

Skrining Fitokimia, Antibakteri, dan Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Puring (*Codiaeum variegatum*)

Ni Wayan Putri Primayanthi¹, Anak Agung Gede Indraningrat^{2*}, Putu Arya Suryanditha²

¹Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa, Bali, Indonesia

²Bagian Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Warmadewa, Bali, Indonesia

*email: indraningrat@warmadewa.ac.id

Abstrak

Infeksi bakteri merupakan kondisi masuknya patogen ke dalam tubuh. Meskipun, infeksi bakteri umumnya diobati dengan antibiotika, namun, penggunaan antibiotika yang irasional telah memicu resistensi bakteri. Salah satu upaya mengatasi infeksi bakteri dapat dilakukan dengan mengeksplorasi tanaman herbal yang memiliki potensi antibakteri dan potensi lainnya, seperti antioksidan. Salah satu tanaman herbal yang perlu diteliti lebih lanjut adalah daun puring (*Codiaeum variegatum*). Tahapan pertama dalam penelitian yaitu maserasi dan ekstraksi daun puring dengan pelarut etil asetat, kemudian melakukan skrining fitokimia. Selanjutnya uji antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer dengan enam perlakuan: kontrol positif (levofloxacin), kontrol negatif (etil asetat), dan konsentrasi ekstrak puring yaitu 100%, 75%, 50%, dan 25%. Bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus mutans* FNCC 0405, dan *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH. Hasil uji fitokimia dan antioksidan dianalisis secara deskriptif, sedangkan hasil uji antibakteri dianalisis dengan *one-way ANOVA* (untuk data yang distribusi normal) dan *Kruskal-Wallis* (data yang tidak terdistribusi normal). Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun puring mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan fenol. Uji antibakteri pada ekstrak daun puring tergolong sedang hingga kuat. Pada konsentrasi 100% didapatkan zona hambat sebesar 11,8±16,68 mm; 11,7±0,87 mm; 12,23±0,23 mm; dan 7,37±0,69 mm berturut – turut terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* FNCC 0405, *K. pneumoniae* ATCC 700603, dan *E. coli* ATCC 25922. Uji antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak daun puring memiliki antioksidan yang lemah (IC₅₀ 479,37 ppm). Secara umum penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun puring memiliki potensi antibakteri secara in vitro. Penelitian selanjutnya sebaiknya difokuskan untuk menguji ekstrak etil asetat terhadap bakteri multidrug resisten dan mengeksplorasi potensi bioaktivitas lain yang dimiliki tanaman puring.

Kata kunci: daun puring, antibakteri, fitokimia, antioksidan.

Abstract

[Antibacterial, Antioxidant and Phytochemical Screening of Ethyl Acetate Extract of Croton Leaves (*Codiaeum variegatum*)]

Bacterial infection is a condition where pathogens enter the body. Although bacterial infections are generally treated with antibiotics, the irrational use of antibiotics has triggered bacterial resistance. One effort to overcome bacterial infections can be done by exploring herbal plants that have antibacterial potential and other potentials, such as antioxidants. One herbal plant that needs further research is croton leaves (*Codiaeum variegatum*). The first stage in the research was maceration and extraction of croton leaves with ethyl acetate solvent, then carrying out phytochemical screening. Next, the antibacterial test used the Kirby-Bauer method with six treatments: positive control (levofloxacin), negative control (ethyl acetate), and croton extract concentrations, namely 100%, 75%, 50%, and 25%. The bacteria used were *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus mutans* FNCC 0405, and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Antioxidant activity was tested using the DPPH method. The results of the phytochemical and antioxidant tests were analyzed descriptively, while the results of the antibacterial tests were analyzed using

one-way ANOVA (for data with normal distribution) and Kruskal-Wallis (data which was not normally distributed). Phytochemical screening results show that croton leaf extract contains flavonoid compounds, tannins and phenols. The antibacterial test on croton leaf extract is classified as moderate to strong. At a concentration of 100%, the inhibition zone was found to be 11.8 ± 16.68 mm; 11.7 ± 0.87 mm; 12.23 ± 0.23 mm; and 7.37 ± 0.69 mm respectively against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* FNCC 0405, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, and *Escherichia coli* ATCC 25922. Antioxidant tests showed that croton leaf extract had a weak antioxidant (IC₅₀ 479.37 ppm). In general, this research shows that ethyl acetate extract of croton leaves has antibacterial potential in vitro. Future research should focus on testing ethyl acetate extract against multidrug-resistant bacteria and exploring other potential bioactivities of croton plants.

Keywords: croton leaves, antibacterial, phytochemical, antioxidant.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu dari masalah kesehatan yang masih tersebar di hampir seluruh negara. Infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit yang bersifat patogen bagi tubuh. Pengobatan terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan obat antibiotik.⁽¹⁾ Namun, beberapa bakteri memiliki resistensi terhadap antibiotik. Keadaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti penggunaan antibiotik yang salah, dosis yang tidak tepat serta waktu pemberian antibiotik yang tidak tepat.⁽²⁾ Oleh karena itu, upaya untuk menemukan pengobatan alternatif yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri untuk mengatasi penyakit infeksi sangat diperlukan.

Indonesia memiliki beragam potensi keanekaragaman hayati yang tinggi khususnya sebagai tanaman obat. Sebagai contoh, masyarakat Bali telah mendokumentasikan informasi tentang tanaman herbal dalam lontar usadha.⁽³⁾ Tanaman puring (*Codiaeum variegatum*) adalah tanaman yang umum ditemukan di Bali dan sering digunakan sebagai sarana upakara serta bermanfaat sebagai tanaman obat misalnya untuk menyembuhkan luka.⁽⁴⁾

Skrining fitokimia adalah tahapan awal untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari suatu ekstrak. Informasi fitokimia dari suatu tanaman akan memberikan gambaran kandungan dari suatu ekstrak tanaman. Penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak etanol

dan ekstrak air dari daun puring mengandung senyawa saponin, tanin, dan flavonoid.⁽⁵⁾ Penelitian terdahulu hanya difokuskan pada pelarut polar (air dan etanol) tapi belum mengeksplorasi pelarut semipolar ataupun nonpolar. Untuk itu eksplorasi pelarut kimia lain khususnya pelarut semipolar perlu dilakukan sehingga bioaktivitas dari tanaman puring dapat diketahui secara lebih menyeluruh.

Bukti empiris tanaman puring sebagai obat penyembuh luka mengindikasikan bahwa tanaman ini memiliki potensi sebagai antibakteri.⁽⁴⁾ Informasi ini memberikan indikasi awal potensi antibakteri daun puring. Namun, potensi antibakteri daun puring harus diteliti lebih lanjut terhadap jenis bakteri lainnya.

Selain potensi antibakteri, tanaman herbal secara umum juga memiliki aktivitas antioksidan.⁽⁶⁾ Pada umumnya, senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan.⁽⁶⁾ Tanaman puring telah dilaporkan memiliki kandungan senyawa fenol sehingga kuat diduga tanaman ini juga memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan.⁽⁷⁾

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini akan difokuskan untuk mengekstraksi daun puring (*C. variegatum*) menggunakan pelarut semipolar etil asetat dan menskrining ekstrak yang diperoleh yang difokuskan pada aktivitas antibakteri, antioksidan, dan kandungan fitokimia.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Penelitian ini

dilaksanakan selama 3 bulan, yaitu dari bulan Februari 2024 hingga April 2024.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah tabung reaksi, labu ukur, timbangan, spektrofotometer, evaporator, erlenmeyer, gelas becker, gelas ukur, batang pengaduk, spatula, cawan petri, spiritus, laminar air flow, gloves, mikropipet, neraca analitik, cakram disk, waterbath, dan jarum ose.

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah daun dari tanaman Puring (*Codiaeum variegatum*) yang didapatkan dari Desa Peguyangan, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar, Provinsi Bali. Bahan lainnya yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut etil asetat, kultur bakteri *Streptococcus mutans* FNCC 0405, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 dan *Escherichia coli* ATCC 25922, media agar, $AlCl_3$, HCl, alcohol, pereaksi Dragendroff, larutan DPPH 0,002%, magnesium, $FeCl_3$, kuersetin, kertas saring, dan aquades, masker, bluetip, cotton swab, cakram disk, kapas, dan kertas perkamen.

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Simplisia daun puring dimaserasi menggunakan pelarut etil-asetat dan diuapkan menggunakan vacuum evaporator. Ekstrak yang diperoleh diuji bioaktivitasnya yaitu antibakteri, antioksidan, dan kandungan fitokimia. Skrining fitokimia difokuskan pada senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan fenol. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode Kirby Bauer atau difusi cakram dengan 4 bakteri uji yaitu bakteri Gram positif *S. mutans* FNCC 0405 dan *S. aureus* ATCC 25923, dan bakteri Gram negatif *K. pneumoniae* ATCC 700603 dan *E. coli* ATCC 25922. Uji antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan

dengan mengirim bagian tanaman, meliputi akar, batang, dan daun ke Yayasan Generasi Biologi Indonesia (<https://generasibiologi.com>), Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur dengan tujuan mengidentifikasi tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama sampel serta menghindari kemungkinan tercampurnya sampel tanaman yang digunakan dengan tanaman yang lain.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Desa Peguyangan, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar, Provinsi Bali (8.623462°S, 115.229968°E). Pengambilan sampel sebanyak tiga kilogram dilakukan dengan memilih dan mengambil daun puring (*Codiaeum variegatum*) tua yang memiliki kualitas baik yaitu daun segar dan tidak terserang hama.

Pembuatan Simplisia

Tahapan pembuatan simplisia dimulai dengan melakukan pengumpulan daun puring segar sebanyak tiga kilogram, kemudian dilakukan tahap sortasi basah yaitu memisahkan daun puring dari bagian tanaman lain dan membersihkan daun puring dari kotoran atau bahan asing lainnya. Tahap selanjutnya yaitu mencuci daun puring dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang melekat. Setelah dilakukan pencucian, lalu bahan ditiriskan dan dikeringkan menggunakan bantuan sinar matahari atau menggunakan oven dengan suhu $\leq 60^\circ C$.

Simplisia yang sudah kering selanjutnya dihancurkan dengan menggunakan blender agar bentuknya berubah menjadi serbuk. Simplisia dalam bentuk serbuk selanjutnya disimpan pada wadah toples untuk menghindari kontaminasi dengan bahan lain dan mencegah kelembaban.

Metode Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut organik yaitu etil asetat yang merupakan pelarut yang bersifat semi polar. Metode maserasi

dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa aktif dengan baik dan aman terhadap senyawa kimia yang tidak tahan panas.

Simplisia daun puring kering digunakan sebanyak 100 gr kemudian dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 500 mL dengan perbandingan rasio 1:5 (b/v). Remaserasi kemudian dilakukan dengan pelarut yang sama selama 24 jam sambil sesekali diaduk, lalu maserat dipisahkan dari residu menggunakan corong Buchner dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 50°C.⁽⁸⁾ Ekstrak yang diperoleh akan diencerkan secara bertingkat menggunakan larutan etil hingga diperoleh konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%. Pengenceran akan dilakukan dengan menggunakan rumus perbandingan antara volume dan konsentrasi, sebagai berikut:

$$V1.M1 = V2.M2$$

Rumus tersebut memiliki keterangan sebagai berikut: V1 = volume awal ekstrak, M1 = konsentrasi awal ekstrak, V2 = volume akhir yang diinginkan, dan M2 = konsentrasi akhir yang diinginkan. Tujuan pengenceran yaitu untuk mendapatkan konsentrasi yang berbeda sesuai dengan nilai konsentrasi yang akan diujikan.

Skrining Fitokimia

• Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun puring akan dimasukkan pada tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan metanol sebanyak 2 mL dan campuran dipanaskan di *waterbath* pada suhu 60°C selama 45 menit. Selanjutnya pada campuran ditambahkan magnesium dan HCl pekat masing-masing sebanyak 2 mL. Timbulnya warna merah, kuning atau jingga merupakan penanda adanya senyawa flavonoid.⁽⁹⁾

• Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak dicampurkan dengan dua hingga tiga tetes pereaksi Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga.⁽⁹⁾

• Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun puring dilarutkan kedalam 5 mL air panas dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 5%. Adanya senyawa tanin ditandai dengan warna biru atau hijau kehitaman.⁽¹⁰⁾

• Saponin

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun puring ditambahkan dengan air panas sebanyak 10 mL. Tahap selanjutnya adalah mengocok kuat – kuat dan masukkan ke tabung reaksi. Timbulnya busa 1-10 cm selama lebih dari 10 menit menandakan bahwa positif terdapat senyawa saponin.⁽¹⁰⁾

• Fenol

Sebanyak 0,5 g ekstrak diberikan larutan FeCl₃ 1%. Terdapat perubahan warna menjadi warna hijau, ungu, merah, biru tua atau kehitaman menandai adanya senyawa fenolik.⁽¹⁰⁾

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Untuk setiap konsentrasi ekstrak (25%, 50%, 75%, dan 100%) disiapkan masing-masing tiga kertas cakram steril dengan diameter 6 mm dan pada setiap kertas cakram steril akan diteteskan 20 µL masing-masing ekstrak. Kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak etil asetat selanjutnya dipindahkan pada media LB agar dalam cawan petri yang sebelumnya sudah berisi suspensi bakteri uji sebanyak 200 µL dan disebarkan menggunakan cotton swab steril. Setiap cawan petri dibagi menjadi tiga bagian dengan membuat garis di bagian dasar cawan petri. Kontrol positif yang akan digunakan adalah levofloxacin dan kontrol negatif yang akan digunakan adalah etil asetat. Cawan petri selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Adanya daya hambat setelah masa inkubasi dapat dilihat dari terbentuknya zona halo (bening) pada kertas cakram di sekitar koloni bakteri uji. Diameter zona halo yang terbentuk didapatkan dari rata-rata dari hasil pengukuran setiap kertas cakram menggunakan jangka sorong digital. Diameter zona halo bening yang terbentuk akan diklasifikasikan berdasarkan ukuran diameter yang diukur. Diameter sebesar 0-5 mm menandakan

daya hambat lemah, diameter 5-10 mm menandakan daya hambat sedang, diameter 10-20 mm menandakan daya hambat kuat dan diameter >20 mm menandakan daya hambat sangat kuat.⁽¹¹⁾

Uji Kandungan Antioksidan

Aktivitas penghambatan radikal sampel dilakukan berdasarkan penghambatannya pada radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Larutan sampel disiapkan pada varian konsentrasi (0,9 µL - 100µL/ mL) dalam metanol. Masing-masing larutan sampel akan dimasukkan sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi. Setelah itu ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,002% (dalam metanol) dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya dilakukan inkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit, lalu diukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer UV-Visible. Adanya kandungan antioksidan dalam suatu senyawa dapat dilihat berdasarkan nilai IC50. Nilai IC50 <50 (kuat), nilai IC50 100-250 (sedang), nilai IC50 251-500 (lemah).

HASIL

Determinasi Tanaman, Preparasi Sampel, Simplisia, dan Ekstraksi

Sampel daun puring diambil dari Kelurahan Peguyangan, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar, Provinsi Bali. Sampel tanaman yang diambil selanjutnya dikirim ke Generasi Biologi Indonesia untuk dilakukan determinasi tanaman. Hasil determinasi tanaman mengonfirmasi bahwa sampel yang dikirim adalah benar daun puring (*Codiaeum variegatum*)

Daun puring dikumpulkan sebanyak tiga kilogram selanjutnya dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender sehingga menghasilkan 400 gr serbuk simplisia. Sebanyak 200 gr simplisia digunakan dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi daun puring dilakukan sebanyak dua kali, hal ini dilakukan karena hasil ekstraksi

pada saat maserasi pertama kurang, sehingga dilakukan tahapan ekstraksi kedua. Total ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi pertama dan kedua yaitu sebanyak 10,4 gram ekstrak kental dan berwarna kehijauan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun puring dilakukan dengan metode Kirby-Bauer. Uji antibakteri dilakukan dengan enam perlakuan yaitu ekstrak daun puring dengan empat jenis konsentrasi (25%, 50%, 75%, dan 100%), kontrol negatif, dan kontrol positif levofloxacin. Uji antibakteri ini menggunakan empat jenis bakteri uji yaitu *S. mutans* FNCC 0405, *S. aureus* ATCC 25923, *K. pneumoniae* ATCC 700603 dan *E. coli* ATCC 25922.

Berdasarkan hasil pengamatan diameter zona hambat, ditemukan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun puring berbanding lurus dengan peningkatan ukuran diameter zona hambat yang dihasilkan. Pada Tabel 3 memperlihatkan bahwa ekstrak daun puring mampu menghambat pertumbuhan bakteri semua bakteri uji, dengan efektivitas tertinggi diamati pada konsentrasi 100%. Pada konsentrasi ini, zona hambat yang dihasilkan mencapai ukuran sebesar 11,8±16,68 mm; 11,7±0,87 mm; 12,23±0,23 mm; dan 7,37±0,69 mm secara berturut – turut terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* FNCC 0405, *K. pneumoniae* ATCC 700603, dan *E. coli* ATCC 25922. Ekstrak daun puring pada perlakuan 25% tidak menghasilkan zona hambat pada seluruh bakteri uji. Zona hambat hanya ditemukan pada perlakuan 50%, 75%, dan 100%. Kontrol positif menunjukkan zona hambat paling besar sedangkan kontrol negatif tidak mempunyai kekuatan hambat sehingga daya hambat yang ada pada perlakuan berasal dari kandungan senyawa aktif pada ekstrak daun puring.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun puring (*Codiaeum variegatum*)

Bakteri uji	Perlakuan	Rata-rata diameter dan standar deviasi (mm)	Keterangan zona hambat
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	25%	0±0	Tidak ada
	50%	0±0	Tidak ada
	75%	8,84±1,11	Sedang
	100%	11,8±0,95	Kuat
	Kontrol (-)	0±0	Tidak ada
	Kontrol (+) levofloxacin	25,63±0,48	Sangat kuat
<i>S. mutans</i> FNCC 0405	25%	0±0	Tidak ada
	50%	0±0	Tidak ada
	75%	10,1±0,1	Kuat
	100%	11,7±0,87	Kuat
	Kontrol (-)	0±0	Tidak ada
	Kontrol (+) levofloxacin	26,13±0,55	Sangat Kuat
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	25%	0±0	Tidak ada
	50%	9,85±1,07	Sedang
	75%	10,79±0,7	Kuat
	100%	12,23±0,23	Kuat
	Kontrol (-)	0±0	Tidak ada
	Kontrol (+) levofloxacin	27,57±0,17	Sangat Kuat
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25%	0±0	Tidak ada
	50%	0±0	Tidak ada
	75%	0±0	Tidak ada
	100%	7,37±0,69	Sedang
	Kontrol (-)	0±0	Tidak ada
	Kontrol (+) levofloxacin	32,38±0,45	Sangat Kuat

Analisis Data Uji Hasil Antibakteri

Hasil data diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri selanjutnya dianalisis secara statistik. Uji normalitas data dilakukan melalui uji *Shapiro-Wilk*. Berdasarkan analisis, didapatkan hasil bahwa data dari seluruh perlakuan

berdistribusi normal ($p > 0,05$) pada jenis bakteri yaitu *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. mutans* FNCC 0405, sedangkan data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) pada jenis bakteri *K. pneumoniae* ATCC 700603 dan *E. coli* ATCC 25922. Hasil distribusi data ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji normalitas uji aktivitas antibakteri ekstrak daun puring

Bakteri	Perlakuan	N	Nilai p	Keterangan
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	75%	3	0,569	Normal
	100%	3	0,780	Normal
	Kontrol (-)	3		
	Kontrol (+) levofloxacin	3	0,332	Normal
<i>S. mutans</i> FNCC 0405	75%	3	0,441	Normal
	100%	3	0,463	Normal
	Kontrol (-)	3		
	Kontrol (+) levofloxacin	3	0,333	Normal
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603	50%	3	0,652	Normal
	75%	3	0,027	Tidak Normal
	100%	3	0,085	Normal
	Kontrol (-)	3		
	Kontrol (+) levofloxacin	3	0,780	Normal
<i>E. coli</i> ATCC 25922	100%	3	0,028	Tidak Normal
	Kontrol (-)	3		
	Kontrol (+) levofloxacin	3	0,853	Normal

Keterangan: N = jumlah sampel; Nilai p= Signifikansi

Pada data yang terdistribusi normal dilakukan uji homogenitas dengan Lavene's test of variance. Hasil yang didapatkan yaitu data penelitian dikatakan sebagai data homogen ($p > 0,05$) pada *S. aureus* ATCC 25923 (0,412) dan *S. mutans* FNCC 0405 (0,058).

Data selanjutnya dianalisis secara statistik. Kelompok data yang memiliki distribusi normal selanjutnya diuji dengan uji One-way ANOVA. Data yang tidak terdistribusi normal dilakukan pengujian melalui Kruskal-Wallis. Berdasarkan

temuan pengujian analisis statistik daya hambat yang ditunjukkan pada tabel 5, jenis perlakuan pada bakteri *S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* FNCC 0405, dan *K. pneumoniae* ATCC 700603 berpengaruh secara signifikan ($P < 0,05$) terhadap daya hambat bakteri pada ketiga jenis bakteri. Sedangkan pada bakteri *E. coli* ATCC 25922, hasil uji analisis statistik menunjukkan bahwa masing – masing jenis perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan ($p > 0,05$).

Tabel 5. Hasil analisis statistik daya hambat bakteri

Bakteri	Perlakuan	N	Nilai p
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	75%	3	0,000*
	100%	3	
	Kontrol (-)	3	
	Kontrol (+) levofloxacin	3	
<i>Streptococcus mutans</i> FNCC 0405	75%	3	0,000*
	100%	3	
	Kontrol (-)	3	
	Kontrol (+) levofloxacin	3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	50%	3	0,021**
	75%	3	
	100%	3	
	Kontrol (-)	3	
	Kontrol (+) levofloxacin	3	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100%	3	0,050**
	Kontrol (-)	3	
	Kontrol (+) levofloxacin	3	

Keterangan: N = jumlah sampel; p = signifikansi; *dianalisis dengan One-way ANOVA; **dianalisis dengan Kruskal-Wallis

Uji Kandungan Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun puring dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan dapat dievaluasi melalui nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*). Sampel ekstrak daun puring dibuat dalam beberapa konsentrasi (100, 200, 300, 400, dan 500 ppm), lalu diberikan larutan DPPH dan

selanjutnya diinkubasi selama tiga puluh menit dalam tempat yang gelap. Setelah dilakukan inkubasi, dapat dilihat pada gambar 15 bahwa terdapat perubahan warna dari yang awalnya berwarna ungu menjadi kekuningan pada seluruh konsentrasi ekstrak. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun puring dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun puring

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)	Aktivitas Antioksidan
0	0,565	0,000	479,37	Lemah
100	0,528	6,549		
200	0,467	17,345		
300	0,401	29,027		
400	0,323	42,832		
500	0,266	52,920		

Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517nm, memperoleh nilai IC₅₀ sebesar 479,37 ppm. Hasil IC₅₀ mengindikasikan bahwa ekstrak daun puring tergolong memiliki aktivitas antioksidan lemah IC₅₀ (250-500 ppm).

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun puring. Pada ekstrak etil asetat daun puring dilakukan pengujian terhadap senyawa alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, dan saponin (Gambar 13). Hasil uji menunjukkan ekstrak mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan fenol dan tidak mengandung senyawa alkaloid dan saponin (tabel 7).

Tabel 7. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun puring (*C.variegatum*)

Senyawa	Hasil
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Saponin	-
Tanin	+
Fenol	+

PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Puring

Uji antibakteri bertujuan untuk mengetahui potensi suatu ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Diameter zona halo bening yang terbentuk akan digolongkan berdasarkan ukuran diameter yang diukur yaitu daya hambat lemah (0-5 mm), daya hambat sedang (5-10 mm), daya hambat kuat (10-20 mm) dan daya hambat sangat kuat (>20 mm). Berdasarkan hasil penelitian, hasil yang didapatkan sangat bervariasi. Hal tersebut disebabkan oleh perbedaan perlakuan pada konsentrasi ekstrak yang digunakan (25%, 50%, 75%, dan 100%).

Pada bakteri *S. aureus* ATCC 25923, tidak ditemukan zona hambat pada perlakuan konsentrasi 25% dan 50%. Zona hambat terbentuk pada perlakuan konsentrasi 75% dan 100%. Pada konsentrasi 75% zona hambat yang terbentuk termasuk dalam golongan daya hambat sedang (5-10 mm). Sedangkan, pada konsentrasi 100% zona hambat yang terbentuk termasuk dalam daya hambat kuat (10-20 mm). Pada bakteri *S. mutans* FNCC 0405, zona hambat terbentuk pada konsentrasi 75% dan 100% dan termasuk dalam golongan daya hambat kuat. Hasil pada bakteri *K. pneumoniae* ATCC 700603 menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Pada perlakuan 50% ditemukan zona hambat dengan daya hambat sedang serta pada perlakuan 75% dan 100% ditemukan daya hambat kuat. Pada bakteri *E. coli* ATCC 25922, zona hambat hanya terbentuk pada perlakuan 100% yang termasuk dalam daya hambat sedang.

Perbedaan zona hambat yang didapatkan pada hasil penelitian bergantung pada kadar konsentrasi ekstrak daun puring yang digunakan. Peningkatan konsentrasi yang digunakan berbanding lurus dengan peningkatan diameter zona hambat yang dihasilkan. Hal ini disebabkan oleh semakin tingginya jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan oleh konsentrasi ekstrak yang lebih besar, sehingga kemampuan untuk mengganggu pertahanan sel bakteri semakin efektif.⁽¹²⁾ Selain tingkat konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa kimia yang memiliki sifat sebagai antibakteri juga memiliki peranan yang menyebabkan ekstrak daun puring memiliki aktivitas sebagai senyawa antibakteri. Salah satu senyawa kimia yang memiliki sifat antibakteri pada ekstrak daun puring adalah tanin⁽¹³⁾. Tanin bekerja secara bakterisidal dengan cara menghambat pembentukan sel bakteri sehingga sel bakteri menjadi lisis, tanin juga menginaktifkan enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase pada bakteri serta mengganggu protein dalam sel.⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾

Perbedaan jenis bakteri dapat menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi besaran zona hambat yang dihasilkan oleh suatu ekstrak. Bakteri Gram negatif memiliki daya tahan yang lebih tinggi terhadap zat antimikroba karena memiliki lapisan peptidoglikan dan lipopolisakarida pada membran terluar dinding sel yang mampu menghalangi senyawa antibakteri masuk ke dalam sel.⁽¹⁵⁾ Pada bakteri Gram negatif seperti *K. pneumoniae* memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga mampu dihancurkan oleh senyawa – senyawa seperti flavonoid, steroid dan tanin. Pemberian senyawa antibakteri dapat menghambat pembentukan dinding sel yang menyebabkan rantai glikan tidak menyatu hingga berujung pada lisisnya sel bakteri.⁽¹⁶⁾ Di sisi lain pada bakteri Gram positif tidak memiliki lipopolisakarida pada dinding selnya sehingga senyawa antibakteri lebih mudah masuk.⁽¹⁵⁾ Hal ini mendukung hasil penelitian yang mendapatkan bahwa pada bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dan *S. mutans* didapatkan zona hambat sedang hingga kuat.

Beberapa penelitian sebelumnya memiliki hasil yang mendukung hasil penelitian ini mengenai potensi daun puring sebagai senyawa antibakteri. Penelitian oleh Mohamed et al. (2019) menyatakan pada hasil penelitiannya bahwa daun puring memiliki daya hambat kuat pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan daya hambat sebesar 12 mm dan pada bakteri *Serratia marcescens* sebesar 20 mm⁽¹⁷⁾. Penelitian lain yaitu penelitian oleh Sindy & Afthoni (2022) menggunakan fraksi metanol 80% menyatakan bahwa ekstrak daun puring dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi tertinggi 1000 µg/ml g/mL sebesar 5,4000 ± 2,0553 mm pada bakteri *E. coli* dan sebesar 3,7500±1,8187 pada bakteri *S. aureus*.⁽¹²⁾

Uji Kandungan Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Puring

Berdasarkan hasil penelitian dan perhitungan kurva terhadap ekstrak etil

asetat daun puring, didapatkan bahwa nilai ekstrak daun puring sebesar 479,37 ppm, yang tergolong lemah. Kandungan antioksidan dalam suatu ekstrak dapat dipengaruhi oleh kadar polaritas pada pelarut yang digunakan serta konsentrasi ekstrak yang digunakan. Pada penelitian oleh Suhendy et al (2024) dilakukan perbandingan kadar antioksidan pada ekstrak daun puring dengan menggunakan pelarut etanol dan etil asetat, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol memiliki kadar antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan kadar antioksidan ekstrak etil asetat.⁽¹⁸⁾ Penelitian lain menyebutkan bahwa didapatkan potensi ekstrak daun puring dengan pelarut etanol memiliki potensi antioksidan sedang dengan nilai IC50 sebesar 245, 94 mg/L.⁽¹⁹⁾ Hal tersebut disebabkan oleh perbedaan tingkat polaritas pelarut yang digunakan. Dalam ekstrak etil asetat daun puring, senyawa seperti flavonoid, tanin, dan fenol terdeteksi, dengan kecenderungan larut lebih baik dalam pelarut yang bersifat serupa. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar dan semi polar.⁽²⁰⁾ Namun, pelarut semipolar memiliki konstanta dielektrik yang lebih rendah daripada pelarut polar sehingga dapat mempengaruhi konsentrasi senyawa kimia yang terlarut pada pelarut semipolar.⁽²¹⁾ Senyawa yang memiliki sifat polar akan larut pada senyawa yang bersifat polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut pada senyawa non polar.⁽²²⁾

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh jumlah senyawa yang terdapat dalam suatu ekstrak. Ekstrak daun puring mengandung senyawa flavonoid dan fenol. Flavonoid, sebagai bagian dari senyawa fenolik, memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas melalui mekanisme donasi elektron. Selain itu, terdapat korelasi positif antara kadar flavonoid dalam ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan.⁽²³⁾ Selain faktor senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak, kondisi lingkungan tumbuh tanaman juga dapat mempengaruhi

kandungan biokimia suatu ekstrak. Pada penelitian oleh Wardani et al (2020) didapatkan hasil bahwa terdapat hubungan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kandungan senyawa fenolik sebagai antioksidan dan lokasi tumbuh tanaman, semakin tinggi paparan seperti polusi pada lokasi tumbuh tanaman maka semakin tinggi kadar senyawa fenolik serta semakin kecil nilai IC₅₀.⁽²⁴⁾

Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Puring

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa yang terkandung dalam tumbuhan.⁽²⁵⁾ Skrining fitokimia dapat dilakukan dengan tiga metode yaitu kualitatif, semi kuantitatif, dan kuantitatif. Skrining fitokimia dengan metode kualitatif dilakukan dengan melihat perbedaan warna yang terjadi pada ekstrak saat bereaksi dengan pereaksi tertentu.⁽²⁶⁾ Berdasarkan hasil skrining fitokimia dengan cara kualitatif, skrining fitokimia ekstrak daun puring (*C. variegatum*) menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, tannin, dan fenol, namun menunjukkan hasil negatif pada senyawa alkaloid dan saponin. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Sumadewi & Puspaningrum (2018) yang melaporkan bahwa hasil ekstrak daun puring dengan pelarut air memiliki senyawa kimia tanin dan saponin serta pada pelarut etil asetat dan etanol didapatkan hasil positif pada senyawa tanin. Penelitian lainnya oleh Widyawati (2021) menjelaskan bahwa hasil ekstrak daun puring dengan pelarut etanol 96% mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Pada penelitian lainnya didapatkan hasil ekstrak daun puring dengan menggunakan pelarut etanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid.⁽²⁷⁾

Dalam melakukan ekstraksi, pelarut memiliki peranan penting untuk melarutkan kandungan senyawa yang terdapat suatu ekstrak. Pada penelitian ini, pelarut etil asetat digunakan sebagai media ekstraksi. Pelarut ini memiliki sifat semipolar yang

memungkinkan kemampuannya untuk melarutkan senyawa polar maupun non-polar. Senyawa – senyawa seperti tanin, sterol, fenol, terpenoid, saponin, flavonoid, dan senyawa lainnya dapat larut dalam etil asetat.⁽²⁸⁾ Perbedaan penggunaan pelarut dalam metode ekstraksi dapat menghasilkan hasil yang berbeda. Pada penelitian oleh Widyawati (2021) menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan hasil bahwa ekstrak daun puring memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin. Sedangkan pada penelitian oleh Sumadewi dan Puspaningrum (2018) yang menggunakan pelarut yaitu air, etanol, etil asetat, dan n-heksana didapatkan hasil bahwa ekstrak daun puring dengan pelarut n-heksana menunjukkan hasil negatif pada kandungan senyawa kimia ekstrak daun puring.⁽⁵⁾ Hal ini membuktikan bahwa tingkat polaritas (polar dan non-polar) suatu pelarut sangat berpengaruh terhadap hasil fitokimia suatu ekstrak.

Ekstrak etil asetat daun puring mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan fenol. Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder dalam kelompok fenol. Flavonoid adalah senyawa yang sering terkandung pada bagian – bagian tumbuhan seperti bunga, daun, batang, dan akar. Flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan dengan cara memutuskan rantai oksidasi pada radikal bebas dan menangkapnya.⁽²⁹⁾ Tanin merupakan suatu senyawa yang memiliki manfaat sebagai antibakteri dan antioksidan. Sebagai antibakteri, tanin dapat menghambat pembentukan sel bakteri dengan cara menghambat kerja enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase.⁽¹³⁾ Sebagai senyawa antioksidan, tannin bekerja dengan cara menghambat proses penghancuran β -karoten dan menetralkan senyawa radikal bebas pada linoleate.⁽³⁰⁾ Fenol merupakan suatu senyawa induk dari senyawa fenolik. Fenol dan aktivitas antioksidan saling berkaitan karena fenol merupakan bahan utama dalam agen antioksidan.⁽³¹⁾

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa skrining ekstrak etil asetat daun puring menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 100% sebesar $11,8 \pm 16,68$ mm; $11,7 \pm 0,87$ mm; $12,23 \pm 0,23$ mm; dan $7,37 \pm 0,69$ mm secara berturut – turut terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* FNCC 0405, *K. pneumoniae* ATCC 700603, dan *E. coli* ATCC 25922. Selain itu, hasil uji antioksidan ekstrak etil asetat daun puring menunjukkan daun puring mengandung antioksidan yang lemah, pada nilai IC50 sebesar 479,37 ppm. Ekstrak etil asetat daun puring (*C. variegatum*) juga mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tannin, dan fenol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu selama proses penelitian berlangsung. Penelitian ini dapat terlaksana atas dukungan hibah penelitian dari unit Penelitian FKIK Unwar no 163/Unwar/FKIK/Unit-Penelitian/PD-13/VIII/2023 yang diberikan kepada Anak Agung Gede Indraningrat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aprilia, L., Novita Sari, A. And Santo Paulus Surakarta, P. (2022) ‘Uji Antibakteri Ekstrak Bunga Dan Buah Kitolod (*Isotoma longiflora*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*’, Avicenna: Journal of Health Research, 5(2), Pp. 18–27. Available At: <https://doi.org/10.36419/avicenna.v5i2.677>.
2. Amalia Agatha Sari, Z. et al. (2021) ‘Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby Bauer Terhadap Pertumbuhan Bakteri’, Jurnal Medika Utama, 2(04), Pp. 1156–1161. Viewed 30 September 2023: <http://www.jurnalmedikahutama.com/index.php/jmh/article/view/241>
3. Suweta, I.M. (I) (2021) ‘Holy Bali Scriptures In Usada Bali Traditional Medicine’, International Journal Of Linguistics, Literature And Culture, 7 (6), Pp. 441–458. Available At: <https://doi.org/10.21744/ijllc.v7n6.1948>.
4. Sawiji, R.T., Wayan Ari Sukmadiani, N. (2019). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum* L.) Dengan Basis Hidrokarbon dan Larut. Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product; 4(2). Available At: <https://jurnal.unw.ac.id/index.php/ijpnp/article/download/1187/1663/8512>
5. Sumadewi, N.L.U. And Puspaningrum, (2018). ‘Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Kimia Pada Daun Puring (*Codiaeum variegatum*) dengan Pelarut Air, Etanol, Etil Asetat Dan N-Heksana’.
6. Nurulita, N.A. Et al. (2019) ‘Uji Aktivitas Antioksidan dan Anti Aging Body Butter Dengan Bahan Aktif Ekstrak Daun Kelor’, JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA, 17(1), Pp. 1–8. Available At: <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i1.543>.
7. Muhammadiyah, U. Et al. (2021) ‘Uji Efektivitas Antibakteri Sediaan Salep Ekstrak Daun Puring (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph. Ex A.Juss) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*’, Prosiding Seminar Nasional Kesehatan, 1, Pp. 1005–1015. Available At: <https://doi.org/10.48144/prosiding.v1i.781>.
8. Gingerol, K. Et al. (2020) ‘Kandungan Gingerol Dan Shogaol Dari Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* roscoe) Dengan Metode Maserasi Bertingkat’, Al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan, 7 (2), Pp. 75–81. Available At: <https://doi.org/10.15575/ak.v7i2.6545>.
9. Sindy, M. and Hilmi Afthoni, M. (2022) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Dari Daun Puring Anting, Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi. Farmasi.

10. Nuraini, M., Zustika, D.S. And Lestari, T. (2022) Karakterisasi Simplisia Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Puring Kura (*Codiaeum variegatum* L.). Tasikmalaya. Available At: <https://ejurnal.universitas-bth.ac.id/index.php/psndp/article/download/985/755> (Accessed: 22 November 2023).
11. Davis, W.W. And Stout, T.R. (1971) 'Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay', *Applied Microbiology*, 22(4). Available at: <https://doi.org/10.1128/am.22.4.666-670.1971>.
12. Sindy, M. and Hilmi Afthoni, M. (2022) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Dari Daun Puring Anting, Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi. Farmasi.
13. Ngajowa, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128–132. <https://doi.org/10.35799/JM.2.2.2013.3121>
14. Saptowo, A., Supriningrum, R., & Supomo. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embeliaborneensis* Scheff) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Al Ulum: Jurnal Sains dan Teknologi*, 7(2). Available at: <https://ojs.uniska-bjm.ac.id/index.php/JST>
15. Daris, U.S.H.S.A. (2023) 'Uji Daya Hambat Serta Penentuan Minimum Inhibitor Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC) Ekstrak Daun Bidara Terhadap Bakteri Patogen, *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 9 (2), Pp. 223–234. Available at: <https://doi.org/10.26858/jptp.v9i2.682>.
16. Kirtanayasa, Yoga (2022) 'Literatur Review: Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak Tanaman Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia*', *Gema Agro*, 27(2), Pp. 107–111. Available At: <https://doi.org/10.22225/ga.27.2.5389.107-111>.
17. Mohamed, N.E.S. Et al. (2019) Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Codiaeum variegatum* Leaves, *Zagazig J. Agric. Res.* Available At: www.journals.zu.edu.eg/journaldisplay.aspx?journalId=1&querytype=master.
18. Suhendy, H., Nurjanah, D.S. And Rahmiyani, I. (2024) Korelasi Flavonoid Total Dengan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Puring Kura (*Codiaeum variegatum* L.), Agustus.
19. Seri, S. (2018) 'Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Kandungan Fenolik Total Dari Daun Puring Merah (*Codiaeum variegetum* (L.) Rumph)'.
20. Puspayani, N.K.L., Nastiti, K. And Noval, N. (2023) 'Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)', *Jurnal Surya Medika*, 9(1), Pp. 34–44. Available At: <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5131>.
21. Yuliani, H. And Rasyid, M.I. (2019) 'Efek Perbedaan Pelarut Terhadap Uji Toksisitas Ekstrak Pineung Nyen Teusalee', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), Pp. 347–352. Available At: <https://doi.org/10.33096/jffi.v6i2.453>.
22. Sasadara, M.M.V. And Wiranata, I.G. (2022) 'Pengaruh Pelarut Dan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Dan Nilai IC50 Ekstrak Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.)', *Usadha*, 2(1), Pp. 7–13. Available At: <https://doi.org/10.36733/usadha.v2i1.5277>.
23. Putra, A.S.E., Kausar, R. Al and Tutik, T. (2023) 'Hubungan Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas

- Antioksidan Pada Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) Dan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis', Jurnal Analis Farmasi, 8(2). Available At: <https://doi.org/10.33024/jaf.v8i2.11292>.
24. Citra, A. Et al. (2021) Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F) Menggunakan Metode Maserasi: Effect of Different Solvent on The Antioxidant Activity of Tenggulun Leaves Extract (*Protium javanicum* Burm.F) With the Maceration Method, Online)
25. Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). AMINA, 2(3), 120-125. Viewed 30 July 2023, from: <https://journal.arraniry.ac.id/index.php/amina/article/download/1384/798>
26. Vifta, R.L. and Advistasari, Y.D. (2018) 'Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.)', Prosiding Seminar Nasional Unimus, 1(0). Available at: <https://prosiding.unimus.ac.id/index.php/semnas/article/view/19>
27. La, E.O.J., Dewi, P.I.C. And Widyawati, N. Komang Yoni (2023) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Puring (*Codiaeum variegatum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*', Prosiding Simposium Kesehatan Nasional, 2 (1), Pp. 110–119. Available At: <https://doi.org/10.52073/simkesnas.v2i1.100>.
28. Pratama, A.W., Lestari, R., Gofur, A., Rakhmawati, Y., (2022). Skrining Fitokimia, Total Fenol, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Tangkai Sisir Buah 12, 14–21.
29. Ningsih, I.S., Chatri, Morality and Advinda, L. (2023) 'Senyawa Aktif Flavonoid Yang Terdapat Pada Tumbuhan', Jurnal Serambi Biologi, 8(2), Pp. 257–263. Available At: <https://doi.org/10.24036/srmb.v8i2.206>.
30. Toul, F. Et al. (2016) 'In-Vitro Antioxidant Effects Of Tannin Extracts Of Pistacia Atlantica', International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research, 7(1), P. 121. Available At: [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.7\(1\).121-26](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.7(1).121-26).
31. Achmadi, J. And K Nuswantara, Dan L. (2017) 'Kelarutan Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Daun Kelor (*Moringa oleifera*) di Dalam Rumen Secara In Vitro', 19 (3), Pp. 116–121. Viewed 14 November 2024.