

## Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bulung Sangu (*Gracilaria sp.*) terhadap Bakteri Gram Negatif *Pseudomonas aeruginosa*

### *Antibacterial Activity of Sangu Bulung Ethanol Extract (Gracilaria sp.) against Gram Negative Bacteria Pseudomonas aeruginosa*

Ni Kadek Nisa Leoni Putri<sup>a,1</sup>, Maria Malida Vernandes Sasadara<sup>a,2\*</sup>, Erna Cahyaningsih<sup>a,3</sup>, Puguh Santosa<sup>a,4</sup>

<sup>a</sup> Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar, Jalan Kamboja No.11a Denpasar, 80233 Indonesia

<sup>1</sup> [nisaleoni280@gmail.com](mailto:nisaleoni280@gmail.com); <sup>2</sup> [mariasasadara@unmas.ac.id](mailto:mariasasadara@unmas.ac.id); <sup>3</sup> [ernacahya@unmas.ac.id](mailto:ernacahya@unmas.ac.id); <sup>4</sup> [p.santoso@unmas.ac.id](mailto:p.santoso@unmas.ac.id)

\* Corresponding author

#### Abstrak

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat patogen bagi manusia, terutama dalam menyebabkan infeksi nosokomial. Bakteri ini memiliki resistensi terhadap beberapa golongan antibiotik, salah satunya antibiotik golongan carbapenem dan sefalosporin. Pengembangan antibiotik baru menjadi salah satu alternatif dalam menyelesaikan kasus ini. Rumput laut merupakan salah satu biota laut yang memiliki berbagai manfaat untuk dikembangkan karena kandungan senyawa metabolit primer dan sekunder yang dimiliki. Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki rumput laut dimanfaatkan sebagai sumber metabolit bioaktif yang memiliki aktivitas luas sebagai antivirus, antijamur dan antibakteri. Bulung sangu (*Gracilaria sp.*) merupakan salah satu rumput laut yang memiliki aktivitas biologis sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kategori konsentrasi ekstrak etanol 70% bulung sangu (*Gracilaria sp.*) yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sampel bulung sangu diperoleh dari daerah Denpasar selatan (Bali). Ekstrak kental bulung sangu diekstraksi menggunakan etanol 70% dengan metode ultrasonik selama 5 menit pada suhu 40°C. Skrining fitokimia pada ekstrak dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran dengan menggunakan 3 konsentrasi ekstrak yaitu 4%, 8% dan 12%. Kontrol positif dan negatif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol dan aquadest steril. Zona hambat diamati dan dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi (mm). Hasil dianalisis statistik menggunakan Kruskal-wallis dengan taraf kepercayaan 95%. Zona hambat yang dihasilkan dari kontrol positif, konsentrasi 4%, 8% dan 12% dapat menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan rata-rata diameter zona hambat sebagai berikut 25,67mm, 2,00mm, 2,67 mm, dan 2,67 mm dengan kategori zona hambat lemah.

**Kata Kunci:** ekstrak ultrasonik, *gracilaria sp.*, *pseudomonas aeruginosa*, zona hambat.

#### Abstract

*Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative bacterium that is pathogenic to humans, especially by causing nosocomial infections. This bacterium has resistance to several classes of antibiotics, one of which is carbapenem and cephalosporin-class antibiotics. The development of new antibiotics is an alternative to solving this case. Seaweed is one of the marine biotas with various benefits to be developed due to its primary and secondary metabolite compounds. Secondary metabolites in seaweed are used as a source of bioactive metabolites, which have broad antiviral, antifungal, and antibacterial activities. Bulung sangu (*Gracilaria sp.*) is one of the seaweeds with antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial activity of a 70% ethanol extract of bulung sangu (*Gracilaria sp.*) on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Bulung sangu were obtained from the southern Denpasar area (Bali). Bulung sangu viscous extract was extracted using 70% ethanol by the ultrasonic method for 5 minutes at 40 °C. Phytochemical screening of the extract was carried out to determine the presence of secondary metabolites. Antibacterial activity assay was carried out using the well diffusion method using three extract concentrations: 4%, 8%, and 12%. The positive and negative controls used were chloramphenicol antibiotics and sterile aquadest. Inhibition zones were observed and expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (mm). The results were statistically analyzed using Kruskal-Wallis with a 95% confidence level. The inhibition zones generated from the positive control at concentrations of 4%, 8%, and 12% could

<sup>1</sup> email korespondensi : [mariasasadara@unmas.ac.id](mailto:mariasasadara@unmas.ac.id)

inhibit *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, with the following average diameters of the inhibition zones: 25.67mm, 2.00mm, 2.67 mm, and 2.67mm in the weak inhibition zone category.

**Keywords:** *gracilaria sp.*, *pseudomonas aeruginosa*, ultrasonic extract, zone of inhibition

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara kepulauan dengan jumlah pulau sebanyak 17.504 pulau yang kaya akan keanakeragaman hayati. Biota laut merupakan salah satu keanekaragaman hayati yang dimiliki Indonesia dan memiliki potensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan. Salah satu biota laut yang banyak dikembangkan dan dimanfaatkan adalah rumput laut [1].

Rumput laut banyak dikembangkan dalam bidang industri makanan, kosmetik dan juga farmasi karena kandungan senyawa metabolit primer dan sekunder yang dimiliki. Senyawa metabolit primer yang dimiliki rumput laut dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik, sedangkan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki dimanfaatkan dalam dunia farmasi sebagai sumber metabolit bioaktif. Rumput laut sebagai sumber metabolit bioaktif memiliki aktivitas yang luas sebagai antivirus, antijamur, dan antibakteri [2]. *Gracilaria sp.* merupakan salah satu rumput laut yang berpotensi memiliki aktivitas biologis sebagai antibakteri dengan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan polifenol [3].

Resistensi antibiotik merupakan salah satu masalah yang sedang dialami ketika melakukan pengobatan infeksi. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang bersifat patogen bagi manusia terutama dalam menyebabkan infeksi nosokomial. Pada tahun 2017 *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa bakteri *P. aeruginosa* resisten terhadap sebagian besar antibiotik, salah satu antibiotik yang termasuk didalamnya adalah antibiotik carbapenem dan sefalosporin generasi ke tiga. Mengingat perkembangan resistensi antibiotik semakin meluas dalam pengobatan infeksi yang diakibatkan oleh bakteri *P. aeruginosa*, maka perlu adanya pengembangan senyawa antibiotik baru dengan bahan alam [4]

Ekstraksi merupakan salah satu metode yang dapat digunakan dalam menyari senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang dimiliki oleh rumput laut *Gracilaria sp.* *Gracilaria sp.* diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian mengenai aktivitas antibakteri *Gracilaria* menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Gracilaria* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* [2].

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol rumput laut *Gracilaria sp.* terhadap bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan tujuan verifikasi. Penelitian eksperimental ini dilakukan untuk menguji adanya aktivitas antibakteri serta mengetahui kategori zona hambat bakteri dari ekstrak etanol bulung sangu (*Gracilaria sp.*) terhadap bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* dengan memberikan perlakuan-perlakuan tertentu terhadap kelompok-kelompok uji dengan kondisi yang dapat dikontrol. Data yang dihasilkan diukur secara kuantitatif kemudian dibandingkan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar dan Laboratorium Bioteknologi Universitas Udayana.

### 1. Alat

Alat-alat gelas terstandar laboratorium, oven, blender, timbangan analitik, aluminium foil, cawan petri, autoklaf, pinset, lampu bunsen, batang pengaduk, *thermometer*, *waterbath*, *rotary evaporator*, pipet sumuran, cotton bud steril, pipet mikro, jarum ose, jangka sorong digital, erlenmeyer dan tabung reaksi.

### 2. Bahan

Bulung sangu (*Gracilaria sp.*) yang diperoleh dari daerah Serangan (Bali), serbuk (lempeng) Mg, alkohol klorhidrat, amil alkohol, Mayer, dragendroff, FeCl<sub>3</sub> 1%, NaOH 1N, bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa*, Media Agar, KOH 6%, aquadest, etanol 96% dan Kloramfenikol.

### 3. Pembuatan simplisia Bulung Sangu (*Gracilaria sp.*)

Bulung sangu diambil dari daerah perairan Serangan (Bali) sebanyak 2.000 gram kemudian dilakukan sortasi basah dan pencucian. Kemudian dilanjutkan dengan proses perajangan. Setelah proses perajangan dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 5 hari. Setelah pengeringan, dilanjutkan dengan sortasi kering dan penghalusan menggunakan blender, kemudian di ayak.

### 4. Pembuatan Ekstrak Etanol Bulung Sangu (*Gracilaria sp.*)

Sebanyak 200 gram serbuk simplisia bulung sangu diekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol 70% dan dengan rasio perbandingan 1:5. Diekstraksi selama 5 menit dan dilakukan pengadukan berkala selama 3 menit sebanyak 3 kali pada suhu 40°C. Setelah itu Ampas dan filtrat yang dihasilkan dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Kemudian Ampas yang dihasilkan diremaserasi sebanyak 2 kali dengan pelarut yang sama. Filtrat yang dihasilkan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C dan dengan waterbath pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan kuinon.

### 5. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bulung Sangu (*Gracilaria sp.*)

Pada uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi sumuran dengan penanaman bakteri menggunakan metode cawan sebar (*Spread Plate Method*). Media yang

digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA). Bakteri yang digunakan sebanyak 700 µg. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 4%, 8%, dan 12% yang dipipet sebanyak 20 µg. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Kloramfenikol dan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest steril yang dipipet sebanyak 15 µg. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

### 6. Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan SPSS. Data yang dihasilkan di uji dengan Uji Normalitas dan Uji Homogenitas dengan ketentuan nilai  $p > 0.05$ . Dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis* untuk membandingkan hasil penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan atau tidak. Jika hasil Uji *Kruskal-Wallis*  $< 0,05$  maka dilanjutkan dengan Uji *Mann-Whitney* dengan nilai  $p > 0,05$  (tidak terdapat perbedaan yang signifikan) dan nilai  $p < 0,05$  (terdapat perbedaan yang signifikan).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia basah yang digunakan adalah 5.000 gram dengan hasil simplisia kering yang diperoleh adalah 250 gram. Total penyusutan yang diperoleh sebesar 98,16%. Hasil rendemen yang diperoleh adalah 87,5%.

Serbuk simplisia yang digunakan adalah 200 gram yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 diperoleh ekstrak kental sebanyak 33 gram. Hasil % rendemen yang diperoleh sebesar 16,5 %.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh ekstrak etanol bulung sangu yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang digunakan untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun serangan organisme lain [6].

Tabel 1. Skrining Fitokimia

Uji	Pereaksi Uji	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Serbuk (lempeng) Mg + alkohol klorhidrat + amil alkohol.	-	Tidak terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga dalam amil alkohol.
Alkaloid	Dragendroff	+	Terbentuk endapan orange/ merah coklat
Saponin	Larutan ekstrak dan dikocok kuat.	+	Terbentuk busa yang stabil selama 10 menit dan busa tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes larutan HCl 2N.
Tanin	2 tetes larutan FeCl <sub>3</sub> 1%	+	Terbentuknya larutan berwarna hijau violet atau hijau kecoklatan (tanin terkondensasi).
Kuinon	NaOH 1N	-	Tidak terbentuknya larutan berwarna hitam.

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam suatu ekstrak tanaman [7]. Pada penelitian ini skrining senyawa metabolit sekunder yang dilakukan adalah untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan kuinon. Setelah dilakukan uji skrining metabolit sekunder terhadap ekstrak etanol 70% bulung sangu (*Gracilaria sp.*) diperoleh bahwa ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid, saponin dan juga tanin. Perbedaan hasil uji skrining metabolit sekunder yang dihasilkan disebabkan oleh beberapa faktor. Lingkungan menjadi salah satu faktor yang menyebabkan perbedaan hasil uji skrining metabolit sekunder. Dimana kondisi lingkungan seperti intensitas cahaya, temperatur, air, serta salinitas dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder pada suatu sumber tanaman. [8]. Selain faktor lingkungan, metode ekstraksi juga mampu mempengaruhi hasil uji skrining metabolit sekunder. Seperti waktu ekstraksi, jenis pelarut dan sampel pelarut [9].

Pengujian antibakteri yang dilakukan menggunakan metode difusi sumuran, di mana media agar yang digunakan adalah media *Nutrient Agar* karena *Nutrient Agar* merupakan media non selektif dan memiliki kandungan yang sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif [10]. Pada pengujian ini, metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran karena pengerjaan yang relatif mudah dan pengukuran luas zona hambat yang dihasilkan lebih mudah untuk diukur [11]. Penanaman bakteri pada media agar

dilakukan dengan metode cawan sebar (*Spread Plate Method*) karena metode ini dilakukan saat media yang digunakan telah memadat [12]. Konsentrasi sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4%, 8% dan 12% dengan replikasi sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol, antibiotik kloramfenikol dipilih sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest steril untuk membuktikan bahwa aquadest steril tidak memiliki aktivitas daya hambat. Aquadest steril juga digunakan untuk melarutkan ekstrak yang akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri [13]. Dari hasil pengujian yang telah dilakukan, konsentrasi 4%, 8% dan 12% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan rata-rata diameter zona hambat secara berturut-turut sebesar 2,00 mm, 2,67 mm, dan 2,67 mm yang termasuk dalam kategori lemah. Klasifikasi respon daya hambat pertumbuhan bakteri dikelompokkan menjadi 5 yaitu tidak ada daya hambat, lemah (diameter < 5mm), sedang (diameter 5-10 mm), kuat (diameter 10-20 mm) dan sangat kuat (diameter > 20 mm). Aktivitas daya hambat optimal yang disebabkan oleh zat antibakteri terhadap pertumbuhan suatu bakteri tertentu akan terjadi jika diberikan perlakuan yang optimal, tidak bergantung kepada besar kecilnya konsentrasi ekstrak tersebut. Karena konsentrasi mempengaruhi efektivitas obat terhadap bakteri, namun

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BULUNG SANGU (*Gracilaria sp.*) TERHADAP BAKTERI GRAM NEGATIF *Pseudomonas aeruginosa*

peningkatan konsentrasi tidak selalu diikuti dengan peningkatan efek.

**Tabel 2. Diameter Zona Hambat**

Replikasi	Zona Hambat (mm)				
	4%	8%	12%	Kontrol Negatif	Kontrol Positif
1	1	2	2	0	27
2	4	5	4	0	26
3	1	1	2	0	24
Rata-rata ± SD	2,00 ± 1,73	2,67 ± 2,08	2,67 ± 1,15	0,00 ± 0,00	25,67 ± 1,53

Keterangan : SD = Standar Deviasi



**Gambar 1 Hasil Zona Hambat**

Setelah diperoleh data hasil pengujian diameter zona hambat, dilakukan analisis data menggunakan SPSS dengan taraf kepercayaan 95%. Berdasarkan uji normalitas yang dilakukan pada bagian *Shapiro-Wilk*, terdapat data yang tidak terdistribusi normal yaitu pada konsentrasi 4%, 12%, dan Kontrol (-) karena nilai p yang diperoleh < 0,05 yaitu 0,000. Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah data yang akan diuji memenuhi syarat atau tidak. Dilanjutkan dengan uji homogenitas, hasil uji homogenitas menunjukkan nilai p > 0,05 yaitu 0,060 sehingga dapat dikatakan bahwa data

tersebut homogen. Dikarenakan data yang diperoleh tidak memenuhi syarat maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* untuk membandingkan apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada data tersebut. Dari uji *Kruskal-Wallis* yang dilakukan, nilai p yang diperoleh < 0,05 yaitu 0,023 sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada data. Dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, hasil uji *Mann-Whitney* (Tabel 3) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 4%, 8%, dan 12%.



Tabel 3. Uji *Mann-Whitney*

Kelompok	Kontrol +	4%	8%	12%	Kontrol -
Kontrol +		0,046*	0,050	0,046*	0,037*
4%	0,046*		0,817	0,361	0,034*
8%	0,050	0,817		0,037*	0,037*
12%	0,046*	0,034*	0,037*		0,034*
Kontrol -	0,037*	0,034*	0,034*	0,034*	

Keterangan :

\* = Nilai Sig < 0,05, menunjukkan ada perbedaan bermakna

Kontrol + = Kontrol Positif (Antibiotik Kloramfenikol)

Kontrol - = Kontrol Negatif (Aquadest Steril)

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% Bulung Sangu (*Gracilaria sp.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan ekstrak etanol bulung sangu (*Gracilaria sp.*) konsentrasi 4%, 8% dan 12% dengan zona hambat berturut-turut 2,00 mm; 2,67 mm; dan 2,67 mm termasuk kedalam kategori lemah terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif *Pseudomonas aeruginosa*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar dan seluruh pihak yang telah terlibat dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. F. Siregar, A. Sabdon, and D. Pringgenies, "Potensi Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*," *J. Mar. Res.*, vol. 1, no. 2, pp. 83–85, 2012, doi: <https://doi.org/10.14710/jmr.v1i2.2032>.
- [2] A. A. P. Sinurat, P. P. Renta, N. E. Herliany, B. F. Negara, and D. Purnama, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumpun Laut *Gracilaria edulis* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*," *J. Enggano*, vol. 4, no. 1, pp. 105–114, 2019, doi: [10.31186/jenggano.4.1.105-114](https://doi.org/10.31186/jenggano.4.1.105-114).
- [3] B. Gita Bhernama, "Aktivitas Antibakteri Sabun Padat Yang Mengandung Ekstrak Etanol Rumpun *Gracilaria, sp* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*," *PENA Akuatika*, vol. 19, no. 1, pp. 34–44, 2020, doi: <https://dx.doi.org/10.31941/penaakuatika.v19i1.1060>.
- [4] A. Wulansari, M. Aqlinia, Wijanarka, and B. Raharjo, "Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) dan Uji Aktivitas Antibakterinya terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*," *Berk. Bioteknol.*, vol. 2, no. 2, 2019.
- [5] P. . Padmasari, K. . Astuti, and N. . Warditiani, "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*)," *Chromatographia*, vol. 47, no. 3–4, pp. 234–234, 1998, doi: [10.1007/bf02466588](https://doi.org/10.1007/bf02466588).
- [6] T. Murniasih, "Metabolit Sekunder Dari Spons Sebagai Bahan Obat-obatan," *J. Pesisir Dan Laut Trop.*, vol. 6, no. 1, p. 44, 2003, doi: [10.35800/jplt.6.1.2018.20192](https://doi.org/10.35800/jplt.6.1.2018.20192).
- [7] D. M. Putri and S. S. Lubis, "Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum (Roxb.) Blum*)," *Amina*, vol. 2, no. 3, pp. 120–125, 2020.
- [8] Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M. R. Sussman, and H. Wu, "The effect of developmental and environmental factors on secondary

- metabolites in medicinal plants,” *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 148, no. June 2019, pp. 80–89, 2020, doi: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
- [9] A. W. Ningsih, I. H. Nurrosyidah, and A. Hisbiyah, “Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia,” *J. Pharm. Anwar Med.*, vol. 2, no. 2, pp. 49–57, 2018, doi: 10.36932/jpcam.v2i2.27.
- [10] A. L. Putri and E. Kusdiyantini, “Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia,” *J. Biol. Trop.*, vol. 1, no. 2, p. 6, 2018, doi: 10.14710/jbt.1.2.6-12.
- [11] L. S. Nurhayati, N. Yahdiyani, and A. Hidayatulloh, “Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram,” *J. Teknol. Has. Peternak.*, vol. 1, no. 2, pp. 41–46, 2020, doi: 10.24198/jthp.v1i2.27537.
- [12] N. inayati Putriawati and D. Agrijati, “Inventarisasi *Bacillus thuringiensis* Dengan Metode Cawan Sebar Pada Habitat Hidup Larva *Anopheles sp* Pada Tanaman Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*),” *J. Anal. Med. Bio Sains*, vol. 5, no. 1, pp. 91–95, 2018.
- [13] Wahyuni and S. F. Karim, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*,” *J. Sains dan Kesehatan*, vol. 2, no. 4, pp. 399–404, 2020.