

## Daya Hambat Ekstrak Non-Polar (n-Heksan) Daun Lathangka (*Lunasia amara* Blanco) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Nurwahidah<sup>1</sup>, Rustam Musta<sup>2</sup>, Abraham Rahman<sup>3</sup>,

<sup>1</sup> Universitas Halu Oleo , [nrwhda0813@gmail.com](mailto:nrwhda0813@gmail.com)

<sup>2</sup> Universitas Halu Oleo , [rustammusta.04@gmail.com](mailto:rustammusta.04@gmail.com)

### Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang Daya Hambat Ekstrak Non-Polar (N-Heksan) Daun Lathangka (*Lunasia amara* Blanco) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa penyusun yang terkandung dalam ekstrak non-polar (n-heksan) daun Lathangka yang diperoleh melalui proses ekstraksi dan untuk mengetahui daya hambat ekstrak n-heksan daun Lathangka terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut n-heksan, dilanjutkan dengan skrining fitokimia, identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), analisis komponen senyawa dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), serta uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram pada konsentrasi 75%, 50%, 25%, dan 12,5% selama masa inkubasi 24 dan 48 jam. Hasil penelitian analisis GC-MS mengidentifikasi 4 komponen senyawa utama yaitu 2-Propenil, 2-propenoat, 5-siklopropilidene-, 1-pentanol, 2,3,5-trimetil-4-metilen-2-siklopenten-1-on, Metil- $\omega$ -3 Arakidonoat. Namun, hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara Blanco* pada seluruh konsentrasi uji (75%, 50%, 25%, dan 12,5%) tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat (0 mm).

**Kata Kunci:** *Lunasia amara* Blanco, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), *Escherichia coli*, Daya Hambat

### Abstract

A study has been conducted on the inhibitory effect of non-polar (n-hexane) extract of Lathangka leaves (*Lunasia amara* Blanco) against *Escherichia coli* bacteria. The purpose of this study is to find out the compounds contained in the non-polar (n-hexane) extract of Lathangka leaves obtained through the extraction process and to determine the inhibitory effect of the n-hexane extract of Lathangka leaves on the growth of *Escherichia coli* bacteria. The extraction was done using the maceration method with n-hexane as the solvent, followed by phytochemical screening, identification using Thin Layer Chromatography (TLC), compound analysis with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), and antibacterial activity tests using the disc diffusion method at concentrations of 75%, 50%, 25%, and 12.5% during 24 and 48 hours of incubation. GC-MS analysis results identified 4 main compound components, namely 2-Propenyl, 2-propenoate, 5-cyclopropylidene-, 1-pentanol, 2,3,5-trimethyl-4-methylene-2-cyclopenten-1-one, and Methyl- $\omega$ -3 Arachidonate. However, antibacterial activity tests showed that the n-hexane leaf extract of *Lunasia amara* Blanco at all tested concentrations (75%, 50%, 25%, and 12.5%) was unable to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria, as indicated by the absence of an inhibition zone (0 mm).

**Keywords:** : *Lunasia amara* Blanco, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), *Escherichia coli*, Inhibitory Activity

#### Corresponding Author:

Nurwahidah

Universitas Halu Oleo , [nrwhda0813@gmail.com](mailto:nrwhda0813@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Masalah kesehatan akibat infeksi bakteri merupakan masalah besar di seluruh dunia, termasuk di Sulawesi Tenggara. Tingkat kesehatan masyarakat menunjukkan kemajuan suatu masyarakat. Kebersihan makanan adalah salah satu faktor yang memengaruhi kesehatan masyarakat. Hal ini disebabkan fakta bahwa makanan yang akan dikonsumsi harus bersih karena bakteri yang menempel padanya dapat menginfeksi orang dan menyebabkan masalah Kesehatan (Rosalina dan Nurmaulawati, 2024). Salah satu penyakit yang sering muncul akibat infeksi bakteri adalah diare dan salah satu penyebab utama infeksi bakteri tersebut adalah bakteri *Escherichia coli*. Kondisi ini perlu mendapat perhatian karena diare dapat menimbulkan dampak serius terhadap kesehatan, menurunkan produktivitas, dan meningkatkan risiko kematian, terutama pada anak-anak (Dwimawati dkk., 2022). Infeksi diare adalah penyebab kematian yang paling umum dan termasuk di antara lima penyebab kematian teratas.

Menurut data dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara, terdapat 40.645 kasus penyakit diare yang dirawat di fasilitas kesehatan secara keseluruhan pada tahun 2020, 37.578 kasus pada tahun 2021, dan 40.708 kasus pada tahun 2022. Sebanyak 17,3% di antaranya mengalami kematian (Anonim, 2022). Data Dinas Kesehatan Kabupaten Konawe menunjukkan total kasus penyakit diare pada tahun 2020 sebesar 2.319 kasus, pada tahun 2021 sebesar 1.560 kasus dan pada tahun 2022 jumlah kasus diare yang dilayani oleh sarana Kesehatan di Kabupaten Konawe sebesar 1.892 kasus (Anonim, 2022). Penyakit diare di wilayah kerja Puskesmas Soropia termasuk dalam 10 penyakit terbesar di wilayah tersebut dengan total kasus 145 kasus pada tahun 2021 dan 150 kasus pada tahun 2022. Total kasus diare di Kecamatan Soropia pada bulan Januari-Agustus tahun 2023 terdapat sebanyak 78 kasus (Anonim, 2023). Oleh karena itu, bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare jika jumlah bakteri ini meningkat dalam saluran pencernaan. Bakteri *Escherichia coli* menghasilkan eksotoksin yang aktivitasnya dapat mempengaruhi usus halus, sehingga umumnya menyebabkan sekresi cairan berlebih ke dalam rongga usus yang menyebabkan diare. Selain menggunakan pengobatan medis diare dapat diobati dengan sediaan herbal.

Antibiotik sintesis telah lama menjadi pilihan utama dalam pengobatan infeksi bakteri karena efektivitasnya yang tinggi dan kemampuannya dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme patogen. Seiring meningkatnya resistensi terhadap antibiotik sintetis, penggunaan tanaman obat sebagai alternatif antibakteri alami semakin banyak dikembangkan karena dinilai lebih aman, terjangkau, dan ramah lingkungan. Salah satu tanaman yang biasa dijadikan tanaman obat adalah Tanaman Ladhangka (*Lunasia amara* Blanco). *Lunasia amara* Blanco merupakan tanaman obat yang memiliki potensi besar, berasal dari wilayah Timur Indonesia, dan kini termasuk dalam kategori langka. Tanaman ini masih sulit ditemukan dan merupakan tanaman endemik Sulawesi (Lallo dkk., 2017). Tumbuhan ini dapat ditemukan di berbagai daerah di Pulau Sulawesi hingga Pulau Papua bagian barat. Nama daerah tumbuhan ini berbeda-beda di setiap daerah, di Desa Siawung Kabupaten Barru Sulawesi Selatan dikenal sebagai kayu beta-beta, di Desa Sanrego Kabupaten Bone Sulawesi Selatan dikenal sebagai kayu sanrego, di Minahasa tumbuhan ini dikenal dengan sebutan pintan, makelum halaluna atau aifata, di Madura dikenal dengan sebutan pamaitan (Hasnaeni dan Emelda, 2020) dan di daerah Buton dikenal dengan sebutan Ladhangka. Tanaman ini sering digunakan sebagai tanaman obat, *Lunasia amara* Blanco dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk mengatasi berbagai penyakit, termasuk sebagai aprodisiaka, antiinflamasi, dan penangkal racun ular (Sudrajat dkk., 2016). Bagian tanaman yang umum digunakan adalah akar, batang, dan daunnya. Parua dkk., (1978) melaporkan bahwa tumbuhan ini mengandung alkaloid lunacridine, lunasine dan lunanine (Alyidrus, 2017). Tanaman ini juga memiliki kandungan senyawa seperti steroid, fenolik,

saponin, alkaloid, kumarin dan diketahui adanya aktivitas antioksidan (Hasnaeni dan Emelda, 2020).

Salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi metabolit sekunder melalui perendaman dalam pelarut organik pada suhu ruang. Proses ini sangat menguntungkan untuk isolasi senyawa dari bahan alam karena selain biayanya yang rendah dan mudah dilakukan, perendaman akan menyebabkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma bisa terlarut dalam pelarut. Proses maserasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang bersifat non-polar yang terkandung dalam daun *Lunasia amara* Blanco. Selain memiliki selektivitas yang baik terhadap metabolit sekunder non-polar, n-heksan juga mudah diuapkan sehingga memudahkan proses pemekatan ekstrak tanpa menyebabkan kerusakan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Faktor-faktor seperti suhu, waktu, dan jenis pelarut yang digunakan juga mempengaruhi proses maserasi (Fakhruzy dkk., 2020).

Salah satu aspek penting yang harus dianalisis dalam penelitian ini adalah kemampuan bahan aktif untuk memperlambat atau menghentikan pertumbuhan populasi bakteri terutama pada bakteri *Escherichia coli*. Evaluasi ini biasanya dilakukan dengan memantau kerapatan sel bakteri dalam media kultur selama periode tertentu. Informasi tentang jenis dan sifat kepolaran senyawa aktif membantu menjelaskan bagaimana ekstrak daun *Lunasia amara* Blanco dapat menghentikan pertumbuhan *Escherichia coli* dalam penelitian antibakteri. Hasil penelitian Dasor dkk., (2021) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kayu metang (*Lunasia amara* Blanco) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* karena mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Konsentrasi 5%, 10% dan 20% efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena zona hambat yang dihasilkan termasuk dalam kategori kuat. Konsentrasi 20% dengan zona hambat paling luas yaitu 14,65 mm sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil penelitian Saputra dkk., (2024) menunjukkan ekstrak etanol kulit batang *Lunasia amara* mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, namun daya hambat yang dihasilkan tergolong rendah. Pada bakteri *Escherichia coli*, ekstrak konsentrasi 5% menghasilkan zona hambat sebesar 6,14 mm, konsentrasi 10% sebesar 6,82 mm, dan konsentrasi 20% sebesar 7,15 mm. Sementara itu, pada bakteri *Staphylococcus aureus*, zona hambat yang terbentuk berturut-turut sebesar 6,40 mm pada konsentrasi 5%, 6,65 mm pada konsentrasi 10%, dan 7,92 mm pada konsentrasi 20%. Hasil penelitian Adriani, (2024) menyatakan bahwa ekstrak daun *Lunasia amara* Blanco yang diperoleh menggunakan pelarut etil asetat mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil analisis LC-HRMS dan prediksi PASS Online menunjukkan adanya 10 senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri potensial dengan nilai probabilitas aktivitas ( $P_a$ ) lebih dari 0,7, di mana nobiletin memiliki nilai tertinggi ( $P_a=0,91$ ). Penelitian ini tidak melakukan uji antibakteri secara langsung terhadap bakteri maupun pengukuran zona hambat, sehingga tidak terdapat data konsentrasi ekstrak dan klasifikasi daya hambat (kuat, sedang, atau lemah).

Penelitian sebelumnya telah membahas tentang hasil ekstrak dari daun *Lunasia amara* Blanco pada pelarut polar dan pelarut semi polar. Dimana pada hasil kedua pelarut tersebut memiliki aktivitas antibakteri, namun senyawa-senyawa non-polar yang larut dalam pelarut seperti n-heksan belum banyak diteliti meskipun memiliki kemungkinan besar menunjukkan senyawa bioaktif yang sama. Oleh karena itu, dilakukan penelitian menggunakan pelarut non-polar yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan menguji potensi terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak non-polar daun *Lunasia amara* Blanco. Selain itu, sebagian besar penelitian terdahulu hanya berfokus pada pengukuran zona hambat sebagai

indikator aktivitas antibakteri. Dengan demikian, penelitian ini dilakukan untuk menjawab kekurangan data ilmiah mengenai kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* serta untuk memahami lebih dalam mekanisme kinetika penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli*. Melalui penelitian ini dapat diperoleh gambaran mengenai senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri sekaligus bagaimana tetapan laju reaksi dan orde reaksi penghambatannya berlangsung.

## METODE

### 1. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu: Dilaksanakan pada bulan Januari 2026.

Tempat:

Preparasi & Ekstraksi: Laboratorium Jurusan Pendidikan Kimia, FKIP Universitas Halu Oleo.

Uji Antibakteri: Laboratorium Terpadu Universitas Halu Oleo.

Analisis GC-MS: Laboratorium Analisis Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo.

### 2. Alat dan Bahan

Alat: Blender, cawan petri, timbangan analitik, instrumen GC-MS, pipet ukur, mikropipet, filler, bunsen, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, botol vial, cotton swab, spatula, vortex mixer, chamber, oven, autoclave, laminar air flow, pinset, rotary evaporator, dan jangka sorong.

Bahan: Sampel daun ladhangka (*Lunasia amara Blanco*), bakteri *Escherichia coli*, aquades, kertas saring, n-Heksan Pro Analys, aluminium foil, Nutrien Agar (NA), Streptomisin, DMSO, alkohol, HCl,  $H_2SO_4$ ,  $NH_3$ , kloroform,  $FeCl_3$  1% & 5%, serbuk Magnesium, pereaksi Dragendorff, kapas, dan kertas cakram.

### 3. Prosedur Penelitian

Preparasi Daun *Lunasia amara Blanco*:

Sortasi basah dan pencucian daun.

Pemotongan menjadi bagian kecil, pengeringan pada suhu ruang selama  $\pm 7$  hari, lalu dihaluskan dengan blender.

#### 1. Ekstraksi (Maserasi):

Serbuk daun sebanyak 200 gram direndam dengan 250 mL pelarut n-heksan p.a selama 3 hari (dilakukan pengadukan berkala).

Menyaring filtrat dan melakukan remaserasi pada ampas sampel.

Gabungan filtrat I dan II dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 2. Skrining Fitokimia:

Uji Alkaloid: Ekstrak + kloroform + amonia +  $H_2SO_4$  pekat, lalu ditambahkan pereaksi Dragendorff (positif jika terbentuk endapan kuning-merah).

Uji Flavonoid: Ekstrak dalam n-heksan + serbuk Mg + HCl pekat (positif jika terjadi perubahan warna kuning/jingga/merah).

Uji Saponin: Ekstrak dalam n-heksan + air panas + dikocok kuat + HCl 2N (positif jika terbentuk busa stabil  $\geq 10$  menit).

Uji Tanin: Ekstrak dalam n-heksan +  $FeCl_3$  1% (positif jika berwarna hijau kehitaman).

Uji Triterpenoid/Steroid: Ekstrak + kloroform + asam asetat anhidrida +  $H_2SO_4$  pekat (positif merah/cokelat untuk triterpenoid, biru untuk steroid).

Uji Fenolik: Ekstrak dalam n-heksan +  $FeCl_3$  5% (positif jika berwarna hijau/biru).

#### 3. Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT):

Menggunakan lempeng KLT (diaktivasi pada suhu  $110^\circ C$  selama 30 menit).

Fase gerak (eluen) berupa campuran n-heksana : etil asetat (2:1).

Penotolan sampel, elusi, visualisasi noda di bawah sinar UV, serta perhitungan nilai  $R_f$ .

4. Analisis GC-MS:

Menggunakan instrumen GC-MS dengan kolom DB-5MS (30 m x 250  $\mu$ m x 0,25  $\mu$ m).

Suhu interface 250°C, suhu inlet 280°C, suhu MS source 200°C.

Program suhu oven diawali 50°C (hold 5 menit), di-ramp 10°C/menit hingga 280°C (hold 5 menit) dengan total waktu analisis 33 menit.

5. Pengujian Aktivitas Antibakteri:

Sterilisasi: Alat dan bahan disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit.

Peremajaan Bakteri: Re-generasi *E. coli* pada media cawan dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam.

Uji Metode Difusi Cakram:

Ekstrak diencerkan dengan aquades dan DMSO 2% pada variasi konsentrasi: 75%, 50%, 25%, dan 12,5%.

Bakteri diinokulasikan pada media NA.

Kertas cakram direndam dalam variasi ekstrak selama 5 menit, lalu diletakkan di atas media NA.

Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam dengan 3 kali replikasi.

Pengukuran diameter zona hambat untuk mengklasifikasikan daya hambat (Sangat Kuat  $\geq$  21 mm, Kuat 11–20 mm, Sedang 6–10 mm, Lemah  $\leq$  5 mm).

6. Teknik Analisis Data

Rendemen Ekstrak: Dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

Nilai  $R_f$  KLT: Dihitung dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak Noda}}{\text{Jarak Eluen}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Ekstrak Daun Ladhangka (*Lunasia amara* Blanco)

Hasil ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil Nilai Rendemen Daun *Lunasia amara* Blanco

| Serbuk Daun <i>Lunasia amara</i><br>Blanco (gram) | Ekstrak<br>Kental (gram) | Rendemen<br>(%) | Warna Ekstrak<br>Kental |
|---------------------------------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|
| 200                                               | 4,85                     | 2,425           | Hijau pekat             |

Tabel 2. menunjukkan bahwa rendemen ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco sebesar 2,425%. Nilai rendemen ini tergolong rendah, yang menunjukkan bahwa fraksi non-polar dalam daun *Lunasia amara* Blanco relatif terbatas. Menurut Wardaningrun dkk., (2019) perhitungan rendemen ekstrak dikatakan baik apabila nilai rendemen ekstrak yang diperoleh lebih dari 10%. Nilai rendemen yang relatif rendah ini mungkin disebabkan oleh penggunaan pelarut non-polar (n-heksana), yang hanya dapat melarutkan beberapa zat seperti lipid, klorofil, dan beberapa metabolit sekunder non-polar lainnya. Hasil rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu metode ekstraksi, jenis pelarut, suhu, lama waktu, ukuran partikel dan perbandingan jumlah sampel dan pelarut.

Ekstrak daun *Lunasia amara* Blanco dengan n-heksan berwarna hijau pekat karena pigmen klorofil dan banyaknya senyawa non-polar, seperti steroid dan triterpenoid di jaringan daun hijau. Sedangkan menurut penelitian Hasnaeni dkk., (2019) menyatakan

bahwa ekstrak batang atau kayu beta-beta yang dibuat dengan metanol 70% berwarna hijau kehitaman, hitam pekat atau biru kehitaman, karena dominasi senyawa fenolik dan tanin. Perbedaan ini menunjukkan komposisi metabolit daun memiliki banyak pigmen fotosintetik, sementara pada kayu menjadi kuning, coklat kehitaman atau gelap karena polifenol dan lignin. untuk kayu, rendemen maserasi metanol sebanding (2-3%) dengan rendemen n-heksan rendah untuk daun.

## 2. Fitokimia Ekstrak N-Heksan Daun Ladhangka (*Lunasia amara* Blanco)

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak. Skrining fitokimia ini dilakukan dengan pengujian kualitatif, yaitu melihat perubahan warna setelah penambahan reagen pada ekstrak. Hasil skrining fitokimia ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *Lunasia amara* Blanco

| Senyawa Metabolit Sekunder | Perlakuan/ Pereaksi     | Keterangan Senyawa |
|----------------------------|-------------------------|--------------------|
| Alkaloid                   | Dragendorff             | -                  |
| Flavonoid                  | logam Mg + HCL pekat    | -                  |
| Saponin                    | Air panas + HCl 2 N     | +                  |
| Tanin                      | FeCl <sub>3</sub> 1%    | +                  |
| Triterpenoid dan Steroid   | Kloroform + Asam Asetat | + (Triterpenoid)   |
|                            | Anhidrat + Asam Sulfat  |                    |
| Fenolik                    | FeCl <sub>3</sub> 5%    | +                  |

Metabolit sekunder diidentifikasi secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi khusus. Perubahan warna atau pembentukan endapan merupakan tanda adanya golongan senyawa. Uji fitokimia terhadap ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco menunjukkan bahwa senyawa alkaloid dan flavonoid tidak ditemukan; sebaliknya, ekstrak tersebut mengandung saponin, tanin, triterpenoid, dan fenolik seperti yang ditampilkan pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3, hasil uji fitokimia terhadap ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco menunjukkan hasil pengujian senyawa alkaloid dan flavonoid menunjukkan hasil negatif. Pereaksi Dragendorff bekerja berdasarkan pembentukan kompleks antara ion bismut dan atom nitrogen pada senyawa alkaloid. Menurut penelitian Lisan dkk., (2023) menyatakan bahwa endapan berwarna jingga atau merah akan terbentuk pada ekstrak yang mengandung alkaloid. Jika tidak terbentuk, itu menunjukkan bahwa alkaloid tidak ada atau kandungannya sangat sedikit sehingga tidak dapat dideteksi secara kualitatif. Sedangkan pada uji flavonoid, Menurut penelitian Lisan dkk., (2023) menyatakan bahwa hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning, jingga dan merah. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi juga dapat memengaruhi hasil negatif. Jika pelarut yang digunakan tidak polar, senyawa yang biasanya bersifat polar hingga semipolar tidak terekstraksi dengan baik, sehingga tidak terdeteksi pada pengujian. Menurut penelitian Royani dan Yulianti, (2025) menyatakan bahwa penambahan magnesium pada uji flavonoid berfungsi sebagai agen pereduksi dalam suasana asam yang diciptakan oleh HCl. HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis O-glikosil pada flavonoid dan mengubahnya menjadi aglikon.

Pengujian saponin dilakukan dengan air panas dan HCl 2N. Ini menggunakan sifat saponin sebagai senyawa glikosida yang memiliki gugus hidrofilik (gula) dan hidrofobik (aglikon/sapogenin) sekaligus, sehingga bersifat seperti surfaktan dan mampu membentuk busa stabil saat dikocok dalam air. Tujuan penambahan HCl 2N adalah untuk memastikan bahwa busa yang terbentuk stabil (tidak hilang) dalam suasana asam. Menurut penelitian Royani dan Yulianti, (2025) menyatakan bahwa hasil positif ini menunjukkan bahwa sampel mengandung glikosida saponin, yang dikenal memiliki fungsi biologis seperti antimikroba

dan hemolitik. Uji tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  1% didasarkan pada kemampuan gugus fenolik/hidroksil pada struktur tanin untuk membentuk senyawa kompleks berwarna dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Hasil uji tanin menunjukkan bahwa setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$ , terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua. Penelitian Royani dan Yulianti, (2025) menyatakan bahwa Perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  disebabkan oleh pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Keberadaan senyawa polifenol yang berfungsi sebagai astringen dan antioksidan dalam sampel dikonfirmasi oleh hasil tanin yang positif.

Berdasarkan Tabel 3, uji triterpenoid menunjukkan hasil positif. kloroform, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat adalah pereaksi yang digunakan dalam pengujian golongan triterpenoid/steroid. Prinsip reaksinya mencakup oksidasi dan dehidrasi gugus hidroksil pada struktur triterpenoid atau steroid, bersama dengan mekanisme kondensasi atau pelepasan hidrogen dan penggabungan karbocation. Warna yang dihasilkan dapat digunakan untuk membedakan kedua kelompok tersebut. Warna merah, jingga, atau kecoklatan biasanya menunjukkan triterpenoid, sementara warna hijau-biru menunjukkan steroid. Ini sejalan dengan penelitian Lisan dkk., (2023) bahwa perubahan warna merah kecoklatan pada permukaan menunjukkan hasil terpenoid yang baik.

Pengujian fenolik dengan  $\text{FeCl}_3$  5% memiliki prinsip yang serupa dengan uji tanin, yaitu pembentukan kompleks warna antara ion  $\text{Fe}^{3+}$  dan gugus hidroksil aromatik melalui mekanisme kelasi. Namun, untuk mendeteksi senyawa fenolik lebih sering, mereka memerlukan konsentrasi  $\text{FeCl}_3$  yang lebih tinggi. Karena tanin adalah bagian dari kelompok senyawa fenolik, hasil uji ini menunjukkan bahwa sampel mengandung banyak senyawa fenolik. Sehingga hasil positif tanin dan fenolik saling terkait. Hasil yang berbeda ini wajar karena setiap golongan metabolit sekunder memiliki tingkat kepolaran, gugus fungsi, dan kestabilan struktur yang berbeda. Oleh karena itu, kandungan metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut ekstraksi, bagian tanaman yang digunakan, dan faktor lingkungan tempat tumbuh tanaman. Ini menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder tanaman yang didapatkan dari lokasi yang berbeda dapat berbeda. Kandungan senyawa positif, seperti saponin, tanin, triterpenoid, dan fenolik, menunjukkan potensi aktivitas biologis sampel. Aktivitas antioksidan (saponin dan fenolik) dan antimikroba (saponin dan triterpenoid).

### **3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Lathangka (*Lunasia amara* Blanco)**

Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis pada ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco dapat dilihat pada gambar 1 dan Tabel 4 berikut.



**Gambar 1.** Hasil Kromatografi Lapis Tipis

**Tabel 4.** Hasil Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun *Lunasia amara* Blanco

| Nama Sampel                          | Jarak Noda (cm) | Nilai Rf |
|--------------------------------------|-----------------|----------|
| Ekstrak Daun Lunasia<br>amara Blanco | 1,4             | 0,14     |
|                                      | 3,1             | 0,31     |
|                                      | 4               | 0,40     |
|                                      | 5,4             | 0,54     |
|                                      | 5,9             | 0,59     |
|                                      | 6,4             | 0,64     |
|                                      | 6,9             | 0,69     |
|                                      | 8               | 0,80     |
|                                      | 9               | 0,90     |
|                                      | 9,5             | 0,95     |
|                                      | 10              | 1        |

Salah satu teknik pemisahan senyawa yang biasa digunakan untuk mengetahui profil kimia ekstrak tumbuhan adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Prinsip kerja KLT didasarkan pada perbedaan afinitas setiap komponen terhadap fase diam dan fase gerak. Fase diam biasanya terdiri dari silika gel polar, sedangkan fase gerak terdiri dari campuran pelarut yang disesuaikan dengan tingkat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan. Senyawa dengan afinitas lebih tinggi terhadap fase gerak akan bergerak lebih jauh mengikuti aliran eluen, sedangkan senyawa dengan afinitas lebih rendah terhadap fase diam akan bergerak lebih lambat. Oleh karena itu, nilai *Retention Factor* (Rf) akan berbeda untuk setiap komponen.

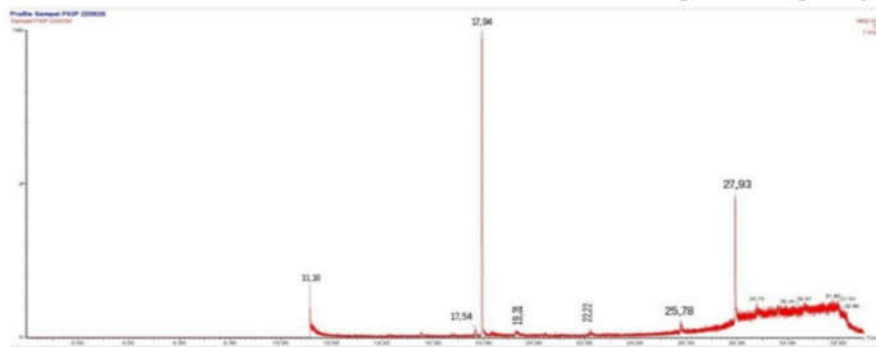
Berdasarkan hasil Kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa ekstrak daun Lunasia amara Blanco menghasilkan sebelas noda pada plat KLT dengan jarak masing-masing 1,4 cm, 3,1 cm, 4 cm, 5,4 cm, 5,9 cm, 6,4 cm, 6,9 cm, 8cm, 9 cm, 9,5 cm, dan 10 cm, dari garis dasar. Banyak noda yang terbentuk menunjukkan bahwa ekstrak daun *Lunasia amara* Blanco mengandung berbagai komponen metabolit sekunder dengan karakteristik kepolaran yang berbeda-beda. Semakin banyak noda yang terbentuk, semakin kompleks komposisi senyawa dalam ekstrak. Menurut Darmawansyah dkk., (2023) nilai Rf (*Retention Factor*) didefinisikan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa pada permukaan fase diam dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut sebagai fase gerak. Nilai maksimum Rf adalah 1 dan nilai minimum Rf adalah 0 dan ini teramati jika noda tertahan pada posisi titik awal di permukaan fase diam. Nilai Rf berbeda-beda tergantung sifat eluen yang digunakan dan senyawa yang dipisahkan.

Noda dengan nilai Rf rendah 0,14; 0,31; dan 0,40 menunjukkan bahwa senyawa berinteraksi dengan fase diam dengan kuat. Dengan nilai Rf tinggi 0,80;0,90;0,95; dan 1,00; noda menunjukkan bahwa senyawa memiliki sifat yang relatif lebih polar dibandingkan dengan bagian lainnya, sehingga pergerakannya menjadi lebih lambat selama proses elusi. Sebaliknya, noda dengan nilai Rf tinggi menunjukkan bahwa senyawa memiliki afinitas yang lebih besar terhadap fase gerak, sehingga dapat bergerak hampir sampai batas pelarut.

Pola ini sesuai dengan prinsip pemisahan KLT menurut Coskun (2016), yang menyatakan bahwa bagaimana senyawa analit didistribusikan berdasarkan tingkat polaritasnya dan seberapa dekat dengan fase diam dan fase gerak. Noda dengan nilai  $R_f$  sedang 0,54; 0,59; 0,64; dan 0,69 menunjukkan adanya komponen dengan tingkat kepolaran menengah. Nilai  $R_f$  pada kisaran ini menunjukkan bahwa senyawa memiliki keseimbangan interaksi antara fase diam dan fase gerak, sehingga perpindahan noda berlangsung dengan seimbang. Ada beberapa noda pada kisaran  $R_f$  sedang menunjukkan bahwa ekstrak mengandung lebih dari satu kelompok senyawa dengan karakteristik kepolaran yang sama. Menurut penelitian Darmawansyah dkk., (2023) nilai  $R_f$  yang telah memenuhi ketentuan nilai  $R_f$  yang baik yaitu antara 0,2-0,8. Sehingga nilai yang lebih rendah menunjukkan bahwa senyawa lebih kuat tertahan pada fase diam, dan nilai yang lebih tinggi menunjukkan bahwa senyawa lebih mudah terbawa oleh fase gerak. Berdasarkan Tabel 3, nilai  $R_f$  terbesar adalah 1 yang menunjukkan bahwa salah satu komponen bergerak sejauh panjang garis pelarut, yang dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas yang sangat tinggi terhadap fase gerak atau sistem eluen yang digunakan secara relatif sesuai untuk melarutkan komponen tersebut.

#### 4. Hasil GC-MS Ekstrak n-Heksan Daun Lathangka *Lunasia amara* Blanco

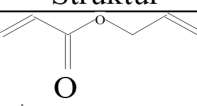
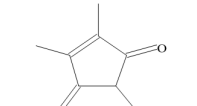
Hasil GC-MS ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 10.** Kromatogram GC Ekstrak N-Heksan Daun *Lunasia amara* Blanco

Berdasarkan gambar kromatogram terdapat 4 puncak utama yang teridentifikasi. Keempat puncak tersebut muncul dengan waktu retensi (RT) sekitar 19,31 menit hingga 32,08 menit. Satu puncak utama atau puncak dasar muncul pada RT 27,93 menit, yang memiliki intensitas relatif tertinggi. Kelompok puncak yang lebih landai muncul pada rentang 25-28 menit, dan kelompok puncak yang hampir tumpang tindih muncul pada rentang akhir 28,79-32,08 menit. Berdasarkan data MS, ke-4 puncak pada kromatogram diduga sebagai senyawa Hidrokarbon teroksigenasi sebagaimana pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Dugaan Senyawa Ekstrak n-Heksan Daun *Lunasia amara* Blanco

| No. | Rumus/BM                                            | Dugaan Senyawa                                                                    |                                                     |
|-----|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|     |                                                     | Struktur                                                                          | Nama (Prob %)                                       |
| 1.  | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> /112   |  | 2-Propenil, 2-propenoat (4,87%)                     |
| 2.  | C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O/126                |  | 5-siklopropilidene-, 1-pentanol (4,19%)             |
| 3.  | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O/136                |  | 2,3,5-trimetil-4-metilen-2-siklopenten-1-on (5,84%) |
| 4.  | C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> /318 |  | Metil-ω-3 Arachidonoat (3,81%)                      |

Berdasarkan Tabel 5 ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco terdapat empat dugaan senyawa yang memiliki kecocokan tertinggi terhadap pustaka spektral yaitu, 2-Propenil, 2-propenoat, 5-siklopropilidene-, 1-pentanol, 2,3,5-trimetil-4-metilen-2-siklopenten-1-on, Metil-ω-3 Arakidonoat. Tingkat kesamaan pola fragmentasi spektrum massa sampel memungkinkan identifikasi senyawa GC-MS menjadi tentatif. Berdasarkan penelitian Zubair dkk., (2016) menyatakan bahwa *Lunasia amara* Blanco secara fitokimia dikenal luas sebagai penghasil alkaloid furanokuinolon, dengan lunakrin digunakan sebagai senyawa penanda (marker compound) pada penetapan kadar alkaloid total menggunakan ultra fast liquid chromatography-photodiode array detection dan pada standardisasi fitokimia ekstrak kayu *Lunasia amara* Blanco, ekstrak etil asetat justru menunjukkan aktivitas sitotoksik tertinggi terhadap sel kanker HeLa dan T47D dibandingkan ekstrak metanol maupun n-heksan, dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing 71,15 dan 79,04μg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif utama *Lunasia amara* Blanco, terutama alkaloid dan fenolik, bersifat polar hingga semipolar dan lebih tertarik pada pelarut etil asetat atau metanol daripada pelarut nonpolar seperti n-heksan.

Senyawa yang ditemukan pada ekstrak n-heksan daun hanyalah golongan ester, keton siklik, dan alkohol nonpolar, bukan alkaloid furanokuinolon yang merupakan ciri kimiawi genus *Lunasia*. Dengan memilih pelarut n-heksan yang tepat, ekstraksi difokuskan pada fraksi lipofilik daun, termasuk asam lemak dan esternya, hidrokarbon, dan senyawa terpenoid dan keton volatil. Sebaliknya, golongan alkaloid dan fenolik tertinggal pada residu atau memerlukan pelarut yang lebih polar untuk menarik senyawa dengan lebih baik. Senyawa 2-Propenil, 2-propenoat adalah senyawa ester akrilat rantai pendek dengan dua ikatan rangkap tak terkonjugasi langsung. Dalam profil GC-MS ekstrak daun non-polar, golongan ester tak jenuh rantai pendek ini biasanya muncul sebagai hasil esterifikasi atau oksidasi asam lemak tak jenuh selama proses ekstraksi, senyawa ini bukan metabolit sekunder tanaman *Lunasia amara* Blanco.

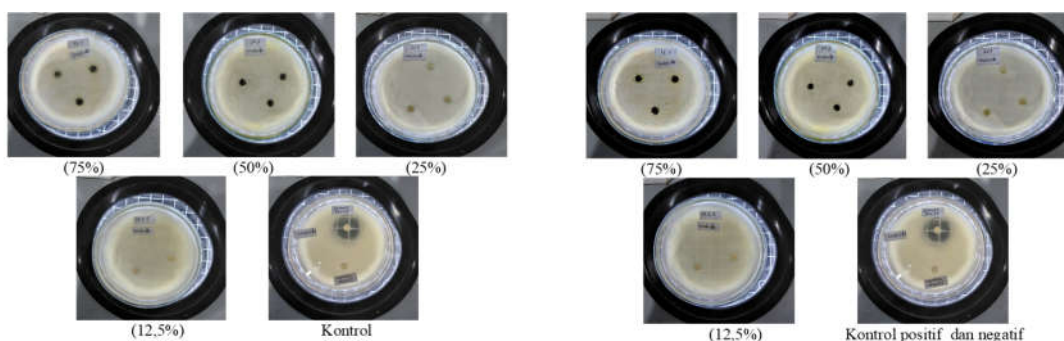
Berdasarkan penelitian Lamba dkk., (2023) menyatakan bahwa Asam lemak, ester, dan minyak menunjukkan sifat antibakteri dan antijamur. Sebuah studi tentang efek antimikroba asam lemak menunjukkan bahwa efek antimikroba signifikan pada kasus asam lemak rantai lurus. Ester asam lemak dengan 6-18 karbon, seperti gliserol kaprilat (C10), gliserol laurat (C12), dan gliserol miristat (C14), menunjukkan aktivitas antibakteri dan antijamur yang signifikan. Sedangkan senyawa 5-siklopropilidene-, 1-pentanol adalah alkohol siklik tak jenuh dengan cincin siklopropana yang terikat melalui ikatan rangkap eksosiklik. Jenis alkohol siklik ini pada jaringan daun biasanya dihasilkan dari jalur biosintesis terpenoid yang mengalami siklisasi parsial, sesuai dengan karakteristik famili Rutaceae yang biasanya memiliki kelenjar minyak atsiri pada jaringan daunnya. Pada senyawa 2,3,5-trimetil-4-metilen-2-siklopenten-1-on adalah keton siklopentenon tersubstitusi metil yang berkerabat struktural dengan golongan jasmonoid. Senyawa ini,

yang juga dikenal sebagai tautomer enol dari 3-metilsiklopentana-1,2-dion, sangat digunakan dalam industri rasa dan parfum karena sifat aromatiknya. Senyawa Metil-o-3 Arachidonoat adalah ester metil asam lemak tak jenuh jamak rantai C20 dengan pola tetraena. Sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa golongan asam lemak omega-3 berkorelasi dengan pengurangan aktivitas inflamasi dan autoimun, serta pengurangan trombosis dan aktivasi platelet. Berdasarkan penelitian Indira dkk., (2023) menyatakan bahwa golongan ester asam lemak omega-3 seperti metil linolenat dan turunannya juga dilaporkan sebagai komponen dominan yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan dan antimikroba ekstrak serta berperan sebagai suplemen kesehatan yang meningkatkan imunitas dan menangkal radikal bebas. Sehingga adanya senyawa ini pada ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco sejalan dengan sifat pelarut non-polar yang dapat menarik fraksi lipid pada daun.

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak pada tanaman *Lunasia amara* Blanco memiliki sifat antimikroba dan efektif dalam mengobati berbagai kondisi kesehatan, yang mendukung dasar biokimia dari penggunaan tumbuhan tradisional ini yang biasa disebut sebagai "Lunas-bagon" oleh masyarakat Manobo di Agusan del Sur, Filipina. Namun, karena penelitian tersebut dilakukan pada bagian kayu bukan pada daun, sehingga golongan senyawa yang ditemukan tidak sama dengan yang ditemukan dalam penelitian ini. Faktor utama yang menjelaskan perbedaan profil metabolit yang diidentifikasi adalah perbedaan bagian tumbuhan yang diekstraksi dan polaritas pelarut yang digunakan. Pada penelitian sebelumnya pelarut yang digunakan adalah etil asetat atau metanol yang hasilnya dibandingkan dengan hasil pelarut n-heksan pada penelitian ini. Pada studi kayu dengan pelarut polar, golongan alkaloid furanokuinolon lebih dominan, sedangkan pada studi daun dengan pelarut n-heksan, golongan ester dan keton nonpolar lebih dominan.

##### 5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan Daun Ladhangka (*Lunasia amara* Blanco) Terhadap Bakteri *Eschericia coli*

Hasil uji antibakteri pada ekstrak daun *Lunasia amara* Blanco dapat dilihat pada gambar 11 berikut.



**Gambar 11.** Hasil Uji Antibakteri dengan waktu inkubasi 24 dan 48 jam

Dilihat dari ciri fisiknya, uji antibakteri terhadap ekstrak n-Heksan daun *Lunasia amara* Blanco tidak memiliki perbedaan hasil antara waktu inkubasi selama 24 jam dan 48 jam. Dalam uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa 75%,50%,25% dan 12,5% dari total variasi konsentrasi ekstrak *Lunasia amara* Blanco tidak menunjukkan adanya zona bening dengan diameter rata-rata 0 mm baik selama 24 jam maupun 48 jam, menunjukkan bahwa ekstrak tidak mampu menghentikan pertumbuhan bakteri pada seluruh konsentrasi yang diuji. Dalam kategori daya hambat, zona bening dengan diameter 0 mm termasuk dalam kategori "tidak aktif", tidak adanya perbedaan hasil antara waktu inkubasi 24jam dan 48 jam menunjukkan bahwa ekstrak tidak memiliki potensi antibakteri. Hal ini sejalan

dengan penelitian Sofyana dkk., (2024) bahwa tidak terbentuknya zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dikarenakan dosis pengenceran dari ekstrak yang terlalu rendah dan penambahan aquades steril pada larutan stok yang mengakibatkan kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak menjadi berkurang sehingga tidak mampu menghasilkan zona hambat. Semakin sedikit zat aktif pada suatu bahan, maka jumlah bakteri yang dihambat pertumbuhannya juga semakin sedikit.

Penelitian Mulangsari dkk., (2019) menunjukkan bahwa uji fraksi n-heksan menunjukkan bahwa pada semua konsentrasi, tidak ada zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sebaliknya, kontrol positif menunjukkan terbentuknya zona hambat yang jelas, sehingga dapat dipastikan bahwa metode pengujian berjalan dengan baik. Penelitian ini juga menggunakan kontrol negatif untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri yang diuji, sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut. Tidak adanya aktivitas antibakteri dapat dijelaskan oleh sifat pelarut yang digunakan, yaitu n-heksan yang bersifat non-polar. Menurut Fadlila dkk., (2015) hal tersebut diakibatkan karena absorpsi senyawa pada fraksi n-heksan kedalam media agar kurang maksimal diakibatkan pada saat pelarutan sampel oleh DMSO 2% tidak larut sempurna dan masih terdapat sampel yang menggumpal sehingga terjadi kurangnya konsentrasi sampel untuk penghambatan bakteri dalam media agar. Karena senyawa yang mungkin bersifat antibakteri tidak dapat berdifusi ke dalam sampel uji, sehingga tidak ada zona hambat.

Berdasarkan penelitian Putri dkk., (2015) pelarut n-heksana dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Sebaliknya, Flavonoid, fenolik, dan tanin adalah beberapa senyawa yang memiliki sifat antibakteri. Mereka bertindak sebagai bakteriolitik dengan menghentikan sintesis protein, sintesis DNA, dan RNA serta membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut yang dapat merusak membran sel bakteri sebelum keluarnya senyawa intraseluler (Sujana dkk., 2024) atau menghentikan aktivitas enzim bakteri. Karena senyawa ini lebih larut dalam pelarut polar seperti etanol atau metanol, penggunaan n-heksan menyebabkan senyawa aktif antibakteri tidak terekstraksi dengan benar, sehingga aktivitas antibakteri tidak terdeteksi.

Selain faktor jenis pelarut, ada sejumlah faktor lain yang dapat memengaruhi aktivitas antibakteri yaitu jenis senyawa kimia, jumlah senyawa kimia dan metode ekstraksi (Lisan dkk., 2023). Menurut Tuna (2015), faktor kimia yang dapat memengaruhi aktivitas antibakteri dari suatu tanaman yaitu jenis senyawa kimia, jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi, dan jenis pelarut yang digunakan. Jenis pelarut berdasarkan tingkat kepolaran pelarut dalam penelitian akan mempengaruhi kandungan senyawa yang di ekstrak berdasarkan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Lisan dkk., 2023). Secara keseluruhan, hasil ekstrak n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco tidak menunjukkan sifat antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, seperti yang ditunjukkan pada gambar 11. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang dapat berfungsi sebagai antibakteri kemungkinan besar tidak berada pada fraksi non-polar, tetapi pada fraksi polar atau semi-polar.

## KESIMPULAN

Berdasarkan analisis GC-MS, ekstrak non-polar n-heksan daun *Lunasia amara* Blanco memiliki 4 dugaan senyawa, yaitu 2-Propenil, 2-propenoat, 5-siklopropilidene-, 1-pentanol, 2,3,5-trimetil-4-metilen-2-siklopenten-1-on, Metil-o-3 Arakidonoat. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan dari daun *Lunasia amara* Blanco menunjukkan dominasi senyawa Hidrokarbon teroksigenasi yaitu ester, keton siklik, dan turunan asam lemak. Dan selama inkubasi 24 dan 48 jam, ekstrak n-heksan dari daun *Lunasia amara*

Blanco 5tidak menunjukkan sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat (0 mm) pada konsentrasi 75%, 50%, 25% dan 12,5%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, A. 2024. *Phytochemical Screening of Ethyl Acetate Extract of Beta-beta Leaves (Lunasia amara Blanco) as Anticancer and Antimicrobial Based on Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) Online*. *Jambura Medical and Health Science Journal*. 3(2), 51-61.
- Alyidrus, R. 2017. Penentuan Kadar Lunacridine pada Ekstrak Kayu Sanrego (*Lunasia amara Blanco*) yang di Ekstraksi dengan Metode Maerasi dan Refluks. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 9(1), 37-42
- Anonim. 2022. Laporan Rekapitulasi Kasus Diare Di Wilayah Kabupaten Konawe Tahun 2020, 2021, 2022. Kendari: Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara.
- Anonim. 2022. Laporan Rekapitulasi Kasus Diare di Wilayah Provinsi Sulawesi Tenggara Tahun 2020, 2021, 2022. Kendari: Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara.
- Anonim. 2023 Laporan Kasus Diare Di Wilayah Kerja Puskesmas Soropia Tahun 2021,2022,2023.
- Coskun, O. 2016. Separation techniques: chromatography. *Northern clinics of Istanbul*. 3(2), 156-160.
- Darmawansyah, A., Nurlansi dan Haeruddin. 2023. Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (*Blumea balsamifera*) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 12(1), 24-34.
- Dasor, A. Y. C., Sanam, M. U. E. dan Ndaong, N. A. 2021. Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Metang (*Lunasia amara Blanco*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kajian Veteriner*. 9(3), 157-163.
- Dwimawati, E., Nasution, A. S., dan Hutasoit, E. F. 2022. *The analysis of behavioral risk factor of diarrhea outbreak in Tirtomarto Village, Central Java*. *Periodi Epidemiology Journal*. 10(1), 40-47.
- Fadlila, W. N., Yuliawati, K. M., dan Syafnir, L. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri dengan Metode Bioautografi KLT terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colosacia esculenta* (L.) Schott). *PProsiding Penelitian SPeSIA Unisba*. 583-590.
- Fakhruzy, Kasin, A., Asben, A., dan Anwar, A. 2020. Optimalisasi Metode Maserasi untuk Ekstraksi Tanin Rendemen Tinggi. *Menara Ilmu: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmiah*. 14(2), 38-41.
- Hasnaeni dan Emelda, A. 2020. Sitotoksisitas Ekstrak Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara*) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2(3), 193-197.
- Hasnaeni, Wisdawati, Usman, S. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Fsrmasi Galenika*. 5(2), 175-182.
- Indira, M., Peele, K. A., Krupanidhi, S., Prabhakar, K. V., Vimala, K. B. S., Sravya, I., dan Venkateswarulu, T. C. 2023. In Vitro Assessment of the Bioactive Compounds and Anticancer Potential of Citrus Medica Leaf Extract. *Tropical Life Sciences Research*. 34(3), 197.
- Lallo, S., Ariani, F., dan Syamsu, R. 20)17. ANTI-Plasmodium Berghei Ekstrak Daun dan Kayu *Lunasia amara Blanco*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 21(3), 55-58.
- Lamba, A., Kopel, M. S. J., Westenberg, D., dan Kapila, S. 2023. Asam Lemak, Ester, dan Disinfektan Minyak Biogenik : Agen Baru Melawan Bakteri. *Prosiding Pusat Medis Universitas Baylor*. 36(3), 375-379.

- Lisan, M. F., Oktora, M., Sunarwidhi, A. L. 2023. Pengaruh Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan *Centella asiatica* Terhadap Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* Multidrug Resistance (MDR). *Farmasi FK Unram*. 1-12.
- Mulangsri, D. A. K., Laksanasari, R., Amaliyah, R., Fitri, A., dan Kusumadewi, A.P. 2019. Aktivitas Antibakteri Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *CENDEKIA EKSAKTA*. 4(1),1-6.
- Parua, D. S. L., Lugot, G., Pancho, S. 1978. *Handbook On Philippine Medical Plant Volume II. Los Banos: University Of Philippine*.
- Putri, H. L., Retnowati, R., dan Suratmo, S. 2015. Fraksi N-heksana dari Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera Casturi Koesterm*) dan Uji Fitokimia (*Doctoral dissertation, Brawijaya University*).
- Rosalina, V., dan Nurmaulawati, R. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca Oleracea* L.) pada Bakteri *Escherichia coli*. *Pengembangan Ilmu dan Praktik Kesehatan*. 3(3), 136-145.
- Royani, S., dan Yuliyanti, S. S. 2025. Identifikasi Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) di Kabupaten Banyumas melalui Skrining Fitokimia. *Jurnal Bina Cipta Husada: Jurnal Kesehatan dan Science*. 21(2), 49-55.
- Saputra, A., Laut, M. M., dan Ndaong, N. A., 2024. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Lunasia amara. *Jurnal Kajian Vanteriner*. 12(1), 113-121.
- Sofyana, N. R., Herlinawati, H., Musyarrafah, M., dan Adnyana, I. G. A. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 11(4), 668-678.
- Tuna, M. R. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in Vitro. *Pharmacon UNSRAT*. 4(4), 65-70.
- Wardaningrum, R. Y., Susilo, J., dan Dyahariesti, N. 2019. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas*. L) dengan Vitamin E. *Universitas Ngudi Waluyo*. 8(5),55.
- Zubair, M. S., Anam, S., dan Lallo, S. 2016. Aktivitas Sitotoksik dan Standarisasi Fitokimia Ekstrak Kayu *Lunasia amara* Blanco. *Jurnal Biomedisin Tropis Asia Pasifik*. 1-15.