

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN ETANOL DAUN DURIAN (*Durio zibethinus* Linn.) TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*

Shindi Amanda Rizki¹, Madyawati Latief², Fitrianiingsih^{1*}, Havizur Rahman¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi

²Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi

e-mail: fitrianiingsih@unja.ac.id

ABSTRACT

Background: The durian plant is believed to have medicinal properties and has a distinctive name in each region, such as durian selat from Selat Village in Jambi. Parts of the durian plant such as durian skin and durian seeds have been shown to have antibacterial activity.

Method: This study aimed to determine the antibacterial activity and the diameter of the inhibition zone of strait durian leaves (*Durio zibethinus* Linn.) against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* bacteria. Antibacterial activity testing was carried out using the disc diffusion method.

Result: Based on the results obtained, *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol extract of durian leaves have antibacterial activity at 1% to 6% concentration with weak level against *Propionibacterium acnes* bacteria and moderate level against *Staphylococcus epidermidis* bacteria.

Conclusion: The highest inhibition zone diameter was obtained from ethyl acetate extract 4.76 mm (weak category) against *P. acnes* bacteria and the highest inhibition zone diameter was obtained from ethyl acetate extract 6.26 mm (medium category) against *S. epidermidis* bacteria with MIC values (Minimum Inhibitory Concentration) at 1% concentration.

Keyword: Durian Leaf, Antibacterial, Minimum Inhibitory Concentration, *P. acnes*, *S. epidermidis*.

ABSTRAK

Pendahuluan: Tanaman durian dipercaya memiliki khasiat sebagai obat oleh masyarakat dan memiliki nama khas di tiap daerah, seperti durian selat dari Desa Selat di Jambi. Bagian tanaman durian seperti kulit buah durian dan biji durian telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri

Metode: Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri dan diameter zona hambat daun durian selat (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram.

Hasil: Berdasarkan hasil yang didapat, ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1% hingga 6% dengan tingkat aktivitas lemah terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan tingkat aktivitas sedang terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Diameter zona hambat tertinggi didapat pada ekstrak etil asetat 4,76 mm (kategori lemah) terhadap bakteri *P. acnes* sedangkan diameter zona hambat tertinggi diperoleh dari ekstrak etil asetat 6,26 mm (kategori sedang) terhadap bakteri *S. epidermidis* dengan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) pada konsentrasi 1%.

Kata kunci: Daun Durian, Antibakteri, Konsentrasi Hambat Minimum, *P. acnes*, *S. epidermidis*.

PENDAHULUAN

Durian (*Durio zibethinus*) adalah buah yang memiliki nilai ekonomi tinggi di Indonesia dengan kisaran pasar yang luas dan beragam. Masing-masing daerah memiliki nama khas untuk durian unggulannya, misalnya durian selat karena berasal dari Desa Selat di Jambi (Sobir dan Napitupulu, 2010). Khasiat dari tanaman durian telah dibuktikan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan. Daun dan akar *Durio zibethinus* mengandung saponin, disamping itu daunnya juga mengandung flavonoida dan polifenol dan akarnya juga mengandung tannin (Depkes RI, 1994).

Penelitian daun durian menunjukkan adanya flavonoid dan steroid/triterpenoid serta berhasil mengisolasi dua senyawa flavonoid dari daun durian (Insanu *et al.*, 2011). Flavonoid memiliki peran langsung sebagai antibiotik yang berspektrum luas. Flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak dinding dan membran sel mikroba sehingga menyebabkan metabolit penting didalam sel keluar akibatnya terjadi kematian sel (Harborne, 1987).

Penelitian sebelumnya terhadap daun durian melaporkan bahwa ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) terhadap *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*

menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, terutama terhadap bakteri gram negatif, yaitu bakteri *P. aeruginosa* dan *E. Coli* (Chigurupati *et al.*, 2017). Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan, diyakini daun durian selat juga memiliki aktivitas antibakteri yang baik.

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah jerawat. Jerawat merupakan penyakit kulit yang cukup besar jumlah penderitanya dan biasanya disebabkan oleh bakteri. Hampir setiap orang pernah mengalami gangguan jerawat. Jerawat atau *Acne vulgaris* sering terjadi pada kaum remaja, usia 15-19 tahun pada wanita dan 17-21 tahun pada pria, tetapi kadang terjadi pada anak-anak dan wanita dewasa dalam masa menstruasi. Selain masalah kepekaan kelenjar minyak terhadap *androgen*, jerawat bisa dipicu oleh makanan berlemak, pemakaian kosmetika, polutan, faktor stres (emosional), dan sedikit kasus akibat masalah iklim (Dwikarya, 2003). Bakteri yang umum menginfeksi jerawat adalah *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* (Djajadisastra *et al.*, 2009).

Berdasarkan kandungan kimia yang terdapat pada tanaman durian (*Durio zibethinus*), daun durian diduga berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Pada penelitian ini, akan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar air flow* (LAF), *autoclave* (Hirayama®), *incubator* (Eyrila SLI-400®), *grinder* (*hammer mill*), *vacuum rotary evaporator* (Stuart®), oven (MMM Medcenter®), timbangan digital (*Kris Chef*®), vortex (*Gemmy VM-300*®), botol maserasi, *erlenmeyer* (Pyrex®), *beaker glass* (Pyrex®), gelas ukur (*iwaki*®), *hot plate*, corong kaca (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), cawan petri, penggaris, jangka sorong (EHB®), bunsen, mikropipet (Rainin®), batang pengaduk, pinset, kertas saring, kapas ulas steril, *magnetic stirrer*..

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun durian (*Durio zibethinus* Linn) yang diperoleh dari Desa Simpang Selat, Kec. Jaluko, Kab. Muaro Jambi, Provinsi Jambi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah *n*-heksan destilasi, etil asetat destilasi, etanol 96% destilasi, Klindamisin larutan 1,2% (Medi-klin®), NaCl 0,9% (Otsu-NS®) dan DMSO 10%. Mikroba yang digunakan adalah bakteri *Propionibacterium acnes* (6703020202001) dan *Staphylococcus epidermidis* (070400076621231) yang diperoleh dari *Hospital and laboratory equipment chemical scientific supply* dengan media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (merck).

Pembuatan Simplisia Daun Durian

Daun durian yang digunakan adalah daun durian dari Desa Simpang Selat, Kec. Jaluko, Kab. Muaro Jambi, Provinsi Jambi. Bagian daun yang dipakai yaitu daun durian yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Pembuatan simplisia dilakukan menggunakan metode dalam Farmakope Herbal Indonesia dengan cara daun durian yang diambil sebanyak 4 kg dicuci bersih, disortasi dan kemudian dipotong dan diperkecil ukurannya. Daun durian dikering anginkan tanpa dikenai sinar matahari langsung. Kemudian dibuat menjadi serbuk dengan alat grinder.

Pembuatan Ekstrak Daun Durian

Ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat mengacu pada Permadi *et al* (2018) dengan beberapa modifikasi dengan perbandingan pelarut 1:10. Serbuk simplisia daun durian yang digunakan sebanyak 1000 gr. Serbuk daun durian dimasukkan kedalam botol maserasi (botol coklat). Maserasi pertama simplisia direndam dengan *n*-heksan selama 24 jam sambil sesekali diaduk, kemudian residu dipisahkan dari filtrat dan ampas simplisia dikeringkan. Setelah residu kering dimaserasi kembali selama 24 jam dengan etil asetat dan dilakukan dengan cara yang sama dengan sebelumnya, terakhir dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dengan prosedur yang sama. Ekstrak dari ketiga pelarut kemudian diuapkan pelarutnya

menggunakan *vacum rotary evaporator* untuk didapatkan ekstrak kental.

Uji kadar air dan kadar abu

Uji kadar air dilakukan dengan metode gravimetri. Ekstrak ditimbang lebih kurang 1 gram dalam wadah yang telah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Lanjutkan pengeringan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25 % (Depkes RI, 2000). Sedangkan uji kadar abu dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 2 gram dan dimasukkan kedalam krus yang telah ditimbang sebelumnya, kemudian dipijarkan bertahap hingga suhu 600°C (Zainab *et al.*, 2016).

Skrining Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan terhadap flavonoid, fenolik, alkaloid, triterpenoid/steroid, dan saponin.

Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat yang terbuat dari bahan kaca seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas beaker, dan gelas ukur dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Untuk alat lainnya seperti jarum ose dan pinset disterilkan menggunakan alkohol 70% dan dilakukan pemijaran menggunakan api Bunsen (Armaleni *et al.*, 2019).

Pembuatan Media Agar

Pembuatan media mengacu pada Ngajow *et al* (2013) sebanyak 8 g *Nutrient Agar* (NA) disuspensikan dalam 400 mL aquades steril, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Dilakukan pengadukan dengan *Magnetic stirer* untuk memastikan media telah tersuspensi sempurna. Media kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. *Nutrient Agar* yang sudah siap, kemudian dituangkan kedalam cawan petri steril. Pengujian dilakukan pada media yang telah memadat.

Inokulasi bakteri

Inokulasi bakteri adalah menumbuhkan bakteri dalam cawan petri pada media agar yang telah dibuat. Pembuatan stok bakteri ini dilakukan untuk peremajaan dan memperbanyak bakteri. Diambil 1 ose bakteri dan digoreskan dimedia agar, lalu diinkubasi dalam inkubator suhu 37° C selama 24 jam (Misna dan Khusnul, 2016).

Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5

Larutan *Mc Farland* dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Larutan *Mc Farland* 0,5 dibuat dengan melarutkan larutan BaCl₂ 1 % sebanyak 0,05 ml dan larutan H₂SO₄ 1 % sebanyak 9,95 ml. Larutan kemudian di vortex sampai tercampur sempurna (Rosmania dan Fitri, 2020).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Larutan suspensi bakteri dibuat dengan diambil 1 ose bakteri, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, dengan biakan murni didalam tabung reaksi dan dikocok sampai homogen, kemudian disamakan dengan standar *Mc Farland* (Misna dan Khusnul, 2016).

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian dibuat dalam beberapa konsentrasi dengan dilakukan pengenceran menggunakan larutan dimetilsulfoksida (DMSO). Kontrol positif yang digunakan yaitu Klindamisin 1,2%. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% (Pratiwi *et al.*, 2011). Masing-masing ekstrak dibuat dalam konsentrasi 6%, 4%, 2%, dan 1%.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Pengujian mengacu pada Wahdaningsih *et al* (2014) dengan beberapa modifikasi, dimulai dengan menginokulasi suspensi bakteri uji pada permukaan media agar menggunakan kapas ulas steril. Kapas ulas dicelupkan ke dalam suspensi bakteri yang telah disamakan kekeruhannya dengan standar *Mc Farland* kemudian digoreskan pada cawan petri yang berisi media agar yang telah memadat dan dibiarkan mengering

selama beberapa menit (3-5 menit). Kemudian cakram kertas yang berukuran 6 mm ditetaskan ekstrak uji dengan berbagai konsentrasi sebanyak 20 µl hingga jenuh. Cakram kertas ditempatkan di atas permukaan media menggunakan pinset sesuai dengan posisi yang diinginkan. Kontrol positif yang digunakan adalah Klindamisin 1,2%, kemudian kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% yang ditetaskan 20 µl di atas cakram kertas. Cawan petri diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah diinkubasi, zona hambatan yang terbentuk diamati dan diukur dengan melihat daerah bening disekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali. Penentuan nilai KHM mengacu pada Mulyadi *et al* (2017) yaitu konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang diinokulasikan dengan terbentuknya zona bening merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari sampel tersebut.

Analisis Data

Data diameter zona hambat mengacu pada Davis dan Stout (1971). Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas menggunakan software SPSS versi 22 untuk melihat data yang didapat memiliki distribusi yang normal atau tidak. Data yang baik adalah data yang terdistribusi

normal. Jika $P > 0,05$ maka data terdistribusi secara normal dan homogen sehingga dapat dilakukan uji lanjutan dengan uji *one way anova* dan uji lanjut *Duncan* untuk melihat apakah ada perbedaan secara nyata dan mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda. Jika $P < 0,05$ maka data tidak terdistribusi secara normal dan dilakukan uji lanjutan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia dan Ekstraksi Daun Durian

Daun durian selat (*Durio zibethinus*

Linn) sebanyak 4 kg di sortasi dan dicuci untuk menghilangkan pengotor yang menempel pada daun. Kemudian dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan simplisia agar proses ekstraksi lebih mudah dilakukan (Rivai *et al.*, 2014). Simplisia kering dibuat menjadi serbuk dengan *Hammer Mill* (grinder) dan didapat 1.150 gr serbuk simplisia, sehingga rendemen simplisia yang diperoleh adalah 33,125%. Serbuk simplisia yang digunakan untuk penelitian ini sebanyak 1000 gr.



Gambar 1. Daun durian selat

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi bertingkat dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan etanol yang mengacu pada Permadi *et al* (2018) dengan beberapa dimodifikasi. Metode maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut dalam jangka waktu 24 jam tanpa menggunakan pemanasan beberapa kali dilakukan beberapa kali pengadukan atau pengocokan. Kelebihan metode ini

diantaranya adalah tidak memerlukan peralatan yang rumit, relatif murah, dapat menghindari penguapan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas (Kiswandono, 2011). Pada maserasi bertingkat pengestrakan bertujuan untuk mengekstrak keseluruhan senyawa berdasarkan polaritas pelarut yang digunakan secara bertahap.

Hasil maserasi kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan alat

rotary evaporator. Ekstrak *n*-heksan yang didapat sebanyak 23,434 gram, etil asetat sebanyak 53,051 gram, dan etanol sebanyak 25,654 gram. Rendemen

masing-masing ekstrak adalah 2,343% untuk ekstrak *n*-heksan, 5,305% untuk ekstrak etil asetat, dan 2,565% untuk ekstrak etanol.

Tabel 1. Parameter spesifik identitas Ekstrak Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn)

Parameter	Hasil
Nama ekstrak	<i>Durio folia extractum</i>
Nama latin tumbuhan	<i>Durio zibethinus</i> Linn
Bagian tanaman yang digunakan	<i>Durio folia</i>
Nama tanaman Indonesia	Durian

Karakter spesifik ekstrak daun durian meliputi identitas ekstrak serta uji organoleptik ekstrak dengan pengamatan menggunakan panca indera. Sedangkan untuk parameter nonspesifik ekstrak dilakukan pengujian terhadap kadar air dan kadar abu. Kadar air merupakan parameter penting dalam bahan pangan,

karena akan mempengaruhi daya tahan bahan pangan terhadap serangan atau aktivitas mikroorganisme. Pengujian kadar abu bertujuan untuk mengidentifikasi kadar zat anorganik dan mineral di dalam suatu simplisia. Keberadaan tanah yang masih menempel pada herba dapat menambah nilai kadar abu.

Tabel 2. Parameter spesifik organoleptik Ekstrak Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn)

Parameter	Hasil		
	<i>n</i> -Heksan	Etil asetat	Etanol
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Hijau kehitaman	Hijau tua	Coklat
Bau	Aromatik	Aromatik	Aromatik
Rasa	Pahit	Pahit	Pahit

Nilai kadar air sampel yang baik untuk disimpan dalam jangka panjang adalah jika kadar air sampel kurang dari 10% (Winarno, 1997), dan ekstrak kental memiliki kadar air antara 5 – 30% (Voight, 1994). Besaran kadar air yang didapat pada masing ekstrak *n*-heksan dan etanol masih dibawah 10% sehingga aman disimpan dalam jangka waktu yang lama, sedangkan untuk nilai kadar air ekstrak etil

asetat melebihi 10%. Untuk itu ekstrak disimpan didalam freezer sehingga tidak mudah ditumbuhi oleh mikroorganisme. Sedangkan nilai untuk kadar abu total tidak lebih dari 14,0 % (Depkes RI, 2010). Nilai kadar abu menunjukkan tingginya kandungan mineral internal, sehingga semakin tinggi kadar abu yang diperoleh maka kandungan mineral dalam bahan juga semakin tinggi (Utami *et al.*, 2017).

Tabel 3. Parameter Non spesifik ekstrak Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn)

Parameter	Hasil		
	Ekstrak n-Heksan (%)	Ekstrak Etil asetat (%)	Ekstrak Etanol (%)
Kadar air	5,08	13,20	9,38
Kadar abu	9,00	5,76	10,3

Tabel 4. Skrining fitokimia ekstrak Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn)

Metabolit sekunder	Hasil		
	Ekstrak n-Heksan	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol
Flavonoid	-	+	+
Fenolik	-	+	+
Alkaloid (Mayer)	-	-	-
Alkaloid (Dragendorff)	-	-	-
Triterpenoid/steroid	+	+	+
Saponin	-	-	+

Keterangan : + = Teridentifikasi

- = Tidak Teridentifikasi

Hasil skrining fitokimia pada Tabel 4 selaras dengan penelitian sebelumnya yakni Insanu *et al* (2011) dan Suteja *et al* (2020) bahwa daun durian positif flavonoid dan steroid/triterpenoid serta berhasil mengisolasi dua senyawa flavonoid dari daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) yaitu isolat S yang merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol 3- OH tersubstitusi serta isolat W berupa turunan flavon (Insanu *et al.*, 2011) dan dari tiga jenis daun durian (tembaga, bakul, dan Sp A) positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, steroid, dan triterpenoid (Suteja *et al.*, 2020). Namun ada sedikit perbedaan kandungan metabolit sekunder yang diuji dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder tidak selalu dihasilkan oleh tanaman, tetapi hanya pada saat dibutuhkan oleh tanaman

tersebut atau pada fase-fase tertentu. Perbedaan kondisi lingkungan dan keadaan tempat tumbuh dapat juga berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman.

Sebelum dilakukan pengujian antibakteri, alat-alat yang digunakan serta media pertumbuhan bakteri (*Nutrient Agar*) disterilkan terlebih dahulu untuk memastikan tidak ada mikroorganisme yang tumbuh. Sterilisasi bertujuan untuk menjaga kebersihan supaya peralatan terbebas dari mikroorganisme berbahaya sehingga terhindar dari kontaminasi. Sterilisasi juga sebagai jaminan bahwa suatu produk sudah bersih, steril, dan aman digunakan (Istini, 2020). Sterilisasi dilakukan dengan cara basah menggunakan alat autoklaf. Cara pemanasan basah dipilih sebab dapat membunuh mikroorganisme karena

pemanasan basah dapat menyebabkan denaturasi protein, termasuk enzim-enzim didalam sel (Fardilaz, 1992). Sterilisasi menggunakan autoklaf dilakukan selama 15 menit pada suhu 121° C.

Inokulasi bakteri dilakukan untuk memperbanyak stok bakteri. Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara menggoreskan kawat ose yang mengandung mikroba pada permukaan media agar yang telah padat (*streak plate method*) (Yusmaniar *et al.*, 2017). Media agar yang dipakai adalah *Nutrient Agar*. Media *Nutrient Agar* merupakan media yang umum digunakan. Komposisi yang terpenting dalam media ini adalah karbohidrat dan protein yang terdapat pada ekstrak daging dan pepton sesuai dengan kebutuhan sebagian besar bakteri (Thohari *et al.*, 2019). Bakteri yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk selanjutnya dibuat suspensi bakteri. Suspensi bakteri dibuat dengan campuran NaCl fisiologi 0,9%. NaCl (larutan garam fisiologis yang terbuat dari garam NaCl dengan konsentrasi 0,9% b/v) berfungsi untuk menjaga keseimbangan ion sel mikroba sehingga baik untuk menjaga ketahanan hidup bakteri (Lestari, 2014). Suspensi bakteri kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan standar *Mc Farland*.

Larutan standar *Mc Farland* digunakan sebagai standar kekeruhan dari bakteri suspensi sehingga suspensi bakteri akan berada dalam kisaran

tertentu. Suspensi bakteri yang dibuat kemudian dibandingkan dengan kekeruhan larutan standar *Mc Farland*. *Mc Farland* 0,5 digunakan sebagai referensi untuk menyesuaikan atau diasumsikan setara dengan kekeruhan bakteri suspensi sehingga jumlah bakteri dalam kisaran yang diberikan untuk membakukan mikroba pengujian (Rosmania dan Fitri, 2020).

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam DMSO 10%. Dimetilsulfoksida (DMSO) dipilih sebagai pelarut didasarkan pada kemampuan DMSO untuk melarutkan berbagai senyawa, khususnya peptide (Andayani *et al.*, 2016). Pelarut DMSO tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri dan mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, nonpolar dan semipolar sehingga pelarut ini merupakan pelarut ekstrak yang baik karena tidak memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri (Katrin *et al.*, 2015). DMSO memiliki kemampuan untuk menembus membran sel, namun pada penggunaan DMSO sebagai pelarut, konsentrasi akhir DMSO tidak boleh melebihi 10% karena dapat menyebabkan pecahnya membran sel (Katrin *et al.*, 2015). DMSO 10% juga digunakan sebagai kontrol negatif pada uji aktivitas antibakteri karena telah terbukti tidak memberikan penghambatan pada bakteri uji.

Kontrol positif yang digunakan

adalah klindamisin. Klindamisin adalah antibiotika yang efektif terhadap kuman anaerob, baik gram positif maupun gram negatif. klindamisin digunakan untuk mengobati pernanahan atau bisul, baik di paru ataupun di gigi (Azwar, 2005). Klindamisin sering digunakan sebagai antibiotik topikal untuk akne vulgaris. Mekanisme antiinflamasi antibiotik topikal adalah menekan kemotaksis leukosit serta penurunan asam lemak bebas pro-inflamasi pada permukaan kulit (Murlistyarini, 2019). Klindamisin biasa digunakan untuk mengobati infeksi serius

akibat bakteri anaerob atau bakteri aerob gram positif. Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif sehingga klindamisin dipilih sebagai kontrol positif.

Pengujian antibakteri dilakukan dengan cara difusi cakram (*disc diffusion*). Metode ini dipilih karena memiliki kelebihan yaitu cepat dan mudah pengerjaannya karena tidak memakai alat khusus. Terbentuknya zona bening disekitar cakram merupakan indikasi adanya aktivitas antibakteri (Lay, 1994).



Gambar 2. Pengujian antibakteri ekstrak *n*-heksan (1), etil asetat (2), dan etanol (3) terhadap bakteri *P. acnes*

Aktivitas antibakteri ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Linn) terhadap bakteri *P. acnes* dapat dilihat pada Tabel 5. Dari hasil diameter zona hambat yang didapat, ekstrak daun durian memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Respon hambatan ekstrak yang paling bagus pada bakteri *P. acnes* adalah EA₆ dari ekstrak etil asetat pada konsentrasi 6% dengan rata-rata zona hambat 4,76 mm yang termasuk kategori lemah (zona hambat <5 mm) dan respon hambat ekstrak yang terkecil adalah NH₁ dari ekstrak *n*-heksan pada konsentrasi 1% dengan rata-rata

zona bening 0,4 mm dan termasuk dalam kategori lemah

Hasil analisis statistik uji antibakteri ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Linn) terhadap bakteri *P. acnes* menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal dan homogen pada uji Normalitas ($P > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *one way anova* dengan uji lanjut Duncan untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda. Hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan nyata zona hambat yang dihasilkan dari konsentrasi ekstrak yang

digunakan. Hal ini diduga dipengaruhi oleh jarak konsentrasi ekstrak uji kecil sehingga menyebabkan data tidak berbeda secara signifikan. Sedangkan untuk kontrol positif (K+) Klindamisin berbeda nyata karena klindamisin merupakan senyawa murni dan sudah teruji secara klinis.

ah (zona hambat <5 mm). Untuk kontrol negatif yaitu DMSO 10% tidak terdapat zona bening pada saat pengujian dan kontrol positif yaitu Klindamisin termasuk kedalam kategori sangat kuat dengan nilai rata-rata zona hambat tertinggi 38,26 mm pada bakteri *P. acnes*.

Tabel 5. Diameter zona hambat dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian (*Durio zibethinus* Linn) terhadap *P. acnes*

Ekstrak	Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SEM (mm)	Kategori
		Ulangan ke-				
		R ¹	R ²	R ³		
<i>n</i> -Heksan	NH ₆	1,1	0,5	0,7	0,76 ^{ab} ±0,17	Lemah
	NH ₄	0,7	0,4	0,8	0,63 ^{ab} ±0,12	Lemah
	NH ₂	0,3	0,5	0,7	0,50 ^{ab} ±0,11	Lemah
	NH ₁	0	0,4	0,8	0,40 ^{ab} ±0,23	Lemah
	K+	39,1	38,7	37,0	38,26 ^a ±0,64	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0,00 ^a ±0,00	Tidak ada
Etil asetat	EA ₆	5,2	5,3	3,8	4,76 ^d ±0,48	Lemah
	EA ₄	4,2	3,8	2,7	3,56 ^{cd} ±0,44	Lemah
	EA ₂	2,2	3,8	2,1	2,70 ^{bcd} ±0,55	Lemah
	EA ₁	1,2	2,8	2,3	2,10 ^{abc} ±0,47	Lemah
	K+	35,2	40,2	31,6	35,66 ^a ±2,49	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0,00 ^a ±0,00	Tidak ada
Etanol	ET ₆	2,7	2,9	1,2	2,26 ^{abc} ±0,53	Lemah
	ET ₄	2,7	2,6	1,2	2,16 ^{abc} ±0,48	Lemah
	ET ₂	2,1	2,2	1,5	1,93 ^{abc} ±0,21	Lemah
	ET ₁	2,1	2,3	1,1	1,83 ^{abc} ±0,37	Lemah
	K+	36,5	40,0	36,0	37,50 ^{ef} ±1,25	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0,00 ^a ±0,00	Tidak ada

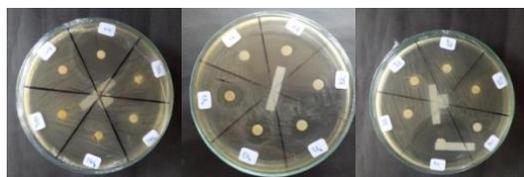
Keterangan : NH₆, NH₄, NH₂ NH₁ = ekstrak *n*-heksan;
EA₆, EA₄, EA₂ dan EA₁ = ekstrak etil asetat;
ET₆, ET₄, ET₂ dan ET₁ = ekstrak etanol;
K+ = klindamisin;
K- = dimetilsulfoksida (DMSO)

Aktivitas antibakteri ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Linn) terhadap bakteri *S. epidermidis* dapat dilihat pada Tabel 6. Diameter zona hambat dari oleh ekstrak daun durian yang didapat memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Diameter zona bening yang dihasilkan pada pengujian bakteri *P. acnes* sedikit berbeda dengan diameter zona bening yang dihasilkan pada pengujian bakteri *S. epidermidis*. Respon hambatan ekstrak

yang paling bagus pada bakteri *S. epidermidis* adalah EA₆ dari ekstrak etil asetat pada konsentrasi 6% dengan rata-rata zona hambat 6,26 mm yang termasuk dalam kategori sedang (zona hambat >5 mm). Respon hambat ekstrak yang terkecil adalah NH₁ dari ekstrak *n*-heksan pada konsentrasi 1% dengan rata-rata zona bening 1,13 mm dan termasuk dalam kategori lemah. Untuk kontrol negatif yaitu DMSO 10% tidak terdapat

zona bening pada saat pengujian dan kontrol positif yaitu Klindamisin termasuk kedalam kategori sangat kuat dengan

rata-rata zona hambat tertinggi 36,60 mm pada bakteri *S. epidermidis*.



Gambar 3. Pengujian antibakteri ekstrak *n*-heksan (1), etil asetat (2), dan etanol (3) terhadap bakteri *S. epidermidis*

Berdasarkan data pada Tabel 6 dilakukan uji Normalitas pada diameter zona hambat dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian (*Durio zibethinus* Linn) terhadap bakteri *S. epidermidis*, hasil menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal dan homogen ($P > 0,05$). Kemudian dilakukan uji *one way anova* dengan uji lanjut Duncan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang berbeda. Hasil analisa menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan secara nyata dari zona hambat yang dihasilkan dari konsentrasi ekstrak yang digunakan. Data yang diperoleh menandakan data tidak berbeda secara signifikan diduga karna jarak konsentrasi ekstrak yang kecil. Hasil analisa yang didapat pada bakteri *S. epidermidis* sama dengan hasil analisa pada bakteri *P. acnes*.

Konsentrasi hambat minimum ditetapkan dari konsentrasi terendah ekstrak yang diujikan. Konsentrasi terendah dari sampel yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji merupakan nilai Konsentrasi Hambat

Minimum (KHM) (Mulyadi, *et al.*, 2017). Hal ini didasarkan dari uji pendahuluan yang telah dilakukan bahwa pada konsentrasi 1% ekstrak daun durian terutama ekstrak *n*-heksan tidak menunjukkan adanya zona hambat pada bakteri *P. acnes* dan *S. epidermidis*. Pada pengujian antibakteri dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan 4.6 bahwa ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* dan *S. epidermidis* pada konsentrasi terkecil 1%. Sehingga konsentrasi 1% ditetapkan sebagai KHM dari tiap ekstrak. Nilai KHM pada pengujian bakteri *P. acnes* yang didapat dari ekstrak *n*-heksan adalah 0,40 mm, ekstrak etil asetat 2,10 mm, dan etanol 1,83 mm. Sedangkan nilai KHM pada pengujian bakteri *S. epidermidis* yang didapat dari ekstrak *n*-heksan adalah 1,13 mm, ekstrak etil asetat 2,20 mm, dan etanol 1,50 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar (Katrin *et al.*, 2015). Hal ini sesuai dengan hasil yang didapat bahwa seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak maka terjadi peningkatan zona hambat

Tabel 6. Diameter zona hambat dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian (*Durio zibethinus* Linn) terhadap *S. epidermidis*

Ekstrak	Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SEM (mm)	Kategori
		Ulangan ke-				
		R ¹	R ²	R ³		
<i>n</i> -Heksan	NH ₆	2,2	2,3	0,5	1,66 ^{abc} ±0,58	Lemah
	NH ₄	2,1	2,3	0,4	1,60 ^{abc} ±0,60	Lemah
	NH ₂	2,1	2,0	0,2	1,43 ^{abc} ±0,61	Lemah
	NH ₁	1,5	1,7	0,2	1,13 ^{ab} ±0,47	Lemah
	K+	31,3	31,8	32,1	31,73 ^e ±0,23	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0,00 ^a ±0,00	Tidak ada
Etil Asetat	EA ₆	11,6	5,4	1,8	6,26 ^d ±2,86	Sedang
	EA ₄	9,5	4,2	1,5	5,06 ^{cd} ±2,34	Sedang
	EA ₂	8,5	3,2	2,3	5,16 ^{bcd} ±2,91	Sedang
	EA ₁	3,7	2,2	1,7	2,20 ^{abcd} ±0,76	Lemah
	K+	41,4	39,3	36,8	39,16 ^f ±1,32	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0,00 ^a ±0,00	Tidak ada
Etanol	ET ₆	8,9	3,2	5,8	5,96 ^d ±1,64	Sedang
	ET ₄	3,3	3,1	3,4	3,26 ^{abcd} ±0,08	Lemah
	ET ₂	2,8	3,1	2,6	2,83 ^{abcd} ±0,14	Lemah
	ET ₁	1,7	0,5	2,3	1,50 ^{abc} ±0,52	Lemah
	K+	37,2	38,2	36,6	37,33 ^f ±0,46	Sangat kuat
	K-	0	0	0	0,00 ^a ±0,00	Tidak ada

Keterangan : NH₆, NH₄, NH₂ NH₁ = ekstrak *n*-heksan;
EA₆, EA₄, EA₂ dan EA₁ = ekstrak etil asetat;
ET₆, ET₄, ET₂ dan ET₁ = ekstrak etanol;
K+ = klindamisin;
K- = dimetilsulfoksida (DMSO)

Ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* dan *S. epidermidis*. Mekanisme penghambatan bakteri belum dapat diprediksikan karena kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri belum diketahui secara pasti, perlu pemurnian dan identifikasi lebih lanjut. Umumnya suatu agen antibakteri berpengaruh terhadap sel bisa melalui penghambatan dinding sel, penghambatan fungsi membran, penghambatan sintesis protein dan asam nukleat, perubahan molekul protein dan asam nukleat serta penghambatan enzim (Mulyadi *et al.*, 2017). Namun dari hasil uji fitokimia ekstrak daun durian menunjukkan adanya senyawa flavonoid,

fenolik, triterpenoid/steroid, dan tanin. Senyawa ini diduga dapat berperan sebagai agen antibakteri.

Penelitian sebelumnya berhasil mengisolasi dua senyawa flavonoid dari daun durian yaitu isolat S yang merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol 3-OH tersubstitusi, memiliki gugus OH pada atom C 5, 7, 3' dan 4' diduga merupakan turunan kuersetin serta isolat W berupa turunan flavon, yang memiliki gugus OH bebas pada atom C 5, 7 dan 4' (Insanu *et al.*, 2011). Flavonoid berkecenderungan mengikat protein sehingga dapat mengganggu proses metabolisme bakteri. Flavonoid memberikan respon hambatan dengan mengganggu keutuhan membran sel

bakteri oleh adanya pembentukan senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dengan flavonoid (Insanu *et al.*, 2011). Flavonoid teridentifikasi dalam ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun durian yang terbukti memiliki efek antibakteri lebih tinggi pada bakteri *P. acnes* dan *S. epidermidis* dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksan.

Tanin juga dapat berperan sebagai antibakteri dengan bekerja berdasarkan kemampuannya mempresipitasi protein, karena tanin mempunyai efek yang sama dengan fenolik. Aktivitas saponin sebagai antibakteri ditunjukkan oleh mekanisme penurunan tegangan permukaan dinding sel bakteri. Akibatnya sel bakteri akan mengalami kebocoran sehingga mengakibatkan kematian sel. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga sel bakteri menjadi hemolisis. Steroid dilaporkan memiliki sifat antibakteri, korelasi antara membran lipid dan sensitivitas senyawa steroid menunjukkan mekanisme dimana steroid menyebabkan kebocoran liposom (Huda *et al.*, 2019). Senyawa metabolit sekunder fenolik, saponin, dan steroid teridentifikasi

pada ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun durian sehingga efek antibakteri yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksan.

KESIMPULAN

Ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol daun durian memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1% hingga 6% dengan tingkat aktivitas lemah terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan tingkat aktivitas sedang terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Diameter zona hambat tertinggi yang dihasilkan ekstrak *n*-heksan yaitu 0,76 mm (kategori lemah), ekstrak etil asetat 4,76 mm (kategori lemah), dan ekstrak etanol 2,26 mm (kategori lemah) terhadap bakteri *P. acnes* sedangkan diameter zona hambat tertinggi yang dihasilkan ekstrak *n*-heksan yaitu 1,66 mm (kategori lemah), ekstrak etil asetat 6,26 mm (kategori sedang), dan ekstrak etanol 5,96 mm (kategori lemah) terhadap bakteri *S. epidermidis* dengan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) pada konsentrasi 1%.

REFERENSI

1. Andayani, R., Zaki M., Dian R.R. 2016. Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap *Enterococcus faecalis* Secara *In Vitro*. *Journal of Syiah Kuala Density Society*. 1(2):201-210.
2. Armaleni., Nasril N., Anthonie A. 2019. Antagonis *Pseudomonas fluorescens* indigenous terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum*). *Metamorfosa: Journal of Biological Science*. 6(1):119-122.
3. Azwar, B. 2005. *Bijak Memanfaatkan Antibiotika*. Kawan Pustaka. Jakarta.
4. Chigurupati *et al.* 2017. *Quantitive Estimation and Antimicrobial Potention of Ethanol Extract of Durio zibethinus Murr. Leave*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(9):251-254.

5. Davis, W.W dan T.R Stout. 1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. Microbiology 22: 659-665.
6. Depkes RI. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Dapertemen Kesehatan Indonesia. Jakarta.
7. Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
8. Depkes RI. 2010. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jilid I. Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
9. Djajadisastra, J, et al. 2009. *Formulasi Gel Topikal Dari ekstrak Nerii Folium dalam Sediaan Anti Jerawat*. Jurnal Farmasi. 4(4):210-216.
10. Dwikarya, M. 2003. *Merawat Kulit dan Wajah*. Kawan Pustaka. Jakarta.
11. Fardilaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
12. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB Press. Bandung.
13. Huda, C., Amalia E.P., Devri W.S. 2019. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi dari Maserat Zibethinus folium terhadap Escherichia coli*. Jurnal SainHealth. 3(1).
14. Insanu, M., Komar R., Irda F., dan Sienny W. 2011. *Isolasi Flavonoid dari Daun Durian (Durio zibethinus Murr., Bombacaceae)*. Acta Pharmaceutica Indonesia. 36(1):6-10.
15. Istini. 2020. *Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium*. Indonesian Journal of Laboratory. 2(3):41-46.
16. Katrin, D., Nora I., Berlian S. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Melek (Litsea graciae Vidal) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. JKK. 4(1):7-12.
17. Kiswandono, A.A. 2011. *Skrining Senyawa Kimia dan Pengaruh Metode Maserasi dan Refluks pada Biji Kelor (Moringa oleifera, Lamk) TERHADAP Rendemen Ekstrak yang Dihasilkan*. Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa. 1(2):126-134.
18. Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
19. Lestari. 2014. *Uji Daya Hidup Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Prebiotik pada Beberapa Media Preparasi Air Minum Unggas*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
20. Misna dan Khusnul, D. 2016. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (Allium cepa L.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Galenika Journal of Pharmacy. 2(2):138-144.
21. Mulyadi, M., Wuryanti., Purbowatiningrum R.S. 2017. *Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (Imperata cylindrica) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram*. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 20(3):130-135.
22. Murlistyarini, S. 2019. *Akne Vulgaris*. UB Press. Malang.
23. Ngajow, M., Mercy., A. Jemmy., Vanda dan S. Kamu. 2013. *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Jurnal MIPA UNSRAT. 4(1):128-132.
24. Misna dan Khusnul, D. 2016. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang*
25. Permadi, A., S. Sutanto dan S. Wardatun. 2018. *Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (Physalis angulata L.) Secara Kolorimetri*. Jurnal Online Mahasiswa Bidang Farmasi. 1(1):1-10.
26. Pratiwi, R.S., Tjiptasurasa., Retno W. 2011. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (Artocarpus heterophylla Lmk.) Terhadap Bacillus subtilis dan Escherichia coli*. Pharmacy. 8(3):1-10.
27. Rivai, H., Putri E.N., dan Humaira F. 2014. *Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Sirih Hijau (Piper betle L.)*. jurnal Farmasi Higea. 6(2).
28. Rosmania dan Fitri Y. 2020. *Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri*. Jurnal Penelitian Sains. 22(2):76-86.
29. Sobir dan R.M. Napitupulu. 2010. *Bertanam Durian Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
30. Suteja, A., E Harso K., Rosliana L. 2020. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Durian (Durio zibethinus Murr)*. Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA). 1(1):1-6.
31. Thohari, N.M., Pestariati., Wisnu I. 2019. *Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (Vigna radiata L) sebagai*

- Media Alternatif NA (Nutrient Agar) untuk Pertumbuhan Bakteri Eschericia coli. Analis Kesehatan Sains. 8(2):725-737.*
32. Utami, Y.P., Abdul H.U., Reny S., dan Indah K. 2017. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *journal of Pharmaceutical and Medicinal Science. 2(1):32-39.*
 33. Voight, T. 1994. *Pelajaran Teknologi Farmasi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.*
 34. Wahdaningsih, S., Eka K.U., Yunita F. 2014. Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Pharm Sci Res. 1(3):180-193.*
 35. Winarno, W.P. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta.*
 36. Yusmaniar., Wardiyah., Khairun N. 2017. *Mikrobiologi dan Parasitologi. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.*
 37. Zainab., Nanis S., Anisaningrum. 2016. Penetapan Parameter Standardisasi Non Spesifik dan Spesifik Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.). *Media Farmasi. 13(2):212-226*