

IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA EKSTRAK ETANOL DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN

Herwin^{1*}, Ayyub Harly Nurung¹, Nur Intan Ambo¹, Tadjuddin Naid²

¹Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Indonesia

²Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Indonesia

Article info

Received: 08/03/2022

Review: 15/03/2022

Available online: 06/04/2022

Corresponding Author:

Herwin

Laboratorium Mikrobiologi,
Fakultas Farmasi, Universitas
Muslim Indonesia
Indonesia.

email: Herwin.herwin@umi.ac.id

ABSTRACT

Prevention of the transmission of covid 19 can be done by implementing the health protocol, namely 3M (wearing masks, washing hands and social distance). Based on research, the use of masks can reduce the risk of transmission of COVID-19 by 45 percent as well as hand washing reduces the risk by 35 percent. WHO recommends washing hands with soap/antiseptic for 20-30 seconds and applying the right steps. Another effort is to maintain a distance of at least 1 meter and avoid crowds. To assist the government in preventing the transmission of covid 19, socialization of the 3M activity was carried out at the Darul Istiqamah Maros Islamic Boarding School which is located on the Maros-Makassar Street, Mandai District, Maros Regency. This location was chosen because Maros was the third highest area with the number of people who are positive for the corona virus in South Sulawesi. Islamic boarding school students are a partner group that is expected to apply the 3M health protocol so as to prevent the transmission of covid 19. The activity is carried out by providing counseling about the importance of implementing 3M, how to implement 3M and also by distributing masks, soap and disinfectants needed to implement health protocols. The activity was carried out well and received a good response from the participants with 33 participants from various classes who were students of the Darul Istiqamah Islamic Boarding School Makassar.

Keyword:

Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis* L.), KLT-Bioautografi Dan DPPH, Antibakteri dan Antioksidan



Copyright ©2022 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Pendahuluan

Negara Indonesia merupakan salah satu negara terkaya yang memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan kegunaannya besar bagi manusia dalam hal pengobatan. Dimana seiring dengan perkembangan zaman telah banyak dilakukan penelitian tentang penggunaan obat herbal untuk menunjang kesehatan, Seperti di negara Indonesia pengobatan tradisional sangat diminati oleh masyarakat pada umumnya, sehingga tanaman herbal merupakan pilihan utama yang digunakan dalam pengobatan tradisional. Pengobatan obat tradisional merupakan salah satu alternatif yang banyak

digunakan masyarakat disamping caranya yang praktis efek samping yang ditimbulkanpun relatif lebih kecil.

Pengembangan obat antibakteri secara alternatif yang efektif dan aman dapat di peroleh dari tanaman. Metabolit sekunder yang dihasilkan dari tanaman telah di akui banyak aktivitas farmakologinya. Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri salah satunya tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) berdasarkan analisis fitokimia mengandung berbagai metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan tanaman

pacar kuku dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengobatan tifoid ¹.

Tanaman pacar kuku termasuk dalam keluarga *Lythraceae* yang dapat tumbuh di daerah tropis maupun subtropis. Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dikenal sebagai nama henna atau daun inai oleh masyarakat pedesaan tertentu di Indonesia. Secara tradisional rebusan daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) telah digunakan sebagai obat kumur untuk sakit tenggorokan dan mempunyai khasiat anti iritan. Daun pacar kuku juga digunakan sebagai obat diare, selain itu daun pacar kuku juga mampu menyembuhkan radang ruas jari (panaritium) dan luka pada kulit ².

Skrining fitokimia dari ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dengan metode difusi agar mengungkapkan adanya metabolit sekunder dalam daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan menghambat beberapa pertumbuhan mikroorganisme. Hasil ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan mendukung penggunaan tanaman tradisional dalam terapi infeksi bakteri ³. Hasil penelitian ekstrak daun pacar kuku tentang identifikasi fitokimia dan aktivitas antibakteri bahwa daun pacar kuku mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, karbohidrat, quinone, steroid and phenol dan memiliki aktivitas antibakteri baik ekstrak maupun fraksi ⁴. Sehingga dilakukan identifikasi komponen kimia ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) yang mempunyai aktivitas antibakteri dan aktivitas antioksidan dengan metode KLT-Bioautografi dan DPPH.

METODE

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas farmasi, Universitas Muslim Indonesia berdasarkan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan sampel daun Pacar Kuku

(*Lawsonia inermis* L.) sebagai antibakteri dan antioksidan.

2. Alat Dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah autoklaf (SMIC Model YX-280 B), Gelas Erlenmeyer (Iwaki Pyrex), timbangan analitik, rotavapor, oven (memert), laminar air flow (LAF), inkubator (memert), spektrofotometri-UV. Bahan penelitian ini menggunakan daun Pacar Kuku *Leaves* (*Lawsonia inermis* L.), bakteri patogen (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyposa*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio cholerae*) (ATTC 2019), Dimethyl sulfoxide (E.Merck), DPPH, Lempeng KLT, NaCl fisiologis 0.9%, medium Nutrien Agar, medium Nutrien Broth, etanol 96%, kloroform p.a, dietil eter.

3. Prosedur Penelitian

a. Pengambilan dan penyiapan sampel Penyiapan Bahan Penelitian

Sampel daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci dibawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan setelah itu potong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian sampel diserbukkan dengan menggunakan *blender*, hasil serbuk dimasukkan kedalam wadah gelas tertutup.

b. Ekstraksi Sampel

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) ditimbang sebanyak 1000 gram, kemudian dikeringkan, diserbukkan dan direndam dalam etanol 96% sebanyak 2000 mL selama 3 x 24 jam dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya matahari langsung sambil sesekali dilakukan pengadukan. Hasil

maserasi yang dihasilkan dipisahkan dengan ampas kemudian ampas dimaserasi kembali. Ekstrak cair di kumpulkan, kemudian di pekatkan dengan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* dengan tekanan rendah pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental daun pacar kuku. Ekstraksi kental yang didapatkan kemudian dibiarkan pada suhu ruangan hingga seluruh pelarut etanol menguap. Ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk penelitian ^{5,6}.

c. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri hasil peremajaan, disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologi 0,9% sampai diperoleh transmittan 25% dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm dan sebagai blanko menggunakan NaCl fisiologi 0,9%.

d. Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar kuku

Ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia Inermis* L.) di timbang sebanyak 10 mg lalu di larutkan dengan DMSO sebanyak 200 μ L (0,2 mL). setelah larut di tambahkan medium NA 9,8 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/mL. campuran tersebut di tuang ke dalam cawan petri lalu dihomogenkan. Bakteri yang telah di suspensikan, masing-masing di ambil 0,2 μ L menggunakan mikropipet dan digoreskan di atas medium yang telah memadat menggunakan ose bulat. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam setelah itu diamati aktivitas antibakterinya yang di tandai dengan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri ⁷.

e. Uji aktivitas antibakteri secara KLT - Bioautografi

Hasil identifikasi KLT dengan eluen yang terbaik dilanjutkan dengan uji

KLT- bioautografi kontak dengan cara tuangkan medium NA sebanyak 10 mL ke dalam cawan petri yang telah berisi suspensi bakteri lalu dihomogenkan, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji kemudian dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan, selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati zona hambatan tertentu ⁸.

f. Identifikasi komponen kimia Dan Aktivitas Antioksidan

Ekstrak yang menunjukkan aktivitas antibakteri ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler pada lempeng KLT dengan ukuran 7x1 cm yang telah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit dan di elusi dengan menggunakan eluen yang sesuai di dalam chamber. Kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254nm dan 366nm, serta penampakan nodanya diberi tanda yang menghasilkan fluoresensi dan hitung nilai Rf-nya.

g. Identifikasi Dengan Beberapa Penampak Bercak ⁹⁻¹¹

Identifikasi golongan komponen kimia alkaloid

Kromatogram disemprotkan dengan pereaksi kimia dragendroff. Setelah lempeng disemprot dikeringkan diudara, tampak bercak berwarna jingga sampai coklat pada UV 366.

Identifikasi golongan komponen kimia steroid dan terpenoid

Kromatogram disemprotkan dengan pereaksi kimia Lieberman Burchard. Plat silika gel GF 254 yang telah dielusi disemprot dengan pereaksi kemudian di panaskan selama 10 menit pada suhu 100°C dan diamatai pada sinar UV 366nm. Adanya terpenoid di tandai dengan muncul warna merah kecoklatan berfluoresensi sedangkan

adanya steroid tampak bercak berwarna cokelat kemerahan.

Identifikasi golongan komponen kimia flavonoid

Kromatogram disemprotkan dengan

pacci sejauh ini penggunaannya diketahui sebagai daun yang dapat digunakan sebagai pewarna kuku dan kulit pada acara khusus, namun pada sebagian masyarakat pedesaan

Tabel 1. Hasil determinasi tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Nomor Spesimen	Jenis	Suku	Determinator
0810	<i>Lawsonia inermis</i> L.	Lythraceae	Divisi Botani Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi UMI
pereaksi kimia aluminium klorida. Plat		tertentu daun pacar kuku (<i>Lawsonia inermis</i> L.)	

Tabel 2. Hasil ekstraksi daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.)

No.	Sampel	Bobot (gr)	Rendamen Ekstrak (%)
1.	Sampel segar	2120	
2.	Sampel kering	1000	18.5
3.	Ekstrak etanol	180,5	

silika gel GF 254 yang telah di elusi disemprot dengan pereaksi tampak bercak berpendar pada UV 366.

h. Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dengan cara lempeng kromatogram yang berukuran 1x7 cm disemprotkan menggunakan larutan DPPH 0.1 mM dan dibiarkan selama 30 menit lalu diamati pada UV 254 dan 366 nm dengan melihat perubahan warna yang terjadi ^{12,13}. Hasil positif adanya aktivitas penghambatan radikal bebas ditandai dengan terbentuknya noda berwarna kuning pucat setelah setelah disemprot dengan latar belakang ungu. Bercak diamati dengan menggunakan sinar UV 254 nm ^{14,15}.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) yang biasa disebut dengan tanaman inai atau daun

dapat digunakan sebagai obat penyembuh luka, dan obat diare secara tradisional.

Tanaman pacar kuku dideterminasi dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar yang diinginkan. Berdasarkan hasil determinasi diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini sesuai spesies tanaman. Hasil determinasi diperoleh species *Lawsonia inermis* L. dengan suku Lythraceae, sebagaimana pada **Tabel 1**.

Ekstraksi Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.) Secara Maserasi

Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) diekstraksi menggunakan ekstrak etanol 96% dengan metode maserasi yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia dengan berat segar sampel = 2120 gr, berat simplisia kering = 100 gr diperoleh ekstrak etanol sebesar 18.5 gr dengan kadar air sebesar 18.5%. Adapun tabel hasil ekstraksi ekstrak etanol daun pacar kuku

Tabel 3. Hasil skrining antibakteri ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) terhadap bakteri patogen

Kosentrasi Sampel (%)	Bakteri Uji								
	SA	SE	SD	ST	SM	VC	BS	EC	PA
0.05	-	-	-	+	-	+	+	+	-
0.1	-	-	-	+	-	+	+	+	-

Keterangan : + = Menghambat pertumbuhan bakteri, - = Tidak menghambat pertumbuhan bakteri

(*Lawsonia inermis* L.) sebagaimana pada Tabel 2.

Pengujian Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dari pengujian skrining aktivitas ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) terhadap bakteri patogen *Basillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thyposa*, *Shigella dysentriae*, *Staphylococcus aureus*, *streptococcus mutans*, *Vibrio cholerae*

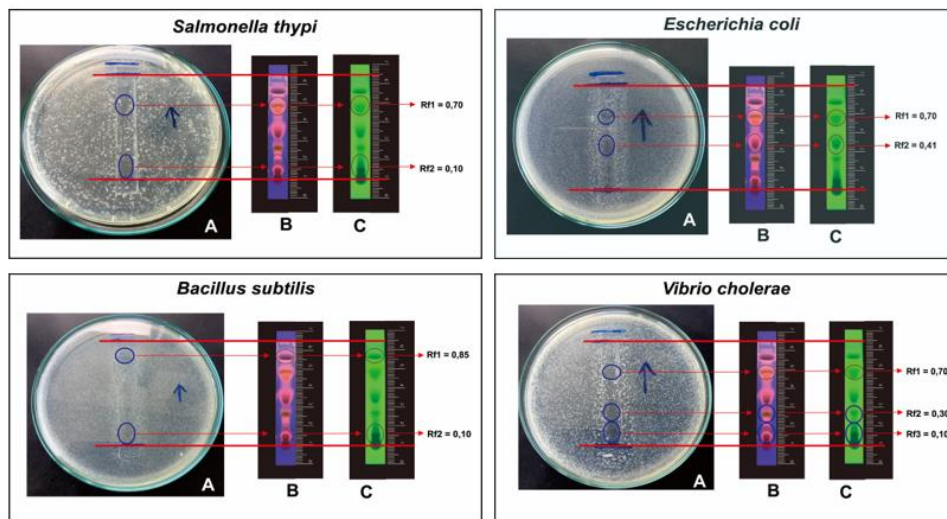
dengan metode dilusi padat pada medium

menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, dan *Vibrio cholerae* dengan sifat daya hambat bersifat bakteriostatik.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Estrak Etanol daun Pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) Secara KLT-Boatografi

Pengujian kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode sederhana secara kualitatif untuk memisahkan komponen-komponen kimia berdasarkan kepolarannya dari suatu sampel dengan prinsip absorban dan partisi. Kepolaran eluen sangat berpengaruh terhadap Rf (faktor retensi) yang diperoleh ¹⁶

Hasil pengujian aktivitas antibakteri



Gambar 1 Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) terhadap bakteri patogen secara KLT-Bioautografi.

Nutrient Agar dengan kosentrasi ekstrak 0.05% dan 0.1%. Hasil pengujian skrining aktivitas antibakteri sebagaimana pada Tabel 3.

Pengujian skrining aktivitas antibakteri tersebut menunjukkan bahwa sampel uji dapat

secara KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dengan fase gerak n-heksan : etil asetat : etanol (4:2:0.5) diperoleh nilai Rf 0.85, 0.70, 0.41, 0.30 dan 0.10 aktif terhadap bakteri patogen *Basillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi* dan

Vibrio cholerae, sebagaimana pada gambar 1 berikut.

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi menggunakan golongan bioautografi kontak ini bertujuan untuk mengetahui komponen kimia apa yang memberikan aktivitas dari sampel uji yaitu ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.)¹⁰. Metode bioautografi merupakan suatu metode sederhana, digunakan dengan tujuan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antikapang. Metode

Identifikasi Golongan Komponen Kimia Aktif Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Identifikasi golongan komponen kimia aktif dari ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dengan tujuan untuk mengetahui komponen kimia yang aktif pada ekstrak yang dapat bersifat sebagai antibakteri. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan beberapa penampak bercak yang disemprotkan pada lempeng kromatogram menggunakan pereaksi Dragendroff-HCL untuk identifikasi komponen kimia golongan alkaloid, pereaksi

Tabel 4 Hasil pengujian secara KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun Pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Sampel	Rf	UV 254 nm		UV366 nm		Aktif pada Bakteri Uji
		Rf	Warna	Rf	Warna	
Ekstrak Etanol daun pacar kuku (<i>Lawsonia inermis</i> L.)	Rf ₁	0,85	Hijau	0,85	Ungu	BS
	Rf ₂	0,70	Hijau	0,70	Jingga	ST,EC,VC
	Rf ₃	0,41	Hijau	0,41	Orange	EC
	Rf ₄	0,30	Hijau	0,30	hijau tua	VC
	Rf ₅	0,10	Hijau	0,10	Orange	ST,VC,BS

Keterangan : BS : *Bacillus subtilis*, ST : *Salmonella thypi*, EC : *Eschericia coli*, VC : *Vibrio cholerae*

Tabel 5 Hasil identifikasi komponen kimia ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Identifikasi Komponen	Pereaksi	Interpretasi Data	Hasil	Rf
Alkaloid	Dragendroff	Bercak berwarna jingga hingga coklat pada sinar UV 366 nm	Terdapat 1 bercak jingga-coklat (+)	0,85
Flavonoid	AlCl ₃	Berpendar pada sinar UV 366 nm	semua noda berpendar pada UV 366 nm (+)	0,10 0,30 0,70
Steroid	Lieberman-Burchard	Berpendar pada sinar UV366 nm	Tidak Bercak berwarna ungu gelap(-)	-
Terpenoid	Lieberman-Burchard	Bercak berwarna biru, kuning-coklat, merah-violet pada sinar tampak	Bercak berwarna hitam (-)	-

ini menggabungkan penggunaan teknik KLT dengan respon mikroba uji berdasarkan aktivitas biologis dari suatu bahan sebagai antibakteri. Antifungi. Profil bioautografi juga digunakan dengan tujuan untuk melokalisasi aktivitas antibakteri atau antifungi baru^{10,17}. Hasil pengujian aktivitas antibakteri sebagaimana pada tabel 4 berikut.

Lieberman Burchard untuk identifikasi komponen kimia golongan terpenoid dan steroid, pereaksi AlCl₃ untuk identifikasi golongan flavonoid. Hasil identifikasi golongan komponen kimia secara kromatografi lapis tipis (KLT), sebagaimana pada **Tabel 4**.

Hasil identifikasi golongan komponen kimia tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) mengandung golongan komponen kimia

flavonoid menggunakan pereaksi semprot $AlCl_3$ pada nilai Rf 0,10, 0,30, dan 0,70 dan aktif pada bakteri *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*. Adanya aktivitas antibakteri senyawa flavonoid adalah dapat berinteraksi dengan struktur protein di dalam dinding sitoplasma bakteri yang menyebabkan rusaknya permeabilitas dinding sel bakteri. Selain itu gugus hidroksi yang terdapat pada flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang berefek toksik pada bakteri. Dan hasil identifikasi dengan pereaksi Dragendroff- HCL positif mengandung komponen kimia alkaloid pada Rf 0,85 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pacar kuku *Lawsonia inermis* L.) secara KLT menggunakan pereaksi 1,1-diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH). Metode DPPH ini merupakan salah satu metode yang sederhana, cepat dan mudah dalam menentukan aktivitas antioksidan dan penapisan aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, efektif dan praktis¹⁸. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pacar kuku aktif sebagai antioksidan pada nilai Rf 0.70 yang ditandai dengan adanya warna bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pacar kuku bersifat sebagai antioksidan [19].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa profil kromatogram ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) menggunakan eluen n-heksan : etil asetat : etanol (4:2:0,5) diperoleh 5 bercak yang aktif terhadap bakteri uji yaitu pada nilai Rf 0,10, 0,30, 0,41, 0,70 dan 0,85 dan mengandung golongan kimia Flavonoid pada nilai Rf 0,10, 0,30 dan 0,70 dan golongan kimia alkaloid pada nilai Rf 0,85 yang memiliki aktifitas antibakteri terhadap empat bakteri uji yaitu *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Vibrio cholerae* dan

memiliki aktivitas antioksidan pada nilai Rf 0.70.

Referensi

1. Sharma RK, Goel A, Bhatia AK. Antityphoid Activity And Phytochemical Screening Of Different Extracts Of *L. Inermis* Plant Leaves. *International Journal of Current Research*. 2016; 8(08):37539–37542
2. Elya B, Farida I, Siti K. Penggunaan Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis* Linn.) Sebagai Obat Luka Alternatif. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2007; 6(3):85–88
3. Raja W, Ovais M, Dubey A. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Lawsonia Inermis* Leaf Extract. *International Journal of Microbiological Research*. 2013; 4(1):33–36
4. Sharma RK, Goel A. Identification of Phytoconstituents in *Lawsonia Inermis* Linn. Leaves Extract by GC-MS and Their Antibacterial Potential. *Pharmacognosy Journal*.; 10(6). DOI: 10.5530/pj.2018.6.187
5. Hasnaeni H, Usman S, Wisdawati W. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia Amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*.; 5(2). DOI: 10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13599
6. Hibai ARY, Herwin H, Kosman R. Antibacterial Activity Assay Of Ethanolic Extract Of Bulbs Sticky Taro (*Colocasia Esculenta*) Use TLC-Bioautografi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*.; 7(1). DOI: 10.33096/jifa.v7i1.24
7. Herwin, Nuryanti S. Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Belimbing Tanah (*Oxalis Corniculata* L.) Secara Klt-Bioautografi Dan Difusi Agar. *As-Syifaa*. 2012; 04(01):74–81

8. Djide MN, Sartini. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Fakultas Farmasi, UNHAS Makassar. 2008
9. Alam G *et al.* Skrining Komponen Kimia Dan Uji Aktivitas Mukolitik Ekstrak Rimpang Bangle (Zingiber Purpureum Roxb.) Terhadap Mukosa Usus Sapi Secara In Vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2012; 16(3):123–126
10. R JC, J EG, M AM. Development of Direct Bioautography as Reference Method for Testing Antimicrobial Activity of Gentamicin Against Escherichia Coli. *Vitae*. 2007; 14(1):67–71
11. Wardhani LK, Sulistyani N. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.) Terhadap Shigella Flexneri Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Pharmaciana*.; 2(1). DOI: 10.12928/pharmaciana.v2i1.636
12. Ghosal M, Mandal P. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Two Selected “BIHI” Fruits Used as Vegetables in Darjeeling Himalaya. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012; 4:567–574
13. Dahlia AA, Hasnawati H. Isolasi Dan Identifikasi Golongan Kimia Aktif Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (*Anacardium Occidentale* L.). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016; 1(1):24–30
14. Sopiah B, Mulasari H, Yuanita E. Skrining Fitokimia Dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau Dan Daun Merah Kastuba (Phytochemical Screening and Potential Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Green Leaves and Red Leaves Kastuba). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2019; 17(1):27–33
15. Herwin M, Baits R. Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Fraksi Daun Colocacia Esculenta L. Dengan Metode KLT-Bioautografi Dan Difenilpikril Hidrazil. *As-Syifaa*. 2015; 07(02):174–181
16. Gandjar, Gholib I, Rohman A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 2007
17. Macek K. *Pharmaceutical Applications of Thin-layer and Paper Chromatography*. Edited by Karel Macek. American Elsevier. *Journal of Pharmaceutical Sciences*.; 62(6). DOI: 10.1002/jps.2600620649
18. Molyneux P, Associates M. *The Use of the Stable Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, URL: <https://www.researchgate.net/publication/237620105>.
19. Banu R, Nagarajan N. TLC and HPTLC Fingerprinting of Leaf Extracts of Wedelia Chinensis (Osbeck) Merrill. ~ 29 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014; 2(6):29–33