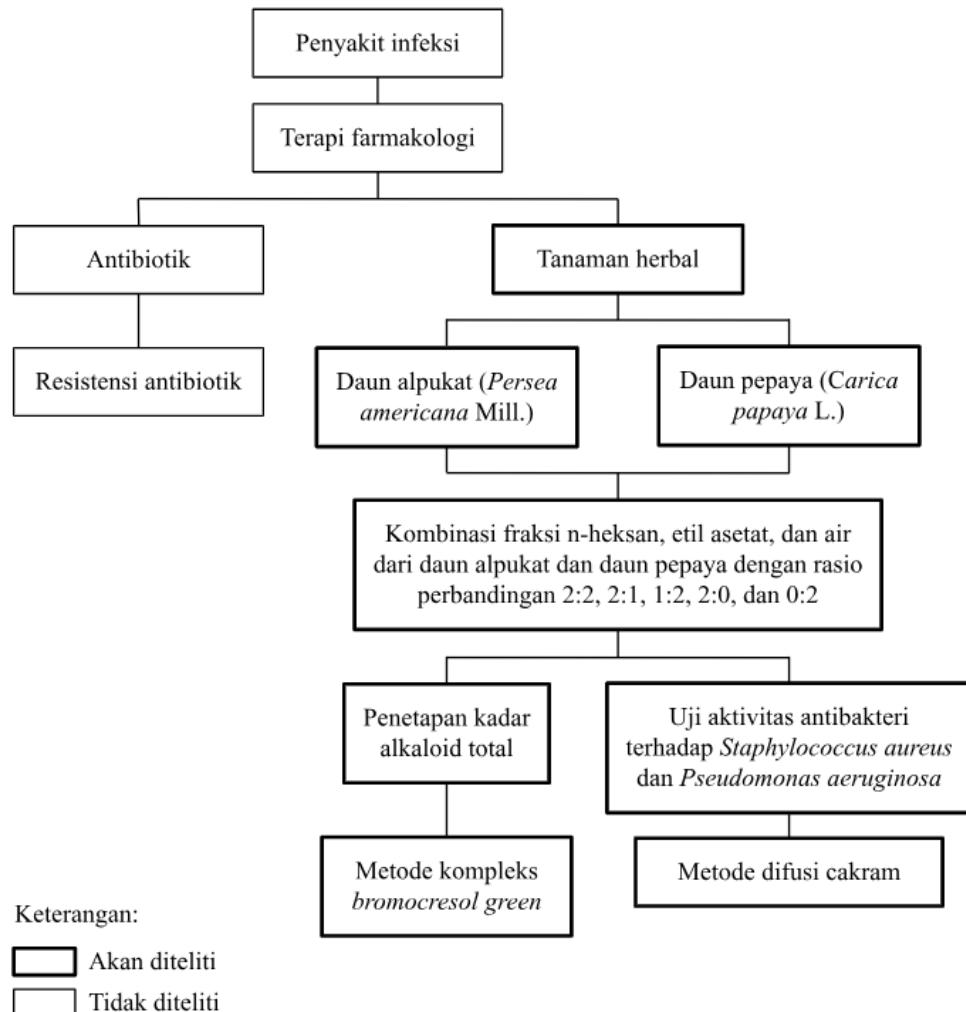
## 2. Dilusi Agar Solid

Untuk melakukan dilusi padat, mikroba uji diinokulasikan ke dalam media agar yang mengandung agen antimikroba (Fitriana, 2019). Keuntungan dari metode ini adalah bahwa satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji berbagai mikroba uji (Etikasari, 2017).

### c. Metode Broth Microdilusi

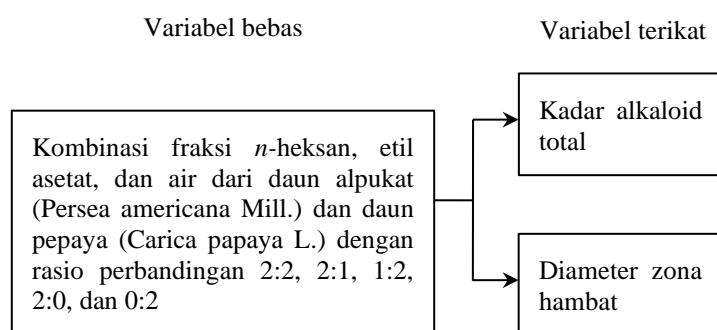
*Broth Microdilution* (BMD) adalah metode yang dapat digunakan untuk menguji kelompok bakteri anaerob. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, termasuk pemeriksaan hasil yang akurat, penggunaan instrumen yang lebih sederhana, penghematan waktu, dan sensitifitas dan kepekaan yang lebih tinggi daripada metode dilusi agar dan difusi cakram. *Broth Microdilution* (BMD) memiliki kelebihan dalam pemeriksaan hasil KHM, tetapi tidak dapat digunakan sebagai kontrol kualitas untuk menentukan KHM terhadap bakteri (Nurul, 2023).

## 2.8 Kerangka Teori



**Gambar 2.14** Kerangka teori

## 2.9 Kerangka Konsep



**Gambar 2.15** Kerangka konsep

## 2.10 Hipotesis

1. H0: Tidak ada perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari pemberian rasio perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya.

H1: Ada perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari pemberian rasio perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya.

2. H0: Tidak ada hubungan antara peningkatan kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

H1: Ada hubungan antara peningkatan kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana* mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan metode berupa *Post-test Only Control* (Rancangan Posttest dengan kelompok kontrol). Desain ini dilakukan dengan diukurnya pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Dalam hal ini, kelompok eksperimental atau yang diberikan perlakuan yaitu berupa kombinasi fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun alpukat dan daun pepaya dengan berbagai variasi perbandingan. Sementara itu, kelompok kontrol atau kelompok yang tidak diberi perlakuan dalam penetapan kadar alkaloid total berupa kafein, sedangkan dalam pengujian aktivitas antibakteri diberikan ciprofloxacin 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sebagai kontrol positif dan CMC 1 % sebagai kontrol negatif.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk melakukan proses determinasi, Laboratorium Farmasetika dan Kimia Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada proses ekstraksi, fraksinasi, dan uji penetapan kadar alkaloid total, serta Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung untuk melakukan uji antibakteri.

### **3.2.2 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan Oktober 2024 sampai dengan bulan Februari 2025.

## **3.3 Variabel Penelitian**

### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari kombinasi daun alpukat (*Persea americana Mill.*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan rasio perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2 yang digunakan untuk mengukur kadar alkaloid total dan aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat yang diteliti dalam penelitian ini adalah kadar alkaloid total dan diameter zona hambat (*clear zone*) yang terbentuk dari pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

### **3.3.3 Variabel Kontrol**

Variabel kontrol yang digunakan dalam pengujian kadar alkaloid total adalah kafein. Sedangkan variabel kontrol yang digunakan dalam pengujian antibakteri berupa kontrol positif dan kontrol negatif. Adapun kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik ciprofloxacin dan kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan CMC.

### 3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini dijelaskan pada Tabel 3.1 berikut.

**Tabel 3.1** Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
<b>Variabel Bebas</b>				
Variasi rasio perbandingan fraksi dari kombinasi daun alpukat dan daun pepaya.	Kombinasi fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air dari kombinasi daun alpukat dan daun pepaya dengan variasi rasio perbandingan alpukat dan daun pepaya.	Neraca analitik	Fraksi kombinasi daun alpukat dan daun pepaya dengan rasio perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2	Interval
Variasi penggunaan pelarut	Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi pelarut yaitu <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air	Gelas ukur	Masing-masing pelarut sebanyak 100 mL dalam tiap fraksinasi	Rasio
<b>Variabel Terikat</b>				
Kadar alkaloid total	Jumlah kadar alkaloid total yang terdapat dalam kombinasi fraksi dari daun alpukat dan daun pepaya.	Spektrofotometri UV-VIS	Jumlah kadar alkaloid yang dinyatakan sebagai Caffeine Equivalent	Rasio
Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri	Zona hambat ditandai dengan area bening di sekitar sumuran pada media pertumbuhan bakteri, yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Ukuran zona hambat berbanding lurus dengan kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri	Jangka sorong	Terbentuknya zona bening disekitar cakram disk dengan keterangan diameter zona hambat: ≤ 5 mm (lemah) 6-10 mm (sedang) 11-20 mm (kuat) ≥ 21 mm (sangat kuat)	Rasio
<b>Variabel Kontrol</b>				
Kafein	Kafein merupakan kelompok alkaloid yang berasal dari bahan alam dan digunakan sebagai standar penetapan kadar alkaloid total	Gelas ukur	Larutan kafein dengan seri konsentrasi	Rasio
Ciprofloxacin	Ciprofloxacin merupakan agen antibakteri spektrum luas yang efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif	Neraca analitik	Larutan ciprofloxacin dengan konsentrasi 5 µg/mL sebagai kontrol positif	Rasio

CMC	CMC merupakan polimer sintetis yang tidak memiliki aktivitas biologis yang signifikan sehingga tidak diharapkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri	Neraca analitik	Larutan CMC dengan konsentrasi 1 % sebagai kontrol negatif	Rasio
-----	--	-----------------	--	-------

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian yaitu pisau, botol kaca berwarna coklat, *erlenmeyer*, pipet tetes, labu ukur, gelas kimia, gelas ukur, batang pengaduk, mikropipet, *chopper/blender*, *oven*, corong, kertas saring, neraca analitik, alumunium foil, *rotary evaporator*, *waterbath*, *Spektrofotometer UV-Vis*, cawan petri, jarum ose, tabung reaksi, lampu spiritus, *autoclave*, rak tabung reaksi, jangka sorong, penjepit kayu, *hot plate*.

#### 3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu daun alpukat dan daun pepaya yang diperoleh dari daerah Kalianda Kabupaten Lampung Selatan, etanol 70 %, aquades, BCG (*Bromocresol Green*), kafein,  $Na_2CO_3$  (natrium karbonat), metanol,  $FeCl_3$ ,  $HCl$ , asam sulfat pekat, pereaksi mayer, *n*-heksan, etil asetat, kloroform, media pertumbuhan bakteri, kultur murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kultur murni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, antibiotik ciprofloxacin, CMC,  $NaCl$  0,9 %.

### 3.6 Prosedur Penelitian

Detail tahapan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi determinasi tanaman, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pembuatan fraksi, skrining fitokimia, pembuatan larutan uji dan kontrol, serta pengujian antibakteri.

### **3.6.1 Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan identitas tumbuhan yang digunakan dalam penelitian, mencegah kesalahan pengumpulan, dan menghindari kontaminasi dengan spesies lain. Proses ini merupakan langkah awal krusial sebelum melanjutkan ke tahapan penelitian berikutnya. Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

### **3.6.2 Pembuatan Simplisia**

Dikumpulkan masing-masing 8 kilogram daun alpukat dan daun pepaya segar, dan dilakukan sortasi basah kemudian dibersihkan dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran dari daun. Setelah itu, daun dikeringkan di bawah sinar matahari dan kemudian dilakukan pengeringan kembali dengan menggunakan oven. Setelah semua daun alpukat dan pepaya kering sepenuhnya, daun disortasi kembali untuk selanjutnya dibuat menjadi serbuk dan disimpan dalam wadah tertutup.

### **3.6.3 Pembuatan Ekstrak**

Pembuatan ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Perbandingan yang digunakan dalam penggunaan pelarut dengan simplisia dalam maserasi adalah 1:5. Simplisia serbuk daun alpukat dan daun pepaya masing-masing sebanyak 1,5 kg dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Kemudian ditambahkan etanol 70 % sebanyak 7,5 L dan didiamkan pada suhu kamar (28°-32°C) dengan waktu kurang lebih tiga hari sambil sesekali diaduk (tiap 24 jam). Setelah tiga hari, filtrat disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara filtrat dengan ampasnya. Selanjutnya dilakukan proses remerasasi dari ampas hasil maserasi dengan menambahkan kembali pelarut sebanyak 7,5 L. Remerasasi dilakukan selama 2x24 jam dengan pengadukan yang dilakukan tiap 24 jam. Sementara itu, filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*

dan diuapkan menggunakan *waterbath* untuk menguapkan sisa pelarut sampai diperoleh ekstrak kental kemudian ditimbang hasil ekstrak etanol kental tersebut (Utami, 2021).

Sampel memenuhi syarat bahwa rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10 % (Santi, 2023). Rendemen dari ekstrak daun alpukat dan daun pepaya masing-masing dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Abbas, *et,al.*, 2021):

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100 \%$$

### 3.6.4 Pembuatan Fraksi

Metode fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair pada ekstrak etanol daun alpukat dan daun pepaya. Sebanyak 20 g ekstrak ditimbang dengan neraca analitik, kemudian terlebih dahulu dilarutkan dengan etanol 10 mL dan ditambahkan aquades (polar) sebanyak 100 mL, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Sampel difraksinasi dengan perbandingan 1:1 menggunakan pelarut *n*-heksan (non polar) sebanyak 100 mL. Campuran dikocok sampai tercampur seluruhnya dan didiamkan dalam corong pisah hingga terbentuk lapisan antara fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Lapisan fraksi *n*-heksan dipisahkan dari lapisan air dilakukan fraksinasi secara berulang hingga didapatkan fraksi yang jernih (Sugiarti, 2020).

Setelah pemisahan selesai, fraksi air yang didapatkan difraksinasi kembali dengan perbandingan 1:1 menggunakan etil asetat (semi polar) sebanyak 100 mL. Campuran dikocok sampai tercampur seluruhnya dan didiamkan dalam corong pisah hingga terbentuk lapisan antara air dan etil asetat. Proses dilakukan secara berulang hingga didapatkan fraksi yang jernih. Selanjutnya seluruh fraksi yang terbentuk diuapkan dengan rotary evaporator dan dilakukan pemekatan menggunakan *waterbath* sehingga didapatkan fraksi kental.

Fraksi yang telah dipekatkan kemudian dihitung nilai rendemen fraksinya dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Fauzi, 2017):

$$\% \text{ Rendemen Fraksi} = \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100 \%$$

### 3.6.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalam sampel bahan alam (Hoswari, *et al.*, 2023). Uji fitokimia yang dilakukan berupa uji alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, saponin, dan terpenoid/steroid.

#### a. Uji Flavonoid

Pengujian flavonoid pada fraksi dilakukan dengan mencampurkan 2 mL fraksi dengan 0,1 g serbuk magnesium dan 2 tetes HCl pekat kemudian dikocok. Penambahan serbuk magnesium dapat perubahan warna larutan fraksi menjadi warna merah bata (Putri & Lubis, 2020).

#### b. Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan mereaksikan sebanyak 5 mL fraksi dengan 3-4 tetes  $\text{FeCl}_3$  10 %. Terjadinya perubahan warna hitam kebiruan hingga hitam pekat menunjukkan adanya kandungan fenol (Wardhani, 2018).

#### c. Uji Tanin

Pengujian tanin dilakukan mencampurkan sebanyak 2 mL fraksi dengan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1 % dan dikocok. Adanya senyawa tanin pada fraksi ditandai dengan adanya perubahan larutan fraksi menjadi hijau kehitaman dan disertai terbentuknya endapan (Putri & Lubis, 2020).

#### **d. Uji Alkaloid**

Pengujian alkaloid dilakukan dengan mencampurkan sebanyak 1 mL fraksi dengan 5 tetes reagen dragendorff dan dikocok. Hasil alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan jingga jika direaksikan dengan pereaksi dragendorff (Kafelau, *et al.*, 2022).

#### **e. Uji Saponin**

Pengujian saponin pada fraksi dilakukan pada tabung reaksi yang berbeda. Sebanyak 2 mL fraksi dicampurkan dengan 5 mL aquades panas dan kemudian dikocok. Hasil uji saponin dikatakan positif ketika sampel membentuk busa (Kafelau, *et al.*, 2022).

#### **f. Uji Terpenoid dan Steroid**

Uji terpenoid dan steroid pada fraksi dilakukan di tabung reaksi yang terpisah. Pengujian ini dilakukan dengan mencampurkan 1 mL fraksi dengan 3 mL kloroform, 2 mL asam asetat anhidrat, dan 2 mL asam sulfat pekat, yang ditambahkan melalui dinding tabung. Hasil pengujian ditandai dengan munculnya warna hijau atau biru untuk triterpenoid serta merah atau ungu untuk steroid (Ningsih, 2020).

#### **3.6.6 Penetapan Kadar Alkaloid Total**

Penetapan kadar alkaloid total kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya mengacu pada metode kompleks *Bromocresol green* secara spektrofotometri UV-Vis menyesuaikan dari penelitian oleh Saputri & Besthar (2023) dengan tahapan sebagai berikut.

##### **1. Pembuatan Larutan *Bromocresol green* (BCG) $10^{-4}$ M**

*Bromocresol green* (BCG) sebanyak 6,98 mg dilarutkan dengan mencampurnya ke dalam 3 mL NaOH 2 N dan 5 mL aquades. Campuran ini dipanaskan pada suhu 50-60°C selama 15 menit hingga larut sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur

100 mL dan ditambahkan aquades hingga volume mencapai tanda batas.

## 2. Pembuatan Dapar Fosfat pH 4,7

Dapar Phospat pH 4,7 dibuat dengan mencampur natrium fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,2 M (2,84 g dalam 100 mL aquades) dengan asam sitrat ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) 0,2 M (3,84 g dalam 100 mL aquades) hingga dihasilkan pH 4,7.

## 3. Pembuatan Kurva Standar Kafein

Larutan baku kafein dengan konsentrasi 100 ppm disiapkan dengan menimbang 10 mg kafein dan dilarutkan dalam aquades. Setelah larut, larutan dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan aquades ditambahkan hingga tanda batas.

## 4. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 0,9 mL larutan induk kafein 100 ppm diambil, kemudian dicampurkan dengan 5 mL dapar fosfat dan 5 mL larutan BCG. Campuran ini diekstraksi dua kali dengan 5 mL kloroform, dan fase kloroformnya dikumpulkan. Fase kloroform tersebut kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan kloroform hingga mencapai volume 10 mL, dan dikocok hingga homogen. Setelah itu, ditentukan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai serapan yang stabil.

## 5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Analisis dimulai dengan mencampurkan 0,9 mL larutan induk kafein 100 ppm dengan 5 mL dapar fosfat dan 5 mL larutan BCG. Campuran diekstraksi dua kali dengan 5 mL kloroform, dan fase kloroform dikumpulkan. Fase kloroform ditempatkan dalam labu ukur 10 mL, diencerkan dengan kloroform hingga mencapai tanda batas, dan dihomogenkan. Setelah didiamkan selama waktu

operating time yang telah ditentukan, absorbansi diukur pada rentang panjang gelombang 250-700 nm.

#### 6. Pembuatan Seri Kurva Baku

Kurva baku dibuat menggunakan konsentrasi 3, 6, 9, 12, dan 15 ppm (Wulandari, 2022). Untuk mencapai konsentrasi tersebut, larutan induk 100 ppm dipipet sebanyak 0,3, 0,6, 0,9, 1,2, dan 1,5 mL, lalu masing-masing dicampur dengan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan bromocresol green (BCG)  $10^{-4}$  M. Campuran diekstraksi dua kali dengan 5 mL kloroform, fase kloroform diambil, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan kloroform hingga tanda batas, dan dihomogenkan. Setelah didiamkan selama *operating time*, serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

#### 7. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji penetapan kadar alkaloid total dibuat berdasarkan kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya dengan rasio perbandingan sebesar 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, 0:2. Pembuatan larutan uji dijabarkan pada **tabel 3.2** berikut.

**Tabel 3.2** Larutan Uji Penetapan Kadar Alkaloid Total

Fraksi	Rasio Perbandingan	Komposisi Perbandingan (mg)	
		Daun Alpukat	Daun Pepaya
<i>n</i> -heksan	2:2	3	3
	2:1	4	2
	1:2	2	4
	2:0	6	-
	0:2	-	6
etil asetat	2:2	3	3
	2:1	4	2
	1:2	2	4
	2:0	6	-
	0:2	-	6
air	2:2	3	3

2:1	4	2
1:2	2	4
2:0	6	-
0:2	-	6

#### 8. Penetapan Kadar Alkaloid Total

Larutan sampel dibuat dengan menimbang 6 mg setiap kombinasi fraksi dan dilarutkan dalam 3 mL HCl 2 N kemudian disaring. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan *bromocresol green* (BCG)  $10^{-4}$  M. Campuran dikocok, dan kompleks yang terbentuk diekstraksi dua kali dengan 5 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan kloroform hingga tanda batas, dan didiamkan selama operating time. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Prosedur ini diulang tiga kali untuk setiap sampel. Kadar alkaloid total ditentukan dengan mencari nilai regresi linear dan koefisien variasinya, lalu dihitung menggunakan rumus  $y = bx + a$ .

#### 3.6.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas pemberian kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya terhadap zona hambat pada *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode difusi agar cakram yang mempunyai beberapa tahapan sebagai berikut.

##### 1. Sterilisasi Alat

Peralatan yang digunakan dalam uji antibakteri dicuci dan dikeringkan secara menyeluruh, kemudian disterilkan menggunakan metode yang sesuai. Autoklaf digunakan untuk mensterilkan peralatan yang tidak tahan panas pada suhu 121°C selama  $\pm 20$  menit. Oven digunakan untuk mensterilkan peralatan tahan panas pada suhu 170°C selama  $\pm 2$  jam. Adapun ose dan pinset disterilkan dengan membakarnya di atas api Bunsen.

## 2. Pembuatan Media Agar Miring

Nutrient agar (NA) ditimbang sebanyak 0,46 g, lalu dilarutkan dalam 20 mL aquades dalam beaker glass. Campuran kemudian dipanaskan di atas *hotplate* sambil terus diaduk hingga mendidih. Dalam kondisi hangat (40°C-45°C), dituangkan larutan sebanyak kurang lebih 5 mL pada masing-masing tabung reaksi yang telah disterilkan sebelumnya lalu ditutup dengan *alumunium foil*. Untuk membuat agar miring, NA yang telah disterilkan diposisikan miring 45° kemudian ditunggu hingga mengeras (Ramadheni, 2018).

## 3. Peremajaan Kultur Bakteri

Pada penelitian, bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Satu koloni biakan murni bakteri masing-masing bakteri diambil dengan ose steril dari kultur murninya, kemudian diinokulasikan dalam media agar miring dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada masing-masing jenis bakteri uji (Ramadheni, 2018).

## 4. Pembuatan Suspensi Bakteri

Dalam tabung reaksi steril, bakteri uji hasil peremajaan agar miring sebanyak satu ose dengan disuspensikan dalam NaCl fisiologis 0,9 %. Setelah dihomogenkan, tingkat kekeruhan diukur dengan membandingkan kekeruhan standar 0,5 *Mc Farland*, yang setara dengan 1,5 x CFU/mL.

## 5. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA disiapkan dengan melarutkan 19 g MHA dalam 500 mL aquades, lalu dipanaskan hingga berwarna kuning jernih. Larutan kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15-20 menit pada 121°C dan tekanan 2 atm, dengan penutup aluminium foil. Setiap cawan petri diisi dengan 15-20 mL media MHA steril dan dibiarkan memadat (Afnidar, 2014).

## 6. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang dibuat berdasarkan kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya dengan rasio perbandingan sebesar 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, 0:2. CMC digunakan sebagai pelarut dengan konsentrasi yang digunakan sebesar 1 %. Pembuatan larutan uji antibakteri dengan konsentrasi 400 mg/mL dijabarkan pada **Tabel 3.3**.

**Tabel 3.3** Pembuatan Larutan Uji Antibakteri

Fraksi	Rasio	Perlakuan	Komposisi Rasio Fraksi (mg)		CMC 1 % (mL)
			Daun Alpukat	Daun Pepaya	
<i>N</i> -heksan	2:2	Kombinasi fraksi 2:2	200	200	1
	2:1	Kombinasi fraksi 2:1	266,7	133,3	1
	1:2	Kombinasi fraksi 1:2	133,3	266,7	1
	2:0	Fraksi tunggal	400	-	1
	0:2	Fraksi tunggal	-	400	1
Etil asetat	2:2	Kombinasi fraksi 2:2	200	200	1
	2:1	Kombinasi fraksi 2:1	266,7	133,3	1
	1:2	Kombinasi fraksi 1:2	133,3	266,7	1
	2:0	Fraksi tunggal	400	-	1
	0:2	Fraksi tunggal	-	400	1
Air	2:2	Kombinasi fraksi 2:2	200	200	1
	2:1	Kombinasi fraksi 2:1	266,7	133,3	1
	1:2	Kombinasi fraksi 1:2	133,3	266,7	1
	2:0	Fraksi tunggal	400	-	1
	0:2	Fraksi tunggal	-	400	1

## 7. Pembuatan Larutan Kontrol

Tablet antibiotik ciprofloxacin 500 mg digunakan sebagai bahan untuk membuat larutan kontrol positif. Larutan ciprofloxacin 5  $\mu$ g/mL dibuat dengan cara melarutkan serbuk 0,5 mg ciprofloxacin dengan 100 mL CMC (Alouw, 2022). Sedangkan untuk larutan kontrol negatif CMC konsentrasi 1 % dibuat dengan dilarutkannya 1 g serbuk CMC dalam 100 mL aquades steril dan dikocok hingga larutan homogen (Nugraha, 2022).

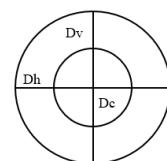
## 8. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cakram disk. Kertas cakram steril direndam dalam masing-masing botol vial yang berisi kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya dengan rasio perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2. Pada media padat disebarluaskan suspensi bakteri yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 *Mc Farland* secara merata.

Media MHA dibagi menjadi 4 bagian yang masing-masing diletakkan cakram yang telah direndam dalam kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya. Selanjutnya media MHA kedua dibagi menjadi 2 daerah untuk diletakkan cakram antibiotik ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan cakram yang berisi CMC sebagai kontrol negatif, perlakuan dilakukan dengan pengulangan tiga kali. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi. Panjang zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (Afnidar, 2014).

## 9. Penentuan Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong, kemudian dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Rijal, 2024).



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

Keterangan rumus:

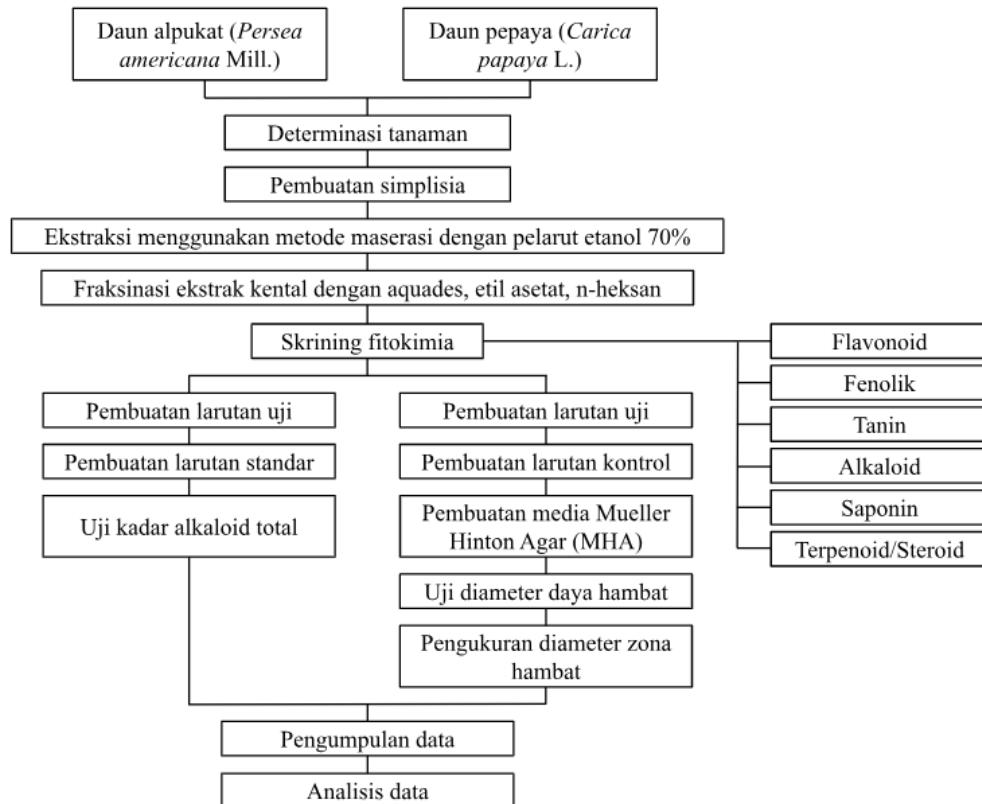
D : rata-rata diameter zona hambat (mm)

Dv : diameter vertikal (mm)

Dh : diameter horizontal (mm)

Dc : diameter cakram (mm)

### 3.7 Alur Penelitian



**Gambar 3.1** Alur Penelitian

### 3.8 Analisis Data

Analisis data penelitian dilakukan dengan menggunakan software IBM SPSS Statistik versi 26. Data zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari penelitian ini diuji normalitas datanya dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk*. Selanjutnya dilakukan analisis data untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari pemberian variasi rasio perbandingan bentuk fraksi kombinasi daun alpukat dan daun pepaya. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan uji *Oneway Anova* jika data terdistribusi normal, atau uji *Kruskal-wallis* jika data tidak terdistribusi normal (Alouw, 2022).

Pengujian statistik selanjutnya yaitu uji korelasi yang dilakukan untuk mengetahui hubungan antara kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri

dari kombinasi fraksi daun alpukat dan daun pepaya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Apabila setelah uji normalitas data terbukti berdistribusi normal maka digunakan uji *Pearson*. Sedangkan jika data tidak berdistribusi normal dan/atau asumsi lain tidak terpenuhi, maka uji korelasi yang digunakan adalah dengan *Spearman*. Keseluruhan analisis statistik dalam penelitian ini dilakukan dengan nilai taraf kepercayaan 95 % atau  $p\ value (\alpha) = 0.05$  (Akbar, *et al.*, 2023).

### 3.9 Etika Penelitian

Izin etik penelitian diajukan melalui Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian telah memperoleh persetujuan etik dengan nomor 101/UN26.18/PP.05.02.00/2025. Lembar persetujuan etik dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian terkait penetapan kadar alkaloid total dan uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan yaitu:

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi daun alpukat (*Persea americana Mill.*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air secara keseluruhan senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi antara lain flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Kadar alkaloid total yang dinyatakan dengan % b/b dengan perbandingan 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, 0:2 menunjukkan hasil bahwa pada fraksi air daun alpukat (*Persea americana Mill.*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) mengandung kadar alkaloid total masing-masing perbandingan sebesar 0,509 % b/b; 0,337 % b/b; 0,362 % b/b; 0,365 % b/b; dan 0,518 % b/b. Sementara itu pada fraksi *n*-heksan diperoleh kadar alkaloid total pada masing-masing perbandingan sebesar 0,653 % b/b; 0,834 % b/b; 0,816 % b/b; 0,841 % b/b; dan 0,982 % b/b. Sedangkan pada fraksi etil asetat diperoleh kadar alkaloid total pada masing-masing perbandingan sebesar 1,461 % b/b; 1,178 % b/b; 1,703 % b/b; 0,885 % b/b; dan 1,937 % b/b.
2. Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi fraksi daun alpukat (*Persea americana Mill.*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan perbandingan kombinasi 2:2, 2:1, 1:2, 2:0, dan 0:2. Kombinasi fraksi etil asetat daun alpukat dan daun pepaya memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* ditandai dengan terbentuknya zona hambat

disekitar kertas cakram. Sementara itu, fraksi air hanya memiliki kemampuan penghambatan pada bakteri *Staphylococcus aureus* pada perbandingan kombinasi 2:1, 2:0, dan 0:2. Adapun pengujian pada fraksi *n*-heksan tidak menghasilkan daya hambat pada kombinasi baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Pseudomonas aeruginosa*. Sementara itu, daya hambat dari fraksi air, etil asetat, dan *n*-heksan yang dihasilkan pada penelitian ini masih kurang efektif jika dibandingkan dengan hasil daya hambat kontrol positif ciprofloxacin.

3. Terdapat hubungan antara kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri dari kombinasi fraksi etil asetat dan fraksi air terhadap *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan nilai koefisien korelasi negatif. Terlihat bahwa ketika kadar alkaloid total meningkat akibat peningkatan alkaloid maka nilai diameter zona hambat yang dihasilkan akan semakin kecil. Adapun tidak terdapat hubungan antara kadar alkaloid total dengan aktivitas antibakteri pada fraksi air terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan fraksi *n*-heksan.

## 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan beberapa hal sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan standarisasi ekstrak terlebih dahulu agar memastikan kualitas ekstrak sudah memenuhi syarat.
2. Pada penelitian selanjutnya dapat menggunakan pelarut lain pada proses fraksinasi dengan menyesuaikan tingkat kepolarannya yang diharapkan mendapatkan hasil yang lebih baik.
3. Perlu dipertimbangkan melakukan pengujian kadar alkaloid total dan antibakteri pada tingkat ekstrak.
4. Perlu dilakukan pertimbangan dalam pemilihan variasi konsentrasi uji bakteri, agar diperoleh hasil yang efektif dalam mengukur aktivitas antibakteri suatu senyawa.
5. Pengujian sebaiknya dilakukan dengan lebih hati-hati untuk menghindari kesalahan yang dapat mempengaruhi hasil akhir.

## DAFTAR PUSTAKA

A'yun, Q., & Laily, A.N. 2015. Analisis Fitokimia Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) The Phytochemical Analysis of Papaya Leaf (*Carica papaya* L.) at The Research Center of Various Bean and Tuber Crops Kendalpayak, Malang. *Seminar Nasional Konversi Dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam 2015*. 134–137.

Abbas, *et al.* 2021. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Screening of *Seriphidium oliverianum* Plant Extracts. *Dose-Response International Journal*. 19(1): 1-9.

Abubakar, A.R. & Haque, M. 2020. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences*. 12(1):1-10.

Abdelshaheed, M. M., Fawzy, I. M., El-Subbagh, H. I., & Youssef, K. M. (2021). Piperidine nucleus in the field of drug discovery. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 1–11.

Afnidar. 2014. Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kalus Tumbuhan Sernai (*Wedelia Biflora* (L)dc.). *Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*. 3(1): 9-16.

Aisyafina, A. R., Rosida, & Azizah, S. N. (2023). Uji aktivitas antiplatelet ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap mencit jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi Akademi Farmasi*, 6(1), 22–28.

Akbar, R., *et al.* 2023. Analisis Data Penelitian Kuantitatif (Pengujian Hipotesis Asosiatif Korelasi). *Jurnal Pelita Nusantara: Kajian Ilmu Sosial Multidisiplin*. 1(3): 430-448.

Alagarasu, K., *et al.* 2023. Effect of carpaine, a major alkaloid from *Carica papaya* leaves, on dengue virus-2 infection and replication-an in-vitro and in-silico study. *Phytotherapy Research*. 37(8): 3191-3194.

Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Ukaegbu, C.I. 2021. Extraction of phenolic compounds: A review. *Curr Res Food Sci*. 2(4): 200-214.

Alfaridz, F., & Amalia, R. (2022). Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*. 16(3): 1-9.

Alouw, G., Fatimawali, F., & Lebang, J.S. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*. 5(1): 36-44.

Alzanando, R., *et al*. 2022. Analisis Kadar Senyawa Alkaloid dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 5(1): 108-120.

Amelia, R., Riky, & Nur Ngazizah, F. (2021). Analisa Ekstrak Etil Asetat Akar Kaik-Kaik (*Uncaira cordata* (Lour.) Merr.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*. 2(1): 68-82.

Anas, M. 2022. *Book Two: Infeksi Spermatozoa dan Karakteristik Staphylococcus aureus*. Surabaya: UMSurabaya Publishing.

Anggita, D., *et al*. 2022. Review Artikel: Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*. 7(1): 46-58.

Anwar, I.. *et al*. 2023. Aktivitas Antibakteri Gram Positif Serta Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis* Linn.F.). *Jurnal Penelitian Biologi (Journal of Biological Research)*. 10(2): 74-87.

Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21-29.

Arwanda, S.N., Wibisono, Sari, R.P. 2021. Efektivitas Daun Alpukat Untuk Kesehatan. *Nusantara Hasana Journal*. 1(2): 40-45.

Asmorowati, H. 2019. Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Alpukat Biasa (*Persea americana* Mill.) dan Alpukat Mentega (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 15(2): 51-63.

Attamimi, F. A., & Yuda, I. P. (2022). Aktifitas Antibakteri Terpenoid dari Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Terhadap *Streptococcus Sanguinis* ATCC10556. *Yarsi Journal of Pharmacology*, 3(2), 76–84.

Ayen, R.Y., Rahmawati, Mukarlina. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* H.B.K) Terhadap

Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* IHB B 379 dan *Shigella flexneri*. *Protobiont*. 6(3): 123-129.

Azalia, *et al.* 2023. Uji Kualitatif Senyawa Aktif Flavonoid Dan Terpenoid Pada Beberapa Jenis Tumbuhan *Fabaceae* Dan *Apocynaceae* Di Kawasan TNGPP Bodogol. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*. 8(1): 32-43.

Bachtiar, A.R., *et..* 2023. Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengan (*Dillenia Serrata*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Makassar Natural Product Journal*. 1(10): 86-101.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S.K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2): 71–79.

Basim, S., & Kasim, A. A. (2023). Cytotoxic Activity of the Ethyl Acetate Extract of Iraqi *Carica papaya* Leaves in Breast and Lung Cancer Cell Lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 24(2), 581–586.

Bawekes, S. M., Yudistira, A., & Rumondor, E. M. (2023). Uji Kualitatif Kandungan Senyawa Kimia Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Pharmacon*, 12(3), 373–377.

Beslar, S. Y., *et al.* 2022. Deteksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Isolat Pus Luka Berbasis *Polymerase Chain Reaction* dengan Target Gen Pengkode Flagelin *fliC*. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. 5: 1–13.

Butera, T.D., & Broderick, M. 2014. Ciprofloxacin. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*. 1: 966–968.

Chaves, J. O., *et al.* 2020. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Frontiers in Chemistry*. 8(September), 1–25.

Cravotto, C., *et al.* 2022. Towards Substitution of Hexane as Extraction Solvent of Food Products and Ingredients with No Regrets. *Foods*. 11(21): 1-33.

Damayanti, N., *et al.* 2022. Tablet Effervescent dari Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* mill.) sebagai Peluruh Batu Ginjal pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Ratus norvegicus*). *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin*. 2(3): 485–492.

DeLeon, S., et al. 2014. Synergistic interactions of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in an in vitro wound model. *Infect Immun.* 82(11): 4718-4728.

Diniyah, N., & Lee, S.H. 2020. Komposisi Senyawa Fenol dan Potensi Antioksidan dari Kacang-Kacangan: Review. *Jurnal Agroteknologi*. 14(01): 91-102.

Etikasari, R., Murharyanti, R., & Wiguna, A.S. 2023. Evaluasi Pigmen Karotenoid Karang Lunak *Sarcophyton* Sp. Sebagai Agen Antibakteri Potensial Masa Depan. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 2(1): 28-36.

Farah, J. 2019. Ekstrak Etil Asetat Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.) Sebagai Antioksidan Secara in Vitro. *JFL: Jurnal Farmasi Lampung*. 8(2): 78-86.

Fatimah, S., et al. 2021. Uji Efektivitas Ekstrak Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Forte Journal*. 1(2): 95-102.

Fauzi, N.P., Sulistyaningsih, & Runadi, D. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Jawer Kotok (*Coleus Atropurpureus* (L) Benth.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* ATTC 1223 Dan *Staphylococcus Epidermidis* ATTC 12228. *Farmaka*, 15(3): 45–55.

Fauziyah, R., Widyasanti, A., & Rosalinda, S. 2022. Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Sisa Pelarut dan Rendemen Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Kimia Padjadjaran*. 1: 18-25.

Febriani, A., et al. (2023). Studi Literatur Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun, Kulit Buah, Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Berbagai Bakteri. *Sainstech Farma*, 16(2), 94–102.

Fitriana, Y.A.N., Fatimah, V.A.N., & Fitri, A.S. 2020. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 16(2): 101-108.

Ghani, U. 2020. *Alpha-Glucosidase Inhibitors: Terpenoids and steroids*. Amsterdam: Elsevier Publisher.

Gomes, A.R., et al. 2023. The Structural Diversity and Biological Activity of Steroid Oximes. *Molecules*. 28(4): 1-32.

Govindarajan, R.K., *et al.* 2016. Microbial tannase: Current perspectives and biotechnological advances. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 6: 168–175.

Gupta, P.D., Birdi, T.J. 2017. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 8(4): 266–275.

Habtemariam, S. 2019. The Chemical and Pharmacological Basis of Papaya (*Carica papaya L.*) as Potential Therapy for Type-2 Diabetes and Associated Diseases. *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*. 333–363.

Hanifah, I. 2023 *Kiat Sukses Mencangkok Batang Papaya*. Jakarta: Elementa Agro Lestari.

Hasanah, *et al.* 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Infeksi Pada Kulit dari Jamur Endofit Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*). *Jurnal Biosains*, 7(3): 152-156.

Hasriyani, H., *et al.* 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum L*) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 5(2): 14–18.

Hastuti, D., Rohadi, R., & Putri, A.S. 2018. Rasio N-Heksana-Etanol Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Oleoresin Ampas Jahe (*Zingiber majus Rumph*) Varietas Emprit. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*. 13(1): 41-56.

Hernando, D., Septinova, D., Plfirelido, W., & Zhuh, F. (2015). Kadar Air Dan Total Mikroba Pada Daging Sapi Di Tempat Pemotongan Hewan (TPH) Bandar Lampung. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 3(1), 61–67.

Hewajulige, I.G.N., & Dhekney, S.A. 2015. Papayas. *Encyclopedia of Food and Health*. 209-212.

Hidayatullah, S. H., & Mourisa, C. (2023). Uji Efektivitas Akar Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kohesi*, 7(1), 34–40.

Hoswari, C. N., Br Karo, R. M., & Yudha, M. 2023. Penentuan kadar total fenolik, total flavonoid, dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kerai payung (*Filicium decipiens*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Prima Medika Sains*, 5(1): 32-41.

Hotterbeekx, *et al.* 2017. In vivo and In vitro Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus* spp. 7(106): 1–13.

Jenul, C., *et al.* 2023. Pyochelin Biotransformation by *Staphylococcus aureus* Shapes Bacterial Competition with *Pseudomonas aeruginosa* in Polymicrobial Infections. *Cell Reports*. 42(6): 1-23.

Jibhkate, Y.J., *et al.* (2023). Extraction: An important tool in the pharmaceutical field. *International Journal of Science and Research Archive*. 10(1): 555-568.

Kafelau, *et al.* 2022. Phytochemical Screening and TLC Profiling of Combination Extracts of Avocado (*Persea americana* Mill.) and Papaya (*Carica papaya*) Leaves from Timor Island. *Indonesian Journal of Chemical Research*. 10(1): 32-37.

Kanan, M. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Biokimiawi Bakteri Patogen Pada Saluran Pencernaan Lalat Hijau (*Chryzomya megacheppala*). *Jurnal Kesmas Untika Luwuk*. 10(1): 31-40.

Kasih, D., Salsabila, I., Aulia, S., Wulan, E., & Yumareta. (2022). Identifikasi Tanin pada Tumbuh-tumbuhan di Indonesia. *PharmaCine*, 03(01), 11–24.

Katili, Y.I., Wewengkang, D.S., & Rotinsulu, H. 2020. Uji Aktivitas Antimikroba dari Jamur Laut yang Berasosiasi dengan Organisme Laut Karang Lunak *Lobophytum* sp. *Pharmacon*. 9(1): 108-115.

Kemenkes RI. 2022. Bahaya Resistensi Antibiotik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. [ONLINE] Diakses pada 2 Oktober 2024. [https://yankes.kemkes.go.id/view\\_artikel/1411/bahaya-resistensi-antibiotik](https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/1411/bahaya-resistensi-antibiotik)

Khafipah, N., Lely, S., & Saula, A.K. 2022. Aktivitas Ekstrak Daun Alpukat dan Ekstrak Daun Mengkudu sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasetics*. 11(2): 125-134.

Khayri, J.M.A, *et al.* 2023. Plant Secondary Metabolites: The Weapons for Biotic Stress Management. *Metabolites*. 13(6): 1–37.

Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. 2019. Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktivitas Farmakologi. *Farmaka*. 17(2): 131-142.

Khotimah, H., Anggraeni, E. W., & Setianingsih, A. 2017. Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi. *Jurnal Chemurgy*. 1(2): 34-38.

Kurniasih, E., *et al.* 2023. Transesterifikasi Enzimatis Mono-Diglicerida: Efek Peningkatan Rasio Pelarut N-Heksana Terhadap Aktivitas Enzim Lipase *Candida antartica* Dalam Meningkatkan Konversi Substrat. *Prosiding Sains Nasional Dan Teknologi*. 13(1): 7-13.

Kusuma, A. E., & Aprileili, D. A. (2022). Pengaruh Jumllah Pelarut terhadap Rendemen Ekstrak Daun Katuk (*Sauropolis androgynus* L. Merr.). *SITAWA : Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional*, 1(2), 125–135.

Lestari, A., & Okzelia, S. D. (2023). Analisis Kadar Kafein pada Minuman Kopi Kekinian di Bekasi Timur dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmascience*, 10(2), 209–222.

Lindawati, N.Y., & Ma'ruf, S.H. 2020. Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 6(1) 83–91.

Maisarah, M., *et al.* (2023). Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid sebagai Antifungi pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*. 8(2): 231–236.

Makalunsenge, M.O., Yudistira, A., & Rumondor, E. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari *Callyspongia aerizusa* yang Diperoleh dari Pulau Manado Tua. *Pharmacon*. 11(4): 1679-1684.

Mandagi, *et al.* 2022. The Potential of Bioactive Compounds from Green Gedi (*Abelmoschus manihot*) as Inhibitor Against Antibiotic-Resistant Bacteria. *Pharmacon*. 11(2): 1417-1421.

Maniagasi, D. G., S. Wewengkang, D., & Deby A, M. (2023). Potensi Ekstrak dan Fraksi Spons Theonella swinhoei yang Dieksplorasi dari Perairan Pulau Manado Tua terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheichia coli*. *Pharmacon*, 12(2), 163–169.

Manik, D.F., Hertiani, T., & Anshory, H. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah*. 6(2): 1–11.

Mierza, V., Ichsani, A., & Sridevi, A. (2023). Research Article : Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Research Article : Isolation and Identification of Terpenoid Compounds. *Jurna Surya Medika*, 9(2), 134–141.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2): 361-367.

Muntasir, *et al.* 2022. *Antibiotik dan Resistensi Antibiotik*. Makassar: Rizmedia Pustaka Indonesia.

Muslim, Z., Novrianti, A., Irnameria, D. 2020. Resistance Test of Bacterial Causes of Urinary Tract Infection Against Ciprofloxacin and Ceftriaxone Antibiotics. *Sanitas: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*. 11(2): 203-212.

Mustafidah, H., & Giarto, W. G. P. (2021). Aplikasi Berbasis Web untuk Analisis Data Menggunakan Korelasi Bivariat Pearson. *Sainteks*, 18(1), 39–50.

Nasri, N., *et al.* 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Herbal Medicine Journal*. 5(1): 13-19.

Nasrudin, *et al.* 2017. Isolasi Senyawa Steroid dari Kulit Akar Senggugu (*Clerodendrum serratum* L.Moon). *Pharmacon: Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 6(3): 332-340.

Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono, S. 2017. Alkaloid Compound Identification of *Rhodomyrtus Tomentosa* Stem as Biology Instructional Material for Senior High School X Grade. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2(3): 231–236.

Ningsih, D.S., *et al.* 2020. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baeckea frutescens* L.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 8(3): 178-185.

Nor, T.A., *et al.* 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica Papaya* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Cendana Medical Journal*. 15(3): 372-337.

Novita, W. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle* L.). *Jambi Medical Journal*. 4(2): 140-155.

Nugraha. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L.) terhadap *Staphylococcus Epidermidis* Fncc 0048 dan *Escherichia Coli* Fncc 0091. *Jurnal Kesehatan*. 15(1): 22-28.

Nurul, A., *et al.* Tinjauan Artikel: Uji Mikrobiologi. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*. 12(2): 31-36.

Olaru, I.D., Walther, B., & Schaumburg, F. 2023. Zoonotic Sources and The Spread of Antimicrobial Resistance From The Perspective of Low and Middle-Income Countries. *Infectious Diseases of Poverty*. 12(1): 1–15.

Pelealu, E., Wewengkang, D., & Sumantri, S. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Spons Leucetta Chagosensis Dari Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia coli*. 10, 834–840.

Pranata, Y., Rahmawati, I., & Saptarini, O. (2024). Antibacterial and Antibiofilm Activity of Papaya Leaf Fractions (*Carica Papaya L.*) Against *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *Jurnal Multidisiplin Madani*, 4(6), 811–822.

Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana L.*) as Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1, 71–82.

Prawitasari, H., & Yuniwati, M. (2019). Pembuatan Serbuk Pewarna Alami Tekstil dari Ekstrak Daun Jati Muda (*Tectona Grandis Linn. F.*) Metode Foam-Mat Drying dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Inovasi Proses*. 3(2): 59–66.

Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum Br.*) pada Berbagai Jenis Pelarut. 8(2), 111–121.

Purnamasari, S., Inggarsih, R., Diba, M. F., Laeto, A. Bin, Arneldi, D. F. Y., & Khairunnisa, A. (2024). Potensi Antibakteri Fraksi Aktif Daun Alpukat (*Persea americana Mill*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Shigella Dysenteriae*. *Prepotif: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(2), 3449–3456.

Puspita, I. T., & Muflihah, C. H. (2023). Antibacterial Activity of *Alpinia Galanga* Extracts and Fractions Against the Bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* and Their Bioautography. *Usadha: Journal of Pharmacy*, 2(2), 144–162.

Putri, D.I.H. & Trimulyono, G. 2023. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Lentera Bio*. 12(2): 172-178.

Putri, D.M. & Lubis, S.S. 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Jurnal Amina*. 2(3): 120-125.

Putri, N. P. D. P., Sari, N. K. Y., & Permatasari, A. A. A. P. P. (2023). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc var. *rubrum*). *Jurnal Kesehatan, Sains, dan Teknologi (Jakasakti)*, 2(3), 35-48.

Putri, P.A., *et al.* 2023. Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*. 8(2): 251-258.

Rachmawati, P. A. (2019). Biodegradable Detergen dari Saponin Daun Waru dan Ekstraksi Bunga Tanjung. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 2(2), 1-4.

Rahmah, W.N. 2024. Description of Antibiotic Sensitivity Test Results on *Escherichia coli* Bacteria Using Disc and Well Methods. *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 10(2): 344-348.

Ramadhan, A. D., & Hakim, A. R. (2023). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Etanol Daun Karinat. *Prosiding Penelitian Dan Pengabdian Karya Cendika*, 16–18.

Ramadheni, P., *et al.* 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauvagesia Androgynus* (L.) Merr) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta*. 2(2): 34-45.

Rauf, A., Pato, U., Ayu, D.F. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Penerimaan Panelis Teh Bubuk Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Berdasarkan Letak Daun pada Ranting. *Jom FAPERTA*. 4(2): 1-12.

Rijal, M.K. & Asri, M.T. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun *Psidium guajava* dan Perasan *Citrus aurantifolia* terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio*. 13(2): 279-288.

Riswanda, J., *et. al.* 2023. *Potensi Tanaman Herbal untuk Mortalitas Kutu Rambut (Pediculosis humanus capitis)*. Pekalongan: Penerbit NEM.

Roberts, A. 2016. Caffeine. *Nutraceuticals*. 417–434.

Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Malang: Seribu Bintang.

Sahli, I.T. 2023. *Protein Biofilm Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Produksi Antibodi Poliklonal*. Sulawesi Tengah: Feniks Muda Sejahtera.

Sambou, C. N., Wibowo, A. E., & Taurhesia, S. (2017). Pengembangan Produk Sediaan Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorhiza* Roxb.) Sebagai Anti Bakteri Penyebab Jerawat (*Propionibacterium acne* Dan *Staphylococcus epidermidis*). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(4), 255–265.

Samudra, *et al.* 2022. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol *Sargassum* Sp. Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. 2(4): 500-511.

Saptowo, A., Supriningrum, R., & Supomo, S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embeliaborneensis* scheff) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Al-Ulum: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 7(2), 93–97.

Sarian, M.N., *et al.* 2017. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. *BioMed Research International*. 2017.

Savitri, N.H., Indiastuti, D.N., Wahyunitasari, M.R. 2019. Inhibitory Activity of *Allium sativum* L. Extract Against *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Vocational Health Studies*. 03: 72–77.

Setiyanto, A., *et al.* 2021. *Buah-Buahan Indonesia*. Malang: Media Nusa Creative.

Sharma, A., *et al.* (2022). *Carica papaya* L. Leaves: Deciphering Its Antioxidant Bioactives, Biological Activities, Innovative Products, and Safety Aspects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–20.

Shirmohammadli, Y., Efhamisisi, D., & Pizzi, A. 2018. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Industrial Crops and Products*. 126: 316–332.

Rahmadanis, R., Hambali, E., & Farobie, O. (2023). Karakteristik Sukrosa Ester dari Metil Miristat Menggunakan Katalis K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 33(2), 188–195.

Sudarwati, T.P.L., & Fernanda, M.A.H.F. 2019. *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica papaya) sebagai Biolarvasida terhadap Larva Aedes aegypti*. Gresik: Penerbit Graniti.

Sugiarti, L., *et al.* 2020. Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol Daun Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) terhadap *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Epidermidis*. *Cendekia Journal of Pharmacy*. 4(2): 120-130.

Suhaenah, A., Nuryanti, S., Abidin, Z., & Rahman, H. F. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Karet Kebo (*Ficus elastica*) dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazil). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 15(1), 20–29.

Sulasmri, Astirin, O. P., & Widiyani, T. (2020). Short Communication : The most active fraction of red turi flowers (*Sesbania grandiflora*) on the cytotoxic activity of HepG2 cells. *Nusantara Bioscience*. 12(1), 68–72.

Sunani, S., & Hendriani, R. 2023. Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 3(2): 130-136.

Thawabteh, A. M., *et al.* (2024). Antibacterial Activity and Antifungal Activity of Monomeric Alkaloids. *Toxins*, 16(11), 489.

Timilsena, Y.P., Phosanam, A., & Stockmann, R. 2023. Perspectives on Saponins: Food Functionality and Applications. *International Journal Molecular Sciences*. 24(17): 1-22.

Tjaboali, H. 2015. Validasi Metode untuk Penetapan Kadar Ciprofloxacin dalam Sediaan Tablet dengan Nama Dagang dan Generik Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Pharmacon*. 4(4): 276-281.

Tjandra, R. F., Fatimawali, & Datu, O. S. (2020). Analisis Senyawa Alkaloid dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sirih (*Piper betle L*) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal E-Biomedik*, 8(2), 173–179.

Tuldjanah, M., *et al.* 2022. Penetapan Kadar Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Farmakologika Jurnal Farmasi*. 19(1): 1–13.

Ulya, K. H., Listyani, T. A., & Wardani, T. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N -Heksan, Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Air Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311. *Jurnal Jamu Kusuma*, 2(2), 89–95.

Ulya, R., Arfiyanti, M. P., & Rakhmawatie, M. D. (2023). Sativum ) On The Growth Of Extended Spectrum B -Lactamase. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 12(6), 383–389.

USDA. 2020. *Pseudomonas aeruginosa*. Animal and Plant Health Inspection Services. <https://acir.aphis.usda.gov/s/cird-taxon/a0u3d000000BWKxAAO/pseudomonas-aeruginosa>

Utami, Y.P. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Ness.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*. 4(1): 20-23.

Utomo, S. 2016. Pengaruh Konsentrasi Pelarut (*N*-Heksana) terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit. *Jurnal Konversi*. 5(1): 39-47.

Wardhani. 2018. Analisis Skrining Fitokimia, Kadar Total Fenol-Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Kayu Tanaman Galam Rawa Gambut (*Melaleuca cajuputi* Roxb). *Al Urum Sains dan Teknologi*. 4(1): 39-45.

Waruwu, N.S., *et al.* 2021. Comparison of Phytochemical Pepaya Leaf (*Carica papaya* L.) Ethanol Extract in the Lowlands and Highlands. *Jurnal Media Sains*. 5(2): 29-36.

Widarta, I.W.R., & Arnata, I.W. 2017. Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Agritech*. 37(2): 148-157.

Widwiastuti, H., *et al.* (2022). Pengaruh Ukuran Simplisia dan Lama Kontak pada Ekstraksi Senyawa Aktif Simplisia Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 19(2): 86–90.

World Health Organization. 2024. *WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial Pathogens of Public Health Importance to Guide Research, Development and Strategies to Prevent and Control Antimicrobial Resistance*. Geneva: World Health Organization.

Yan, Y., *et al.* 2021. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics*. 10(318): 1–30.

Yolandari, S., Teheni, M.T., & Wulandari, M. 2022. Uji Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.) sebagai Antibakteri. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(1): 1-5.

Yunita, E., & Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) secara Spektrofotometri UV-Vis. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 17(02), 273–280.

Zhou, L. 2020. Papaya (*Carica papaya* L.) Leaf Area Estimation and Single-Leaf Net Photosynthetic Co<sub>2</sub> Assimilation Rate Following Leaf Defoliation and Fruit Thinning. *HortScience*. 55(11): 1861–1864.

Zulyani, *et al.* 2022. Uji Daya Hambat Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. 11(1), 20-27.