

Uji Aktivitas Antibakteri dan Analisa GC-MS Fraksi Etil Asetat dan N-Heksan Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)

Test of Antibacterial Activity and GC-MS analysis of ethyl acetate and N-Hexane Fractions of Kenitu leaves (Chrysophyllum cainito L.)

Sefi Megawati¹, Meta Safitri², Saru Noliqo Rangkuti³, Luthfiyyatul Makiyyah⁴, Nur Indah Arum Mawarni⁵

^{1,2,3,4,5}Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah A.R Fachruddin,
Jl. Raya Pemda Tigaraksa KM 4 No. 12 A, Kabupaten Tangerang, Banten 15720, Indonesia

Abstrak

Latar belakang: Dampak dari banyaknya penyakit infeksi, setiap tahun 3,5 juta orang meninggal. Semakin banyak mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik, maka harus dilakukan pencarian dan penelitian antibakteri baru dari suatu ekstrak tanaman obat seperti tanaman daun kenitu yang masih jarang penelitian aktivitas antibakterinya. **Tujuan Penelitian:** untuk memberikan informasi mengenai senyawa metabolit yang terdapat dalam fraksi daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari pelarut semi polar etil asetat dan pelarut non polar n heksan menggunakan metode GC-MS dan sebagai penentuan aktivitas antibakteri atas pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Metode penelitian:** jenis eksperimen laboratorium menggunakan pelarut semi polar etil asetat dan pelarut non polar n heksan dari daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) untuk diuji aktivitas antibakterinya memakai metode difusi cakram. Dalam penelitian ini terdapat enam kelompok perlakuan: kontrol positif (+) ciprofloxacin, kontrol negatif (-) DMSO 10%, serta empat variasi konsentrasi yaitu K1: 25 mg/ml, K2: 50 mg/ml, K3: 100 mg/ml, dan K4: 500 mg/ml. **Hasil:** Hasil uji ANOVA dari pengujian aktivitas antibakteri fraksi *Bacillus subtilis* terhadap fraksi etil asetat memperoleh nilai $p < 0,001$. Dari hasil uji homogenitasnya memperoleh nilai yang signifikansi $p = 0,023$. Nilai-nilai tersebut sesuai dengan kriteria ($p < 0,05$), artinya perlakuan konsentrasi memiliki dampak yang signifikan terhadap diameter zona hambat. Hasil Uji *Mann-Whitney* fraksi etil asetat pada bakteri *Bacillus subtilis* menyatakan bahwa memiliki perbedaan pengaruh yang signifikan dalam memberikan zona hambat. **Kesimpulan:** aktivitas antibakteri menyatakan bahwa fraksi daun kenitu dari pelarut etil asetat hanya mampu memberi hambatan pada pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* di konsentrasi 500 mg/ml saja, untuk fraksi daun kenitu dari pelarut n-heksan menyatakan bahwa semua konsentrasi tidak bisa mampu memberi hambatan pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Kata kunci: Fraksinasi; Daun Kenitu; Metabolit Sekunder; Antibakteri

Abstract

Background: Infectious diseases continue to be a major global health issue, causing around 3.5 million deaths annually. The growing problem of antibiotic resistance highlights the need for new antibacterial agents. One potential source is medicinal plants such as kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.), whose antibacterial properties have not been widely studied. **Objectives:** This study aimed to examine the antibacterial activity of kenitu leaf extracts and to analyze factors related to the management of hazardous solid media waste at Kumpulan Pane General Hospital, Tebing Tinggi. **Methods:** A laboratory-based experimental study was conducted using ethyl acetate (semi-polar) and n-hexane (non-polar) solvents to extract active compounds from kenitu leaves. The antibacterial effect was tested using the disk diffusion method. The study included six groups: a positive control (ciprofloxacin), a negative control (10% DMSO), and four concentrations of the extract (25, 50, 100, and 500 mg/mL). **Results:** The ethyl acetate fraction showed significant antibacterial activity against *Bacillus subtilis*, with ANOVA results indicating a p -value of < 0.001 . A homogeneity test also showed significance ($p = 0.023$), suggesting that extract concentration affected the inhibition zone. Non-parametric analysis using the Kruskal–Wallis test ($p = 0.005$) and the Mann–Whitney test further confirmed the significant antibacterial effect of the ethyl acetate fraction. However, the n-hexane fraction did not show any antibacterial activity at any concentration. **Conclusion:** The ethyl acetate fraction of kenitu leaves was found to contain 27 compounds and showed antibacterial activity against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus*

* Corresponding Author: Sefi Megawati, Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah A.R Fachruddin, Banten, Indonesia

E-mail : sevi74579@gmail.com

Doi : 10.35451/jfm.v7i2.2421

Received : Desember 19, 2024. Accepted: April 20, 2025. Published: April 30, 2025

Copyright (c) 2025 Sefi Megawati. Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

aureus at 500 mg/mL. In contrast, the *n*-hexane fraction, which contained 19 compounds, showed no antibacterial activity against any tested bacteria.

Keywords: Kenitu leaves; Fractionation; Secondary metabolites; Antibacterial activity

1. PENDAHULUAN

Permasalahan kesehatan di Indonesia masih menjadi point utama masyarakat dalam memperbaiki kualitas hidupnya. Kebanyakan masyarakat Indonesia tidak peduli dengan pola hidup sehat dan bersih, sehingga menimbulkan banyak penyakit berbahaya, seperti penyakit infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri [1]. Dampak dari banyaknya penyakit infeksi 3,5 juta orang setiap tahun. Berbagai macam upaya dilakukan untuk mengurangi penyakit infeksi dari bakteri patogenesis yaitu dengan pemberian antibiotik. Karena semakin banyak bakteri yang resisten kepada antibiotik. Maka dari itu, perlu dilakukan pencarian dan kajian obat baru dari suatu tanaman dengan memanfaatkan kandungan zat aktif yang dapat mengobati infeksi bakteri [2].

Di Indonesia Informasi mengenai penelitian dan pemanfaatan tanaman Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) sebagai zat antibakteri masih minim ketersediaanya, khususnya terhadap bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* serta *Pseudomonas*, dan bakteri dari gram positif (*Bacillus subtilis* serta *Staphylococcus aureus*). Penjelasan terkait senyawa metabolit serta kemampuan zat antibakteri yang berasal dari suatu tanaman sangat penting untuk memperluas preferensi masyarakat terhadap alternatif antibiotik dalam penyembuhan penyakit menular infeksi [3]. Daun kenitu yang memiliki nama ilmiah (*Chrysophyllum cainito* L.) [4]. Kenitu sendiri sering digunakan sebagai obat (untuk meredakan sakit tenggorokan, mengobati diare, menghentikan pendarahan dan mengobati peradangan). Secara kimiawi, buah dan daunnya kaya akan alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid, tanin, dan kuinon [5,6]. Hasil penelitian sebelumnya mengidentifikasi senyawa bioaktif dengan metode GC-MS menunjukkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan Ekstrak daun kenitu mengandung antioksidan [24].

Senyawa flavonoid bersifat lipofilik dan dapat merusak membran bakteri. Pelarut etanol 70% dalam ekstrak daun kenitu memiliki kandungan flavonoid paling tinggi dibandingkan pelarut etanol 50% dan 96% [6]. Penelitian sebelumnya menemukan bahwa daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) yang di ekstrak dengan pelarut etanol 70% mempunyai potensi paling efektif sebagai zat antibakteri atas pertumbuhan bakteri dari gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) [7]. Mengingat masih belum banyak penelitian antibakteri yang dilakukan pada fraksi daun Kenitu, maka sangat bermanfaat jika dilakukan penelitian lebih dalam mengenai fraksi daun kenitu yang mempunyai aktivitas antibakteri paling efektif. Penggunaan GCMS dalam penelitian karena memiliki sensitivitas yang tinggi, resolusi yang baik, kuantifikasi yang akurat, dan spesifik. Namun, kelemahan berupa biaya operasional dan peralatan mahal dan rentan kontaminasi [7]. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai senyawa metabolit yang terdapat dalam fraksi daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari pelarut semi polar etil asetat dan pelarut non polar *n* heksan menggunakan metode GC-MS dan sebagai penentuan aktivitas antibakteri atas pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2. METODE

Alat

Peralatan yang digunakan adalah: peralatan yang menggunakan listrik seperti kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS), oven(Memmert®Jerman), blender, neraca analitik, rotary evaporator(Yamato®), corong pisah (American Pyrex®), inkubator(labomed®), magnetic bar, hot plate stirrer, LAF (Laminar Air Flow), waterbath dan autoklaf. Peralatan gelas seperti cawan porselen, gelas ukur(Pyrex® America), labu ukur, tabung reaksi (Pyrex® America), beaker gelas(Pyrex® America), Erlenmeyer(Pyrex® America), cawan petri. Peralatan non kaca seperti baskom, pisau, loyang, ayakan, saringan, pipet tetes(onemed), spatula, jarum ose, bunsen, kertas

payung, kertas cakram, kapas, blue tip, jangka sorong, sendok tanduk, lampu spiritus, rak tabung, penjepit, aluminium foil, magnetic stirrer, mikropipet, yellow tip, dan plastik wrap.

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan sebagai berikut, daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.), etanol 70%, Aquadest, etil asetat, n-heksan, Etanol, tablet Ciprofloxacin 500 mg, media Mueller Hinton Agar (MHA)(Pronadisa®), DMSO, BaCl₂, H₂SO₄, Serbuk mg, Amil alkohol, Hcl 2N, Mayer, Dragendrof, Aquadest, FeCl₃, pereaksi Lieberman burchard, serta kultur murni bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Prosedur

Penyiapan Simplisia

Daun kenitu yang telah terkumpul sebanyak 10 kg disortasi lalu dilakukan perajangan pada daun kenitu sekecil mungkin untuk memudahkan proses pengeringan. Pengeringan dalam oven berlangsung selama 48 jam di suhu $\leq 50^{\circ}\text{C}$ untuk mengurangi kadar air simplisia agar dapat menghalangi tumbuhnya mikroorganisme yang tidak dibutuhkan. Simplisia yang sudah mengering selanjutnya disortasi kering dan dihaluskan menggunakan alat blender lalu di ayak menggunakan mesh no. 40, ditimbang lalu disimpan dalam wadah tertutup rapat [7].

Ekstraksi

Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi simplisia pada penelitian ini. Serbuk simplisia Daun Kenitu direndam kedalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1. 1000 g simplisia halus daun kenitu dimasukan ke dalam wadah untuk dicampur dengan etanol 70% sebanyak 10 liter hingga terendam seluruhnya. Pengadukan dilakukan sebanyak 1 kali 24 jam selama 3-5 hari, lalu di lakukan penyaringan dan residu yang tersisa dilakukan remaserasi selama 2x24 jam dengan penambahan etanol 70% Sebanyak 5 liter. Rotary evaporator digunakan untuk pemekatan ekstrak cair yang diperoleh pada suhu 50°C hingga terbentuk ekstrak yang sedikit lebih kental, pemekatan kemudian dilanjutkan menggunakan waterbath [7].

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 30 gram ekstrak etanol 70% daun kenitu dalam 90 ml aquadest yang dimasukkan ke dalam alat corong pisah dengan katup tertutup rapat, dan difraksinasi dengan pelarut non polar n-heksan sebanyak 90 ml, lalu kocok selama 15 menit dan didiamkan hingga larutan n-heksan dan aquadest terpisah. Bagian atas adalah filtrat fraksi n-heksan sedangkan bagian bawah adalah filtrat aquadest. Fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan diulangi sebanyak 3 kali penyarian. Fraksinasi diteruskan dengan etil asetat mengikuti prosedur seperti fraksinasi n-heksan. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat waterbath untuk mengentalkan fraksi cair etil asetat dan n heksan [8].

Skrining Fitokimia

Flavonoid

Masing-masing tabung berisi 5 mL fraksi daun kenitu dari pelarut etil asetat dan n-heksan dicampurkan dengan 0,1 gr magnesium, 1 ml HCl 2N serta 5 ml amil alcohol sebanyak 5 ml. Pada lapisan amil alcohol akan terjadi perubahan warna kuning/jingga yang artinya hasil positif mengandung flavonoid [9].

Alkaloid

Campuran 1 ml reagen mayer dengan 1 ml fraksi daun kenitu dari pelarut etil asetat dan n heksan dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi dan kemudian ditambahkan dengan HCl 2N sebanyak 1 ml. Uji alkaloid menggunakan reagen dragendrof mengikuti proses yang sama seperti uji alkaloid reagen mayer. Adanya endapan kuning dan jingga saat ditambahkan reagen mayer dan dragendrof menandakan hasil positif mengandung alkaloid [10].

Saponin

Campuran 10 ml aquadest dengan 2 ml fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat dan 2 ml fraksi daun kenitu dengan pelarut n-heksan pada masing-masing tabung reaksi dipanaskan selama 2 menit. Setelah itu diamkan hingga dingin lalu tabung dikocok kurang lebih 15 detik. Jika reaksi menunjukkan hasil positif saponin maka

akan terbentuk busa selama 15 menit dengan ketinggian ± 1 cm dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes HCl 2N (9).

Tanin

Campurkan 1 ml aquadest dengan 1 ml fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat dan 1 ml fraksi daun kenitu dengan pelarut n-heksan dalam masing-masing tabung reaksi dan dipanaskan kurang lebih 3 menit, setelah dipanaskan 1 ml FeCl₃ ditambahkan kedalamnya. Adanya perubahan warna hijau/biru kehitaman setelah ditambahkan FeCl₃ menunjukkan bahwa hasil positif mengandung tanin [10].

Steroid/Triterpenoid

Campurkan 1 tetes H₂SO₄ dan asetat anhidrat (reagen Liberman-Buchard) dengan sedikit fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat dan sedikit fraksi daun kenitu dengan pelarut n-heksan pada masing-masing cawan porselen. Akan terbentuk warna merah kecoklatan dengan cincin merah jambu kecoklatan jika positif senyawa triterpenoid dan jika terbentuk warna biru kehijauan positif senyawa steroid [11].

Skrining Fitokimia Menggunakan GC-MS

Analisis fraksi daun kenitu dari pelarut etil asetat dan n heksan dengan alat Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS) dilakukan untuk mengidentifikasi berbagai macam kandungan senyawa berbeda dari suatu tumbuhan. Analisis menggunakan Gas Chromatography and Mass Spectrometry berperan penting dalam menganalisis kandungan fitokimia yang tidak diketahui pada suatu tanaman (Revanthi dkk, 2015) [12]. Masing-masing fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat dan pelarut n heksan sebanyak 100 μ L dicampur bersama 900 μ L metanol PA lalu divorteks. Setelah vorteks, larutan di inject ke dalam Gas Chromatography and Mass Spectrometry untuk dianalisis macam-macam senyawa yang berbeda. Instrumen dengan jenis Agilent Technologies 7890 Gas Chromatograph dengan Auto Sampler dan 5975 Mass Selective Detector serta sistem data Chemstation adalah alat analisis yang digunakan dalam penelitian ini. Kolom yang digunakan adalah HP Ultra 2 dengan panjang kolom kapiler 30 m, diameter 0,20 mm I.D, dan ketebalan film 0,11 μ m. Temperatur oven diatur dengan suhu pertama 80°C yang dijaga selama 0 menit, kemudian bertambah pada laju 3°C/menit sampai 150°C yang dijaga selama 1 menit, dan terakhir bertambah pada laju 20°C/menit sampai 280°C yang dijaga selama 26 menit. Kecepatan alirannya adalah 1,2 ml/menit. Gas pembawanya adalah helium dengan rasio pemisah 8:1. Senyawa yang dielusi lalu terdeteksi dengan detektor massa. Spektrum senyawa yang berhasil dianalisis kemudian disimpan dalam pustaka BALITRO yang akan ditentukan nama, berat molekul, serta golongan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid/terpenoid, asam lemak, dan komponen senyawa lainnya yang berguna untuk analisis Gas Chromatography and Mass Spectrometry [11].

Pengujian Antibakteri

Sterilisasi alat dan bahan

Cuci bersih dan keringkan semua peralatan yang akan digunakan. Tutup dengan kapas lubang dalam peralatan berbahan dasar gelas seperti tabung reaksi, beaker glass dan labu Erlenmeyer. Kertas kraft digunakan untuk membungkus cawan Petri dan peralatan kaca yang sudah di tutup dengan kapas dan di sterilkan bersama media tanam dengan alat pemanas tertutup autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Peralatan berbahan dasar karet disterilisasi ke dalam alkohol 70%. Pijarkan karum ose pada alat Bunsen untuk di sterilkan. Laminar Air Flow disterilisasi dengan menyalakan lampu UV selama 30 menit kemudian disemprot alkohol 70% [7].

Pembuatan MHA

Salah satu media pertumbuhan dan sumber makanan yang baik bagi bakteri patogen dan non patogen adalah media agar Mueller Hinton (MHA). Larutkan 9,12 g bubuk media MHA dengan aquadest sebanyak 240 ml dalam labu erlenmeyer. Sterilisasi labu erlenmeyer yang berisi media agar dengan alat pemanas tertutup autoklaf selama 15 pada suhu 121°C [7].

Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebelum di inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam kultur bakteri diremajakan terlebih dahulu dalam media agar Mueller Hinton (MHA). Setelah inkubasi, suspensikan bakteri dalam larutan garam steril (NaCl 0,9%) Kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan kekeruhan larutan McFarland 0,5 hingga jumlah bakteri mencapai sekitar 1x10⁸ CFU/ml. Larutan McFarland 0,5 terbuat dari campuran 0,05 g BaCl₂ 1% dengan 9,95 ml H₂SO₄ 1%. Pada uji aktivitas antibakteri ini jumlah inokulum yang digunakan adalah 1x10⁸ CFU/ml [7].

Pembuatan Larutan Uji

Masing-Masing fraksi kental dari pelarut etil asetat dan pelarut n-heksan ditimbang sebanyak 500 mg dan dilarutkan dalam DMSO 10% hingga 1 ml dan diperoleh konsentrasi 500 mg/mL. Pengenceran dilakukan untuk memperoleh empat variasi konsentrasi dengan rumus $V1 \times M1 = V2 \times M2$, sehingga diperoleh empat variasi konsentrasi K1=25 mg/ml, K2=50 mg/ml, K3=100 mg/ml serta K4 500 mg/ml [7].

Pembuatan Kontrol Positif

Tablet ciprofloxacin 500 mg digunakan untuk membuat larutan kontrol positif. Untuk membuat larutan induk kontrol positif tablet ciprofloxacin sebanyak 65 mg yang telah halus dilarutkan dalam DMSO 10% sebanyak 50 ml. Pengenceran larutan induk kontrol positif dilakukan dengan mencampurkan 1 mL larutan induk kontrol positif dengan DMSO 10% sampai 10 mL dan diperoleh konsentrasi kontrol positif ciprofloxacin sebesar 5 µg/50 µL [7].

Uji Aktivitas Antibakteri

20 ml media agar Mueller Hinton cair yang sudah disteril ditempatkan kedalam cawan petri. Setelah media padat, permukaan cawan digores dengan suspensi bakteri dan ditandai menjadi 6 bagian dengan spidol permanen. Metode difusi paper disk adalah metode dalam penelitian ini. Paper disk yang sudah di sterilkan kemudian ditetesi dengan kontrol positif, kontrol negatif, keempat variasi konsentrasi fraksi daun kenitu dari pelarut semi polar etil asetat dan pelarut non polar n heksan didalam masing-masing cawan petri dan diulang sekitar tiga kali (triplo). Selama 1 x 24 jam cawan petri diinkubasi secara terbalik pada suhu 37°C. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat secara langsung dengan menghitung nilai diameter daya hambat pada bakteri di sekitar paper disk dengan penggaris/jangka sorong [7].

3. HASIL

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Kenitu dari Pelarut Etanol 70%

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Rendemen
Daun Kenitu	1000 g	405,7676 g	40,58 %

Tabel 2. Hasil Fraksinasi Daun Kenitu terhadap Pelarut Etil Asetat dan N-Heksan

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Rendemen
Fraksi Etil Asetat	30 g	51,52 g	20,61 %
Fraksi N-Heksan	30 g	14,03g	24,69

Tabel 3. Hasil Pengujian Fitokimia Fraksi Daun Kenitu terhadap Pelarut Etil Asetat dan N-Heksan

No	Uji senyawa	Hasil Uji Skrining Fitokimia	
		Etil Asetat	N-Heksan
1	Flavonoid	-	-
2	Alkaloid	-	-
3	Saponin	+	-
4	Tanin	+	-
5	Triterpenoid	-	+
6	Steroid	+	-

Keterangan :

- (+) Positif memiliki kandungan swnyawa fitokimia
- (-) Negatif tidak memiliki kandungan senyawa fitokimia

Tabel 4. Hasil Analisis Kromatogram GC-MS Fraksi Daun Kenitu terhadap Pelarut Etil Asetat

No	Senyawa	Kandungan	No	Senyawa	Kandungan
1.	Isopropyl myristate	1,37	15.	1,3-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl) ester	1,56
2.	Hexadecanoic acid, methyl ester	4,87	16.	Octacosane	3,53

3.	1-Hexacosene	1,08	17.	Octadecane	2,32
4.	n-Hexadecanoic acid	1,66	18.	Tetracosane	1,84
5.	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	1,88	19.	Hentriacontane	1,78
6.	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	10,33	20.	Octadecane	1,91
7.	Phytol	7,78	21.	Tricosane	1,90
8.	Methyl Stearate	2,66	22.	.beta.-Amyrone	1,64
9.	1-Docosene	1,37	23.	.beta.-Amyrin	3,99
10.	Docosane	1,46	24.	Lup-20 (29) -en-3-one	7,91
11.	Tetracosane	1,96	25.	Lupeol	7,98
12.	Pentacosane	2,25	26.	Lup-20 (29) -en-3-ol, acetate, (3.beta.)-	2,89
13.	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	10,13	27.	2-(2-Phenoxythiiny)l imidazole [1,2-a] pyridine	2,70
14.	Octadecane	6,77			

Tabel 5. Hasil Analisis Kromatogram GC-MS Fraksi Daun Kenitu terhadap Pelarut N-Heksan

No	Senyawa	Kandungan	No	Senyawa	Kandungan
1.	Cyclohexane, 1-ethyl-1-methyl-	2,35	11.	Octadecane	1,49
2.	1-Octadecene	2,48	12.	1-Docosene	4,38
3.	Hexadecanoic acid, methyl ester	1,65	13.	Eicosane	1,06
4.	1-Nonadecene	7,56	14.	Hexatriacontyl Pentafluoropropionate	2,42
5.	9,12, 15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z, Z,2)-	2,73	15.	Nonacos-1-ene	1,61
6.	Methyl stearate	1,06	16.	Z-14-Nonacosene	1,95
7.	1-Hexacosene	7,83	17.	Lupeol	1,00
8.	Cyclotetracosane	6,99	18.	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)-, phosphite (3:1)	1,61
9.	Bis (2-ethylhexyl) phthalate	5,77	19.	2-Propyn-1-one, 1-(2-thienyl)-, (2,4-dinitrophenyl) hydrazine	34,12
10.	1-Hexacosene	6,09			

Tabel 6. Nilai Diameter Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi daun kenitu terhadap pelarut Etil Asetat

Bakteri uji	Konsentrasi (mg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata ± SD	Kekuatan Daya Antibakteri
		1	2	3		
<i>Escherichia coli</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	
	4. K4 500 mg/ml	-	-	-	-	
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	35.5	40	35.2	36.90 ± 2.69	Sangat kuat
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	Tidak ada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	

	4. K4 500 mg/ml	-	-	-	-	
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	24	28.2	24.5	25.57 ± 2.29	Sangat kuat
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	Tidak ada
<i>Staphylococcus aureus</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	
	4. K4 500 mg/ml	5.2	5	7.5	5.90 ± 1.39	Sedang
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	16.2	17.2	16	16.47 ± 0.64	Kuat
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	Tidak ada
<i>Bacillus subtilis</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	
	4. K4 500 mg/ml	4	4	4	4.00 ± 0	Lemah
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	19.5	20.5	20	20.00 ± 0.50	kuat
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	Tidak ada

Tabel 7. Nilai Diameter Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi daun kenitu dari pelarut N-Heksan

Bakteri uji	Konsentrasi (mg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata ± SD	Kekuatan Daya Antibakteri
		1	2	3		
<i>Escherichia coli</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	
	4. K4 500 mg/ml	-	-	-	-	Sangat kuat
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	34	35	35.5	34.83 ± 0.52	
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	
	4. K4 500 mg/ml	-	-	-	-	Sangat kuat
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	26.75	25.75	26.5	26.33 ± 0.52	
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	
	4. K4 500 mg/ml	-	-	-	-	Kuat
	5. K5 K(+) Ciprofloxacin	19	18.75	18.75	18.83 ± 0.14	
	6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	
<i>Bacillus subtilis</i>	1. K1 25 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
	2. K2 50 mg/ml	-	-	-	-	
	3. k3 100 mg/ml	-	-	-	-	

4. K4 500 mg/ml	-	-	-	-	Tidak ada
5. K5 K(+) Ciprofloxacin	21.5	20	20.25	20.58 ± 0.08	Sangat kuat
6. K6 K(-) DMSO	-	-	-	-	Tidak ada

4. PEMBAHASAN

Metode ekstraksi maserasi digunakan untuk meminimalkan kemungkinan rusaknya senyawa tidak tahan panas pada sampel (7). Metode maserasi menggunakan ethyl acetate and N-hexane. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan menghasilkan ekstrak kental sebanyak 405,7676 gram. Hasil rendemen dihitung berdasarkan bobot awal *Simplisia*. Dari proses ekstraksi ini menghasilkan rendemen sebesar 40,58%. Hasil dari proses fraksinasi memberikan penjelasan tentang kepolaran senyawa yang dipisahkan, bersumber pada “*like dissolve like*” menyatakan pelarut polar hanya mampu melarutkan senyawa polar sedangkan pelarut non polar hanya mampu melarutkan senyawa non polar [13]. Hasil dari 30 gram ekstrak daun kenitu dengan pelarut etanol 70% menghasilkan fraksi kental etil asetat sebesar 51,52 g fraksi kental dengan nilai rendemen sebesar 20,61%. Sedangkan fraksi n-heksan menghasilkan fraksi kental sebesar 14,03 g dengan nilai rendemen sebesar 24,69% [14].

Tujuan dilakukannya skrining fitokimia dan analisis senyawa metabolit dengan *alat gas chromatography* dan *mass spectrometry* (GC-MS) agar kandungan berbagai macam senyawa dalam fraksi daun kenitu dari pelarut etil asetat dan n heksan dapat teridentifikasi. Sedangkan tujuan dari dilakukannya analisis *Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk membandingkan hasil dari pengujian skrining fitokimia kualitatif dengan analisis kuantitatif. Senyawa dengan golongan seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin serta steroid/triterpenoid diidentifikasi dengan uji skrining fitokimia [24]. Hasil uji skrining fitokimia fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat dan n heksan disajikan pada Tabel 3.

Hasil analisis GC-MS mengidentifikasi terdapat 27 senyawa dalam fraksi etil asetat daun kenitu dengan satu senyawa puncak paling dominan dilihat dari segi kandungannya yaitu sebesar 10,33%, senyawa tersebut adalah senyawa golongan steroid yaitu 9,12,15-Octadecatrienoic acid methyl ester, (Z,Z,Z) disajikan pada tabel 4. Untuk hasil analisis fraksi n-heksan teridentifikasi 19 senyawa dengan satu senyawa puncak yang paling dominan dilihat dari segi kandungannya yaitu sebesar 34,12%, senyawa tersebut adalah senyawa golongan aromatik yaitu 2-Propyn-1-one, 1-(2-thienyl)-, (2,4- dinitrophenyl) hydrazine disajikan pada tabel 5.

Hasil uji yang dianalisis secara instrumental lebih akurat dibandingkan dengan hasil uji skrining fitokimia. Analisis Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS) lebih mudah dimanfaatkan untuk mengidentifikasi macam-macam komponen senyawa pada tumbuhan, yang tidak mungkin dikerjakan dengan skrining fitokimia sederhana. Hal ini karena uji skrining fitokimia hanya sebatas mengidentifikasi golongan senyawa tertentu [11].

Pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* terhadap fraksi daun kenitu dari pelarut etil asetat dan n-heksan dilakukan dengan mengukur nilai diameter daya hambat antibakteri menggunakan metode difusi paper disk. Penelitian ini memakai bakteri kultur murni dari American Type Culture Collection/ATCC, tidak memakai bakteri dari alam ataupun pasien. Bakteri ATCC adalah bakteri yang dianjurkan untuk uji aktivitas antibakteri dalam penelitian karena aman terhadap kontaminasi, berbeda dengan bakteri dari lingkungan atau pasien yang sangat rentan terhadap kontaminasi [15].

Untuk meningkatkan jumlah bakteri, inokulasi bakteri dilakukan dengan menggores bagian atas media agar yang sudah padat memakai metode *streak plate* menggunakan jarum ose yang berisi mikroorganisme (16). Untuk tetap menjaga keseimbangan ion yang terdapat didalam sel mikroba bagi kelangsungan hidup bakteri maka dari itu digunakan NaCl dengan konsentrasi 0,9% b/v untuk membuat suspensi bakter [17]. Kekeruhan suspensi bakteri di atur menggunakan larutan McFarland sebagai acuan agar jumlah bakteri sesuai dengan yang diperlukan untuk uji antibakteri [18].

Pada penelitian ini kontrol positif dan kontrol negatif digunakan Untuk membandingkan kemampuan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Ciprofloxacin 500 mg digunakan sebagai kontrol positif sedangkan

DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Ciprofloxacin adalah antibiotik berspektrum luas golongan fluoroquinolone dengan mekanisme kerja menghalangi replikasi, rekombinasi, dan reparasi DNA girase/topoisomerase 2 dan topoisomerase 4 pada bakteri (19). DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif karena kemampuannya untuk melarutkan senyawa polar dan non-polar, tetapi tidak mempengaruhi hasil pengamatan karena tidak toksik dan tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri (20). Nilai diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOHCH}_3$) dan n-heksan (C_6H_{14}) daun kenitu menggunakan metode difusi paper disk terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* yang di inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C ditunjukkan dalam Tabel 6 dan Tabel 7.

Pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan hasil bahwa fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat hanya dapat memberi hambatan pada pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dikonsentrasi 500 mg/ml saja. Fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat juga tidak mampu memberi hambatan pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* di semua konsentrasi. Sementara itu, fraksi daun kenitu dengan pelarut n-heksan sama sekali tidak mampu memberi hambatan di semua konsentrasi pada pertumbuhan keempat bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Hal ini menyebabkan fraksi daun kenitu dari pelarut n heksan tidak mempunyai potensi sebagai antibakteri. Kategori kekuatan antibakteri ditentukan berdasarkan diameter daya hambatnya, tergolong lemah jika daya hambatnya berdiameter sebesar 5 mm atau kurang, tergolong sedang jika daya hambat berdiameter lebih dari 5-10 mm, dan tergolong kuat sedang jika daya hambatnya berdiameter lebih dari 10-20 mm, dan tergolong sangat kuat jika daya hambatnya berdiameter lebih dari 20 mm [21].

Nilai rata-rata diameter daya hambat dari pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* terhadap fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat yang diperoleh adalah sebesar 5,90 mm, sedangkan nilai rata-rata diameter daya hambat dari pengujian aktivitas antibakteri *Bacillus subtilis* terhadap fraksi daun kenitu dengan pelarut etil asetat menunjukkan hasil sebesar 4,00 mm. Diameter zona hambat tersebut tergolong lemah untuk kedua jenis bakteri tersebut. Menurut Departemen Kesehatan tahun 1988, menyatakan bahwa bakteri dengan diameter zona hambat 12 sampai dengan 24 mm dianggap peka terhadap antibiotik (22). Berdasarkan acuan tersebut, fraksi daun kenitu dari pelarut semi polar etil asetat dengan konsentrasi sebesar 500 mg/ml tidak memiliki potensi antibakteri. Bakteri dari gram positif sebenarnya lebih rentan terhadap zat antibakteri dibandingkan dengan bakteri dari gram negatif. Hal ini dikarenakan, bakteri dari gram negatif memiliki susunan dinding sel yang lebih rumit, terdiri dari tiga bagian dinding sel: sel terluar, sel bagian tengah, dan sel terdalam. Sedangkan, bakteri dari gram positif hanya memiliki satu dinding sel [17].

Tidak semua senyawa metabolit pada tumbuhan memiliki aktivitas antibakteri karena diakibatkan oleh polaritas pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa dapat mengakibatkan efektivitas senyawa dalam menghambat bakteri serta kemampuan senyawa tersebut untuk berdifusi ke dalam media yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri (23). Fraksi n-heksan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena pelarut n-heksan mengandung lemak dan minyak. Kandungan ini menghalangi hubungan antara senyawa metabolit terhadap sel bakteri. Selain itu, molekul lemak dan minyak memiliki ukuran yang besar sehingga mempengaruhi proses difusi senyawa antibakteri, yang mengakibatkan bakteri terlindungi dari senyawa antibakteri membuat fraksi n-heksan tidak efektif dalam memberi hambatan pada pertumbuhan bakteri [21]. Hasil uji ANOVA dari pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* terhadap fraksi etil asetat memperoleh nilai $p = 0,013$. Dari hasil uji homogenitasnya memperoleh nilai yang signifikansi yaitu $p < 0,001$. Nilai-nilai tersebut sesuai dengan kriteria ($p < 0,05$), artinya perlakuan konsentrasi memiliki dampak yang signifikan terhadap diameter zona hambat. Berdasarkan hasil kedua pengujian tersebut, data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menggunakan uji statistik Kruskal-Wallis non parametrik menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan rata-rata nilai Asymp di setiap perlakuan. Sig. = 0,005 ($p < 0,05$). Hasil Uji *Mann-Whitney* fraksi etil asetat pada bakteri *Staphylococcus aureus* menyatakan bahwa memiliki perbedaan pengaruh yang signifikan dalam memberikan zona hambat. Hasil uji ANOVA dari pengujian aktivitas antibakteri fraksi *Bacillus subtilis* terhadap fraksi etil asetat memperoleh nilai $p < 0,001$. Dari hasil uji homogenitasnya memperoleh nilai yang signifikansi $p = 0,023$. Nilai-nilai tersebut sesuai dengan kriteria ($p < 0,05$), artinya

perlakuan konsentrasi memiliki dampak yang signifikan terhadap diameter zona hambat. Berdasarkan hasil kedua pengujian tersebut, data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menggunakan uji statistik Kruskal-Wallis non parametrik menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan rata-rata nilai Asymp di setiap perlakuan. Sig. = 0,005 ($p < 0,05$). Hasil Uji Mann-Whitney fraksi etil asetat pada bakteri *Bacillus subtilis* menyatakan bahwa memiliki perbedaan pengaruh yang signifikan dalam memberikan zona hambat.

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, fraksi daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dengan pelarut etil asetat hanya mampu memberi hambatan pada pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* di konsentrasi sebesar 500 mg/ml saja, tetapi tidak signifikan memiliki potensi sebagai zat antibakteri karena rata-rata nilai diameter daya hambat pada kedua bakteri termasuk dalam kategori lemah. Sementara itu, fraksi daun kenitu dengan pelarut n-heksan menyatakan bahwa keempat variasi konsentrasi tidak memberi potensi sebagai zat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Zona hambat yang ditunjukkan fraksi Etil Asetat yaitu 5.90 ± 1.39 terhadap *S.aureus*, 4.00 ± 0 terhadap *Bacillus subtilis*

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam dan Instalasi Farmasi RSUD. Dr. H.Kumpulan Pane untuk penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Purnama SG, Purnama H, Subrata IM. Kualitas Mikrobiologis Dan Higiene Pedagang Lawar Di Kawasan Pariwisata Kabupaten Gianyar. J Kesehat Lingkung Indones. 2017;16(2):56.
- [2] Nurjanah U. Efektivitas Perasan Daun Bahagia (*Dieffenbachia bowmanii*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. UMSurabaya Repos [Internet]. 2018;53(5):1–116. Tersedia pada: <http://repository.um-surabaya.ac.id/id/eprint/3328>
- [3] Eryatma RA, Suriaman E, Rahayu DP, Fadhila Ul. Uji Kualitatif Senyawa Fitokimia *Chrysophyllum cainito* L. Dan Pengaruhnya Sebagai Senyawa Antibakteri Pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Aiptlmi. 2022;229–38.
- [4] Il- EB V, Th M. Utaminingsih, Nur Imamah. Uji aktivitas ekstrak etanol 70% daun kenitu (*Chrysophyllum cainito*) terhadap peningkatan kepadatan tulang traberkular vertebra mencit betina yang diinduksi deksametason. Diss. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 201. 2017;2–4.
- [5] Dinaran A, Saleh C, Pratiwi DR. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Terhadap *Salmonella thypi* ATCC 422. Semin Nas Kim dan Terap II 2022. 2022;1–5.
- [6] Zahro F. Uji Aktivitas Inhibitor a-Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). Repos Univ Jember. 2015;3(3):69–70.
- [7] Aureus S. Progam Studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah A . R Fachruddin Tangerang. 2022;
- [8] Pakpahan dan Sutriningsih. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Dan Butanol Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lam .) de Wit) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Dan *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro Fraction Of Lead Tree (*Leucaena leucocep*. Indones Nat Res Pharm J. 2020;5(2):12–9.
- [9] Aprilliani A. Uji inhibisi aktivitas enzim tirosinase beberapa jenis tumbuhan anggota suku Zingiberaceae. J Ilm Farm. 2018;14(1):46–57.
- [10] Pupunk Fajriyani, Aulia Nur Rahmawati, Novena Yety Lindawati. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) Terhadap *Shigella dysenteriae*. J Ilm Manuntung. 2022;8(2):266–76.
- [11] Mahmiah, Sudjarwo GW, Andriyani F. Skrining Fitokimia dan Analisis GC-MS Hasil Fraksi Heksana Kulit Batang *Rhizophora mucronata* L. Semin Nas Kelaut XII. 2017;(2016):44–51.
- [12] Revathi P, Jeyaseelansenthinath T, Thirumalaikolundhusubramaian P. Preliminary phytochemical screening and gc-ms analysis of ethanolic extract of mangrove plant-bruguiera cylindrica (rhizho) l. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2014;6(4):729–40.
- [13] Pratama Y. Studi aktivitas antibakteri dari nanoemulsi fraksi ekstrak batang pucuk idat (*Cratoxylum glaucum*). 2020;3(April):49–58.
- [14] Syamsul ES, Amanda NA, Lestari D. Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria malaccensis* Dengan

- Metode Maserasi Dan Refluks. J Ris Kefarmasian Indones. 2020;2(2):97–104.
- [15] Utomo SB, Fujiyanti M, Lestari WP, Mulyani S. Antibacterial Activity Test of the C-4-methoxyphenylcalix[4]resorcinarene Compound Modified by Hexadecyltrimethylammonium-Bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. JKPK (Jurnal Kim dan Pendidik Kim. 2018;3(3):201.
 - [16] Yusmaniar., Wardiyah., Khairun N. 2017. Mikrobiologi dan Parasitologi. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
 - [17] Lestari Y, Ardiningsih P, Nurlina. Aktivitas Antibakteri Gram Positif Dan Negatif Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb.) Asal Pesisir Sungai Kakap Kalimantan Barat. J Kim Khatulistiwa. 2016;5(4):1–8.
 - [18] Rosmania, Yanti F. Jurnal Penelitian Sains. J Penelit Sains [Internet]. 2020;21(3):163–7. Tersedia pada: <http://ejurnal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/index>
 - [19] Faidiban AN, Posangi J, Wowor PM, Bara RA. Uji Efek Antibakteri *Chromodoris annae* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Med Scope J. 2020;1(2):67–70.
 - [20] Oktaviani DJ, Widiyastuti S, Maharani DA, Amalia AN, Ishak AM, Zuhrotun A. Review: Bahan Alami Penyembuh Luka. Farmasetika.com (Online). 2019;4(3):44.
 - [21] Nangoi R, Paputungan R, B.Ogie T, Kawulusan RI, Mamarimbing R, Paat FJ. Uji Aktivitas Antibakteri Buah Kecombrang (*Etlingera elatior*) Yang Diekstrak Dengan Menggunakan Beberapa Pelarut. Juranal Agroekoteknologi Terap. 2022;3:422–8.
 - [22] Sari DP, Pangemanan DHC, . J. Uji daya hambat ekstrak alga coklat (*Padina australis* Hauck) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. e-GIGI. 2016;4(2).
 - [23] Sumitriasih NL, Ridhay A, Indriani. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat Dan Etanol Kulit Batang Kayu Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) Menggunakan Metode Difusi. Kovalen J Ris Kim. 2019;5(3):233–9.
 - [24] Holiffah, N., Permana, D.A. and Swandari, M.T.K., 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum Cainito* L.) Secara In Vitro Dan In Vivo Dalam Sediaan Krim Tabir Surya. Prosing Artikel, 67.