

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L.*)
MENGUNAKAN METODE *ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION***

(Skripsi)

**Oleh
NAFISA ARIFA FIRDAUS
2018031027**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L.*)
MENGUNAKAN METODE *ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION***

**Oleh
NAFISA ARIFA FIRDAUS
2018031027**

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

**Pada
Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

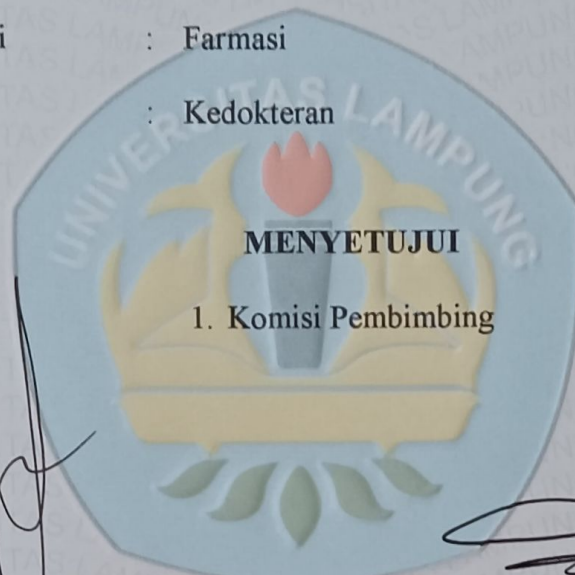
Judul Skripsi : **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L.*) DENGAN METODE *ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION***

Nama Mahasiswa : **Nafisa Arifa Firdaus**

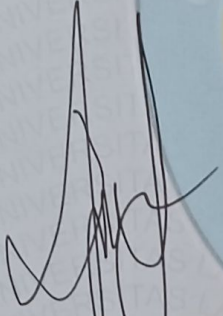
No. Pokok Mahasiswa : 2018031027

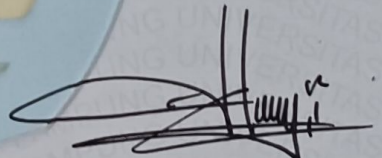
Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran



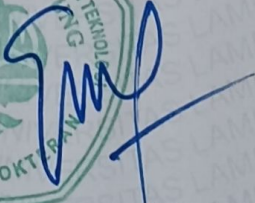
1. Komisi Pembimbing


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


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



2. Dekan Fakultas Kedokteran

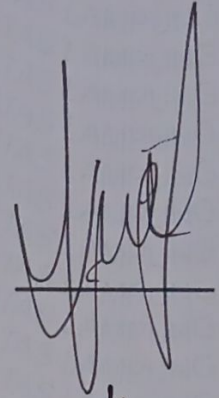

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

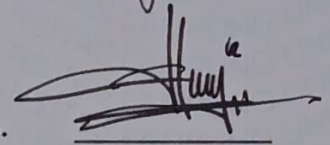
Ketua

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



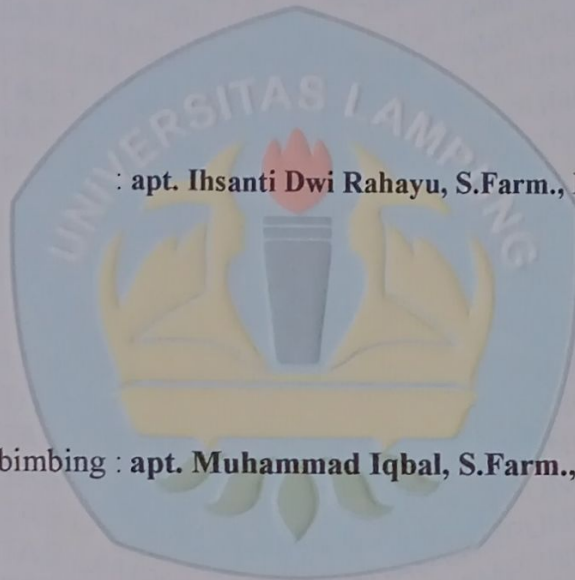
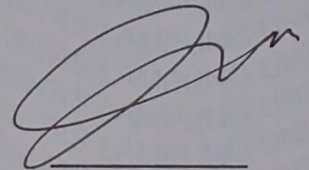
Sekretaris

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

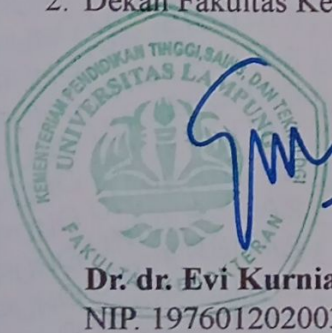
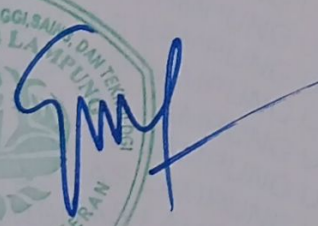


Penguji

Bukan Pembimbing : apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.



2. Dekan Fakultas Kedokteran

The official stamp of the Faculty of Medicine at Universitas Lampung is a green circular emblem. It contains the text "KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, DAN KEMASYARAKATAN" around the top, "UNIVERSITAS LAMPUNG" in the center, and "FAKULTAS KEDOKTERAN" around the bottom. A blue ink signature is written over the stamp.

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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **30 Januari 2026**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nafisa Arifa Firdaus
Nomor Pokok Mahasiswa : 2018031027
Tempat Tanggal Lahir : Bandarjaya, 19 Oktober 2003
Alamat : Jl. Otista No. 22 Yukum Jaya, Terbanggi Besar,
Lampung Tengah, Lampung.

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul "**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L*) MENGGUNAKAN METODE *ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION***" adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 30 Januari 2026

Pembuat Pernyataan,



Nafisa Arifa Firdaus

NPM. 2018031027

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandarjaya pada tanggal 19 Oktober 2003 sebagai anak ketiga dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Muhammad Firdaus, S.Sos. dan Ibu Erlia Rosvanita, S.Ag. Penulis memiliki riwayat pendidikan di SD An-Nur Bandarjaya (2009-2015), SMPN 3 Terbanggi Besar (2015-2018) dan MAN 1 Lampung Tengah (2018-2020). Pada tahun 2020 penulis diterima menjadi mahasiswa di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN.

Pada masa perkuliahan, penulis aktif dalam organisasi FSI Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai anggota di Departemen BBQ (2022-2023), Himafarsi Unila sebagai Sekretaris Departemen *Bussiness and Partnership* (2021-2022) dan sebagai anggota Bisnis dan Kemitraan (2022-2023). Penulis juga berkesempatan menjadi Panitia Dies Natalis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ke-19 dan Pharmalation (2021-2022).

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Bismillahirrahmanirrahim

“Jika kamu tidak tahu apa yang harus dikejar
dalam hidup saat ini, kejarlah dirimu sendiri.
Berusahalah menjadi versi dirimu yang paling sehat,
paling bahagia, paling hadir, dan paling percaya diri.
Maka jalan yang paling benar akan terungkap dengan sendirinya.”

Sebuah persembahan sederhana
untuk orang tuaku tercinta,
Buya dan Ibu.

-Nca-

SANWACANA

Alhamdulillahirrabbi'l'amin, puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala, yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang judul "**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L*) MENGGUNAKAN METODE *ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION***". Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad Shalallahu 'Alaihi Wasallam, dan semoga kita kelak mendapatkan syafaatnya di yaumul akhir.

Penyusunan skripsi ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa adanya bimbingan, dukungan, masukan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Oktafany, M.Pd.Ked., selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik dan Kerja Sama;
4. dr. Roro Rukmi, M.Kes. Sp.A(K)., selaku Wakil Dekan II Bidang Umum dan Keuangan;
5. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm., selaku Wakil dekan III Bidang Kemahasiswaan dan Alumni serta Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan motivasi, dukungan dan bimbingan selama perkuliahan S1 di Fakultas Kedokteran;

6. dr. Rani Himayani, Sp. M., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan motivasi dan dukungan dengan tulus kepada penulis;
7. apt. Ramadhan Triyandi S.Farm., M.Si., selaku Pembimbing Utama yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terimakasih telah memberikan banyak kesempatan, ilmu, arahan serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini dan selama penulis menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
8. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, S.Farm., M.S.Farm., selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dan dorongan kepada penulis dalam penulisan skripsi. Terimakasih atas ilmu, arahan, serta nasihat untuk penulis supaya penulis menjadi pribadi yang lebih baik untuk kedepannya;
9. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc., selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta turut membimbing penulis dalam proses penyusunan skripsi. Terimakasih atas banyaknya kesempatan, ilmu, arahan, serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini dan selama penulis menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
10. apt. Dwi Aulia Ramdini, S.Farm., M.Farm., yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk mendukung penulis dalam proses penyusunan skripsi;
11. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan baik di dalam maupun di luar kelas. Terima kasih atas pengalaman dan pembelajaran terbaik yang telah diberikan kepada penulis;
12. Seluruh tenaga kependidikan dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas waktu dan tenaganya yang telah membantu penulis selama menjalankan studi hingga proses penyelesaian penelitian;
13. Orang tua tercinta, Buya Muhammad Firdaus, S.Sos., dan Ibu Erlia Rosvanita, S.Ag. (Almh). Kepada Buyah terkasih, terima kasih atas doa, dukungan, dan kasih sayang yang selalu diberikan untuk Nca tanpa henti. Kepada Ibu, terima

kasih atas doa baiknya selama ini, sehingga sampai sekarang Nca hidup dengan baik karena sisa-sisa doa ibu;

14. Kakak dan Adik tersayang, Kiyay Fachri Azmi Firdaus, Kanjeng Naura Afifa Firdaus, Amd.Keb., dan Adik Nadiya Alifa Firdaus yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis dan turut serta menemani setiap proses penyusunan skripsi penulis;
15. Keponakan tersayang, Aqilla Ghaida Firdaus dan Fathan Akhtar Firdaus yang turut memberikan hiburan serta semangat kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi ini;
16. Keluarga Besar H. Umar Hasan, yang selalu memberikan dukungan, motivasi, bantuan, doa serta menemani penulis dalam proses penyusunan skripsi ini;
17. Sahabat tercinta, Meifia Hasyimi, S.Farm., As-Syifa' Amanda Putri, Amd.Gz., dan Firly Azzahra Adila Putri, S.Pd., yang selalu memberikan dukungan serta bantuan kepada penulis, menjadi tempat cerita terbaik, dan selalu menemani segala proses kehidupan penulis;
18. Semua pihak, yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang turut membantu, memberikan dukungan, serta selalu menemani proses penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Bandar Lampung, 2 Februari 2026

Penulis

Nafisa Arifa Firdaus

ABSTRACT

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ETHANOL EXTRACT OF SWEET STARFRUIT LEAVES (*Averrhoa carambola* L.) USING ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION METHOD

By

NAFISA ARIFA FIRDAUS

Background: Sweet starfruit leaves have potential as natural antioxidants and antibacterial agents. The Ultrasound-Assisted Extraction method is known to have many advantages compared to conventional extraction methods. This study aims to determine the antioxidant and antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* of ethanol extract from sweet starfruit leaves (*Averrhoa carambola* L.).

Methods: The research design of this study was a laboratory experiment, testing antioxidant activity using the DPPH method with concentration series of 20, 40, 60, 80, 100 mg/mL, and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria using the disc diffusion method at a concentration of 2 mg/mL.

Results: The results showed that the extract possessed antioxidant activity with an IC_{50} value of 23.66 μ g/mL, as well as antibacterial inhibition against *Staphylococcus aureus* with an average inhibition zone of 15.07 – 15.62 mm and against *Escherichia coli* of 11.90 – 12.83 mm.

Conclusion: There is antioxidant and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: antioxidant, antibacterial, sweet starfruit leaves, *Averrhoa carambola* L., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola L*) MENGGUNAKAN METODE *ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION*

Oleh

NAFISA ARIFA FIRDAUS

Latar Belakang: Tanaman Daun Belimbing Manis berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri alami. Metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* diketahui memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*)

Metode: Desain penelitian pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan menguji uji antioksidan metode DPPH dengan seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 mg/mL, dan uji antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram pada konsentrasi 2 mg/mL.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 23,66 μ g/mL, serta memiliki aktivitas penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat 15,07 – 15,62 mm dan *Escherichia coli* 11,90 – 12,83 mm.

Kesimpulan: Terdapat aktivitas antioksidan dan antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci: antioksidan, antibakteri, daun belimbing manis, *Averrhoa carambola L.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Bagi Peneliti	5
1.4.2 Bagi Peneliti Lain	5
1.4.3 Bagi Institusi.....	6
1.4.4 Bagi Masyarakat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Belimbing Manis	7
2.1.1 Klasifikasi.....	7
2.1.2 Karakteristik	8
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Belimbing Manis.....	8
2.2 <i>Escherichia coli</i>	10
2.2.1 Pengertian	10
2.2.2 Klasifikasi.....	10
2.2.3 Morfologi.....	11
2.2.4 Patogenesis	11
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	13

2.3.1	Pengertian.....	13
2.3.2	Klasifikasi.....	13
2.3.3	Morfologi.....	14
2.3.4	Patogenesis	14
2.4	Senyawa Fenolik	15
2.4.1	Pengertian.....	15
2.4.2	Struktur.....	16
2.4.3	Biosintesis.....	16
2.5	Senyawa Metabolit Sekunder	17
2.5.1	Pengertian.....	17
2.5.2	Macam-macam	18
2.6	Antioksidan	20
2.6.1	Pengertian.....	20
2.6.2	Klasifikasi Antioksidan	21
2.6.3	Uji Antioksidan.....	22
2.7	Radikal Bebas	23
2.7.1	Pengertian.....	23
2.7.2	Sumber Radikal Bebas	24
2.7.3	Efek Radikal Bebas	25
2.8	Antibakteri	27
2.8.1	Pengertian.....	27
2.8.2	Metode.....	27
2.9	Ekstraksi	28
2.9.1	Pengertian.....	28
2.9.2	Metode.....	29
2.10	Kerangka Penelitian	33
2.10.1	Kerangka Teori	33
2.10.2	Kerangka Konsep.....	33
2.11	Hipotesis	34
2.11.1	Hipotesis Null (H0).....	34
2.11.2	Hipotesis Alternatif (Ha)	34
BAB III METODE PENELITIAN		35

3.1	Desain Penelitian.....	35
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	35
3.2.1	Tempat Penelitian	35
3.2.2	Waktu Penelitian.....	36
3.3	Variabel Penelitian	36
3.3.1	Variabel Bebas.....	36
3.3.2	Variabel Terikat	36
3.4	Alat dan Bahan Penelitian.....	36
3.4.1	Alat Penelitian	36
3.4.2	Bahan Penelitian	37
3.5	Prosedur Penelitian.....	37
3.5.1	Determinasi Tanaman	37
3.5.2	Preparasi Sampel.....	37
3.5.3	Pembuatan Ekstrak.....	37
3.5.4	Uji Fitokimia.....	38
3.5.5	Pengukuran Total Fenolik	39
3.5.6	Uji Aktivitas Antioksidan.....	40
3.5.7	Uji Aktivitas Antibakteri.....	42
3.6	Alur Penelitian	44
3.7	Analisis Data	45
3.8	Etika Penelitian	45
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		46
4.1	Hasil Penelitian	46
4.1.1	Determinasi Tanaman	46
4.1.2	Ekstraksi Daun Belimbing Manis	47
4.1.3	Skrining Fitokimia	47
4.1.4	Uji Total Fenolik.....	47
4.1.5	Uji Aktivitas Antioksidan.....	48
4.1.6	Uji Antibakteri.....	50
4.2	Pembahasan.....	51
4.2.1	Ekstraksi Daun Belimbing Manis	51
4.2.2	Skrining Fitokimia	52

4.2.3 Uji Total Fenolik.....	53
4.2.4 Aktivitas Antioksidan.....	55
4.2.5 Aktivitas Antibakteri.....	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	71

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Klasifikasi Kekuatan Antioksidan	42
Tabel 2 Klasifikasi Kekuatan Antibakteri	42
Tabel 3 Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Manis.....	47
Tabel 4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Belimbing Manis	47
Tabel 5 Hasil Uji Fenolik Ekstrak Etanol Daun Belimbing Manis.....	48
Tabel 6 Presentase Inhibisi Vitamin C	49
Tabel 7 Presentase Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Manis	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Belimbing Manis (<i>Averrhoa carambola</i> L) (Mazza, 2022).....	7
Gambar 2 <i>Escherichia coli</i> (PHIL, 2006).....	10
Gambar 3 <i>Staphylococcus aureus</i> (Paudyal, dkk., 2014).....	14
Gambar 4 Struktur Senyawa Fenolik (Kolton, dkk., 2022).....	16
Gambar 5 Skema Biosintesis Senyawa Fenolik pada Tumbuhan (Kolton dkk., 2022)	17
Gambar 6 Mekanisme Netralisasi DPPH (Munteanu dan Apetrei, 2021).....	23
Gambar 7 Metode difusi agar cakram (Balouri dkk. 2016).....	28
Gambar 8 Gelembung Kavitasi Terhadap Tanaman (Torres dkk., 2017).	30
Gambar 9 <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> (Carillo L dkk., 2018)	30
Gambar 10 Kerangka Teori Penelitian	33
Gambar 11 Kerangka Konsep Penelitian.....	33
Gambar 12 Alur Penelitian	44
Gambar 13 Kurva Baku Asam Galat.....	48
Gambar 14 Kurva Vitamin C (Pembanding)	49
Gambar 15 Kurva Estrak Etanol Daun Belimbing Manis	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikaruniai keanekaragaman hayati tumbuhan yang sangat tinggi, dengan berbagai suku dan jenis. Berbagai tumbuhan ini dimanfaatkan untuk memenuhi beragam kebutuhan, termasuk diantaranya sebagai bahan baku pengobatan (Soedibyo, 1998). Salah satu contoh tanaman yang berpotensi untuk pengobatan herbal adalah belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*). Tanaman yang berasal dari Asia Tenggara ini banyak ditemui di Indonesia dan dapat berbuah hampir sepanjang tahun (Abtian dkk., 2019). Produksi belimbing di Indonesia tercatat mencapai 137.450 ton pada tahun 2021 (Badan Pusat Statistik, 2022). Bagian yang umumnya dimanfaatkan adalah buah dan daunnya, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan antihelmintik (Mardhiyah dkk., 2020). Lebih dari 130 komponen fitokimia, termasuk flavonoid, alkaloid, terpenoid, fenilpropanoid, steroid, dan saponin, telah berhasil diidentifikasi dalam *Averrhoa carambola L.* Senyawa-senyawa aktif inilah yang diduga menjadi penyebab berbagai bioaktivitas yang dimilikinya. Hingga saat ini, melalui teknik *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan *Mass Spectrometer* (MS), telah ditemukan setidaknya 51 jenis flavonoid yang berasal dari daun, buah, dan akar tanaman tersebut (Luan dkk., 2021).

Ekstrak etanol daun belimbing manis diketahui mengandung beragam senyawa bioaktif seperti karbohidrat, glikosida, steroid, saponin, flavonoid, dan tanin. Kandungan ini mengindikasikan potensi farmakologis yang dapat dikembangkan sebagai obat terapeutik (Hossain dkk., 2017). Dalam penelitian yang sama, ekstrak tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri tingkat sedang terhadap *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*,

dan *Pseudomonas spp.* Pada konsentrasi 500 µg/cakram, ekstrak menghasilkan zona hambat sebesar 8 mm terhadap *Streptococcus pyogenes* dalam uji difusi cakram. Secara umum, aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing manis lebih kuat terhadap bakteri gram positif daripada gram-negatif. Lebih lanjut, ekstrak metanol ditemukan lebih efektif dalam menghambat bakteri gram-positif dibandingkan ekstrak dengan pelarut lain (Luan dkk., 2021).

Penyakit diare, dengan *Escherichia coli* sebagai agen etiologi yang paling umum (Apriliana & Hawarima, 2016), menimbulkan beban morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO, 2017) melaporkan bahwa diare adalah penyebab kematian kedua terbanyak pada anak balita, dengan perkiraan insidensi tahunan 1,7 miliar kasus pada anak dan 2 miliar kasus pada dewasa di seluruh dunia. Analisis data kematian nasional mengungkapkan bahwa diare bertanggung jawab atas lebih dari 28.000 kematian, dimana sebagian besarnya (51%) terjadi pada populasi lansia (>65 tahun) (Amin, 2015). Pada konteks Indonesia, prevalensi diare tahun 2018 adalah 8% secara nasional, dengan kelompok rentan seperti balita (12,3%) dan bayi baru lahir (10,6%) menunjukkan angka yang lebih tinggi. Lebih lanjut, diare menyebabkan 7% kematian neonatal dan 6% kematian pada bayi usia 28 hari (Kemenkes RI, 2022).

Staphylococcus aureus merupakan patogen yang mampu menyebabkan spektrum penyakit luas, mulai dari infeksi kulit hingga kondisi fatal seperti pneumonia dan sepsis. Tantangan dalam penanganannya semakin kompleks akibat maraknya resistensi antibiotik dan belum tersedianya vaksin yang efektif (Cheung dkk., 2021). Bersama dengan *Streptococcus pyogenes* (Grup A *Streptococcus β-hemolyticus*), bakteri ini termasuk penyebab infeksi kulit yang paling umum (Craft, 2022). Meskipun pada dasarnya *Streptococcus pyogenes* merupakan bagian dari flora normal kulit yang bersifat non-patogen, dalam kondisi tertentu bakteri ini dapat berubah menjadi patogen dan memicu infeksi (Jawetz dkk., 2019).

Berdasarkan prevalensinya sebagai agen infeksi utama pada manusia (Utomo dkk., 2018), *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dipilih sebagai objek studi dalam penelitian ini.

Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang tidak hanya berisiko menimbulkan resistensi bakteri, tetapi juga dapat menyebabkan efek samping seperti kerusakan organ dan reaksi hipersensitivitas (Qomar dkk., 2018). Meningkatnya resistensi bakteri ini menjadi masalah serius yang mendesak untuk dicari solusi, salah satunya dengan mengeksplorasi sumber antibakteri alternatif. Sumber alternatif yang potensial berasal dari tanaman alam karena kaya akan senyawa sekunder bioaktif. Tren gaya hidup *back to nature* yang kini semakin populer turut mendorong pemanfaatan bahan alam, termasuk untuk keperluan pengobatan, sehingga mendukung eksplorasi ini (Pertiwi dkk., 2016).

Antioksidan alami merupakan senyawa yang berasal dari sumber biologis, contohnya adalah kandungan vitamin C, tokoferol, karotenoid, flavonoid, polisakarida, serta asam amino dalam makanan. Sebaliknya, antioksidan sintetik adalah senyawa kimia yang ditambahkan ke dalam makanan sebagai aditif, diantaranya *Beta-hydroxy acid* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), dan *tert-Butylhydroquinone* (TBHQ) (Sarkar, Atreyi & Uma, 2016). Eksplorasi sumber antioksidan alami terus menarik minat peneliti, didorong oleh keyakinan masyarakat bahwa penggunaan antioksidan alami dapat mengurangi kekhawatiran akan efek samping negatif dari antioksidan sintetik (Anbudhasan dkk., 2014). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa antioksidan alami merupakan pilihan yang lebih baik. Oleh karena daun belimbing manis memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, tanaman ini dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif sumber antioksidan alami yang potensial.

Studi mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) masih relatif terbatas jika dibandingkan dengan kerabat dekatnya, belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Padahal, spesies dalam satu genus memiliki afinitas kimia yang serupa, sehingga berpotensi

menghasilkan senyawa aktif yang identik atau khas (Syafitri & Ersam, 2016). Di sisi lain, penelitian terhadap daun belimbing manis masih banyak mengandalkan metode ekstraksi konvensional. Untuk meningkatkan efisiensi dalam hal rendemen, waktu, biaya, dan tenaga, diperlukan modifikasi proses ekstraksi. Salah satu metode modern yang direkomendasikan adalah *Ultrasonic Assisted Extraction* (Adhiksana, 2017). Metode sonikasi ini dinilai tidak menyebabkan perubahan signifikan pada struktur kimia senyawa, sehingga mampu menghasilkan ekstrak dengan kualitas lebih baik (Wang & Xu, 2014).

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk mengkaji aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diperoleh dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka didapatkan rumusan masalah yaitu:

1. Berapa nilai rendemen ekstrak yang diperoleh pada proses ekstraksi daun belimbing manis dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*?
2. Kandungan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*?
3. Berapa total kadar fenolik pada ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*?
4. Bagaimanakah potensi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*?
5. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui aktivitas yang terkandung di dalam daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*.
2. Mengetahui total kadar fenolik pada ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*.
3. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*.
4. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) yang diekstraksi dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan keilmuan bagi peneliti, meningkatkan kemampuan peneliti dalam menganalisis masalah dan sebagai wujud disiplin ilmu dari pengetahuan yang telah dipelajari peneliti.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi panduan untuk penelitian selanjutnya dan dapat menjadi dasar pengembangan pengobatan alami berbasis daun belimbing manis sebagai alternatif obat antioksidan dan antibakteri.

1.4.3 Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pustaka bagi penelitian yang serupa dan menambah publikasi bagi institusi.

1.4.4 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber informasi untuk masyarakat mengenai potensi ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) sebagai antioksidan dan antibakteri menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Belimbing Manis

Belimbing manis tergolong ke dalam famili *Oxalidaceae*, yang mencakup lebih dari 900 spesies dari tujuh genus, diantaranya *Dapania*, *Oxalis*, *Sarcotheca*, *Eichleria*, *Biophytum*, *Hypseocharis*, dan *Averrhoa*. Pada genus *Averrhoa* sendiri, umumnya dikenal tiga spesies, yaitu *Averrhoa carambola* (belimbing manis), *Averrhoa bilimbi* (belimbing wuluh), dan *Averrhoa dolichocarpa* (belimbing hutan) (Luan dkk., 2021).

2.1.1 Klasifikasi

Berikut klasifikasi belimbing manis (Dasgupta dkk., 2013).

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Geraniales</i>
Famili	: <i>Oxalidaceae</i>
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Spesies	: <i>Averrhoa carambola L</i>



Gambar 1 Belimbing Manis (*Averrhoa carambola L*) (Mazza, 2022)

2.1.2 Karakteristik

Belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) diduga berasal dari kawasan Sri Lanka dan Maluku, namun telah menyebar dan dibudidayakan luas di Asia Tenggara selama berabad-abad. Tanaman ini berukuran kecil, tumbuh sebagai pohon berbatang pendek dengan ketinggian antara 5 hingga 7 meter. Secara morfologis, belimbing manis terdiri atas akar, batang, daun, bunga, dan buah. Daunnya merupakan daun majemuk menyirip ganjil dengan panjang 3-7 cm, berbentuk bulat hingga elips, berwarna hijau sedang, serta bertekstur halus di permukaan atas dan keputihan di bagian bawah. Kulit batangnya berwarna abu-abu (Luan dkk., 2021). Bunganya berwarna ungu terang, tumbuh di ketiak daun, melekat dengan tangkai berwarna merah, serta memiliki lima kelopak dan mahkota. Buahnya berwarna hijau saat mentah dan berubah kuning saat matang, dengan ukuran panjang sekitar 15 cm dan lebar 9 cm (Dasgupta dkk., 2013).

2.1.3 Kandungan dan Manfaat Belimbing Manis

Belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) kaya akan berbagai komponen nutrisi dan fitokimia. Dari segi serat pangan, buah ini dilaporkan mengandung selulosa (60%), hemiselulosa (27%), dan pektin (13%) yang berperan dalam mengontrol kadar gula darah (Lakmal dkk., 2021). Kandungan mineralnya cukup tinggi, meliputi kalium (167,13–168,0 mg/100 g), fosfor (17,87–17,88 mg/100 g), magnesium (11,85–12,05 mg/100 g), dan kalsium (6,37–6,40 mg/100 g). Sementara itu, kandungan vitamin yang teridentifikasi antara lain vitamin C (25,8 mg/100 g) serta vitamin B1 dan B2 (masing-masing 0,12 mg/100 g).

Selain komponen gizi, belimbing manis juga mengandung beragam senyawa bioaktif. Setidaknya 132 senyawa fitokimia telah berhasil diidentifikasi, diantaranya flavonoid, alkaloid, terpenoid, fenilpropanoid, steroid, dan saponin, yang diduga menjadi sumber berbagai bioaktivitasnya. Secara khusus, melalui teknik *Nuclear*

Magnetic Resonance (NMR) dan *Mass Spectrometer* (MS), telah ditemukan 51 jenis flavonoid dari berbagai bagian tanaman seperti daun, buah, dan akar (Luan dkk., 2021).

Aktivitas antibakteri yang dimiliki daun belimbing manis bersumber dari kandungan senyawa metabolit sekundernya. Senyawa-senyawa ini dapat bekerja secara sinergis, dimana keberadaan satu senyawa memperkuat efek senyawa lainnya. Mekanisme kerja masing-masing senyawa dalam menghambat bakteri berbeda-beda. Alkaloid bekerja dengan mengganggu sintesis peptidoglikan, sehingga menghalangi pembentukan dinding sel bakteri yang utuh dan berujung pada lisis sel. Flavonoid merusak membran sel dengan cara membentuk kompleks senyawa bersama protein ekstraseluler. Steroid mengacaukan fungsi membran sel, khususnya pada bagian lipofiliknya. Sementara itu, saponin bersifat toksik dan dapat mendestabilisasi dinding sel, terutama pada bakteri gram-positif (Yunita & Nursanty, 2019).

Secara turun-temurun, belimbing manis telah digunakan selama ribuan tahun untuk mengatasi berbagai keluhan seperti diabetes, nyeri sendi (artralgia), muntah, batuk, dan sakit kepala (Luan dkk., 2021). Bagian daunnya, khususnya, memiliki beragam khasiat dalam pengobatan tradisional. Daun yang dihancurkan dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan cacar air dan kurap, sedangkan air rebusannya digunakan untuk meredakan sariawan (stomatitis aftosa) dan angina. Selain itu, daun ini juga digunakan dalam pengobatan oliguria (sedikitnya produksi urin), bisul, dan infeksi kulit bernanah (pioderma) (Dasgupta dkk., 2013). Lebih lanjut, daun belimbing manis dikenal memiliki sifat antipruritus (antigatal), antipiretik (penurun demam), anthelmintik (pembasmi cacing), serta dilaporkan efektif mengobati kudis (*scabies*) (Hossain dkk., 2017).

2.2 *Escherichia coli*

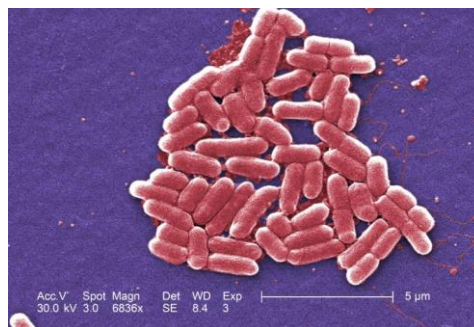
2.2.1 Pengertian

Escherichia coli merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang yang tergolong dalam famili *Enterobacteriaceae* dan kelas *Gammaproteobacteria*. Bakteri ini memiliki kemampuan tumbuh yang sangat cepat, dengan waktu penggandaan diri sekitar 20 menit pada kondisi optimal (Jang dkk., 2017). Secara alami, *Escherichia coli* adalah komensal dominan dalam saluran pencernaan manusia dan umumnya hidup secara harmonis tanpa menimbulkan penyakit (Allocati dkk., 2013). Meski demikian, bakteri ini juga dikenal sebagai salah satu patogen penting pada manusia.

2.2.2 Klasifikasi

Menurut Songer dan Post (2005), klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*
 Filum : *Proteobacteria*
 Kelas : *Gamma Proteobacteria*
 Ordo : *Enterobacteriales*
 Famili : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Escherichia*
 Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 2 *Escherichia coli* (PHIL, 2006)

2.2.3 Morfologi

Secara morfologis, *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang pendek dengan dimensi sekitar $0,5\ \mu\text{m} \times 1-3\ \mu\text{m}$, meskipun dapat bervariasi dari bentuk hampir bulat (kokoid) hingga memanjang seperti filamen. Bakteri ini tidak membentuk spora dan umumnya bersifat motil berkat flagela yang tersebar di seluruh permukaan selnya (*peritrichous*). Namun, ada pula strain yang non-motil karena tidak memiliki flagela (Samanta & Bandyopadhyay, 2020). Ditinjau dari metabolismenya, *Escherichia coli* bersifat anaerob fakultatif dan mampu memproduksi gas dari proses fermentasi karbohidrat (Percival & Williams, 2014).

Escherichia coli yang berhasil keluar dari lingkungan usus dan menjadi patogen sering kali memiliki kapsul. Pada media padat, *strain* ini membentuk koloni yang tampak mukoid. Kapsul tersebut, yang tersusun atas polisakarida, merupakan faktor virulensi penting karena membantu bakteri mengelak dari pertahanan imun non-spesifik inang pada tahap awal infeksi (Samanta & Bandyopadhyay, 2020). *Strain* mukoid ini terkadang juga menghasilkan polimer ekstraseluler yang dikenal sebagai antigen K serta polisakarida asam (seperti antigen M yang mengandung asam kolanik). Selain itu, *Escherichia coli* memproduksi berbagai jenis *fimbriae* yang berperan krusial dalam proses perlekatan (adhesi) ke sel inang. Struktur dan sifat antigenik *fimbriae* ini sangat bervariasi antar *strain* (Percival dkk., 2004).

2.2.4 Patogenesis

Escherichia coli dapat berubah menjadi patogen ketika populasinya melebihi jumlah normal dalam tubuh atau ketika berada di lokasi di luar usus. Sebagian strainnya mampu menyebabkan penyakit diare (Percival dkk., 2004). *Strain Escherichia coli* penyebab diare ini kemudian dikategorikan berdasarkan sifat virulensi yang dimiliki, di

mana setiap kategori menjalankan mekanisme patogenisitas yang berbeda (Riedel dkk., 2019).

Berdasarkan mekanisme patogenitasnya, *Escherichia coli* dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok, antara lain:

1. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

EPEC merupakan penyumbang signifikan kasus diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. Patogen ini menempel pada sel mukosa usus halus, menyebabkan pemendekan mikrovili dan pembentukan struktur seperti cangkir dari filamen aktin. Dalam beberapa kasus, EPEC bahkan dapat menginvasi sel mukosa (Brooks dkk., 2007).

2. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

ETEC adalah penyebab utama diare pada pelancong (*traveler's diarrhea*) dan bayi di negara berkembang. Beberapa *strain* ETEC menghasilkan eksotoksin tahan panas (LT) yang dikode oleh plasmid. Subunit B toksin ini berikatan dengan gangliosida GM1 pada *brush border* sel epitel usus, memungkinkan subunit A masuk ke dalam sel dan mengaktifkan adenilat siklase (Brooks dkk., 2007).

3. *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

EHEC menghasilkan verotoksin, yang dinamai berdasarkan efek sitotoksiknya pada kultur sel Vero (sel ginjal monyet hijau Afrika). Infeksi EHEC dikaitkan dengan kolitis hemoragik, sindrom uremik hemolitik, anemia hemolitik mikroangiopati, dan trombositopenia (Brooks dkk., 2007).

4. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

EIEC menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan *shigellosis*, terutama pada pelancong dan anak-anak di negara berkembang. *Strain* EIEC umumnya tidak memfermentasi laktosa atau

memfermentasinya dengan lambat, serta bersifat non-motil. Patogenisitasnya berasal dari kemampuan menginvasi sel epitel mukosa usus (Brooks dkk., 2007).

5. *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronis pada penduduk negara berkembang, dan juga menjadi agen penyakit bawaan makanan di negara industri. EAEC memproduksi toksin mirip ST (*heat-stable toxin*) dan hemolisin (Brooks dkk., 2007).

2.3 *Staphylococcus aureus*

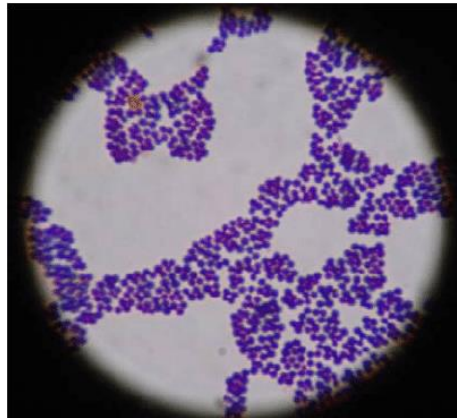
2.3.1 Pengertian

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif yang dapat memicu keracunan makanan, salah satu bentuk gastroenteritis dengan onset gejala yang cepat. Bakteri ini umumnya ditemukan di lingkungan (seperti tanah, air, dan udara) serta merupakan bagian dari flora normal pada hidung dan kulit manusia (Conley dkk., 2006). Suatu infeksi dinyatakan disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* apabila bakteri ini berhasil diisolasi dari lokasi tubuh yang secara normal steril, misalnya dari darah, cairan serebrospinal, cairan pleura atau peritoneal, aspirasi jaringan dalam yang diambil secara aseptik, maupun spesimen jaringan hasil pembedahan (Kang dkk., 2011).

2.3.2 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut: (Dewi., 2013).

Domain : *Bacteria*
 Kingdom : *Eubacteria*
 Ordo : *Eubacteriales*
 Famili : *Micrococcaceae*
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 3 *Staphylococcus aureus* (Paudyal, dkk., 2014)

2.3.3 Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram-positif berbentuk kokus dengan diameter 0,8-1 mikron yang biasanya tersusun bergerombol menyerupai rangkaian buah anggur. Bakteri ini tidak membentuk spora, bersifat non-motil, dan beberapa strain yang diisolasi langsung dari pasien dapat memiliki kapsul. Pada media pertumbuhan, koloninya berwarna kuning keemasan dan menunjukkan hemolisis di media *blood agar*. *Staphylococcus aureus* juga tahan terhadap kadar NaCl tinggi hingga 15%, yang ditandai dengan pertumbuhan berwarna kuning pada *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Tyasningsih dkk., 2010). Warna kuning keemasan yang khas pada koloni berasal dari pigmen *staphyloxanthin* (sejenis karotenoid). Pigmen ini tidak hanya memberi warna, tetapi juga berperan melindungi bakteri dari proses fagositosis (Rasheed dkk., 2021).

2.3.4 Patogenesis

Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* umumnya bersifat supuratif, ditandai dengan peradangan bernanah pada jaringan lokal yang sering kali berkembang menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling umum meliputi furunkel (bisul) pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superfisial ini berpotensi menyebar secara metastatik ke jaringan yang lebih dalam, menyebabkan kondisi serius seperti osteomielitis, artritis, endokarditis, serta abses pada organ dalam (otak, paru-paru, ginjal, dan kelenjar mammae). *Staphylococcus*

aureus juga merupakan penyebab utama pneumonia sekunder pasca-infeksi virus influenza dan sering dikaitkan dengan infeksi luka pasca-bedah. Kontaminasi dalam konteks bedah terutama berasal dari petugas kesehatan yang merupakan *carrier*, serta dari peralatan medis yang tidak steril. Jika bakteremia terjadi, infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ tubuh (Deleo dkk., 2009).

Mekanisme patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus* terjadi melalui interaksi kompleks antara berbagai protein permukaan bakteri dan reseptor spesifik pada sel inang. Menentukan faktor virulensi mana yang paling dominan merupakan hal yang menantang, mengingat banyaknya jumlah dan keragaman faktor virulensi yang dimiliki bakteri ini (Deleo dkk., 2009).

2.4 Senyawa Fenolik

2.4.1 Pengertian

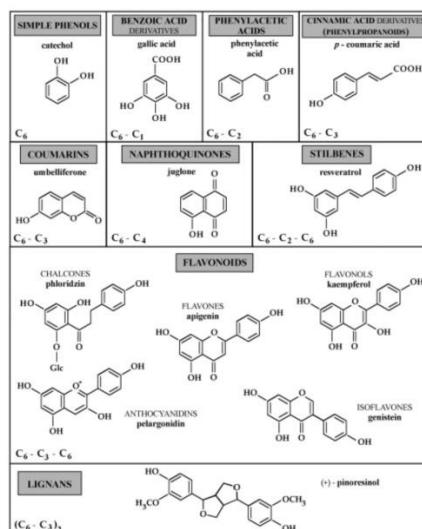
Senyawa fenolik merupakan kelompok besar metabolit sekunder tumbuhan yang dicirikan oleh keberadaan cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Kelompok ini mencakup spektrum yang sangat luas, mulai dari senyawa sederhana bermolekul rendah hingga polimer kompleks dengan massa melebihi 20.000 Dalton (Koltun dkk., 2022). Ribuan jenis senyawa fenolik telah diidentifikasi dalam dunia tumbuhan, dan jumlahnya terus bertambah. Sifat kimia dan aktivitas biologis senyawa-senyawa ini dapat bervariasi melalui proses modifikasi seperti glikosilasi, asilasi, atau metilasi (Cheynier dkk., 2013).

Senyawa-senyawa ini memainkan peran penting dalam mendukung pertumbuhan serta reproduksi tanaman, sekaligus berfungsi sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap hama dan pemangsa. Lebih lanjut, senyawa fenolik juga berkontribusi terhadap warna dan atribut sensorik yang khas pada berbagai jenis sayuran dan buah-buahan (Vuolo dkk., 2019). Fenol dengan berat molekul rendah cenderung

bersifat volatil dan memiliki aroma tertentu. Dari segi visual, senyawa fenolik menampilkan rentang warna yang luas, mulai dari putih, kuning, hingga merah, biru, dan ungu (Cheynier dkk., 2013).

2.4.2 Struktur

Secara struktural, senyawa fenolik dicirikan oleh adanya cincin aromatik yang terikat dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa-senyawa ini memiliki rentang kompleksitas yang luas, dari molekul fenol sederhana hingga polimer besar. Di alam, sebagian besar senyawa fenolik ditemukan dalam bentuk terkonjugasi, terikat dengan mono- atau polisakarida melalui gugus fenolnya, atau berasosiasi dalam bentuk ester dan metil ester (Del Rio dkk., 2013). Keragaman struktural yang sangat tinggi ini menghasilkan ribuan varian senyawa fenolik di alam, dengan sekitar 8.000 struktur berbeda yang telah berhasil diidentifikasi hingga saat ini (Vuolo dkk., 2019).

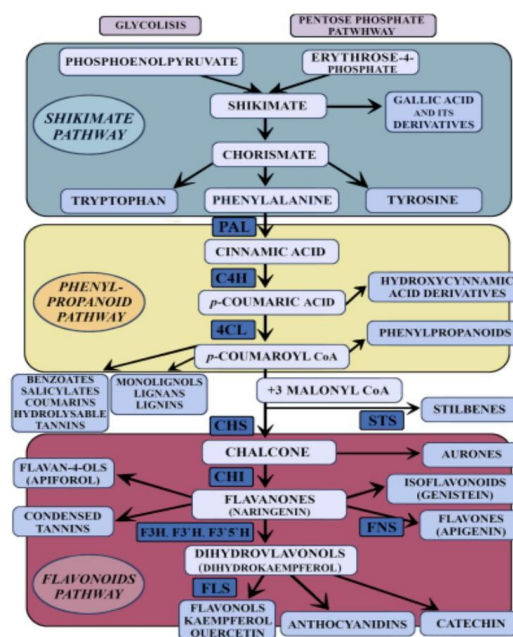


Gambar 4 Struktur Senyawa Fenolik (Kolton, dkk., 2022)

2.4.3 Biosintesis

Jalur biosintesis senyawa fenolik bersumber dari metabolisme primer, yakni glikolisis, pembentukan asetil-KoA, dan jalur pentosa fosfat. Fosfoenolpiruvat (hasil glikolisis) dan eritrosa-4-fosfat (dari jalur pentosa fosfat) dikonversi menjadi asam sikimat melalui jalur sikimat. Jalur ini kemudian menghasilkan asam amino aromatik, termasuk L-

fenilalanin, yang menjadi titik awal jalur fenilpropanoid. Dari sini, terbentuk *p-coumaroyl-CoA* yang berperan sebagai prekursor untuk senyawa fenilpropanoid dan monolignol. Melalui kondensasi dengan tiga molekul asam malonat, senyawa ini dapat membentuk senyawa fenolik yang lebih kompleks seperti stilben atau flavonoid. Selain itu, senyawa dari jalur lain (misalnya jalur mevalonat) juga dapat terlibat dalam sintesis beberapa jenis fenolat (Koltun dkk., 2022).



Gambar 5 Skema Biosintesis Senyawa Fenolik pada Tumbuhan (Koltun dkk., 2022)

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

2.5.1 Pengertian

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis organisme sebagai mekanisme pertahanan dalam menghadapi tekanan lingkungan ekstrem atau ancaman predator. Berbeda dengan metabolit primer, senyawa ini tidak terlibat langsung dalam proses pertumbuhan, melainkan dibentuk dari prekursor metabolit primer ketika organisme berada dalam kondisi stres (Bhat dkk., 2009).

2.5.2 Macam-macam

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder terbesar yang umum ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Ciri khas senyawa ini adalah adanya satu atau dua atom nitrogen dalam struktur dasarnya (Harborne, 1987; Bhat dkk., 2009). Meskipun sering kali bersifat toksik bagi manusia, alkaloid menonjol karena memiliki efek fisiologis yang kuat, sehingga banyak dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Harborne, 1987). Secara struktural, pembentukan alkaloid didasarkan pada prinsip *mixed origin* dan dapat dianalisis melalui tiga komponen penyusunnya, yaitu unsur yang mengandung N, kerangka karbon tanpa nitrogen dan reaksi spesifik yang mengikat berbagai unsur tersebut menjadi molekul alkaloid (Sirait, 2007).

Fungsi pasti alkaloid dalam tumbuhan masih belum sepenuhnya dipahami, namun diduga senyawa ini berperan sebagai pengatur tumbuh (*growth regulator*) serta berfungsi untuk menarik atau mengusir serangga (Harborne, 1987). Secara fisik, sebagian besar alkaloid tidak berwarna, berbentuk kristal (kecuali beberapa seperti nikotin yang cair pada suhu kamar), dan sering kali bersifat optis aktif (Harborne, 1987). Mengingat sifat dasarnya, alkaloid biasanya diekstraksi menggunakan pelarut yang mengandung asam. Prinsip ini juga diterapkan dalam uji identifikasi, dimana penambahan asam seperti HCl, digunakan untuk mendeteksi keberadaannya.

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang tersebar luas di berbagai jenis tumbuhan. Struktur dasarnya terdiri dari pola C₆-C₃-C₆, dan dalam tumbuhan umumnya ditemukan dalam bentuk glikosida, yaitu dengan satu atau lebih gula yang terikat pada gugus hidroksil fenoliknya (Sirait, 2007; Bhat dkk., 2009). Sebagai metabolit sekunder, flavonoid disintesis dari asam

piruvat melalui jalur metabolisme asam amino (Bhat dkk., 2009). Senyawa ini termasuk golongan fenol, sehingga menunjukkan perubahan warna ketika bereaksi dengan basa atau amonia. Berdasarkan strukturnya, flavonoid dapat diklasifikasikan ke dalam sekitar sepuluh jenis utama, seperti antosianin, flavonol, flavanon, khalkon, auron, isoflavon, proantosianidin, flavon, glikoflavon, dan biflavonil (Harborne, 1987).

Pada manusia, flavonoid dalam dosis rendah dapat berperan sebagai stimulan jantung dan pembuluh kapiler, diuretik, serta antioksidan bagi lemak (Sirait, 2007). Aglikon flavonoid bersifat polifenolik dan agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid umumnya bersifat polar karena memiliki banyak gugus hidroksil bebas atau terikat gula. Kelarutannya bervariasi sesuai struktur: flavonoid glikosida lebih mudah larut dalam air atau pelarut polar campur air, sementara aglikon yang kurang polar (seperti isoflavon, flavanon, dan flavonol termetoksilasi) cenderung larut dalam pelarut organik seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

3. Saponin

Saponin merupakan glikosida dari triterpena atau sterol yang telah ditemukan dalam lebih dari 90 genus tumbuhan. Strukturnya terdiri dari gabungan antara bagian gula (glikon) dan bagian non-gula (aglikon atau sapogenin). Banyak saponin yang memiliki rantai gula hingga lima satuan, dengan asam glukuronat sebagai komponen gula yang umum. Keberadaan saponin dalam tumbuhan dapat dideteksi melalui pembentukan busa yang stabil ketika ekstrak tanaman dikocok atau dipekatkan (Harborne, 1987). Dalam uji kualitatif, penambahan air panas bertujuan untuk membentuk busa. Jika busa terbentuk, kemudian ditambahkan asam klorida (HCl). Busa yang tetap bertahan setelah penambahan asam menunjukkan hasil positif untuk saponin. Hal ini disebabkan sifat

asam atau netral saponin; penambahan HCl akan membentuk garam asam yang stabil sehingga busa tidak mudah hilang.

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan, memiliki rasa pahit dan kelat (*astringent*). Ciri utamanya adalah kemampuan untuk mengendapkan protein dan membentuk kompleks dengan berbagai senyawa organik lain seperti asam amino dan alkaloid. Secara struktur, tanin tersusun atas molekul polifenol berukuran besar yang dilengkapi dengan banyak gugus hidroksil serta gugus fungsional lainnya. Gugus-gugus inilah yang memungkinkan pembentukan ikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul lainnya (Harborne, 1987).

2.6 Antioksidan

2.6.1 Pengertian

Antioksidan adalah senyawa yang berperan melindungi tubuh dari efek merusak oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Senyawa seperti fenolik, flavonoid, dan betakaroten diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Purwaningsih dkk., 2018). Mekanisme kerjanya melibatkan pendonoran elektron untuk menetralkan senyawa oksidan, sehingga menghambat aktivitasnya dan mengurangi stres oksidatif dalam tubuh (Anbudhasan dkk., 2014). Dengan kemampuan mendetoksifikasi organisme dan mengikat radikal bebas, antioksidan diperlukan dalam kadar tertentu untuk memperlambat atau mencegah kerusakan sel akibat proses oksidasi (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Food and Drug Administration (FDA) mendefinisikan antioksidan sebagai zat yang berfungsi sebagai pengawet makanan. Zat ini bekerja dengan memperlambat kerusakan, mencegah ketengikan, serta menghambat perubahan warna yang diakibatkan oleh reaksi oksidasi (Shalaby, 2019). Dengan demikian, kehadiran antioksidan dalam produk pangan sangat penting untuk mempertahankan kualitas dengan menghalangi penurunan mutu akibat oksidasi (Shahidi, 2015). Selain

dalam industri pangan, antioksidan juga memiliki peran krusial di bidang farmasi, nutraseutikal, dan pertanian (Flieger, Flieger, & Baj, 2021).

Aktivitas suatu antioksidan dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti suhu, konsentrasi antioksidan itu sendiri, tekanan oksigen, kadar lipid, serta komponen kimia lain dalam makanan (misalnya protein dan air). Proses penghambatan oksidasi sangat bergantung pada struktur kimia antioksidan dan variasi mekanisme kerjanya. Secara ideal, hasil reaksi antara antioksidan dan radikal bebas adalah senyawa yang stabil atau produk tidak aktif. Oksidasi dimulai ketika oksigen bereaksi dengan ikatan rangkap asam lemak tak jenuh, menghasilkan radikal bebas. Radikal ini kemudian membentuk peroksida aktif setelah berikatan dengan oksigen. Tanpa kehadiran antioksidan, peroksida aktif akan terus merusak ikatan rangkap lemak lainnya. Sebaliknya, jika terdapat antioksidan, peroksida aktif akan bereaksi dengannya sehingga rantai reaksi radikal bebas terputus (Sayuti dan Yenrina, 2015).

2.6.2 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan dapat dikategorikan ke dalam dua kelompok utama berdasarkan asalnya:

1. Antioksidan Alami

Kelompok ini mencakup berbagai vitamin (seperti retinol/Vitamin A, riboflavin/B2, asam askorbat/C, dan alfa tokoferol asetat/E), mineral (tembaga, seng, selenium), karotenoid, serta protein tertentu seperti gliadin dan ovalbumin (Sayuti & Yenrina, 2015).

2. Antioksidan Sintetik

Merupakan senyawa yang diproduksi secara kimia, di antaranya *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tertiary butylhydroquinone* (TBHQ), dan ester asam galat seperti *propyl gallate* (PG) yang penggunaannya biasanya dibatasi hingga 0,02% dari kandungan lemak/minyak (Irianti dkk., 2017).

Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis utama (Sayuti & Yenrina, 2015):

1. Antioksidan Primer (Pemutus Rantai)

Berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai oksidasi (*chain-breaking antioxidants*). Contohnya meliputi enzim-enzim seperti *Glutation Peroksidase* (GPx), Superoksida Dismutase (SOD), katalase, serta protein pengikat logam.

2. Antioksidan Sekunder (Pencegah Inisiasi)

Bekerja dengan cara menangkap radikal bebas dan mengikat logam pro-oksidan untuk mencegah inisiasi reaksi berantai. Golongan ini mencakup senyawa seperti vitamin C (asam askorbat), vitamin E (alfa tokoferol asetat), β -karoten, bilirubin, isoflavon, dan albumin.

3. Antioksidan Tersier (Reparatif)

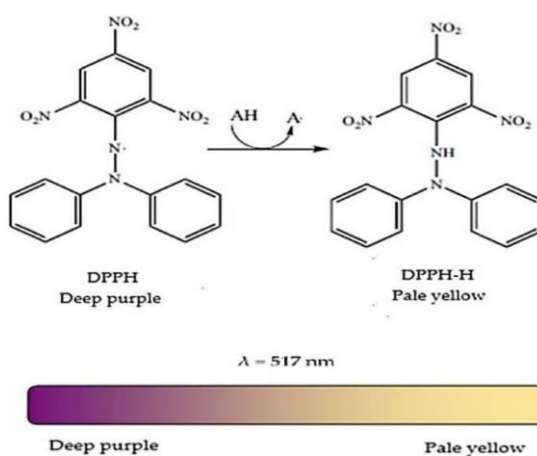
Tidak mencegah kerusakan, tetapi memperbaiki biomolekul yang telah rusak akibat radikal bebas. Contohnya adalah enzim perbaikan seperti metionin sulfida reduktase dan enzim-enzim yang memperbaiki DNA.

2.6.3 Uji Antioksidan

Berdasarkan mekanisme reaksi kimianya, metode analisis aktivitas antioksidan dikelompokkan ke dalam dua kategori utama, yaitu *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) dan *Single Electron Transfer* (SET). Uji HAT mengevaluasi kemampuan suatu senyawa dalam menetralkan radikal bebas melalui pendonoran atom hidrogen. Sementara itu, uji SET mengukur kemampuan antioksidan untuk mentransfer satu elektron guna mereduksi berbagai spesies, seperti ion logam, senyawa karbonil, atau radikal bebas itu sendiri. Reaktivitas dalam metode SET sangat bergantung pada kecenderungan senyawa untuk mengalami deprotonasi dan ionisasi pada gugus fungsionalnya (Munteanu & Apetrei, 2021). Dalam penelitian ini, metode yang digunakan adalah uji DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

Metode DPPH bekerja berdasarkan prinsip transfer elektron (SET), di mana antioksidan meredam radikal bebas DPPH dengan mendonasikan elektron. Reaksi ini ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning, yang dapat diukur secara kuantitatif berdasarkan penurunan serapan (absorbansi) pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan umumnya dinyatakan sebagai nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi antioksidan yang dibutuhkan untuk menghambat atau mereduksi 50% dari radikal DPPH awal.

Uji DPPH dikenal sebagai metode yang sederhana karena hanya memerlukan spektrofotometer UV-Vis atau *Electron Paramagnetic Resonance* (EPR). Metode ini banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan. Beberapa keunggulan utamanya antara lain biaya yang rendah, kemudahan pelaksanaan, dapat dilakukan pada suhu kamar, memiliki reproduktibilitas yang baik, serta potensi untuk diotomatisasi (Munteanu & Apetrei, 2021).



Gambar 6 Mekanisme Netralisasi DPPH (Munteanu dan Apetrei, 2021)

2.7 Radikal Bebas

2.7.1 Pengertian

Radikal bebas merupakan senyawa oksidan reaktif yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga cenderung menarik atau menerima elektron dari senyawa lain. Dalam jumlah terkendali, senyawa ini diperlukan oleh tubuh untuk mendukung fungsi fisiologis

seperti pertahanan terhadap bakteri, respons peradangan, dan pengaturan tonus otot polos. Namun, keberadaannya yang berlebih justru bersifat merusak dan berbahaya (Sayuti & Yenrina, 2015). Sebagai senyawa asing, radikal bebas dapat melemahkan sistem imun dengan menyerang komponen sel rentan seperti protein dan lipid, sehingga berpotensi memicu beragam penyakit degeneratif (Purwaningsih dkk., 2018). Ketidakstabilan elektronnya membuatnya sangat reaktif, jika masuk ke dalam tubuh dan tidak dinetralkan oleh antioksidan yang cukup, radikal bebas akan terus berupaya berikatan dengan senyawa di sekitarnya untuk mencapai kestabilan, yang pada akhirnya mengakibatkan kerusakan sel dan timbulnya penyakit (Pratama & Busman, 2020).

2.7.2 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas dapat berasal dari sumber endogen dan eksogen. Secara endogen, senyawa ini terbentuk sebagai produk sampingan alami dari berbagai proses biokimia dalam tubuh, seperti metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak di mitokondria, reaksi inflamasi, aktivitas enzim (misalnya xantin oksidase), fagositosis, atau kondisi iskemia (Sayuti & Yenrina, 2015). Secara eksogen, radikal bebas masuk ke tubuh dari lingkungan luar melalui saluran pernapasan (inhalasi), makanan (ingesti), injeksi, atau penyerapan kulit, seperti dari polusi udara, pestisida, radiasi, atau asap rokok (Sayuti & Yenrina, 2015; Irianti dkk., 2017).

Dampak kesehatan dari radikal bebas sangat beragam. Sumber endogen mencakup proses seperti oksidasi enzimatis, autooksidasi, dan *respiratory burst*. Sementara sumber eksogen meliputi radiasi UV, sinar-X, polutan industri, asap kendaraan, obat-obatan tertentu, dan aktivitas fisik berlebihan. Secara keseluruhan, terdapat sekitar sepuluh jenis sumber radikal bebas yang signifikan dan berpotensi merusak kesehatan, bahkan hingga menyebabkan kematian sel, seperti dari

radiasi, polusi udara, pestisida, asap rokok, serta berbagai proses endogen dan eksogen lainnya (Irianti dkk., 2017).

Berdasarkan Sayuti dan Yenrina (2015), lebih dari 90% radikal bebas oksigen dihasilkan melalui beberapa proses metabolik berikut:

1. Rantai transpor elektron, proses oksidasi untuk menghasilkan energi dari makanan turut menghasilkan radikal bebas anion superoksida sebagai produk samping.
2. Aktivitas sel darah putih, sel darah putih secara khusus memproduksi radikal bebas sebagai mekanisme pertahanan untuk menghancurkan patogen.
3. Efek oksidatif obat-obatan, beberapa jenis obat dapat memicu pembentukan radikal bebas karena memiliki efek oksidatif pada sel.
4. Jalur metabolisme xantin, oksidasi xantin dalam kaskade perubahan hipoxantin menjadi asam urat menghasilkan hidrogen peroksida.
5. Reaksi yang melibatkan logam, reaksi kimia dalam tubuh yang melibatkan besi dan logam transisi lain dapat membangkitkan radikal bebas.
6. Aktivitas fisik intens, olahraga berat yang meningkatkan konsumsi oksigen juga meningkatkan pembentukan radikal bebas dari oksigen yang tersedia.

2.7.3 Efek Radikal Bebas

Radikal bebas dapat berasal dari sumber endogen dan eksogen. Secara endogen, senyawa ini terbentuk sebagai produk sampingan alami dari berbagai proses biokimia dalam tubuh, seperti metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak di mitokondria, reaksi inflamasi, aktivitas enzim (misalnya xantin oksidase), fagositosis, atau kondisi iskemia (Sayuti & Yenrina, 2015). Secara eksogen, radikal bebas masuk ke

tubuh dari lingkungan luar melalui saluran pernapasan (inhalasi), makanan (ingesti), injeksi, atau penyerapan kulit, seperti dari polusi udara, pestisida, radiasi, atau asap rokok (Sayuti & Yenrina, 2015; Irianti dkk., 2017).

Dampak kesehatan dari radikal bebas sangat beragam. Sumber endogen mencakup proses seperti oksidasi enzimatik, autooksidasi, dan *respiratory burst*. Sementara sumber eksogen meliputi radiasi UV, sinar-X, polutan industri, asap kendaraan, obat-obatan tertentu, dan aktivitas fisik berlebihan. Secara keseluruhan, terdapat sekitar sepuluh jenis sumber radikal bebas yang signifikan dan berpotensi merusak kesehatan, bahkan hingga menyebabkan kematian sel, seperti dari radiasi, polusi udara, pestisida, asap rokok, serta berbagai proses endogen dan eksogen lainnya (Irianti dkk., 2017).

Berdasarkan Sayuti dan Yenrina (2015), lebih dari 90% radikal bebas oksigen dihasilkan melalui beberapa proses metabolik berikut:

1. Rantai transpor electron, proses oksidasi untuk menghasilkan energi dari makanan turut menghasilkan radikal bebas anion superoksida sebagai produk samping.
2. Aktivitas sel darah putih, sel darah putih secara khusus memproduksi radikal bebas sebagai mekanisme pertahanan untuk menghancurkan patogen.
3. Efek oksidatif obat-obatan, beberapa jenis obat dapat memicu pembentukan radikal bebas karena memiliki efek oksidatif pada sel.
4. Jalur metabolisme xantin, oksidasi xantin dalam kaskade perubahan hipoxantin menjadi asam urat menghasilkan hidrogen peroksida.
5. Reaksi yang melibatkan logam, reaksi kimia dalam tubuh yang melibatkan besi dan logam transisi lain dapat membangkitkan radikal bebas.

6. Aktivitas fisik intens, olahraga berat yang meningkatkan konsumsi oksigen juga meningkatkan pembentukan radikal bebas dari oksigen yang tersedia.

2.8 Antibakteri

2.8.1 Pengertian

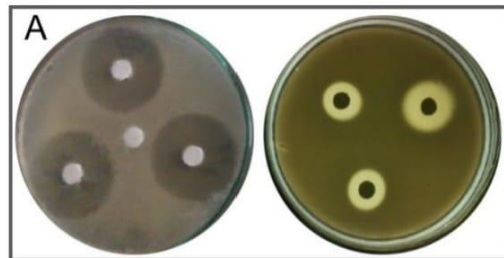
Zat antibakteri didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri. Mekanisme kerjanya beragam, mencakup toksisitas selektif, penghambatan sintesis dan fungsi membran sel, sintesis protein, serta sintesis asam nukleat (Jawetz dkk., 2019). Berdasarkan asalnya, senyawa antibakteri dapat dikelompokkan menjadi alami dan sintetik. Antibiotik merupakan contoh antibakteri sintetik yang umumnya diproduksi secara kimiawi, meskipun awalnya dihasilkan oleh organisme hidup. Dalam konsentrasi rendah, senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian mikroorganisme (Etebu & Ariekpar, 2014).

2.8.2 Metode

Metode pengujian antibakteri adalah teknik yang digunakan untuk menilai sensitivitas bakteri terhadap suatu senyawa antimikroba. Dalam penelitian ini, metode yang digunakan adalah metode difusi cakram. Metode ini banyak diterapkan untuk menguji aktivitas antimikroba dari ekstrak tumbuhan, minyak atsiri, dan berbagai sediaan obat. Prinsip kerja metode difusi cakram didasarkan pada difusi senyawa antibakteri dari kertas cakram ke media padat yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Hasil pengujian ditunjukkan ada atau tidaknya zona hambat di sekitar cakram, yang mengindikasikan terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri (Jawetz dkk., 2019).

Secara prosedural, media agar terlebih dahulu diinokulasi dengan inokulum standar mikroorganisme uji. Kertas cakram (berdiameter sekitar 6 mm) yang telah mengandung senyawa uji pada konsentrasi tertentu kemudian ditempatkan di permukaan agar. Cawan Petri selanjutnya diinkubasi pada kondisi yang sesuai, umumnya pada suhu 35°C selama 18–24 jam. Selama inkubasi, senyawa antimikroba akan

berdifusi ke dalam media dan menghambat pertumbuhan mikroba, sehingga terbentuk zona hambat yang diameternya dapat diukur (Balouiri dkk., 2016).



Gambar 7 Metode difusi agar cakram (Balouri dkk. 2016)

Dalam metode difusi cakram kertas, cakram yang telah mengandung sejumlah zat antimikroba ditempatkan pada media agar yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri uji. Adanya penghambatan pertumbuhan organisme uji dapat diamati dari terbentuknya zona bening (zona hambat) di sekeliling cakram tersebut (Soleha, 2015).

2.9 Ekstraksi

2.9.1 Pengertian

Ekstraksi merupakan metode standar untuk memisahkan senyawa berkhasiat obat dari suatu tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu (Azwanida, 2015). Secara definisi, proses ini melibatkan perlakuan bahan tumbuhan dengan suatu pelarut di mana konstituen aktif akan larut, sedangkan sebagian besar bahan inert (tidak aktif) tetap tidak larut (Swamy & Akhtar, 2019). Tujuan utamanya adalah untuk memisahkan metabolit tumbuhan yang larut dari residu yang tidak larut, sehingga diperoleh senyawa target yang diinginkan (Azwanida, 2015). Pelarut yang digunakan disebut *menstruum*, sementara residu padat yang tersisa setelah ekstraksi dikenal sebagai *marc* (Swamy & Akhtar, 2019).

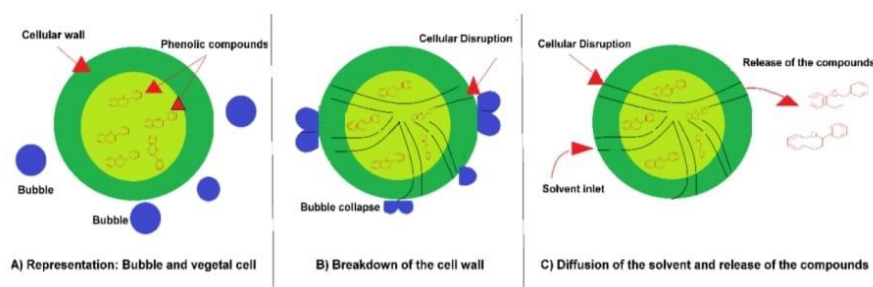
2.9.2 Metode

Proses isolasi senyawa alami dari tumbuhan dapat dilakukan melalui pendekatan konvensional dan modern. Metode konvensional mencakup teknik seperti maserasi, sokletasi, perkolasi, infus, rebusan, digesti, dan ekstraksi berurutan (*serial exhaustive extraction*). Sementara itu, teknik modern meliputi ekstraksi dengan karbon dioksida superkritis (*Supercritical CO₂ Extraction*), ekstraksi berbantuan gelombang mikro (*Microwave-Assisted Extraction*), ekstraksi berbantuan ultrasonik (*Ultrasound-Assisted Extraction*), ekstraksi berbantuan enzim (*Enzyme-Assisted Extraction*), dan ekstraksi fluida bertekanan (*Pressurized Fluid Extraction*) (Alara dkk., 2021). Dalam penelitian ini, metode yang digunakan adalah *Ultrasound-Assisted Extraction*.

Ultrasound-Assisted Extraction atau sonikasi merupakan teknik ekstraksi modern yang memanfaatkan gelombang ultrasonik berenergi tinggi untuk mengekstrak senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan waktu yang lebih singkat dibandingkan metode konvensional (Julianto, 2018). Sampel bahan tumbuhan yang digunakan harus dalam keadaan kering, berbentuk serbuk halus, dan telah disaring secara tepat. Serbuk ini kemudian dicampur dengan pelarut yang sesuai dan ditempatkan dalam perangkat ultrasonik untuk proses ekstraksi (Abubakar & Mainul, 2020).

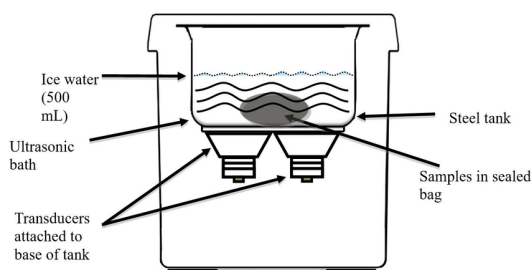
Secara prinsip, *Ultrasound-Assisted Extraction* memanfaatkan fenomena fisika-kimia yang unik, terutama melalui mekanisme kavitasi akustik. Gelombang ultrasonik dengan frekuensi di atas 20 kHz menghasilkan gelembung mikro (*cavitation bubbles*) yang tumbuh dan kemudian runtuh di dalam larutan. Runtuhnya gelembung ini menimbulkan gangguan mekanis yang mampu merusak struktur dinding sel tumbuhan, sehingga meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks sel dan mempercepat transfer massa senyawa target ke dalam pelarut (Chemat dkk., 2017; Zhang dkk., 2018). Selain

efek kavitasi, gelombang ultrasonik juga menghasilkan efek mekanis yang mendorong agitasi mikro, mengurangi ketebalan lapisan batas difusi, dan memfasilitasi difusi pelarut yang lebih efisien melintasi membran sel (Syahrir dkk., 2020). Kombinasi efek fisika ini menjadikan *Ultrasound-Assisted Extraction* sebagai metode yang lebih efisien, cepat, dan seringkali lebih ramah lingkungan dibandingkan teknik ekstraksi konvensional.



Gambar 8 Gelembung Kavitasi Terhadap Tanaman (Torres dkk., 2017).

Berdasarkan jenis transduser yang digunakan sebagai sumber energi ultrasonik, *Ultrasonic Assisted Extraction* dapat dikelompokkan menjadi dua kategori utama yaitu, *Ultrasonic Bath* dan *Probe Type Ultrasound*. Transduser piezoelektrik merupakan tipe yang paling umum digunakan dalam reaktor ultrasonik. *Ultrasonic Bath*, yang lebih banyak digunakan, terdiri dari sebuah tangki berbahan stainless steel yang dilengkapi dengan satu atau lebih transduser ultrasonik. Perangkat ini umumnya beroperasi pada frekuensi sekitar 40 kHz dan dilengkapi dengan pengaturan suhu (Chemat dkk., 2017).



Gambar 9 *Ultrasonic Assisted Extraction* (Carillo L dkk., 2018)

Keunggulan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* meliputi:

1. Efisiensi dalam menghasilkan ekstrak yang relatif bersih dengan residu pelarut minimal, serta dapat diaplikasikan pada sampel berukuran kecil.
2. Menghemat waktu proses dan volume pelarut yang digunakan.
3. Cocok untuk mengekstraksi senyawa yang sensitif terhadap panas (*termolabil*) (Abubakar & Mainul, 2020).

Di sisi lain, metode ini memiliki beberapa kelemahan:

1. Aplikasi energi ultrasonik yang berlebihan berpotensi menurunkan kandungan fitokimia karena dapat menghasilkan radikal bebas.
2. Memerlukan tahap penyaringan setelah proses ekstraksi (Syahrir dkk., 2020).

Parameter yang mempengaruhi efisiensi *Ultrasound-Assisted Extraction* adalah sebagai berikut:

1. Waktu ekstraksi, Durasi ekstraksi berdampak signifikan terhadap rendemen. Peningkatan waktu umumnya meningkatkan hasil ekstraksi karena gelombang ultrasonik memiliki lebih banyak waktu untuk merusak dinding sel. Namun, setelah mencapai titik kesetimbangan, hasil akan cenderung konstan atau bahkan menurun. Waktu yang terlalu panjang berisiko menyebabkan dekomposisi senyawa target dan kehilangan pelarut akibat penguapan. Oleh karena itu, penentuan waktu optimal sangat krusial (Syahrir dkk., 2020).
2. Suhu ekstraksi, Suhu memengaruhi laju ekstraksi. Suhu yang lebih tinggi dapat meningkatkan intensitas pecahnya gelembung kavitasi (*cavitation bubble collapse*) dan mendorong penetrasi pelarut ke dalam sel, sehingga mempercepat pelepasan senyawa. Namun, suhu yang terlalu tinggi justru berpotensi menurunkan kandungan

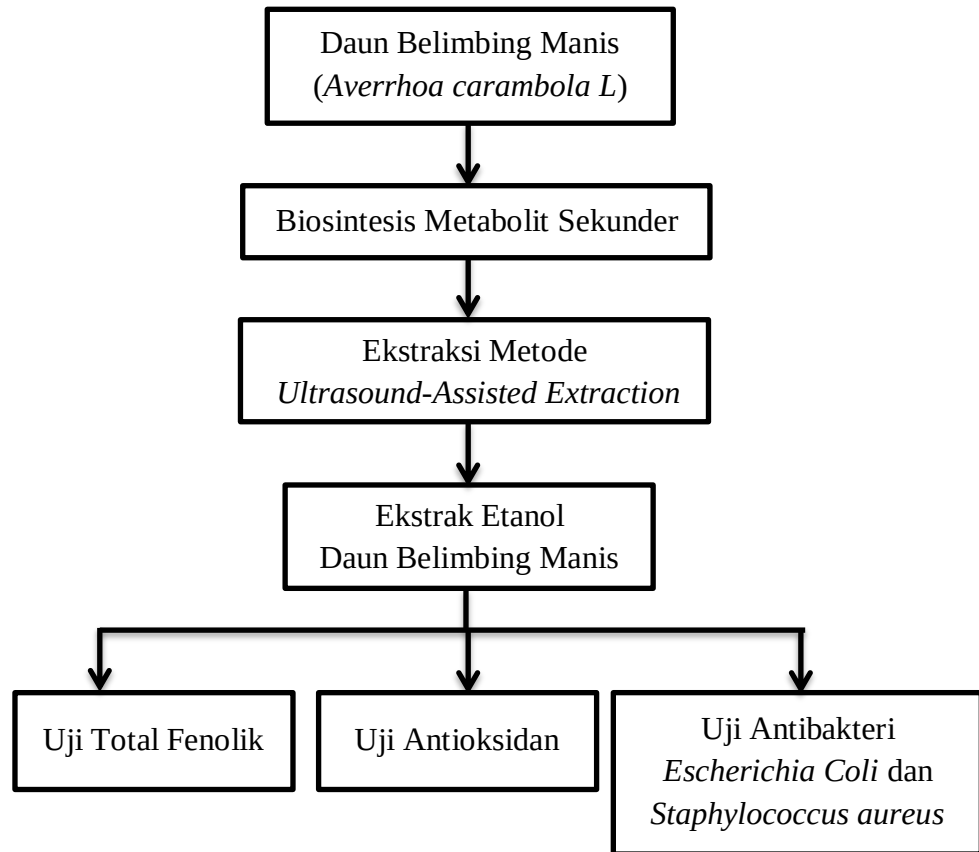
senyawa bioaktif. Suhu optimal yang disarankan biasanya berada pada rentang 30°C–50°C (Syahrir dkk., 2020).

3. Kekuatan ultrasonik, peningkatan kekuatan ultrasonik umumnya meningkatkan hasil ekstraksi. Kekuatan yang lebih besar menghasilkan gelombang yang lebih intens, sehingga menciptakan lebih banyak gelembung kavitasi yang runtuh dengan energi tinggi. Hal ini meningkatkan gangguan mekanis terhadap dinding sel dan memperluas penetrasi pelarut. Namun, efisiensi ekstraksi akan menurun jika kekuatan yang diterapkan melebihi titik optimal (Syahrir dkk., 2020).

2.10 Kerangka Penelitian

2.10.1 Kerangka Teori

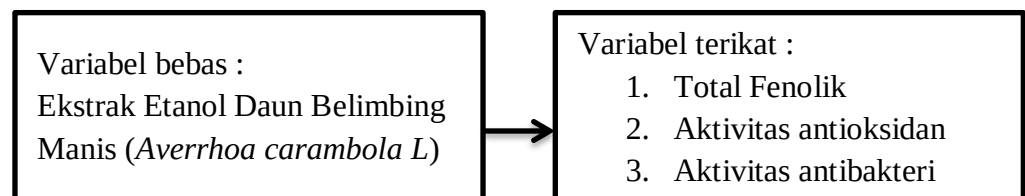
Adapun kerangka teori pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 10 Kerangka Teori Penelitian

2.10.2 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 11 Kerangka Konsep Penelitian

2.11 Hipotesis

2.11.1 Hipotesis Null (H₀)

1. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) tidak mengandung senyawa fenolik.
2. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) tidak memiliki aktivitas antioksidan.
3. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) tidak memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.
4. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) tidak memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

2.11.2 Hipotesis Alternatif (H_a)

1. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) mengandung senyawa fenolik.
2. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) memiliki aktivitas antioksidan.
3. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.
4. Ekstrak Etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan dengan mengekstraksi daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction*. Kemudian, dilanjutkan dengan pengukuran total fenolik, uji antioksidan, dan uji aktivitas antibakteri. Pengukuran total fenolik menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* untuk menghitung kadar senyawa fenolik pada ekstrak daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L), uji antioksidan dengan metode DPPH, dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk tahapan determinasi tanaman. Laboratorium Kimia Farmasi Analisa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk membuat ekstrak daun belimbing manis, Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Polinela untuk melakukan uji fitokimia, menghitung kadar total fenolik, uji antioksidan dan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing manis terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2024 – Februari 2025.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L*) dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*. Ekstrak etanol daun belimbing manis tersebut akan diuji dengan 3 jenis pengujian, yaitu uji kadar total fenolik menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, serta uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar total fenolik, aktivitas antioksidan dengan satuan IC_{50} dan aktivitas antibakteri untuk mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jas lab, masker, *handscoon*, *beaker glass*, gelas ukur, labu ukur, labu alas bulat, batang pengaduk, erlenmeyer, corong, rak dan tabung reaksi, neraca analitik, gunting, kertas saring, kertas perkamen, *aluminium foil*, plastik *wrap*, blender, pipet volume, pipet tetes, tip, mikro pipet, kapas lidi steril, jarum ose, cawan petri, *ultrasonic bath*, *rotary evaporator*, autoklaf, inkubator, *laminar air flow*, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.), etanol 96%, aquades, HCl encer, HCl pekat, H₂SO₄ pekat, pereaksi Mayer, serbuk zink, serbuk magnesium, FeCl₃ 5%, asam asetat glasial 5%, NaNO₂ 5%, kloroform, asam galat, reagen *Folin-Ciocalteu*, Na₂CO₃ 7,5%, media NA (Nutrient Agar), NaCl 0,9%, BaCl₂ 1%, larutan standar 0,5 Mc Farland, biakan bakteri *Escherichia coli*, dan biakan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.). Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.5.2 Preparasi Sampel

Daun belimbing manis yang digunakan sebagai sampel berasal dari Desa Yukum Jaya, Kecamatan Terbanggi Besar, Lampung Tengah. Proses preparasi diawali dengan pencucian daun di bawah air mengalir untuk membersihkan kotoran. Pengeringan dilakukan dengan menjemurnya di bawah matahari sambil ditutup kain hitam sampai mencapai tingkat kekeringan tertentu, yaitu ketika daun mudah dipatahkan (Luliana, Purwanti & Manihuruk, 2016). Daun kering tersebut kemudian digiling hingga menjadi serbuk dan disimpan dalam kondisi kering dan sejuk (Hossain dkk., 2017).

3.5.3 Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi dilakukan dengan mengacu pada Hasanah (2022) yang telah dimodifikasi. Langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

1. Pelarutan, 20 gram sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 200 ml pelarut dan ditutup dengan alumunium foil.
2. Ekstraksi Ultrasonik, erlenmeyer diproses dalam *Ultrasonic Cleaning Bath* dengan kondisi 40 kHz, suhu 40°C, selama 20 menit. Proses ini diulang hingga seluruh sampel terekstrak.
3. Penyaringan, hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtrat.
4. Penguapan dan pemekatan, filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan kecepatan 175 rpm hingga diperoleh ekstrak kental.
5. Penimbangan dan perhitungan, ekstrak kental ditimbang dan rendemennya dihitung.

Metode perhitungan rendemen yang digunakan yaitu (Aristyanti dkk., 2017) :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk sampel}} \times 100\%$$

3.5.4 Uji Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan 1 mL pereaksi Mayer (kalium merkuri iodida) dalam tabung reaksi, lalu dikocok. Terbentuknya endapan atau kekeruhan putih menandakan hasil positif untuk alkaloid (Abubakar & Mainul, 2020).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak direaksikan dengan 0,5 gram serbuk magnesium dan 1 mL HCl pekat dalam tabung reaksi. Perubahan warna menjadi merah menunjukkan keberadaan flavonoid (Abubakar & Mainul, 2020).

3. Uji Saponin

Ke dalam 1 mL ekstrak ditambahkan 1 mL aquades, lalu dikocok kuat. Pembentukan lapisan busa yang stabil mengindikasikan adanya senyawa saponin (Abubakar & Mainul, 2020).

4. Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditetesi dengan 3 tetes FeCl_3 10%, kemudian dikocok. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi biru kehitaman (Abubakar & Mainul, 2020).

3.5.5 Pengukuran Total Fenolik

Uji ini bertujuan untuk menentukan kandungan total fenolik dalam ekstrak daun belimbing manis dengan metode *Folin-Ciocalteu*, yang diadaptasi dari prosedur Rahman dkk. (2021) dengan beberapa modifikasi.

A. Preparasi Reagen

1. Larutan Stok Asam Galat (100 ppm): Sebanyak 10 mg asam galat dilarutkan dalam 0,5 mL metanol *pro analysis*, kemudian diencerkan dengan aquades hingga volume tepat 100 mL.
2. Larutan Na_2CO_3 7,5%: Sebanyak 7,5 g Na_2CO_3 dilarutkan dalam 80 mL aquades sambil dipanaskan hingga mendidih. Setelah larut sempurna, larutan didiamkan selama 24 jam, disaring, dan diencerkan dengan aquades hingga volume 100 mL.

B. Analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})
Sebanyak 300 μL larutan asam galat dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,5 mL pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan 2 mL Na_2CO_3 7,5%. Campuran ditambah 5

mL aquades, diinkubasi pada suhu ruang selama 60 menit, lalu diencerkan sampai tanda batas dan dihomogenkan. Absorbansi diukur pada 600-800 nm dengan interval 0,5 nm.

2. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat
Larutan standar asam galat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 mg/mL disiapkan. Sebanyak 300 μ L masing-masing larutan standar direaksikan dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu* dan Na_2CO_3 7,5% mengikuti prosedur di atas. Absorbansi diukur pada λ_{max} , kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi standar dengan absorbansi.
3. Penetapan Kadar Total Fenolik dalam Sampel
Sebanyak 0,0710 g ekstrak dilarutkan dalam metanol 80% hingga volume 25 mL. Sebanyak 100 μ L larutan sampel ini kemudian direaksikan dan diproses dengan cara yang sama seperti pembuatan kurva baku. Absorbansi diukur pada λ_{max} , dan kadar total fenolik dihitung berdasarkan persamaan kurva baku. Pengukuran dilakukan dalam tiga replikasi (Rahman dkk., 2021).

3.5.6 Uji Aktivitas Antioksidan

1. Preparasi Larutan DPPH

Larutan DPPH 40 mg/mL disiapkan dengan melarutkan 4 mg (0,004 gram) serbuk DPPH ke dalam 100 mL etanol 70%, kemudian dihomogenkan hingga larut sempurna.

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 40 ppm diencerkan dengan 5 mL etanol 70% dan diinkubasi di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-600 nm untuk menentukan λ_{maks} (Prasetyo dkk., 2021).

3. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji terhadap ekstrak etanol daun belimbing manis dan kontrol positif vitamin C. Seri konsentrasi ekstrak (20, 40, 60, 80, dan 100 mg/mL) dan vitamin C (5, 10, 15, 20, dan 25 mg/mL) disiapkan. Sebanyak 1 mL dari setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi berlapis alumunium foil, ditambahkan 2 mL larutan DPPH 40 mg/mL, lalu dikocok dan diinkubasi dalam gelap selama 30 menit. Absorbansi akhir diukur pada λ_{maks} yang telah ditetapkan (Nurhasnawati dkk., 2017).

4. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dinyatakan oleh satuan persen inhibisi dengan persamaan berikut.

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

Absorbansi kontrol merupakan absorbansi DPPH 40 mg/mL (Nurhasnawati dkk., 2017).

Berdasarkan nilai persen inhibisi yang diperoleh, dibuat kurva regresi linier dengan persamaan $y = bx + a$ (di mana y = % inhibisi dan x = konsentrasi ekstrak). Nilai IC_{50} , yang didefinisikan sebagai konsentrasi efektif untuk meredam 50% radikal DPPH, kemudian ditentukan dengan mensubstitusikan $y = 50$ ke dalam persamaan regresi tersebut. Hasil substitusi akan menghasilkan nilai x yang merupakan nilai IC_{50} (Trisianti dkk., 2016).

Tingkat kekuatan antioksidan diklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} . Terdapat hubungan berbanding terbalik antara persen inhibisi dan nilai IC_{50} ; semakin rendah nilai IC_{50} , semakin

tinggi aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh sampel (Filbert dkk., 2014).

Tabel 1 Klasifikasi Kekuatan Antioksidan (Badarinath, 2010)

Nilai IC ₅₀	Intensitas antioksidan
< 50 µg/mL	Sangat kuat
50 – 100 µg/mL	Kuat
100 – 250 µg/mL	Sedang
250 – 500 µg/mL	Lemah

3.5.7 Uji Aktivitas Antibakteri

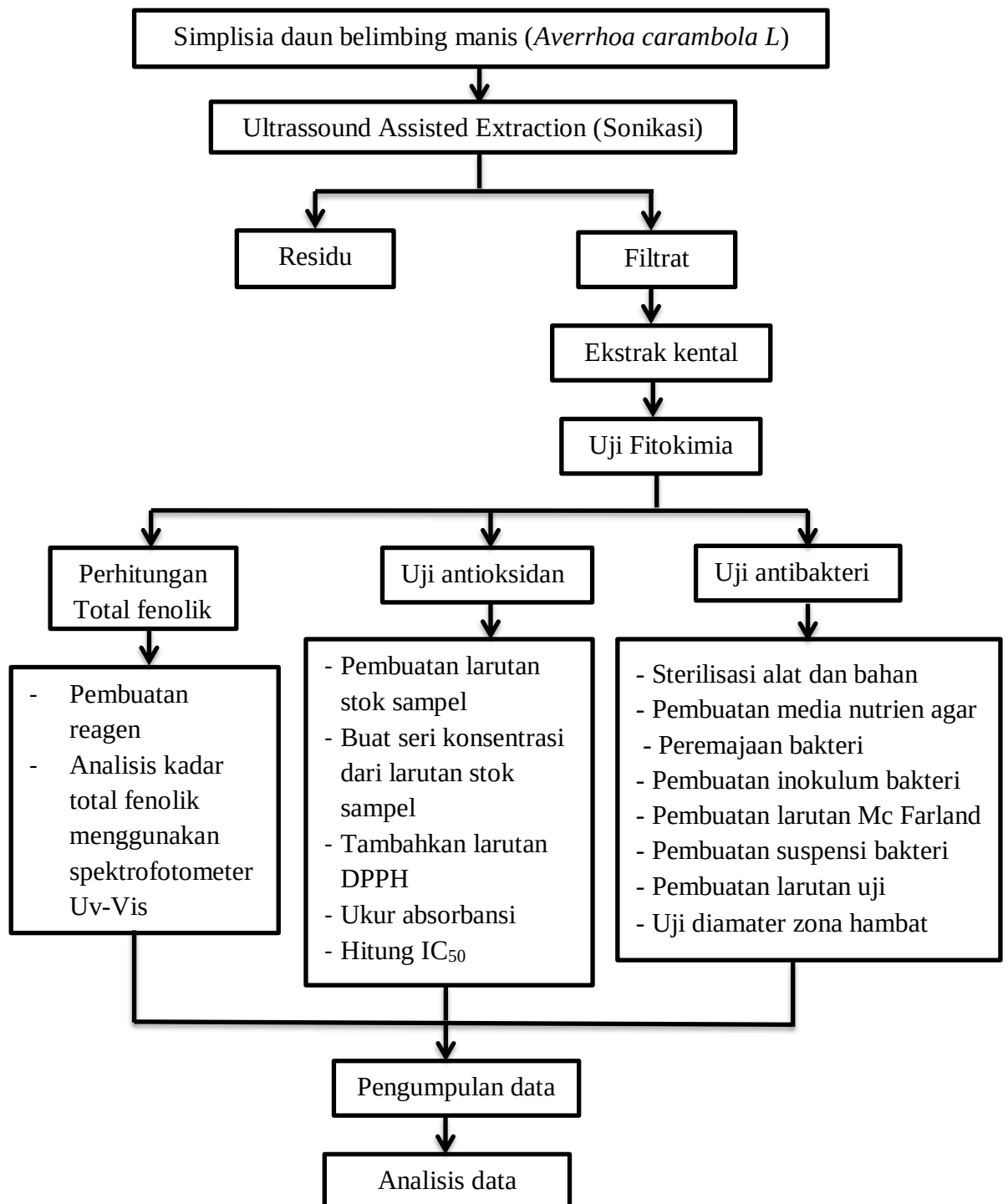
1. Persiapan Inokulum Bakteri:
 - a. Ambil satu koloni, suspensikan dalam larutan NaCl fisiologis.
 - b. Atur kekeruhan sesuai standar McFarland 0,5 ($\approx 1,5 \times 10^8$ CFU/mL).
2. Inokulasi pada Media Agar:
 - a. Celupkan kapas swab steril ke dalam suspensi, peras kelebihan cairan.
 - b. Oleskan merata pada permukaan MHA dalam cawan petri dengan pola 3 arah (putar 60°).
3. Penempatan Cakram:
 - a. Letakkan cakram antibakteri di atas agar yang telah diinokulasi.
 - b. Tekan perlahan dengan penjepit steril.
 - c. Jarak antar cakram minimal 24 mm.
4. Inkubasi:
 - a. Inkubasi cawan dalam posisi terbalik pada suhu 37°C selama 16-24 jam.
5. Pengamatan dan Pengukuran:
 - a. Setelah inkubasi, amati terbentuknya zona hambat (area bening) di sekitar cakram.
 - b. Ukur diameter zona hambat dengan penggaris (dalam mm).

- c. Zona hambat menunjukkan kemampuan senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Labtepa Polinela).

Tabel 2 Klasifikasi Kekuatan Antibakteri (Lestari, 2021)

Nilai zona hambat	Intensitas Antibakteri
< 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
10 – 20 mm	Kuat
20 – 30 mm	Sangat kuat

3.6 Alur Penelitian



Gambar 12 Alur Penelitian

3.7 Analisis Data

Analisis data aktivitas antioksidan pada penelitian ini akan diambil data- data untuk melakukan pengolahan sehingga data tersebut dapat dianalisa. Teknik pengolahan data dilakukan dengan membandingkan konsentrasi dengan nilai % aktivitas antioksidan masing-masing sampel dalam sebuah grafik regresi. Dan untuk analisis data uji antibakteri dilakukan secara deskriptif dengan cara melakukan pengamatan berupa pengukuran zona hambat pada daerah yang berwarna bening, yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.8 Etika Penelitian

Penelitian ini telah diajukan dan disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan No.2649/UN26.18/PP05.02.00/2024. Surat keterangan persetujuan etik ini terdapat pada Lampiran 1.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol daun belimbing manis (*Averrhoa carambola L.*), dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Ekstrak menghasilkan rendemen ekstrak kental sebesar 20% dari 60 gram serbuk simplisia awal yaitu 12 gram, yang mengindikasikan efisiensi penarikan senyawa yang baik.
2. Ekstrak mengandung beberapa golongan senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.
3. Ekstrak memiliki kandungan senyawa fenolik total yang cukup tinggi, yaitu sebesar 79,57 mg GAE/g sampel.
4. Ekstrak menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 23,66 μ g/mL.
5. Ekstrak etanol daun belimbing manis memiliki aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* rata-rata zona hambat 15,07 – 15,62 mm dan *Escherichia coli* 11,90 – 12,83 mm.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, dapat diajukan beberapa saran untuk penelitian lebih lanjut:

1. Bagi Peneliti Selanjutnya
Penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan sediaan, dapat dilakukan formulasi ekstrak ke dalam sediaan tertentu (seperti salep, gel, atau kapsul) dan menguji stabilitas serta aktivitasnya dalam sediaan tersebut.

2. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini memberikan dasar ilmiah mengenai potensi daun belimbing manis sebagai sumber antioksidan alami. Masyarakat dapat memanfaatkannya sebagai bagian dari pola hidup sehat, misalnya dengan mengonsumsi teh atau rebusan daun ini dalam batas wajar, sembari terus mengutamakan bukti medis yang telah mapan. Serta temuan aktivitas antibakteri, khususnya terhadap bakteri penyebab infeksi umum seperti *Staphylococcus aureus*, menambah khasiat tradisional tanaman ini. Masyarakat di daerah penghasil belimbing manis dapat mempertimbangkannya sebagai alternatif alami pendukung perawatan kesehatan, tanpa menggantikan pengobatan medis utama.

3. Bagi Institusi Pendidikan

Institusi pendidikan, khususnya di bidang farmasi, biologi, dan kimia, dapat menjadikan daun belimbing manis sebagai bahan kajian atau subjek praktikum dalam mata kuliah fitokimia, farmakognosi, atau mikrobiologi, mengingat kandungan dan aktivitasnya yang telah terbukti.

DAFTAR PUSTAKA

- Abtian, M. S., Riza, H., & Fajriaty, I. 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Air Daun Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.). Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN, 4(1), 9–12.
- Abubakar, A. R., & Haque, M. 2020. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Adhiksana, A. 2017. Perbandingan Metode Konvensional Ekstraksi Pektin dari Kulit Buah Pisang dengan Metode Ultrasonik. Journal of Research and Technology, 3(2), 80–88.
- Ahmed, M., Khan, K. ur R., Ahmad, S., Aati, H. Y., Sherif, A. E., Ashkan, M. F., Alrahimi, J., Abdullah Motwali, E., Imran Tousif, M., Abbas Khan, M., Hussain, M., Umair, M., Ghalloo, B. A., & Korma, S. A. (2022). Phytochemical, Antioxidant, Enzyme Inhibitory, Thrombolytic, Antibacterial, Antiviral and In Silico Studies of *Acacia jacquemontii* Leaves. Arabian Journal of Chemistry, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104345> 15(12), 104-345.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. 2021. Extraction of Phenolic Compounds: A Review. Current Research in Food Science, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Alina, R. H. 2017. Uji aktivitas antibakteri fraksi kulit buah rambutan (*Nepheliumlappaceum* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* penyebab diare. Media Farmasi Indonesia, 210–1217.

- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M., & Di Ilio, C. 2013. *Escherichia coli* in Europe: An Overview. International Journal of Environmental Research and Public Health, 10(12), 6235–6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- Amin, L. Z. 2015. Tatalaksana Diare Akut. Cermin Dunia Kedokteran, 42(7), 504–508.
- Anbudhasan, P., Surendraraj, A., Karkuzhali, S., & Sathishkumaran, S. 2014. Natural Antioxidants and Its Benefits. International Journal of Food and Nutritional Sciences, 3(6), 225–232.
- Apriliana, E., & Hawarima, V. 2016. Kandungan Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebagai Antibakteri terhadap *E. coli* Penyebab Diare. Majority, 5(2), 126–130.
- Azwanida, N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. Medicinal & Aromatic Plants, 04(03), 1–6. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>.
- Badriah, A. F. S., Wahyuni, F. D., & Nora, A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Al Ulum: Jurnal Sains Dan Teknologi, 8(1), 1-5.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. 2007. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology (24th ed.). McGraw-Hill Medical.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.104.p07>

- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. ., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. 2017. Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. 2021. Pathogenicity and Virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. 2013. Plant Phenolics: Recent Advances on Their Biosynthesis, Genetics, and Ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard - eleventh edition (11th ed., Vol. 32, Issue 1). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. <https://doi.org/M02-A11>
- Conley, W., Meute, J., Webb, J., Goodman, D., & Maier, R. 2005. The Capability of A 1.3NA μ stepper Using 3D EMF Mask Simulations (M. Komuro (Ed.); p. 808). <https://doi.org/10.1117/12.617224>
- Craft, N. 2012. Superficial Cutaneous Infections and Pyodermas. In *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* (8th ed.). USA: McGraw-Hill Companies.
- Dasgupta, P., Chakraborty, P., & Bala, N. N. 2013. A verrhoa carambola: A Updated Review. *International Journal of Pharma Research and Review*, 2(7), 54–63.
- Damanis, F. V. M., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian Herdmania Momus dengan Metode Dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*, 9(3), <https://doi.org/https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30033>

- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. 2013. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), 1818–1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>
- Diachanty, S., Nurjanah, N., & Abdullah, A. 2017. Antioxidant Activities of Various Brown Seaweeds from Seribu Islands. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan* 305-318.
- Elmitra, Apriyanti, O., & Sepriani, T. L. 2019. Uji Efektivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Cabe Rawit (*Solanum frutescens*.L) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) dengan Metode Induksi Caraagenan. *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 4(2), 2-12.
- Fatisa, Y. 2013. Daya antibakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1), 31-38.
- Filbert, K. H. 2014. Penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ ekstrak metanol dan fraksi hasil partisinya pada kulit biji pinang yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal MIPA*, 3(2), 149-154.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. 2021. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 14(15), 1–54. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Hernandez, J. C. C., Ocampo, G. T., & Correa, C. H. G. 2021. Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8871301>
- Hossain, T., Barman, A. K., Karmakar, U. K., Bokshi, B., Dev, S., & Biswas, N. N. 2017. Phytochemical and Pharmacological Evaluation of Leaves of *Averrhoa carambola* Linn. (Family: Oxalidaceae). *Bioscience and Bioengineering Communications*, 3(1), 144–151.

- Huang, W., Wang, Y., Tian, W., Cui, X., Tu, P., Li, J., & Shi, S. (2022). Biosynthesis Investigations of Terpenoid, Alkaloid, and Flavonoid Antimicrobial Agents Derived from Medicinal Plants. *Antibiotics*, 11(1380),1-32. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antibiotics11101380>
- Irianti, T. T., Sugiyanto, S., Nuranto, S., & Kuswandi, M. 2017. Antioksidant.
- Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. 2017. Environmental *Escherichia coli*: Ecology and Public Health Implications - A Review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581.<https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta. Universitas Islam Indonesia.
- Kang, C. I., Song, J. H., Ko, K. S., Chung, D. R., & Peck, K. R. 2011. Clinical Features and Outcome of *Staphylococcus aureus* Infection in Elderly Versus Younger Adult Patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(1), e58–e62. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2010.09.012>
- Katzung, B. G., Vanderah, T. W., & Trevor, A. J. 2021. *Basic & Clinical Pharmacology* (15th ed.). McGraw-Hill Education.
- Kemenkes RI. 2022. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2021*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khadijah, Jayali, A. M., Umar, S., & Sasmita, I. 2017. Penentuan Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Samama (*Anthocephalus Macrophylus*) Asal Ternate, Maluku Utara. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 15(1), 11-18. <https://doi.org/10.30872/jkm.v15i1.495>
- Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, L. 2021. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Cendana Medical Journal*, 21(1), 102-112. <https://doi.org/https://doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4942>
- Kołton, A., Długosz-Grochowska, O., Wojciechowska, R., & Czaja, M. 2022. Biosynthesis Regulation of Folates and Phenols in Plants. *Scientia Horticulturae*, 291, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110561>
- Kurniawati, E. 2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus

Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193-199.

Lakmal, K., Yasawardene, P., Jayarajah, U., & Seneviratne, S. L. 2021. Nutritional and Medicinal Properties of Star Fruit (*Averrhoa carambola*): A Review. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1810–1823. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2135>

Lestari, R. T. 2021. Penentuan total fenolik, uji antioksidan, dan uji antibakteri pada ekstrak etanol jantung pisang ambon (*Musa acuminata Colla*). *Prosiding Seminar Kesehatan Nasional Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan*, 921-927.

Lolok, N., Yuliasri, W. O., & Abdillah, F. A. 2020. Efek Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) Pada Tikus Putih Dengan Metode Induksi Aloksan. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(1), 13-29. <https://doi.org/https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i01.52>

Luan, F., Peng, L., Lei, Z., Jia, X., Zou, J., Yang, Y., He, X., & Zeng, N. 2021. Traditional Uses, Phytochemical Constituents and Pharmacological Properties of *Averrhoa carambola* L.: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 1–27. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.699899>

Luliana S, P. N. 2016. Pengaruh cara pengeringan simplisia daun senggani (*melastoma malabathricum* l.) Terhadap aktivitas antioksidan menggunakan metode dpph (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 120–129.

Mardhiyah, S., Elya, B., & Noviani, A. 2020. Elastase Activity Inhibition by the Most Active Fraction of Star Fruit (*Averrhoa Carambola* L.) Leaves From Three West Java Regions. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 12(1), 101–106. <https://doi.org/10.22159/ijap.2020.v12s1.FF020>

Moghadamtousi, S. Z., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. 2014. A Review on Antibacterial, Antiviral, and

- Antifungal Activity of Curcumin. BioMed Research International, 2014, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2014/186864>.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. International Journal of Molecular Sciences, 22(7), 1–30. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Natural Antioxidants - The Key to Safe and Sustainable Life. 2016. International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology (IJLTET), 6(3), 460–466.
- Octaviani, M., Fadhli, H., & Yuneistya, E. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram. Pharmaceutical Sciences and Research, 6(1), 62-68. <https://doi.org/10.7454/psr.v6i1.4333>
- Ojkic, N., Lilja, E., Direito, S., Dawson, A., Allen, R. J., & Waclaw, B. 2020. A Roadblock-and-Kill Mechanism of Action Model for the DNA-Targeting Antibiotic Ciprofloxacin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 64(9), 1-17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AAC.02487-19>
- Pangestu, N. S., Nurhamidah, N., & Elvinawati, E. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Jatropha gossypifolia* L. Alotrop, 1(1), 15–19. <https://doi.org/10.33369/atp.v1i1.2707>
- Percival, S. L., Chalmers, R., Embrey, M. A., Hunter, P. R., Sellwood, J., & Wyn-Jones, P. 2004. *Escherichia coli*. In Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks (pp. 71–90). Elsevier.
- Percival, S. L., & Williams, D. W. 2014. *Escherichia coli*. In Microbiology of Waterborne Diseases (pp. 89–117). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00006-8>
- Pratama, A. N., & Busman, H. 2020. Potensi Antioksidan Kedelai (Glycine Max L) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 11(1), 497–504. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.333>
- Purwaningsih, I., Sapriani, R., & Indrawati, R. 2018. Antioxidant Activity Of Methanol Extract Of Kesum Leaves (*Polygonum Minus* Huds.) DPPH

Method Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygonum Minus* Huds.) Metode DPPH. Jurnal Laboratorium Khatulistiwa, 2(2), 161–165. <https://doi.org/10.30602/jlk.v1i2.156>

Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta, 1(2), 1-8.

Rahman, N. F. 2021. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of kembang bulan leaves (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray). Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 1(1), 57-65.

Raposo, F., Borja, R., & Gutiérrez-González, J. A. (2024). A comprehensive and critical review of the unstandardized Folin-Ciocalteu assay to determine the total content of polyphenols: The conundrum of the experimental factors and method validation. *Talanta*, 272, 125771.

Rasheed, N. A., & Hussein, N. R. 2021. *Staphylococcus aureus*: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. European Journal of Molecular & Clinical Medicine, 8, 1160–1183.

Riedel, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., & Miller, S. 2019. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology (28th ed.). McGraw Hill.

Rizki, M. Nurlely, Fadlilaturrahmah, & Ma'shumah. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*), Nangka (*Artocarpus heterophyllus*), dan Tarap (*Artocarpus odoratissimus*) Asal Kalimantan Selatan. Journal of Current Pharmaceutical Sciences, 4(2), 367-372.

Rudiana, T., Indriatmoko, D. D., Km, R. L., Pandeglang, S., Indonesia, B., Km, R. L., Pandeglang, S., & Indonesia, B. 2020. Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Daun Kelor. Majalah Farmasi Dan Farmakologi, <https://doi.org/10.20956/mff.v25i1.12377>

- Rumaolat, W. 2020. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. 2-Trik: Tunas-Tunas Riset Kesehatan, 10(2), 93-97. <http://2trik.jurnalelektronik.com/index.php/2trik>
- Salamah, N., & Widyasari, E. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v5i1.2283>
- Samanta, I., & Bandyopadhyay, S. 2020. *Escherichia coli*. In Antimicrobial Resistance in Agriculture (pp. 171–193). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815770-1.00015-8>
- Sayuti, K., & Yenrina, R. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang: AndalasUniversity Press.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82-89.
- Shahidi, F. 2015. Antioxidants: Principles and Applications. In Handbook of Antioxidants for Food Preservation (pp. 1–14). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00001-4>
- Shalaby, E. (Ed.). 2019. Antioxidants. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.77838>
- Soedibyo, M. 1998. Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kerugian. Jakarta: Balai Pustaka.
- Swamy, M. K., & Akhtar, M. S. (Eds.). 2019. Natural Bio-active Compounds: Chemistry, Pharmacology, and Health Care Practices. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7205-6>
- Syafitri, I. F., & Ersam, T. 2016. Senyawa Sikloartobiloksanon dari Kulit Akar *Artocarpus elasticus*. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 5(2), 80–84.

- Syahir, A., Sulaiman, S., Mel, M., Othman, M., & Zubaidah Sulaiman, S. 2020. An Overview: Analysis of Ultrasonic-assisted Extraction's Parameters and Its Process. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 778(1), 1–8. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/778/1/012165>
- Shaikh, J. & Patil. 2020. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: an overview. International Journal of Chemical Studies, 603-608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Siyoto S, S. M. 2015. Dasar metodologi penelitian-1st. Yogyakarta: Literasi Media Publishing.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. 2019. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. In Bioactive Compounds (pp. 33–50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Wang, X., & Xu, L. P. 2014. Ultrasonic-Assisted Extraction and Antibacterial Properties of Polyphenols of Sweet Corncob. Advanced Materials Research, 1028, 374–379. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.1028.34>
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). Jurnal Ilmiah Manuntung, 4(1), 79–83
- Minarno, E. B. (2015). Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. El-Hayah, 5(2), 73-82.
- Yunita, Y., & Nursanty, R. 2019. Aktivitas Antibakteri Belimbing Manis (*Averrhoa Carambola* L.) terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Jurnal Bioleuser, 3(2), 32–34.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. 2018. Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. Chinese Medicine, 13(20), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>