

Skrining Aktivitas Antibakteri, Fitokimia & Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Batang Tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora*)

Luh Putu Ardha Gangga Cendani¹, Anak Agung Gede Indraningrat^{2*}, Marta Setiabudy²

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

Penyakit infeksi bakteri adalah suatu kondisi ketika bakteri patogen masuk ke dalam tubuh manusia dan menyebabkan penyakit. Kasus infeksi bakteri semakin diperparah dengan meningkatnya strain bakteri yang membentuk resistensi antibiotika. Upaya untuk mengatasi masalah infeksi bakteri adalah dengan mengeksplorasi tanaman herbal dengan kemampuan antibakteri. Salah satu tanaman herbal yang potensial untuk diteliti adalah batang tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora*). Secara empiris tanaman ini telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengatasi infeksi bakteri, namun belum banyak penelitian yang dapat memberikan informasi menyeluruh mengenai senyawa metabolit yang terkandung pada batang kitolod. Penelitian ini menggunakan sebanyak 100 gram sampel kering batang kitolod yang dimaserasi menggunakan 500 ml pelarut etil asetat (1:5, b/v) selama 24 jam dan dilakukan remaserasi sebanyak satu kali. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak kental dari batang kitolod. Ekstrak diuji secara triplikat terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) dan Gram positif *Streptococcus mutans* (FNCC 0405), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) menggunakan metode Kirby-Bauer. Kandungan fitokimia ekstrak batang kitolod diuji untuk mendeteksi keberadaan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Aktivitas antioksidan ekstrak batang kitolod diuji menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kitolod mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin. Skrining aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa tidak terbentuk zona hambat terhadap bakteri uji Gram positif maupun Gram negatif. Uji antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat batang kitolod mempunyai kadar antioksidan sangat lemah yaitu berada pada nilai IC_{50} 393847,22 ppm dan 2752,9442 ppm. Penelitian lanjutan akan difokuskan pada ekstraksi batang kitolod dengan menggunakan beberapa pelarut organik yang berbeda, sehingga bioaktivitas kitolod dapat dipelajari secara lebih mendalam.

Kata kunci: antibakteri, fitokimia, antioksidan, batang kitolod

Abstract

*[Screening of Antibacterial, Phytochemical and Antioxidant Activities of Ethyl Acetate Extract of Kitolod Plant Stems (*Isotoma longiflora*)]*

*Bacterial infectious disease is a condition when pathogenic bacteria enter the human body and cause disease. Cases of bacterial infections are getting worse with the increase in bacterial strains that develop antibiotic resistance. Efforts to overcome the problem of bacterial infections are by exploring herbal plants with antibacterial abilities. One of the herbal plants that has the potential to be researched is the stem of the kitolod plant (*Isotoma longiflora*). Empirically, this plant has been used by traditional communities to treat bacterial infections, but there has not been much research that can provide comprehensive information regarding the metabolite compounds contained in kitolod stems. This research used 100 grams of dry samples of kitolod stems which were macerated using 500 ml of ethyl acetate solvent (1:5, w/v) for 24 hours and remaceration was carried out once. The macerate obtained was evaporated using a rotary evaporator at a*

temperature of 40°C to get a thick extract from kitolod stems. The extract was tested in triplicate against gram-negative bacteria *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) and Gram-positive *Streptococcus mutans* (FNCC 0405), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) using method Kirby-Bauer. The phytochemical content of kitolod stem extract was tested to detect the presence of flavonoids, alkaloids, tannins and saponins. The antioxidant activity of kitolod stem extract was tested using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). The results of phytochemical screening show that kitolod extract contains flavonoids, alkaloids and saponins. Antibacterial activity screening showed that no inhibition zone was formed against Gram-positive or Gram-negative test bacteria. The antioxidant test showed that the ethyl acetate extract of kitolod stems had very weak antioxidant levels, namely at the IC value₅₀ 393847.22 ppm and 2752.9442 ppm. Further research will be focused on extracting kitolod stems using several different organic solvents, so that the bioactivity of kitolod can be more explored.

Keywords: antibacterial, phytochemicals, antioxidants, kitolod stems

PENDAHULUAN

Infeksi adalah proses masuknya suatu agen infeksi ke dalam tubuh manusia. Agen infeksi berasal dari luar tubuh, salah satu agennya adalah bakteri yang bersifat patogen.⁽¹⁾ Analisis penyakit secara global menunjukkan bahwa penyakit infeksi oleh bakteri menempati peringkat ke-2 sebagai penyebab kematian tertinggi di seluruh dunia.⁽²⁾ Infeksi bakteri dilaporkan menyebabkan 7,7 juta kematian secara global atau sekitar 13,6 persen dari total kematian dunia pada tahun 2019.⁽²⁾ Sejumlah bakteri yang umum ditemukan bersifat patogen dan dapat memicu kematian dalam kasus infeksi berat misalnya *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* dan *Klebsiella pneumoniae*.⁽²⁾ Penyakit infeksi bakteri di seluruh dunia diperparah dengan meningkatnya kasus resistensi bakteri terhadap antibiotika. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik menyebabkan bertambahnya durasi seseorang menderita suatu penyakit bahkan dapat berujung kematian.⁽³⁾ Maka dari itu, salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah mengeksplorasi bahan alam untuk menemukan senyawa antibakteri yang lebih baik dari obat yang sudah tersedia di pasaran.

Indonesia merupakan negara tropis dengan kekayaan hayati yang cukup tinggi terdiri atas 30.000 hingga 50.000 jenis tumbuhan dengan 7.500 tumbuhan tergolong sebagai tumbuhan herbal.⁽⁴⁾ Salah satu jenis tumbuhan asli Indonesia yang berpotensi sebagai tanaman obat namun belum banyak diteliti adalah kitolod (*Isotoma longiflora*).⁽⁵⁾ Secara alami

tumbuhan ini tergolong gulma karena dapat hidup dan tumbuh dengan sendirinya disela-sela batu dan tempat yang lembab.⁽⁶⁾ Namun, tumbuhan kitolod secara empiris telah digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan konjungtivitis. Selain itu, tumbuhan kitolod juga dilaporkan memiliki potensi antikanker, antibakteri, dan memperlancar peredaran darah.⁽⁷⁾ Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa rebusan daun kitolod efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 17,18 mm (daya hambat kuat).⁽⁸⁾ Hasil ini menunjukkan bahwa tumbuhan kitolod memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Komposisi fitokimia dari daun, akar dan bunga tumbuhan kitolod dilaporkan mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan juga steroid berdasarkan ekstraksi menggunakan pelarut kloroform dan methanol.⁽⁹⁾ Namun, hasil dari penelitian uji fitokimia dapat bervariasi, tergantung dari jenis pelarut yang digunakan. Kandungan antioksidan juga dilaporkan pada ekstrak bunga tumbuhan kitolod yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan nilai IC₅₀ sebesar 79,67 ppm.

Berdasarkan beberapa penelitian mengenai uji tumbuhan kitolod dimulai dari bagian bunga, daun, akar, terdapat bagian organ tumbuhan kitolod yang masih sangat jarang diteliti, yaitu bagian batang. Bagian batang kitolod sejauh ini belum diteliti kandungan senyawa aktifnya. Maka dari itu, usulan penelitian ini akan difokuskan untuk meneliti aktivitas antibakteri, antioksidan, dan skrining fitokimia dari batang tanaman kitolod.

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan tambahan informasi yang berguna terkait potensi farmakologis dari batang tanaman kitolod.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Fakultas Pertanian Universitas Warmadewa. Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan, yaitu dari bulan Januari 2024 hingga Mei 2024.

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah batang muda dan tua dari tumbuhan kitolod (*Isotoma longiflora*) sebanyak 3 kg yang diperoleh dari Desa Peguyangan Kangin, Kecamatan Denpasar Utara, Kota Denpasar Utara, Provinsi Bali. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etil-asetat pro analisa. Bahan yang digunakan adalah Luria Bertani (LB agar), kultur bakteri *Streptococcus mutans* FNCC 0405, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, pereaksi Dragendorff, HCl, alkohol, magnesium, FeCl₃, levofloxacin.

Adapun alat-alat yang diperlukan dalam penelitian adalah tabung reaksi, lab ukur, timbangan, spektrometer, *rotary evaporator*, erlenmeyer, gelas becker, gelas ukur, alat pengaduk, spatula, cawan petri, spritus, *laminar air flow*, *gloves*, masker, mikropipet, bluetip, *cotton swab*, neraca analitik, kertas cakram, jarum ose, kapas, oven, inkubator, vortex, dan jangka sorong.

Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini berjenis kualitatif eksploratif dan eksperimental laboratorium. Simplisia tumbuhan kitolod (*I. longiflora*) bagian batang akan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut yaitu etil-asetat. Hasil dari ekstrak dilakukan pengujian uji antibakteri, skrining fitokimia dan uji antioksidan. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *Kirby-Bauer* atau difusi cakram dengan empat bakteri uji, yaitu Gram positif, *S. mutans* FNCC 0405,

S. aureus ATCC 25923 dan bakteri Gram negatif *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603. Skrining fitokimia yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin dengan pereaksi warna yang sesuai. Uji aktivitas antioksidan akan dilakukan dengan metode DPPH.

Prosedur Penelitian Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel spesifiknya dilakukan di Perumahan Dosen Kopertis, Jalan Gutiswa V, Gang Mertasari 3A, Kecamatan Denpasar Utara, Provinsi Bali (8,61110° S, 115,23007° E). Pengambilan sampel dilakukan dengan memilih dan mengambil batang yang muda maupun tua dengan syarat, segar, tidak berlubang atau layu, dan tidak tercemar hama.

Pembuatan Simplisia

Batang tumbuhan kitolod segar sebanyak 3 kg dikumpulkan lalu dilakukan sortasi basah yaitu dengan memisahkan tumbuhan kitolod dari bahan asing lainnya seperti kotoran atau bahan tanaman lain. Batang yang telah terkumpul dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Pencucian tumbuhan dilakukan dengan air yang mengalir dari kran, setelah dicuci bersih lalu ditiriskan, dan dikeringkan hingga kadar air kurang dari 10% menggunakan alat oven dengan suhu kurang lebih 40°C.

Simplisia kering selanjutnya disortasi untuk memisahkan benda-benda asing yang terjadi selama pengeringan. Simplisia kering lalu diserbu dengan menggunakan blender. Serbuk dari simplisia selanjutnya disimpan di dalam toples plastik untuk mencegah kelembaban dan pengotoran lainnya sebelum diekstraksi.

Medode Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut semi polar yaitu etil-asetat.⁽¹⁰⁾ Simplisia dari batang kitolod yang digunakan sebanyak 100 gram kemudian dilakukan maserasi dengan menggunakan etil-asetat sebanyak 500 mL hingga tercapai rasio 1:5 (m/v).⁽¹¹⁾ Maserasi

ulang dilakukan dengan pelarut yang sama selama 1 x 24 jam diselingi sesekali diaduk, kemudian maserat dipisahkan dari residu menggunakan corong *Buchner* dan selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Setelah dilakukan penguapan akan didapatkan ekstrak kasar etil asetat batang kitolod (konsentrasi 100%). Ekstrak kasar tersebut lalu diencerkan menggunakan larutan etil-asetat untuk mendapatkan konsentrasi yang bervariasi, yaitu 25%, 50%, 75%, 100%. Jumlah larutan etil-asetat yang akan digunakan untuk pengenceran dihitung dengan menggunakan rumus perbandingan volume dan konsentrasi ($V1.M1 = V2.M2$). Keterangan dari rumus tersebut adalah, $V1$ = volume awal ekstrak, $M1$ = konsentrasi awal ekstrak, $V2$ = volume akhir yang dituju, $M2$ = konsentrasi akhir yang dituju. Tujuan dari pengenceran adalah untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak yang berbeda beda sesuai dengan nilai konsentrasi yang akan diujikan.

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dari batang tumbuhan kitolod dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan berwarna kuning atau coklat muda akan mengindikasikan adanya senyawa alkaloid.

Uji Flavonoid

Sejumlah 0,5 gram ekstrak *I. longiflora* diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 1 ml HCl pekat dan 2 ml alkohol pada sampel. Sampel kemudian dikocok dan diamati perubahan yang terjadi. Adanya kandungan flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan.⁽¹²⁾

Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan menggunakan 0,5 g ekstrak yang dituangkan ke dalam tabung reaksi lalu dicampur dengan air panas. Setelah itu

didinginkan, dikocok selama kurang lebih 15-20 detik. Selanjutnya, ditambahkan larutan HCl. Adanya kandungan tanin ditandai dengan munculnya busa.⁽⁹⁾

Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan mencampurkan 0,5 gram ekstrak dengan 3 tetes larutan FeCl3 1%. Jika terbentuk warna hijau kehitaman, maka menunjukkan adanya kandungan tanin.⁽¹³⁾

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Batang Kitolod Sterilisasi Alat

Sebelum digunakan, alat yang ada harus dicuci sampai bersih dan dikeringkan lalu ditutup rapat dengan kapas dan kertas perkamen. Alat selanjutnya dimasukkan ke dalam autoklaf ditutup rapat dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Media Luria Bertani (LB)

Media agar LB atau Luria Bertani agar disiapkan dengan cara menimbang 10 gram/L peptone, 5 gram/L yeast extract, 10 gram/L NaCl, 20 gram/L bacto agar dan aquadest hingga volume 1 liter. Media LB agar disterilkan menggunakan alat autoklaf selama kurang lebih 15 menit di suhu 121°C. Media LB steril didiamkan hingga mencapai suhu hangat kuku, kemudian dituangkan sebanyak 25 mL pada setiap cawan petri steril hingga memadat. Media LB agar disimpan di dalam kulkas dengan posisi tutupnya menghadap kebawah atau *upside down*.

Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 200 μ L dari setiap bakteri uji yaitu: *S. mutans* FNCC 0405, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, dan *K. pneumoniae* ATCC 700603 akan dipipet dan disebar pada media LB agar. Suspensi bakteri uji kemudian akan disebar merata pada media LB agar menggunakan *hockey stick* steril. Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian empat konsentrasi ekstrak etil asetat yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%. Untuk setiap ekstrak yang diuji akan disiapkan sebanyak tiga kertas cakram steril berdiameter 6 mm yang berfungsi

sebagai ulangan. Setiap cakram steril akan diteteskan 20 μ L ekstrak kasar kitolod masing-masing dengan konsentrasi yang bervariasi. Kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak kasar etil-asetat akan dipindahkan pada LB agar dalam cawan petri yang sudah berisi suspensi bakteri uji. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi *upside down*. Kontrol positif akan menggunakan antibiotik levofloxacin dan kontrol negatifnya adalah etil-asetat. Adanya daya hambat setelah masa inkubasi dicirikan dari terbentuknya zona bening pada kertas cakram di sekitar koloni bakteri uji. Diameter zona bening didapatkan dari rata-rata hasil pengukuran setiap kertas cakram sebanyak empat kali menggunakan jangka sorong digital.

Uji Kandungan Antioksidan

Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Prinsip kerjanya adalah menilai peredaman radikal bebas dengan menggunakan pelarut 1,1-dyphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Proses ini dimulai dengan memasukkan 4 mL ekstrak etil-asetat batang kitolod dengan konsentrasi sebesar 20-100 ppm ke dalam tabung reaksi. Ekstrak selanjutnya dicampurkan dengan 1 mL DPPH (0,25 mM) dan dihomogenkan menggunakan vortex. Campuran diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansi larutannya menggunakan spektrofotometer *UV-visible*.

Uji antioksidan dalam penelitian ini menggunakan kontrol negatif etil-asetat dan kontrol positif vitamin C. Besarnya aktivitas antioksidan diukur dalam setiap satu persen inhibisi dihitung dengan parameter persen inhibisi, dengan rumus:

$$(\%) \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol (Ac)} - \text{Absorbansi sampel (At)}}{\text{Absorbansi kontrol (Ac)}} \times 100$$

Ada atau tidaknya kandungan antioksidan dalam suatu senyawa dapat dilihat berdasarkan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dapat menghambat 50% dari radikal bebas DPPH. Nilai $IC_{50} < 50$ artinya kuat, $IC_{50} 100-250$ artinya sedang, $IC_{50} 251-500$ artinya lemah.⁽¹⁴⁾

HASIL

Ekstraksi Batang Kitolod

Proses ekstraksi batang kitolod dilakukan sebanyak tiga kali, karena ekstrak kental pada maserasi pertama dan kedua kurang, sehingga dilakukan ekstraksi ketiga. Pada ekstraksi pertama bubuk batang kitolod sebanyak 100 gr dimerasi dengan 500 ml etil asetat dengan perbandingannya adalah 1:5 (b/v), dihasilkan ekstrak kental batang kitolod sebanyak 3,2 gr. Ekstraksi kedua dilakukan dengan menggunakan 100 gr bubuk kitolod yang dimerasi dengan 500 ml etil asetat dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 1,2 gr. Pada ekstraksi ketiga digunakan bubuk lebih banyak, yaitu sebesar 300 gr, lalu dimerasi dengan etil asetat sebanyak 1.500 ml dan didapatkan hasil ekstrak kental sebesar 8,3 gr. Hasil dari ekstrak tersebut selanjutnya digunakan untuk uji antibakteri, skrining fitokimia dan uji antioksidan.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Senyawa yang diuji dalam skrining fitokimia adalah alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 1, didapatkan bahwa ekstrak batang kitolod positif mengandung senyawa alkaloid, dilihat dari adanya perubahan warna menjadi coklat muda, baik pada ekstrak dengan pengenceran dan tanpa pengenceran. Senyawa flavonoid mendapatkan hasil positif, dilihat dari adanya perubahan warna menjadi jingga, baik pada ekstrak dengan pengenceran dan tanpa pengenceran. Senyawa tanin mendapatkan hasil positif, dilihat dari adanya perubahan warna hijau kehitaman, baik pada ekstrak dengan pengenceran dan tanpa pengenceran. Pada senyawa saponin didapatkan hasil negatif, dilihat dari tidak terbentuknya busa tabung reaksi, baik pada ekstrak dengan pengenceran dan tanpa pengenceran. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Batang Kitolod dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Batang Kitolod

Jenis Uji	Tanpa pengenceran	Dengan pengenceran
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	-	-

Skrining Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian antibakteri menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi (25%, 50%, 75%, 100%) ekstrak etil asetat

batang tumbuhan kitolod tidak memiliki kemampuan daya hambat antibakteri pada bakteri uji Gram positif dan Gram negatif.

Pada pengujian kontrol positif levlofoxacin di masing-masing bakteri uji, ditemukan adanya daya hambat antibakteri dengan kategori sangat kuat. Pada pengujian kontrol negatif dengan larutan etil asetat tidak ditemukannya daya hambat terhadap uji bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak batang kitolod dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil

No	Konsentrasi dan Kontrol	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. mutans</i> FNCC 0405	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603
1.	100%	0	0	0	0
2.	75%	0	0	0	0
3.	50%	0	0	0	0
4.	25%	0	0	0	0
5.	Levofloxacin	30,89±1,78	28,05±0,21	18,75±0,32	29,64±1,34
6.	Etil Asetat	0	0	0	0

Skrining Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak batang kitolod dilakukan dengan metode DPPH. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat dievaluasi melalui nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*), yang menunjukkan konsentrasi senyawa yang dapat menghambat 50% aktivitas DPPH. Tingkat kekuatan antioksidan suatu

senyawa diklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} kurang dari 50 menunjukkan kekuatan sangat kuat, 50-100 menunjukkan kuat, 100-250 menunjukkan sedang, dan 251-500 menunjukkan lemah.⁽¹⁴⁾ Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak batang kitolod dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Batang Kitolod

Ulangan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	IC_{50} (ppm)	Aktivitas Antioksidan
1	20	0,470	1,053	393847,22	Sangat lemah
	40	0,458	3,579		
	60	0,447	5,859		
	80	0,430	9,474		
	100	0,415	12,632		
2	500	0,478	15,398	2752,94	Sangat lemah
	1000	0,42	25,664		
	1500	0,367	35,044		
	2000	0,306	45,841		
	2500	0,255	54,867		
	3000	0,208	63,186		
	3500	0,168	70,265		

PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Batang Kitolod

Skrining fitokimia adalah proses mengidentifikasi senyawa aktif yang ada di dalam suatu sampel.⁽¹⁵⁾ Terdapat beberapa metode skrining fitokimia, yaitu secara kuantitatif, kualitatif dan semi kuantitatif. Dalam proses skrining fitokimia, hal terpenting yang harus diperhatikan adalah pelarut. Pelarut memiliki peran yang sangat penting terhadap hasil dari skrining fitokimia, karena bila menggunakan pelarut yang kurang tepat, maka senyawa aktif dalam tanaman tidak akan terekstraksi dengan baik.⁽¹⁶⁾ Penelitian lain menjelaskan bahwa hasil ekstrak etanol daun lada menunjukkan rendemen yang lebih tinggi (24,64%) dibandingkan dengan ekstrak etil asetat (9,18%).⁽¹⁷⁾ Penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa aktif kurang terekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Hal ini mengindikasikan bahwa pemilihan pelarut sangat mempengaruhi jumlah dan jenis senyawa yang diekstraksi. Selain faktor pelarut, faktor dari bagian tumbuhan yang dijadikan sampel juga memainkan faktor penting.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Aprilia et al terdapat kandungan senyawa aktif flavonoid dan vitamin C pada daun kitolod.⁽¹⁸⁾ Sedangkan, pada penelitian lainnya dibuktikan bahwa tidak terdapat senyawa aktif vitamin C di dalam batang kitolod.⁽¹⁹⁾ Hal tersebut diduga terjadi karena daun adalah tempat dilakukannya proses metabolisme pada tumbuhan, sehingga ditemukan banyak metabolit sekunder dibandingkan bagian tumbuhan yang lain.⁽¹⁹⁾

Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia dengan dua metode yaitu dengan pengenceran dan tanpa pengenceran. Metode dengan pengenceran dilakukan karena hasil ekstrak kental batang kitolod sangat pekat, sehingga dikhawatirkan hasilnya akan menjadi bias dan dominan berwarna hijau. Untuk itu dilakukan pengukuran kandungan fitokimia dengan membandingkan ekstrak sebelum dan sesudah diencerkan.

Hasil skrining fitokimia baik dengan

metode pengenceran maupun tanpa pengenceran menunjukkan hasil yang hampir serupa, hanya terdapat perbedaan hasil pada senyawa tanin. Pada hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat batang kitolod terbukti mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid. Hal tersebut ditandai dengan adanya perubahan warna atau endapan berwarna coklat muda. Hasil positif senyawa alkaloid tersebut diduga karena struktur ikatan hidrogen pada pelarut etil-asetat yang digunakan lebih kuat, sehingga pelarut etil asetat mampu menarik senyawa alkaloid di dalam batang tumbuhan kitolod.⁽⁹⁾ Secara farmakologis, senyawa alkaloid dapat berperan sebagai antijamur dengan mekanisme masuk kedalam dinding sel jamur dan DNA jamur, sehingga pertumbuhan dari jamur dapat terganggu.⁽²⁰⁾

Hasil dari skrining fitokimia berikutnya menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat batang kitolod mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, baik dengan metode pengenceran maupun tanpa pengenceran. Hasil positif tersebut ditunjukkan dengan adanya perubahan warna hijau menjadi kuning. Secara umum, flavonoid dikenal dapat berikatan dengan gula membentuk glikosida, yang membuat senyawa ini mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol dan methanol.⁽⁹⁾ Selain itu, flavonoid juga efektif dalam menarik senyawa semipolar seperti etil asetat yang digunakan dalam penelitian ini.⁽²¹⁾ Dengan demikian, senyawa flavonoid dapat terlarut dalam ekstrak etil asetat dari batang tumbuhan kitolod. Secara farmakologis, flavonoid memiliki sifat antimikroba yang dapat menghambat masuknya jamur, virus dan bakteri yang berbahaya bagi tubuh. Flavonoid juga berperan sebagai antibiotik dengan cara mengganggu hidup dari mikroorganisme, melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas sel, serta memiliki efek antiinflamasi.⁽²²⁾

Hasil penelitian lain menunjukkan ekstrak etil asetat batang tumbuhan kitolod positif mengandung senyawa saponin. Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya busa setelah beberapa saat. Busa tersebut dapat dihasilkan karena saponin terdiri dari

dua jenis gugus, yaitu hidrofilik dan hidrofobik.⁽²³⁾ Posisi gugus penyusun dalam senyawa saponin dapat berubah akibat peningkatan kepolaran yang disebabkan oleh penambahan larutan HCl. Struktur misel terbentuk ketika gugus hidrofilik mengarah ke luar sementara gugus hidrofobik mengarah ke dalam.⁽²¹⁾ Perubahan ini menyebabkan munculnya busa dalam ekstrak yang mengandung saponin.

Senyawa yang tidak terkandung dalam ekstrak etil setat batang tumbuhan kitolod adalah tanin. Hal tersebut dibuktikan dengan tidak adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Tanin merupakan senyawa fenolik yang memiliki gugus hidroksil (OH-) aromatik.⁽²⁴⁾ Gugus ini akan bereaksi dengan FeCl₃ lalu menghasilkan warna biru, ungu, merah, atau hitam pekat.⁽²⁵⁾ Keberadaan gugus hidroksil membuat senyawa tanin bersifat semakin polar, sehingga cenderung larut dalam pelarut polar. Sehingga pelarut etil asetat yang bersifat semipolar tidak mampu menarik senyawa tanin yang terkandung di dalam batang tumbuhan kitolod. Hal lain yang dapat diperkirakan adalah karena gugus hidroksil pada tanin tidak dapat membentuk ikatan dengan gugus metoksil atau hidroksil yang ada pada pelarut etil asetat.⁽¹⁵⁾ Senyawa tanin memiliki fungsi untuk mengendapkan dan mengikat protein. Secara farmakologis, tanin dapat berfungsi sebagai antibakteri seperti mengobati diare, merawat penyakit ambeien, menghentikan proses pendarahan aktif, serta berkhasiat sebagai antioksidan.⁽²⁶⁾

Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Batang Kitolod

Skrining antibakteri bertujuan untuk mengevaluasi potensi suatu ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri.⁽²⁷⁾ Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat batang kitolod dilaksanakan dengan menerapkan metode *Kirby-Bauer*. Metode *Kirby-Bauer* merupakan pendekatan yang cukup sederhana dan ekonomis, karena hanya memerlukan kertas cakram sebagai bahan utama. Parameter yang diukur dalam metode ini adalah munculnya zona hambat

(zona bening) di sekitar cawan petri, yang mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri.⁽¹⁸⁾ Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik levofloxacin, yang termasuk dalam golongan obat quinolone dan memiliki spektrum spektrum antibakteri yang luas terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja levofloxacin melibatkan penghambatan enzim DNA gyrase pada bakteri, yang berakibat pada penghentian replikasi DNA.⁽²⁸⁾ Antibiotik levofloxacin dapat digunakan sebagai terapi infeksi saluran pernapasan, seperti pneumonia, bronkitis, infeksi saluran kemih seperti pielonefritis, infeksi kulit dan infeksi prostat. Pelarut etil asetat digunakan sebagai kontrol negatif selama proses maserasi untuk memastikan bahwa pelarut tersebut tidak memberikan efek antibakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada seluruh konsentrasi ekstrak etil asetat batang tumbuhan kitolod dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%, dengan tiga kali pengulangan, tidak ditemukan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak terdapat aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* ATCC 25923 dan *S. mutans* FNCC 0405, serta bakteri Gram negatif, *E. coli* ATCC 25922 dan *K. pneumoniae* ATCC 700603. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena terdapat pengaruh dari pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan metabolit sekunder yang terkandung pada bagian tanaman yang dipilih sebagai sampel.⁽²⁹⁾

Penelitian lain melaporkan bahwa daun kitolod yang diekstrak dengan pelarut etanol memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *S. aureus*, yaitu terbentuk diameter zona hambat sebesar 13 mm pada konsentrasi 70%. Hal tersebut dikarenakan pelarut yang digunakan bersifat polar, sehingga mampu untuk menarik metabolit aktif secara sempurna.⁽³⁰⁾ Sebagai perbandingan, penelitian lainnya melaporkan bahwa daun kitolod yang diekstrak dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang lemah

terhadap bakteri *S.aureus*, dengan diameter zona hambat hanya sebesar 1,708 mm pada konsentrasi 75%. Hal tersebut disebabkan oleh karena pelarut etil asetat bersifat semipolar. Pelarut semipolar memiliki konstanta dielektrik yang lebih rendah dari pelarut polar namun lebih tinggi dari pelarut nonpolar.⁽³¹⁾ Konstanta dielektrik yang lebih rendah pada pelarut semipolar dapat mempengaruhi kemampuannya dalam melarutkan senyawa kimia, maka hal ini dapat menjadi penyebab pelarut etil asetat tidak mampu menarik senyawa metabolit aktif lebih baik dari pelarut polar (ethanol).⁽³¹⁾

Terdapat faktor lain mengapa ekstrak batang kitolod tetap tidak berpotensi sebagai antibakteri meskipun terbukti mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, adalah karena kandungan atau kuantitas dari senyawa flavonoid tidak terdeteksi dan tidak dilakukan pada penelitian ini, sehingga tidak dapat diketahui berapa kadar minimal senyawa flavonoid agar bisa berpotensi sebagai antibakteri.

Selain faktor pelarut, struktur dinding sel bakteri juga dapat mempengaruhi hasil uji antibakteri. Penelitian melaporkan skrining antibakteri menggunakan sampel bunga dan buah kitolod terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.⁽¹⁸⁾ Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk saat skrining antibakteri meskipun dalam konsentrasi ekstrak yang sama. Pada bakteri uji *S.aureus*, ekstrak bunga kitolod dapat membentuk zona hambat sebesar 13,25 mm, sedangkan pada saat uji bakteri *E. coli* terbentuk diameter zona hambat lebih kecil, yaitu hanya sebesar 7 mm. Hal tersebut disebabkan karena struktur dinding sel bakteri *S. aureus* memiliki dinding berlapis tunggal dan sederhana sehingga dapat memudahkan masuknya zat-zat antibakteri, sedangkan bakteri *E. coli* memiliki struktur dinding sel berlapis tiga, sehingga mempersulit masuknya zat-zat antibakteri.⁽¹⁸⁾ Hal tersebut sejalan dengan hasil uji antibakteri ekstrak etil asetat batang kitolod yang tidak menunjukkan adanya potensi antibakteri terhadap bakteri

S. aureus dan *E.coli*.

Selain pengaruh pelarut dan struktur dinding sel bakteri, pemilihan bagian tumbuhan untuk dijadikan sampel memiliki peran yang sangat penting dalam mempengaruhi hasil. Hal tersebut disebabkan karena kandungan metabolit sekunder pada setiap bagian tumbuhan berbeda-beda. Penelitian oleh Yuliani et al⁽³²⁾ melaporkan bahwa bagian daun cendrung berpotensi lebih tinggi sebagai antibakteri, karena mengandung metabolit sekunder dengan jumlah yang banyak. Hal tersebut disebabkan oleh karena proses pembentukan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid dan saponin terjadi pada bagian daun, sehingga bagian daun berpotensi lebih tinggi sebagai antibakteri dibandingkan bagian tanaman lainnya.⁽³²⁾ Hal ini yang dapat menjadi kemungkinan tidak adanya potensi antibakteri pada bagian batang kitolod, meskipun diuji terhadap bakteri dengan struktur perlindungan sel yang lemah.

Skrining Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Batang Kitolod

Antioksidan adalah suatu molekul yang dapat menghambat proses oksidasi. Antioksidan dapat berupa zat alami maupun buatan, selain dapat menghambat proses oksidasi, antioksidan dapat mencegah kerusakan atau perburukan suatu sel.⁽²⁷⁾ Berdasarkan pengujian antioksidan, terdapat prinsip peningkatan konsentrasi ekstrak akan mengakibatkan penurunan absorbansi sampel dan peningkatan % inhibisi. Hal ini terjadi karena semakin banyak senyawa dalam ekstrak yang dapat menghambat radikal bebas DPPH. Persen inhibisi yang juga mencerminkan aktivitas antioksidan adalah parameter yang digunakan untuk menunjukkan efektivitas suatu antioksidan dalam menetralkan radikal bebas.⁽³³⁾ Tinggi atau rendahnya kandungan antioksidan dalam suatu senyawa dapat dilihat dari nilai IC₅₀. Kandungan antioksidan sangat kuat ditandai dengan IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kandungan antioksidan kuat, ditandai dengan nilai 50-100 ppm, kandungan

antioksidan lemah ditandai dengan nilai 251-500 ppm, dan kandungan antioksidan sangat lemah ditandai dengan nilai diatas 500 ppm.⁽¹⁴⁾

Berdasarkan hasil uji antioksidan, ekstrak etil asetat batang tumbuhan kitolod memiliki kandungan antioksidan yang sangat lemah, yaitu berada pada nilai 393847,22 ppm pada ulangan pertama, dan 2752,94 ppm pada ulangan kedua. Kandungan antioksidan yang sangat lemah dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti kurangnya konsentrasi ekstrak dan kurangnya kepolaran dari pelarut. Selain itu, potensi kandungan antioksidan dipengaruhi oleh bagian tanaman yang akan digunakan sebagai sampel dan tempat hidup tanaman yang akan digunakan sebagai sampel. Lemahnya kandungan antioksidan dapat disebabkan karena tidak terkandungnya metabolit sekunder pada bagian tanaman yang akan dijadikan sampel.⁽³⁴⁾ Pada penelitian ini contohnya adalah batang.

Penelitian mengenai tumbuhan kitolod, melaporkan bahwa daun tumbuhan kitolod memiliki kandungan antioksidan yang lebih kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 75,69 ppm, dibandingkan dengan bagian batang dan akar kitolod dengan nilai IC₅₀ sebesar 87,30 ppm dan 101,81 ppm.⁽³⁴⁾ Hal tersebut disebabkan karena bagian daun tumbuhan kitolod memiliki kadar flavonoid dan senyawa vitamin C yang lebih tinggi (sebesar 22,82 ppm), dibandingkan dengan bagian batang (sebesar 12,90 ppm) dan bagian akar (sebesar 12,46 ppm). Hal tersebut yang menjadi alasan mengapa bagian batang kitolod memiliki kandungan antioksidan yang lebih rendah dibandingkan bagian daun.⁽³⁴⁾

Selain pengaruh dari bagian tanaman, faktor lokasi tumbuhnya tanaman juga menjadi peran penting. Tumbuhan kitolod yang hidup di dataran rendah memiliki kandungan metabolit sekunder flavonoid dan vitamin C yang lebih tinggi yaitu 22,82 + 0,99 mg/L, karena dengan adanya sinar matahari yang lebih terik dapat memungkinkan daun kitolod melakukan proses fotosintesis secara optimal.⁽³²⁾ Proses fotosintesis tersebut akan menghasilkan

metabolit sekunder seperti flavonoid yang berfungsi untuk membasmi radikal bebas.⁽³⁵⁾

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu proses penyelesaian penelitian ini. 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. Munasir Z. (2016). Respons Imun Terhadap Infeksi Bakteri. *Sari Pediatri*.2(4).
2. Murray Cj, Ikuta Ks, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, *Et Al.* (2022) *Global Burden Of Bacterial Antimicrobial Resistance In 2019: A Systematic Analysis*. *The Lancet*. 12;399 (10325):629–55.
3. Utami Er. (2011). Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi. Sainstis.
4. Setiawan A. (2022) Keanekaragaman Hayati Indonesia: Masalah Dan Upaya Konservasinya. *Indonesian Journal Of Conservation*. 30;11:13–21.
5. Dewantoro Ai, Putri Sh, Mardawati E. (2021). Kandungan Polifenol Total dan Aktivitas Fotoprotektif Ekstrak Daun Kitolod Menggunakan Metode Kuantifikasi Spektrofotometri. In: Seminar Nasional Teknologi Industri Pertanian.
6. Arifin H, Alwi Ti, Aisyaharma O, Juwita Da. (2018). Kajian Efek Analgetik Dan Toksisitas Subakut Dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora L.*) Pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*.5(2).
7. Winneta S, Kristiani Ebe. (2021). Kandungan Senyawa Antioksidan Pada Daun, Bunga Serta Buah Tumbuhan Kitolod (*Isotoma*

-
- Longiflora). Jurnal Sinasis. 2(1).
8. Mareintika R. (2021). Uji Efek Pemberian Antibakteri Ekstrak Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* (L) Presl. Terhadap *Staphylococcus Aureus*. Jurnal Mediuka Hutama. 2 (4).
9. Permana A, Aulia Sd, Azizah Nn, Ruhdiana T, Suci Se, Izzah Inl, *et al.* (2022). Artikel Review : Fitokimia Dan Farmakologi Tumbuhan Kitolod (*Isotoma Longiflora Presi*). Jurnal Buana Farma. 2(3).
10. Wahyuni S, Marpaung P. (2020). *Determination Of Total Alkaloid Levels Extracts Of Akar Kuning (Fibraurea Chloroleuca Miers) Based On The Differences Of Ethanol Concentrations By Spectrofotometry Uv-Vis Method*. Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia. 3(2).
11. Putri Nm, Wiraningtyas A, Mutmainah Pa. (2021). Perbandingan Metode Ekstraksi Senyawa Aktif Daun Kelor (*Moringa Oleifera*): Metode Maserasi dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE). Dalton : Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia. 4(2).
12. Purwati S, Lumora Svt, Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana Camara L*) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura Di Kalimantan Timur. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2017.
13. Marlina Sd, Suryanti V, Suyono S. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule Jacq. Swartz.*) Dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi. 3(1):26–31.
14. Kumar V, Abbas Ak, Aster Jc, Deyrup At, Das A, Robbins Sl. (2022). (Stanley L. Robbins & Kumar Basic Pathology (11th Ed.). Elsevier.
15. Putri D, Lubis S. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum Rubiginosum* (Roxb.) Blum). Amina. 2 (3)(3).
16. Anak Agung Istri M, Ni Nyoman Wu, Ni Made Dss, Ni Komang Msdy. (2023). Studi Literatur : Pengaruh Penggunaan Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Alkaloid, Flavonoid, Tannin Dan Saponin Ekstrak Rimpang Kunyit Hitam (*Curcuma Caesia Roxb.*). Emasains : Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains. 12(2).
17. Hartati H, H Pagarra. (2019) Perbedaan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Lada (*Piper Nigrum L*) Terhadap Aktivitas Antimikroba. Sainsmat: Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam. Vii(1).
18. Aprilia L, Sari An, Nurhayati N. (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).
19. Zannah H, Zahroh S, R E, Sudarti, Trapsilo P. (2023). Peran Cahaya Matahari Dalam Proses Fotosintesis Tumbuhan. Cermin: Jurnal Penelitian. 7(1).
20. Maisarah M, Chatri M, Advinda L, Violita. (2023). *Characteristics And Functions Of Alkaloid Compounds As Antifungals In Plants*. Serambi Biologi. 8(2).
21. Yanah S. (2020). Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Profil Kromatografi Lapis Tipis Pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga L.*). Jurnal Pharmacy.
22. Robbihi Hi. (2020). Kajian Manfaat Kemangi (*Ocimum Basilicum*) Terhadap Halitosis. Jurnal Ilmiah Keperawatan Gigi. 1(1).
23. Firawati F. (2018). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Butanol Daun Majapahit (*Crescentia Cujete*) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri Infra Merah. Celebes Biodiversitas: Jurnal Sains Dan Pendidikan Biologi. 1(2).
24. Hersila N. (2023). Senyawa
-

- Metabolit Sekunder (Tanin) Pada Tanaman Sebagai Antifungi. *Jurnal Embrio*. 15(1).
25. Hidjrawan Yusi. (2018). Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*). *Jurusen Teknik Industri*. 4(2).
26. Zahra Aa, Lau Dc, Wahyudi Ny, Nanda Ayd, Nibullah Sg, Mierza V. (2023). Identifikasi Senyawa Tanin Pada Tumbuhan Rambutan. *Jurnal Pendidikan Dan Konseling*. 5(1).
27. Rustiana. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Biji Labu Kuning. Karya Tulis Ilmiah. (Universitas Muhammadiyah Yogyakarta).
28. Ulfa Mei Saroh D, Hadi P. (2016). Uji Beda Sensitivitas Seftriakson Dengan Levofloksasin Pada Kuman *Neisseria Gonorrhoeae* Secara *In Vitro*. 5(4):665–71.
29. Ningsih Is, Chatri M, Advinda L, Violita. (2023). *Flavonoid Active Compounds Found In Plants* Senyawa Aktif Flavonoid Yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*. 8(2).
30. Angganawati Rt, Nisa Tcn. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora L.*) C, Prest Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dengan Kontrol Antibiotik Ofloxacin. *Jurnal Farmasindo*. 3(1).
31. Yuliani H, Indra M. (2019). Efek Perbedaan Pelarut Terhadap Uji Toksisitas Ekstrak *Pineung Nyen Teusale*. Vol. 6, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*.
32. Safrina D, Priyambodo Wj. (2018). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Dan Pengeringan Terhadap Flavonoid Total Sambang Colok (*Iresine Herbstii*). *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*. 15(3).
33. Pratiwi Ah. (2020). *Jurnal Biologi Makassar Analisis Kadar Antioksidan Pada Ekstrak Daun Binahong Hijau Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis Analysis Of Antioxidant Levels In Green Binahong Leaf Extract Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis*.
34. Lestari S, Nur Septiyani B, Proklamasiningsih E. (2024). Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Kitolod (*Hippobroma Longiflora L.*) Pada Ketinggian Tempat Tumbuh Berbeda. *Flavonoid Content And Antioxidant Activity Of Kitolod (Hippobroma Longiflora L.) At Different Altitude*. 13(2):212–8.
35. Lallo S, Lewerissa Ac, Rafi'i A, Usmar U, Ismail I, Tayeb R. (2022). Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia Galanga L.*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 23(3).