

Penentuan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Rukam terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Baiq Nabila Alifia Khairani, Anggit L. Sunarwidhi, Neneng Rachmalia Izzatul M.

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

Article history:

Received:

Revised:

Accepted:

*Corresponding Author:

Baiq Nabila Alifia K.,
Universitas Mataram, Mataram,
Indonesia; Email:

nabilalifia07@gmail.com

Abstrak: Studi etnobotani menunjukkan bahwa buah rukam () adalah tanaman lokal Indonesia yang secara tradisional digunakan oleh masyarakat sebagai obat diare, gonore, dismenore, disentri, serta bengkak pada kelopak mata akibat infeksi bakteri. Ekstrak metanol buah rukam telah dilaporkan mengandung senyawa polifenol yang dapat berperan sebagai antibakteri. Dalam ekstraksi senyawa fenolik yang sebagian besar bersifat polar, penggunaan pelarut polar seperti etanol 70% dapat memaksimalkan hasil ekstraksi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar fenolik total ekstrak etanol buah rukam dan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* adalah bakteri yang dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran pencernaan, infeksi jaringan lunak dan kulit. Buah rukam diekstraksi dengan pelarut etanol 70% kemudian kadar fenolik totalnya ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan asam galat sebagai standar. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah rukam diuji dengan metode difusi cakram. Kelompok uji terdiri dari kontrol positif (kloramfenikol), kontrol negatif (DMSO 10%), dan 3 variasi konsentrasi ekstrak etanol buah rukam (20%; 60%; 100% b/v). Rata-rata kadar fenolik total ekstrak etanol buah rukam adalah sebesar $28,85 \pm 0,97$ mg GAE/ gr. Ekstrak etanol buah rukam konsentrasi 20%, 60% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat dengan zona hambat berturut-turut $17,50 \pm 0,43$; $15,50 \pm 0,25$; $10,42 \pm 0,38$ mm. Berdasarkan hasil uji statistika, masing-masing ekstrak memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan kontrol positif maupun negatif.

Kata kunci: Ekstrak, Kadar fenolik, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*.

Abstract: Ethnobotanical study showed that rukam fruits is an Indonesia local plant which is used traditionally to treat diarrhea, gonorrhoea, dysentery, swelling in the eyelids due to bacterial infections. Methanolic extract of rukam fruits was reported to contain some polyphenols that are capable of acting as an antibacterial agent. In extracting the phenolic compounds that mostly polar, the use of polar solvent such as ethanol 70% can maximize the extraction. This study aimed to determine the total phenolic contents in ethanolic extract of rukam fruits and its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* is a bacteria that cause several infections such as respiratory tract infections, gastrointestinal infections, soft tissues, and skin infection. Rukam fruits were extracted by ethanol 70% and total phenolic contents was determined by spectrophotometer UV-Vis with gallic acid solution as the control. Antibacterial activity of *Flacourtia rukam* was determined by disc diffusion method. Antibacterial test groups consisted of positive control (chloramphenicol 1%), negative control (DMSO 10%), and three different concentrations of rukam fruit ethanolic extract (20%; 60%; 100% w/v). The average value of total phenolic contents in ethanolic extract of *Flacourtia rukam* was $28,85 \pm 0,97$ mg GAE/ gr. Each concentration of 20%, 60%, 100% w/v rukam fruit ethanolic extract has strong antibacterial activities with inhibition zones serially $17,50 \pm 0,43$; $15,50 \pm 0,25$; $10,42 \pm 0,38$ mm. The data analyzed statistically show that all concentrations of Rukam fruit ethanolic extract have antibacterial activities which are significantly different to the positive and negative controls ($p < 0,05$).

Keywords: Extract, *Flacourtia rukam*, Total Phenolic Contents, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*

Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang menyumbang angka kematian tertinggi kedua di dunia (Guo et al., 2020). Berdasarkan data *World Health Organization* pada tahun 2019, 5 dari 10 penyakit penyebab kematian tertinggi di negara berkembang adalah penyakit infeksi, diantaranya: infeksi saluran pernafasan bawah, diare, malaria, tuberkulosis, dan HIV/AIDS. Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh invasi berbagai mikroorganisme ke dalam tubuh. Salah satu jenis mikroorganisme yang dapat menginfeksi manusia adalah *Staphylococcus aureus* (Sapkota et al., 2019).

S. aureus adalah patogen berbentuk kokus yang menyerang 30% populasi manusia di dunia dan menyebabkan berbagai infeksi seperti infeksi saluran pernafasan, kulit, jaringan lunak, endokarditis, dan osteoartikular (Tong et al., 2015). Tingginya prevalensi infeksi menyebabkan *S. aureus* termasuk dalam *potentially pathogenic bacteria* (PBB) (Dayu et al., 2019).

Jumlah kasus infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* meningkat dari tahun ke tahun sehingga pemilihan jenis terapi masih dianggap sulit. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* umumnya ditangani dengan pemberian antibiotik yang jika diberikan terus menerus dapat menyebabkan resistensi mikroba terhadap antibiotik (Kurniawan et al., 2021). Selain itu, kemampuan *S. aureus* dalam membentuk biofilm dan rantai multidrug resistance meningkatkan potensi terjadinya resistensi (Oliveira et al., 2018).

Resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik dapat disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah penggunaan antibiotik yang tidak rasional (Kurniawan et al., 2021). Pilihan solusi yang dapat digunakan untuk menyelesaikan masalah resistensi antibiotik adalah mencari alternatif antibiotik alami yang berasal dari bahan alam.

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi aktivitas antibakteri adalah buah rukam (*Flacourtia rukam*). Hasil skrining fitokimia buah rukam menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah rukam mengandung metabolit sekunder berupa steroid,

flavonoid, saponin, polifenol dan tanin (Chua-Barcelo, 2015). Selain itu, hasil karakterisasi metabolit pada buah rukam menunjukkan bahwa buah rukam mengandung diasilgliserol, β -sistosterol-3 β -glucopyranoside-6 β O- fatty acid esters, β -sitosterol, triasilgliserol, dan klorofil. (Ragasa et al., 2016).

Senyawa fenolik adalah salah satu metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja dengan merusak komponen peptidoglikan pada bakteri gram positif seperti *S. aureus* (Volk & Wheeler, 1998). Aktivitas antibakteri senyawa fenolik juga disebabkan oleh kemampuannya merusak fungsi integritas membran sitoplasma dan makromolekul pada bakteri (Jawetz, 2005).

Secara empiris, buah rukam (*Flacourtia rukam*) digunakan masyarakat turun-temurun sebagai obat penyakit diare dan bengkak pada kelopak mata yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Silalahi et al., 2019). Namun, penggunaan buah rukam secara empiris belum didukung dengan adanya bukti ilmiah terkait adanya aktivitas antibakteri yang diperkirakan berbanding lurus dengan kadar senyawa fenolik yang terkandung pada buah rukam (*Flacourtia rukam*).

Berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya, penelitian ini akan menentukan kadar fenolik total dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% buah rukam (*Flacourtia rukam*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram.

Metode Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, alat-alat pengering, blender, cawan porselen, kertas saring, wadah kaca, rak tabung reaksi, tabung reaksi, jangka sorong, timbangan analitik (Kern, German), sonikator (Elmasonic, German), water bath, (Labnet, USA), inkubator (Labnet, USA), autoklaf (Tomy, Japan), ose, spreader, pinset, bunsen, rotary evaporator (Heidolph, German), hot plate (Labnet, USA), mikropipet 100-1000 μ L (Biopette, USA), yellow, dan blue tip,

spektrofotometer UV-Visible (Analytik Jena Specord 200, German), laminar air-flow (Jisico, Korea Selatan) dan moisture content analyzer (Labnet, USA).

Bahan yang digunakan adalah buah rukam (), etanol 70% (Merck, German), akuades, reagen Folin-Ciocalteu (Merck, German), serbuk asam galat (Merck, German), spiritus, larutan *McFarland* 0.5, larutan natrium klorida 0,9% (Otsu, Jepang), kertas cakram, serbuk natrium karbonat (Merck, German), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Provinsi Nusa Tenggara Barat, larutan dimetil sulfoksida (DMSO) 10% (Merck, German), media *Nutrient Agar* (Merck, German), dan kapsul kloramfenikol (generik).

Prosedur Penelitian

- 1 Pengambilan sampel dan determinasi
Sampel diambil di Dusun Mantang, Desa Mantang, Kecamatan Batukliang, Kabupaten Lombok Tengah pada bulan Februari dengan teknik pengumpulan *purposive sampling*. Sampel buah rukam () dideterminasi di Laboratorium Biologi Lanjutan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam untuk memastikan sampel yang dikumpulkan adalah benar .
- 2 Pembuatan simplisia
Buah rukam segar yang telah dikumpulkan ditimbang, lalu disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, sampel dirajang kemudian dikeringkan dengan metode kering angin. Sampel yang sudah kering kemudian disortasi kering, dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan mesh 30. Simplisia disimpan dalam wadah tertutup diberi silica gel.
- 3 Penentuan kadar air simplisia
Kadar air pada simplisia ditentukan dengan alat *Moisture Content Analyzer*. Simplisia ditimbang sebanyak 5 gram kemudian diletakkan ke dalam cawan alumunium pada alat dengan cara disebar ke seluruh bagian cawan. Suhu alat diatur menjadi 105°C. Nilai kadar air tertera pada alat setelah

pengujian selesai dilakukan. Prosedur pengukuran kadar air direplikasi hingga 3 kali.

- 4 Ekstraksi buah rukam
Proses ekstraksi sampel dilakukan dengan metode sonikasi menggunakan alat sonikator. 500 mg serbuk simplisia buah rukam dibasahi dalam 2 L etanol 70% dan disonikasi dalam sonikator 30 °C selama 20 menit. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan 3 kali replikasi dengan menggunakan pelarut baru. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* 50 rpm 40°C. Proses pengentalan dilanjutkan dengan menggunakan waterbath 35°C. Ekstrak kental yang didapatkan ditimbang dan dihitung persen rendemennya.
- 5 Penentuan kadar fenolik total
 - a Pembuatan Larutan Pembanding Asam Galat
Larutan pembanding asam galat dibuat dengan melarutkan 25 mg asam galat pada 0,5 ml etanol p.a dan diencerkan dengan aquades hingga 50 mL. Selanjutnya larutan asam galat dihomogenkan hingga didapatkan konsentrasi larutan baku asam galat sebesar 500 ppm.
 - b Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5%
Sebanyak 3,75 gr Na_2CO_3 dilarutkan dalam 50 mL aquades kemudian dididihkan hingga homogen sehingga didapatkan larutan Na_2CO_3 7,5%.
 - c Penentuan *Operating Time*
Larutan asam galat 30 ppm diambil sebanyak 0,3 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian digojog dan dibiarkan 3 menit. Larutan Na_2CO_3 7,5% ditambahkan 1,2 mL lalu dikocok kembali hingga homogen. Larutan baku kemudian diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang 765 nm. Blanko yang digunakan adalah larutan 0,3 mL aquades, 1,5 mL

reagen Folin Ciocalteu, dan larutan Na_2CO_3 sebanyak 1,2 mL.

d Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan asam galat 30 ppm diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian digojog dan dibiarkan selama 3 menit. Larutan Na_2CO_3 7,5% ditambahkan 1,2 mL kemudian digojog kembali. Larutan baku diinkubasi selama waktu *operating time*, absorbansinya kemudian diukur pada panjang gelombang 600-850 nm. Blanko yang digunakan adalah larutan 0,3 mL aquades, 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu, dan larutan Na_2CO_3 sebanyak 1,2 mL.

e Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan asam galat dibuat dengan variasi konsentrasi 70; 60; 50; 40; 30; 20; 10 ppm dengan metode pengenceran dari larutan baku asam galat 500 ppm. Sebanyak 0,3 mL diambil dari masing-masing konsentrasi larutan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian digojog dan dibiarkan 3 menit. Larutan Na_2CO_3 7,5% ditambahkan sebanyak 1,2 mL kemudian digojog kembali. Larutan seri diinkubasi selama waktu *operating time* dan absorbansinya kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran absorbansi larutan seri konsentrasi dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali. Blanko yang digunakan adalah larutan 0,3 mL aquades, 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu, dan larutan Na_2CO_3 sebanyak 1,2 mL (Andriani & Murtisiwi, 2018).

f Penentuan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol buah rukam dilakukan dengan 50 mg ekstrak

kental ditimbang kemudian dilarutkan dengan 50 mL etanol 70%. Sebanyak 0,3 mL dari larutan dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian digojog dan dibiarkan 3 menit. Larutan Na_2CO_3 7,5% ditambahkan sebanyak 1,2 mL kemudian dikocok kembali. Larutan seri diinkubasi selama waktu *operating time* dan absorbansinya kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum. Blanko yang digunakan adalah larutan 0,3 mL aquades, 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu, dan larutan Na_2CO_3 ditambahkan sebanyak 1,2 mL. Absorbansi larutan sampel diukur dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil pengukuran absorbansi kemudian disubstitusi pada persamaan regresi kurva baku asam galat. Kadar fenolik total ditentukan dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar Fenolik Total} = \frac{C \cdot V \cdot Fp}{g}$$

Keterangan:

C : Kadar fenolik (x dalam regresi)

V : Volume ekstrak yang digunakan (mL)

Fp : Faktor pengenceran

g : Berat sampel yang digunakan (gr)

6 Uji aktivitas antibakteri

a Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas seperti cawan petri, labu erlenmeyer, gelas kimia, dan pipet tetes disterilisasi dengan metode uap menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Mikropipet disterilisasi dengan autoklaf. Alat ose dan pinset disterilisasi dengan pemijaran langsung pada api bunsen, dan tip mikropipet disterilisasi dengan sinar *ultraviolet* pada *laminar air flow*.

b Pembuatan Media *Nutrient Agar*

5 gram media *nutrient agar* dilarutkan dengan 250 mL aquades di dalam erlenmeyer. Larutan

- diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer hingga homogen selanjutnya ditutup dengan alumunium foil dan dipanaskan dengan hot plate. Media nutrient agar kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 oC. Setelah suhu media mencapai $\pm 45-50$ oC, media selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri.
- c Pembuatan Larutan Kontrol Positif
10 mg serbuk dari kapsul kloramfenikol dilarutkan dengan 1 mL larutan DMSO 10% hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/mL. Selanjutnya, 0,1 mL larutan kloramfenikol 10 mg/mL dipipet dan larutan DMSO 10% ditambahkan hingga 1 mL sehingga diperoleh kloramfenikol 1 mg/ mL atau 1%.
- d Pembuatan Larutan Uji
Variasi konsentrasi larutan uji dibagi menjadi 3 kelompok: konsentrasi tinggi (100% b/v), sedang (60% b/v) dan rendah (20% b/v). Ekstrak etanol buah rukam ditimbang 2 gr; 6 gr; dan 10 gr kemudian dilarutkan dengan 10 mL DMSO 10% hingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi masing-masing 20%, 60%, dan 100% (b/v).
- e Peremajaan Bakteri
Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode gores. Satu ose biakan murni *Staphylococcus aureus* diambil kemudian diinokulasi dengan cara digoreskan pada media *nutrient agar* yang diatur miring secara aseptik. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- f Pembuatan Suspensi Bakteri
Satu ose bakteri hasil peremajaan diambil kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL larutan NaCl 0.9% steril hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan kekeruhan standar McFarland 0,5.
- g Pembuatan Media Uji
Media uji antibakteri dibuat dengan metode *spread plate*. Media *nutrient agar* yang telah dibuat dituang ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi lalu didiamkan hingga memadat. Media padat kemudian ditambahkan 100 μ L suspensi bakteri dan diratakan ke seluruh permukaan media *nutrient agar* dengan *spreader*.
- h Uji Aktivitas Antibakteri
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah rukam terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi cakram. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 1% dan kontrol negatifnya berupa larutan DMSO 10%. 3 cakram akan digunakan untuk variasi konsentrasi larutan uji dan 2 cakram digunakan masing-masing untuk kontrol positif dan negatif. Masing-masing 10 μ L larutan uji dan larutan kontrol diteteskan pada kertas cakram. Kertas cakram kemudian dimasukkan ke dalam media uji berisi suspensi bakteri yang telah dibuat. Selanjutnya media diinkubasi kembali pada inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam. Daya hambat ekstrak diketahui dengan membandingkan hasil pengukuran diameter zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan dengan tiga kali replikasi untuk memastikan hasil uji. Zona hambat pada media diukur dengan cara mengambil garis horizontal pada 4 diagonal zona bening di sekitar *paper disc* menggunakan penggaris kemudian dibagi 4.
- 7 Analisis Data
Data hasil pengukuran kadar fenolik total dianalisis dengan metode kurva standar. Kadar fenolik total dihitung dengan memasukkan data absorbansi ke persamaan regresi linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Nilai absorbansi disubstitusi ke y dan didapatkan konsentrasi fenolik total sebesar x yang dihitung dengan rumus.

Data aktivitas antibakteri diambil dari hasil pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat. Analisis dilakukan dengan uji statistik *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95%. Uji *One Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh yang signifikan antara larutan uji berbagai konsentrasi ekstrak etanol buah rukam dan kontrol positif maupun negatif. Uji *One Way ANOVA* dilakukan jika data berdistribusi normal dan homogen. Namun jika data tidak berdistribusi normal dan homogen maka digunakan uji *Mann Whitney* sebagai pengganti. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* apabila hasil uji *One Way ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* bermakna ($p < 0,05$).

Hasil dan Pembahasan

a. Pengumpulan dan Determinasi Sampel

Sampel buah rukam sebanyak 1,9 kg diambil di Dusun Mantang, Desa Mantang, Kecamatan Batukliang, Kabupaten Lombok Tengah. Lokasi pengumpulan sampel berada pada koordinat $8^{\circ}36'48.4''S$ $116^{\circ}18'38.7''E$. Sampel buah rukam yang diambil memenuhi kriteria inklusi yaitu buah matang, berwarna merah keunguan, tidak terserang hama dan tidak busuk. Buah rukam matang memiliki karakteristik berbentuk bulat dengan perubahan warna dari hijau ke merah keunguan saat matang.

Sebelum memasuki tahap pembuatan simplisia, sampel buah rukam dideterminasi terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran sampel. Determinasi merupakan suatu proses menentukan nama atau jenis tanaman secara spesifik dengan mencocokkan ciri khasnya terhadap kunci determinasi untuk memastikan kebenaran sampel (Soemarie et al., 2017). Bagian buah, daun, batang dan akar buah rukam dideterminasi di Laboratorium Biologi Lanjutan Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam Universitas Mataram.

b. Pembuatan Simplisia Buah Rukam

Bagian *F. rukam* yang digunakan untuk membuat simplisia adalah bagian buahnya. Sampel berupa buah rukam dikumpulkan sebanyak 1,9 kg kemudian dilakukan sortasi basah. Sortasi basah adalah proses pemisahan sampel dari bahan pengotor yang terbawa saat panen, adanya pengotor dapat menurunkan kualitas simplisia yang dihasilkan. Selain itu, pemisahan dari kotoran bertujuan untuk menjaga kemurnian, mencegah kontaminasi, mengurangi cemaran mikroba (Ningsih, 2016). Selanjutnya buah rukam dicuci dengan air mengalir dengan menggosok perlahan bagian kulit buahnya.

Tahap selanjutnya adalah perajangan simplisia. Sampel buah rukam dirajang tipis dengan diameter sekitar 2 cm. Perajangan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga mempermudah proses penguapan air. Semakin tipis ukuran hasil rajangan maka akan semakin cepat proses pengeringan air, namun ukuran hasil rajangan yang terlalu tipis dapat menyebabkan berkurangnya senyawa aktif yang mudah menguap (Ningsih, 2016).

Setelah dirajang, simplisia kemudian dikeringkan. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih panjang, menghentikan reaksi enzimatik, serta mencegah pertumbuhan kapang, jamur, atau jasad renik lainnya. Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah pengeringan dengan angin. Pengeringan dengan metode ini cocok untuk dilakukan pada bagian tanaman yang lunak atau tanaman yang mengandung senyawa aktif yang mudah menguap atau mudah

terdenaturasi oleh suhu tinggi (Ningsih, 2016).

Proses pengeringan simplisia berlangsung selama 5 hari. Bobot yang diperoleh setelah pengeringan sebanyak 427 gram dengan rendemen simplisia sebesar 22,48%. Setelah kering simplisia disortasi kering untuk memisahkan dari kotoran yang mungkin terbawa saat pengeringan lalu diayak dengan ayakan mesh 30. Simplisia halus disimpan pada wadah inert dan tertutup pada suhu ruang serta ditambahkan silika gel agar tidak lembab dan dapat bertahan lama. Simplisia buah rukam secara organoleptis memiliki mutu yang baik dan sesuai dengan persyaratan umum simplisia dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) yaitu tidak berjamur, tidak berlendir, tidak berubah warna dan baunya, tidak ditumbuhi kapang, dan tidak terserang serangga.

c. Penentuan Kadar Air Serbuk Simplisia Buah Rukam

Kadar air simplisia buah rukam diukur dengan menggunakan alat *moisture content analyzer*. Pengukuran kadar air penting dilakukan untuk memastikan mutu simplisia sesuai standar yang ditetapkan. Kadar air yang tinggi pada simplisia dapat menjadi media pertumbuhan bakteri dan jamur yang dapat mengurangi kualitas simplisia. Persyaratan kadar air simplisia adalah < 10% (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Rata-rata kadar air simplisia buah rukam dengan metode pengeringan kering angin adalah sebesar $8,31 \pm 0,69\%$. Hal ini menunjukkan persen kadar air simplisia buah rukam dengan metode pengeringan tersebut berada pada rentang persyaratan mutu simplisia sesuai dengan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat dan bisa diolah lebih lanjut ke tahap ekstraksi.

d. Ekstraksi Buah Rukam

Sebanyak 250 gr simplisia buah rukam diekstraksi dengan 1 L etanol 70% sebagai pelarut. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut didasari oleh indeks polaritas etanol 70% yang lebih tinggi dibandingkan dengan etanol 80% atau etanol 96% sehingga diharapkan dapat menarik senyawa fenol yang sebagian besar bersifat polar. Hal ini sesuai dengan penelitian Cikita et al. pada tahun 2016 yang mengekstraksi daun katuk dengan 3 pelarut berbeda. Pelarut etanol didapatkan memiliki hasil rendemen terbaik dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-heksana.

Ekstraksi dilakukan dengan metode sonikasi dalam tiga kali replikasi menggunakan gelombang ultrasonik sehingga diharapkan mampu mengoptimalkan proses serta hasil ekstraksi. Ekstraksi dengan sonikator dilakukan pada suhu 30 °C selama 20 menit. Rasio simplisia berbanding pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 1:4. Proses ekstraksi dilanjutkan dengan pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* 50 rpm 40 °C untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak serta *waterbath* untuk menguapkan air yang terkandung.

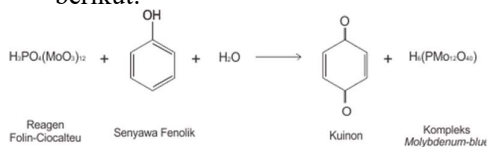
Hasil ekstraksi dengan perbandingan simplisia dengan pelarut 1:4 menghasilkan ekstrak kental sebanyak 108 gram dengan rendemen sebesar 43,31%. Perhitungan persentase rendemen dapat menjadi acuan untuk memprediksi jumlah simplisia yang dibutuhkan untuk menghasilkan sejumlah bobot ekstrak tertentu (Marjoni et al., 2015). Secara organoleptik, ekstrak etanol buah rukam berbentuk ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dengan aroma khas buah rukam seperti gula merah.

e. Penentuan Kadar Fenolik Total

Analisis kuantitatif senyawa fenolik dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Reagen

yang digunakan pada penelitian ini adalah Folin-Ciocalteu dan larutan pembanding yang digunakan adalah asam galat. Tahapan penentuan kadar fenolik total diantaranya penentuan *operating time* dan panjang gelombang maksimum, dilanjutkan dengan pembuatan kurva regresi dari larutan pembanding asam galat dan pengukuran konsentrasi sampel. Pada penelitian ini masing-masing perlakuan direplikasi sebanyak 3 kali.

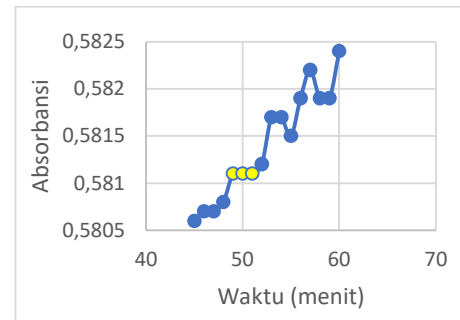
Penggunaan reagen Folin-Ciocalteu ditujukan agar senyawa fenolik dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks *molybdenum blue* berwarna biru yang dapat terbaca absorbansinya secara maksimal pada panjang gelombang UV-Vis. Reagen Folin-Ciocalteu terdiri atas campuran natrium *tungstate* dan natrium *molybdate*. Reaksi antara senyawa fenolik dengan reagen Folin-Ciocalteu dapat berlangsung pada suasana basa sehingga perlu penambahan Na_2CO_3 sebagai agen pembasa (Usman, 2019). Reaksi antara Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolik adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Reaksi FC dan Senyawa Fenolik

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu inkubasi suatu senyawa yang tepat agar mendapatkan nilai absorbansi paling stabil. *Operating time* ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan uji tiap selang menit selama 120 menit, kemudian menentukan waktu ketika absorbansi larutan berturut-turut stabil. *Operating time* penting untuk ditentukan untuk meminimalisir kesalahan pengukuran mengingat asam galat, natrium karbonat dan Folin-Ciocalteu merupakan senyawa

kompleks yang membutuhkan waktu untuk dapat bereaksi sempurna (Suharyanto & Prima, 2020). Pada penelitian ini *operating time* yang didapatkan sebesar 51 menit, sehingga larutan sampel dan larutan pembanding harus diinkubasi selama 51 menit setelah direaksikan. Absorbansi asam galat mulai stabil pada menit ke-49 hingga 51 pada replikasi pertama, dan stabil pada menit ke-51 hingga 54 pada replikasi kedua.

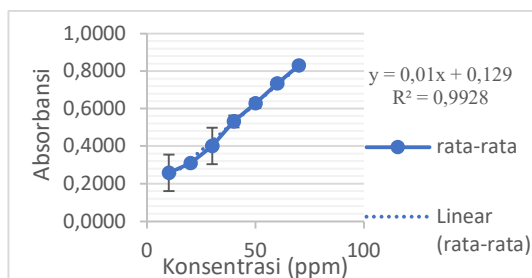


Gambar 2. Kurva *Operating Time* Asam Galat

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang pengukuran sampel agar mendapatkan nilai absorbansi yang maksimal. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur larutan sampel dan standar pada rentang panjang gelombang tertentu, kemudian ditentukan panjang gelombang saat absorbansi mencapai puncak. Pada penelitian ini, larutan standar diukur absorbansinya pada rentang 650-800 nm, nilai absorbansi tertinggi teridentifikasi pada 764 nm.

Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil data absorbansi berbanding konsentrasi asam galat akan diolah menjadi kurva regresi linear yang akan digunakan untuk menentukan konsentrasi fenolik total pada ekstrak etanol buah rukam (*F. rukam*). Kurva regresi linear asam

galat dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar asam galat sebagai absis (x) dan absorbansi pada koordinat (y). Selanjutnya koefisien korelasi dapat ditentukan berdasarkan kurva regresi linear yang dibuat.



Gambar 3. Kurva Regresi Linear

Pada penelitian ini persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,01x + 0,129$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9928. Nilai

koefisien korelasi antara konsentrasi asam galat dan absorbansinya yang diperoleh mendekati angka 1 artinya terdapat pengaruh kuat antara konsentrasi asam galat dengan absorbansinya (Gandjar & Rohman, 2007).

Tahap selanjutnya adalah pengukuran larutan sampel ekstrak etanol buah rukam. Ekstrak etanol buah rukam (F. rukam) dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm kemudian diukur pada panjang gelombang 764 nm setelah diinkubasi selama 51 menit. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) untuk menjamin parameter presisi dalam pengukuran sampel. Nilai absorbansi kemudian disubstitusi pada persamaan regresi linear kurva kalibrasi larutan standar asam galat lalu dihitung dengan rumus pengukuran kadar fenolik total.

Tabel 1 Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Buah Rukam

Rep	Berat ekstrak (gram)	Absorbansi sampel	Kadar fenolik total (mg GAE/ gr)	Rerata Kadar Fenolik Total (mg GAE/gr)
1		0,4075	27,85	
2	0,05	0,4183	28,93	28,85 ± 0,97
3		0,4268	29,78	

Rata-rata kadar fenolik total pada ekstrak etanol buah rukam adalah sebesar $29,85 \pm 0,126$ mg GAE/gr. Data kadar fenolik total tiap replikasi terdistribusi normal ($p > 0,05$). Kadar fenolik total yang diperoleh pada penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Chua-Barcelo pada tahun 2015. Penelitian tersebut mengukur kadar fenolik total ekstrak metanol buah rukam yaitu sebesar 78,74 mg GAE/100 gram atau 0,7874 mg GAE/gr. Perbedaan kadar fenolik pada dua penelitian ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor diantaranya perbedaan pelarut, metode ekstraksi, serta lokasi tumbuh sampel.

Penelitian oleh Chua-Barcelo mengekstraksi buah rukam dengan pelarut

metanol 80%, sedangkan pada penelitian ini buah rukam diekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Tingkat kepolaran suatu pelarut mempengaruhi jumlah senyawa pada sampel yang dapat ditarik oleh pelarut tersebut. Pelarut etanol memiliki *polarity index* yang kemungkinan lebih menyerupai senyawa yang terkandung dibandingkan dengan metanol sehingga senyawa-senyawa yang terkandung pada sampel akan lebih mudah ditarik oleh pelarut etanol 70%.

Hal ini sejalan dengan penelitian Sepahpour et al. pada tahun 2018 yang membandingkan polaritas beberapa pelarut dengan kadar fenolik total pada ekstrak empat herba yang berbeda diantaranya kunyit (*Curcuma longa*), salam koja (*Murraya koenigii*), kecombrang

(*Etlingera elatior*), dan serai (*Cymbopogon citratus*). Ekstraksi pada keempat herba dengan menggunakan pelarut etanol 80% menghasilkan kadar fenolik total yang lebih besar dibandingkan dengan kadar fenolik total ekstrak menggunakan pelarut metanol 80%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Sim et al. pada tahun 2019 yang membandingkan kadar fenolik total pada ekstrak daun kenaf (*Hibiscus cannabinus L.*) dengan berbagai pelarut. Ekstrak etanol daun kenaf memiliki kadar fenolik total sebesar 98,17 mg CAE/gr dua kali lipat lebih banyak dibandingkan ekstrak metanol daun kenaf dengan kadar fenolik total sebesar 44,96 mg CAE/gr. Kepolaran pelarut memiliki peran penting terhadap kandungan senyawa yang akan ditarik oleh pelarut (Novita et al., 2016).

Faktor lainnya yang dapat menyebabkan perbedaan kadar fenolik total pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah lokasi tumbuh sampel. Buah rukam pada penelitian ini diperoleh dari Desa Mantang, Kabupaten Lombok Tengah, Provinsi Nusa Tenggara Barat, Indonesia, sedangkan pada penelitian Chua-Barcelo buah rukam dikumpulkan di daerah Barangay, Filipina. Perbedaan lokasi tumbuh mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada tumbuhan. Beberapa faktor lingkungan seperti suhu dan kadar CO₂ dapat mempengaruhi kadar metabolit yang terkandung pada sampel (Austen et al., 2019).

Salah satu aktivitas farmakologis senyawa fenolik adalah aktivitas antibakteri. Terdapat beragam mekanisme kerja senyawa fenolik dalam membunuh bakteri. Senyawa fenolik dapat

menghambat sintesis zat penyusun membran sel pada bakteri seperti peptidoglikan pada bakteri gram positif.. Senyawa fenolik juga dapat menyebabkan rilis sitoplasma dan komponen dalam sel sehingga menyebabkan kematian sel pada bakteri. Selain merusak sel, Senyawa fenolik juga diduga mampu menimbulkan stress oksidatif pada sel bakteri dengan menginduksi ROS, serta dapat menghambat sintesis DNA dengan mengganggu kerja DNA *gyrase* (Scanian & Chasani, 2021)

f. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah rukam (*F. rukam*) dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan membandingkan hasil akhir zona hambat yang terbentuk dengan kontrol negatif serta positif (*post-test only with group control*). Prinsip uji difusi cakram adalah merendam larutan sampel yang digunakan sebagai antibakteri pada kertas cakram, kemudian kertas cakram diletakkan di atas media yang telah diinokulasi bakteri. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur dan dibandingkan dengan larutan kontrol. Semakin besar zona hambat yang terbentuk menunjukkan semakin efektif sampel yang digunakan sebagai antibakteri (Santoso et al., 2020). Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap 5 kelompok larutan uji, diantaranya: kontrol positif berupa kloramfenikol 1%, kontrol negatif berupa DMSO 10%, dan larutan sampel ekstrak etanol buah rukam dengan konsentrasi 20%; 60%; dan 100% sebagai larutan uji.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Kelompok Uji	Rata-rata Zona Hambat ± SD (mm)	Aktivitas Antibakteri
Kontrol positif	21,00 ± 0,75	Sangat kuat
Kontrol negatif	-	Tidak ada aktivitas
Ekstrak 100%	17,50 ± 0,43	Kuat
Ekstrak 60%	15,50 ± 0,25	Kuat
Ekstrak 20%	10,42 ± 0,38	Kuat

Keterangan: (mengacu pada Indriani et al., 2020)

Sangat kuat	: > 20 mm	Sedang: 5-10 mm
Kuat	: 10-20 mm	Lemah: <5

Berdasarkan tabel hasil uji aktivitas antibakteri, diameter zona hambat tertinggi ditunjukkan oleh kontrol positif kloramfenikol dengan diameter rata-rata $21,00 \pm 0,75$ mm. Diameter zona hambat kloramfenikol sebagai kontrol positif memiliki rata-rata diatas 20 mm sehingga dapat diklasifikasi memiliki aktivitas sangat kuat. Rata-rata diameter zona hambat kloramfenikol diatas 20 mm menunjukkan bahwa kloramfenikol masih tergolong sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Selain kontrol positif, semua variasi konsentrasi ekstrak etanol buah rukam membentuk zona hambat dengan diameter yang berbeda-beda.

Berdasarkan rerata diameter zona hambat, konsentrasi ekstrak etanol buah rukam yang memiliki diameter zona hambat tertinggi adalah konsentrasi 100%. Peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk sesuai dengan peningkatan konsentrasi larutan uji. Rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak 100% adalah sebesar $17,50 \pm 0,43$ mm yang dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus*. Namun, diameter

zona hambat pada konsentrasi tertinggi tidak melebihi ataupun menyerupai diameter zona hambat yang dibentuk oleh kontrol positif kloramfenikol. Pada konsentrasi terendah (20%) zona hambat yang terbentuk memiliki diameter rata-rata $10,42 \pm 0,38$ mm yang masih berada klasifikasi kuat.

Hasil uji statistika *Mann-Whitney* (**Tabel 3**) menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi kelompok uji berbeda bermakna dengan kontrol positif dan negatif ($p \leq 0,05$). Hal ini menunjukkan seluruh konsentrasi larutan uji (20%; 60%; 100%) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan kontrol negatif yang tidak menghasilkan zona hambat. Sedangkan, uji *Mann-whitney* antara variasi konsentrasi larutan uji dengan kontrol positif menunjukkan hasil semua konsentrasi larutan uji berbeda bermakna dengan kontrol positif. Hal ini berarti variasi konsentrasi larutan uji ekstrak etanol buah rukam (*Flacourtia rukam*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* namun tidak menyamai potensi antibakteri kloramfenikol 1% sebagai kontrol positif.

Tabel 3. Nilai *p value* Uji *Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri

	K(+)	K(-)	K100%	K60%	K20%
K(+)	-	0,037	0,046	0,050	0,050
K(-)	-	-	0,034	0,037	0,037
K100%	-	-	-	0,046	0,046
K60%	-	-	-	-	0,050
K20%	-	-	-	-	-

Keterangan:

K(+) : kontrol positif
(Kloramfenikol 1%)
K(-) : kontrol negatif
(DMSO 10%)
K100% : ekstrak etanol 100%

K60% : ekstrak etanol 60%
K20% : ekstrak etanol 20%
 $p \leq 0,05$: berbeda bermakna

Berdasarkan penelitian ini, antimikroba yang memiliki potensi paling baik adalah kloramfenikol 1% sebagai kontrol positif, kemudian disusul ekstrak etanol buah rukam dengan konsentrasi berturut-turut 100%, 60% dan 20% berkategori kuat. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol buah rukam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* yang menyebabkan berbagai

penyakit infeksi di dalam tubuh, salah satunya infeksi gastrointestinal seperti diare. *S. aureus* dapat menyebabkan diare dengan mensintesis enterotoksin yang resisten terhadap berbagai kondisi fisiologis tubuh seperti pH yang rendah atau suhu yang tinggi (Argudín et al., 2010).

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah rukam dengan kategori kuat dapat menjadi gerbang awal pencarian alternatif antimikroba baru untuk *S aureus* saat terjadi resistensi. Dalam pengembangan suatu antimikroba baru perlu dilakukan studi lebih lanjut seperti uji toksisitas dan isolasi senyawa-senyawa yang terkandung pada buah rukam sebelum dikembangkan menjadi suatu sediaan farmasi.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- a Rata-rata kadar fenolik total pada ekstrak etanol buah rukam (*Flacourtia rukam*) dalam tiga kali replikasi adalah sebesar $29,85 \pm 0,126$ mg GAE/gr ekstrak.
- b Ekstrak etanol buah rukam (*Flacourtia rukam*) konsentrasi 20%, 60% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri klasifikasi kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar $17,50 \pm 0,43$; $15,50 \pm 0,25$; $10,42 \pm 0,38$ mm

Daftar Pustaka

- Adam, I. A. A. F. (2019). Wild fruits: Composition, Nutritional Value and Products. In *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-31885-7>
- Afifi, N. I., Moawad, A. S., Zaki, M. A., Rateb, M. E., Rashed, M. H., Saleh, I. G., Hetta, M. H., & Rabab, M. (2021). Four New Phenolics and Antiparasitic Secondary Metabolites from *Flacourtia rukam* Zoll. & Mortizi. *Natural Product Research*, *0*(0), 1–12. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1875462>
- Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., Godbout, S., & Valéro, J. R. (2011). Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*, *31*(3), 227–249. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513677>
- Al-Shabib, N. A., Husain, F. M., Ahmad, I., Khan, M. S., Khan, R. A., & Khan, J. M. (2017). Rutin Inhibits Mono And Multi-Species Biofilm Formation By Foodborne Drug Resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, *79*, 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.004>
- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *2*(1).
- Andriani, D., & Murtisiwi, L. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) dengan Spektrofotometri UV Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, *2*(1), 32–38. <https://doi.org/10.31596/cjp.v2i1.15>
- Fadiyah, I., Lestari, I., & Mahardika, R. G. (2020). Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Rukam (*Flacourtia rukam*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Indo. J. Chem. Res.*, *7*(2), 107–113. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2020.7-ina>
- Fadiyah, I., Lestari, I., Victory, S., & Mahardika, R. G. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Rukam (*Flacourtia rukam*) Menggunakan Metode Maserasi. *Proceedings of National Colloquium Research and Community Service*, *3*, 65–68.
- Henri, & Lingga, R. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Rukam (*Flacourtia rukam* Zoll. & Moritzi) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JBIO: Jurnal Biosains*, *7*.
- Hu, D., & Nakane, A. (2013). Mechanisms of Staphylococcal Enterotoxin-Induced Emesis. *European Journal of Pharmacology*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.08.050>
- Indriani, V., Chiuman, L., Wijaya, L. L., Lister, G., & Grandis, L. (2020). Antibacterial Effect of *Curcuma zedoaria* Extract on *Bacillus cereus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Althea Medical Journal*, *7*(1), 6–10. <https://doi.org/10.15850/amj.v7n1.1886>
- Jimenez-Garcia, S. N., Vazquez-Cruz, M. A., Guevara-Gonzalez, R. G., Torres-

- Pacheco, I., Cruz-Hernandez, A., & Feregrino-Perez, A. A. (2013). Current Approaches for Enhanced Expression of Secondary Metabolites as Bioactive Compounds in Plants for Agronomic and Human Health Purposes - A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 63(2), 67–78. <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0072-6>
- Kabeer, A., Yang, Q., Kim, G., Li, H., Zhu, F., Liu, H., Gan, R., & Corke, H. (2020). Food Bioscience Tannins as An Alternative to Antibiotics. *Food Bioscience*, 38(August), 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
- Kurniawan, S. E., Rialita, A., (2021). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. 10(April), 14–29.
- Małgorzata, K., Wojtyczka, R. D., Idzik, D., & Miklasi, M. (2018). Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of *Staphylococcus Aureus Clinical Strains*. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102321>
- Sapkota, J., Sharma, M., Jha, B., & Bhatt, C. P. (2019). Prevalence of *Staphylococcus Aureus* Isolated From Clinical Samples In A Tertiary Care Hospital: A descriptive cross-sectional study. *Journal of the Nepal Medical Association*, 57(220), 406–410. <https://doi.org/10.31729/jnma.4673>
- Scania, A. E., & Chasani, A. R. (2021). The Anti-Bacterial Effect of Phenolic Compounds from Three Species of Marine Macroalgae. *Biodiversitas*, 22(6), 3412–3417. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220649>
- Sepahpour, S., Selamat, J., Manap, M. Y. A., Khatib, A., & Razis, A. F. A. (2018). Comparative Analysis of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization of Some Phenolic Compounds in Selected Herbs and Spices in Different Solvent Extraction Systems. *Molecules*, 23(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23020402>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia Lam .*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer) *Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract from Kalanduyung Leaf (Guazuma ulmi*. 17(2), 136–143.
- Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*) (*The Effect of Extraction Method on Yield Value and Phenolic Content of Beta-Beta*. 5(2), 175–182. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>
- Utami, H. F., Hastuti, R. B., & Hastuti, E. D. (2015). Kualitas Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) pada Suhu Pengeringan Berbeda. *Jurnal Biologi*, 4(2), 51–59.