

Potensi Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Bakteri *P.acnes* dan *S.epidermidis* Penyebab Jerawat

Rifa'atul Mahmudah*¹, Nur Illiyyin Akib¹, Halik¹, Muh. Saiful Asrat¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kendari, Indonesia

*e-mail: rifa.mahmudah@uho.ac.id

Article Info

Article history:

Submission Desember 2025

Review Desember 2025

Accepted Januari 2026

Abstrak

Jerawat merupakan masalah kulit yang banyak dialami remaja dan dewasa muda, umumnya disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Penggunaan antibiotik sintesis yang berlebihan dapat menyebabkan resistensi, sehingga dibutuhkan alternatif alami seperti daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang memiliki senyawa aktif antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dan mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, dengan penekanan pada proses purifikasi ekstrak sebagai pendekatan untuk meningkatkan konsistensi dan efektivitas aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab jerawat. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, dilanjutkan purifikasi dengan pelarut n-heksan. Karakterisasi ekstrak mengikuti standar Farmakope Indonesia. Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode dilusi cair dan padat pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, dan 8%. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi memenuhi standar farmakope dan efektif menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* pada semua konsentrasi, serta *P. acnes* pada konsentrasi 2%, 4%, dan 6%. Terdapat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 8% terhadap *P. acnes*. Kesimpulan, ekstrak daun sirih hijau terpurifikasi memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami terhadap bakteri penyebab jerawat.

Kata kunci—daun sirih hijau, *Piper betle L.*, purifikasi ekstrak, antibakteri jerawat, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*

Ucapan terima kasih:

Abstract

Acne is a common skin problem experienced by teenagers and young adults, generally caused by the bacteria *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. Excessive use of synthetic antibiotics can lead to resistance, making natural alternatives such as green betel leaf (*Piper betle L.*), which contains antibacterial active compounds, increasingly important. This study aims to characterize and evaluate the antibacterial potential of purified green betel leaf extract against acne-causing bacteria. Extraction was carried out using the maceration method with 96% ethanol, followed by purification using n-hexane as a solvent. Extract characterization followed the standards of the Indonesian Pharmacopoeia. Antibacterial testing was conducted using liquid and solid dilution methods at concentrations of 2%, 4%, 6%, and 8%. The results showed that the purified extract met pharmacopoeial standards and effectively inhibited the growth of *S. epidermidis* at all concentrations, as well as *P. acnes* at concentrations of 2%, 4%, and 6%. Bacterial growth was observed at the 8% concentration against *P. acnes*. In conclusion, the purified green betel leaf extract has potential as a natural antibacterial agent against acne-causing bacteria.

Keyword – *Green betel leaf, Piper betle L purified extract, anti-acne antibacterial, Propionibacterium acnes, Staphylococcus epidermidis*

DOI

©2020 Politeknik Harapan Bersama Tegal

Alamat korespondensi:

Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal

Gedung A Lt.3. Kampus 1

Jl. Mataram No.09 Kota Tegal, Kodepos 52122

Telp. (0283) 352000

E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com

p-ISSN: 2089-5313

e-ISSN: 2549-5062

A. Pendahuluan

Jerawat (*acne vulgaris*) merupakan kelainan kulit dengan prevalensi tinggi, terutama pada remaja, namun juga banyak dialami oleh wanita dewasa. Di kawasan Asia Tenggara prevalensi jerawat dilaporkan mencapai 40–80%, sementara di Indonesia berkisar antara 80–85% kasus, dan secara global sekitar tiga perempat remaja mengalami kondisi ini, yang umumnya berkaitan dengan kolonisasi bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*[1][2][3]. Terapi jerawat ringan hingga sedang masih didominasi oleh antibiotik topikal sintetis, namun penggunaan jangka panjang telah memicu peningkatan resistensi antibiotik, sehingga mendorong pencarian agen antibakteri alami yang lebih aman, salah satunya daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang kaya akan metabolit sekunder berpotensi antibakteri [4] [5].

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih yang diperoleh melalui berbagai metode ekstraksi—seperti maserasi dengan etanol, metanol, ataupun fraksi n-heksan—mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada beragam konsentrasi. Salah satu studi menyatakan bahwa fraksi etanol dengan konsentrasi 75% menghasilkan zona hambat sebesar 20,3 mm [6][7]. Aktivitas antibakteri daun sirih terhadap *S. epidermidis* juga telah dilaporkan pada konsentrasi yang lebih rendah (3–5%) [8].

Potensi antibakteri daun sirih hijau berkaitan dengan keberadaan komponen bioaktif seperti minyak atsiri, fenol, kavikol, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut diketahui bekerja melalui berbagai mekanisme, termasuk gangguan pada pembentukan dinding sel, penghambatan sintesis asam nukleat, serta kerusakan struktur protein bakteri[9]. Efektivitas ekstrak sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi, pH larutan, serta jumlah senyawa pengotor seperti klorofil dan lipid. Oleh karena itu, proses pemurnian (purifikasi) menjadi tahap penting untuk meningkatkan aktivitas antibakterinya[10].

Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri penyebab jerawat, seperti *P.acnes* dan *S.epidermidis* maupun bakteri lain melalui uji difusi agar[11]. Namun, mayoritas kajian

tersebut masih menggunakan ekstrak kasar tanpa purifikasi lanjutan, sehingga hasil yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh senyawa pengotor yang mengurangi konsistensi aktivitas antibakteri. Hingga saat ini, kajian yang secara khusus mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau yang telah dipurifikasi terhadap *P. acnes* dan *S. epidermidis* masih sangat terbatas, sehingga penelitian ini menegaskan keunikannya dengan memfokuskan pada penggunaan ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau sebagai pendekatan untuk meningkatkan efektivitas aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab jerawat sekaligus memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan bahan aktif alami berbasis tanaman obat.

B. Metode

Bahan Penelitian

Bahan utama berupa daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diekstraksi menggunakan etanol 96%. Bahan tambahan meliputi akuades, alkohol, asam, n-heksan, kloroform, spiritus, asam asetat glasial, serta klindamisin sebagai kontrol positif. Media mikrobiologi yang digunakan antara lain Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), dan Blood Agar (BA). Pewarna bakteri terdiri atas Gentian violet, larutan lugol, dan safranin.

Purifikasi Ekstrak

Ekstrak cair dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan n-heksan dengan rasio 1:1. Campuran dikocok selama ± 1 menit dan dibiarkan selama 48 jam hingga dua fase terpisah. Bagian bawah dipisahkan dan digunakan sebagai sampel uji [12].

Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi ekstrak berupa skринing fitokimia (Alkaloid, Flavonoid, Terpenoid, Tanin dan Saponin), kadar sari larut air dan etanol, kadar air, bobot jenis, serta kadar abu. Seluruh prosedur mengacu pada Farmakope Indonesia edisi VI [13].

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji dilakukan melalui metode dilusi cair dan padat pada konsentrasi ekstrak 2%, 4%, 6%, dan 8%. Pemilihan rentang konsentrasi ini didasarkan pada pertimbangan metodologis dan teknis, di mana rentang konsentrasi tersebut umum digunakan dalam uji

antibakteri berbasis ekstrak tanaman untuk mengevaluasi respons dosis, sekaligus masih memungkinkan difusi senyawa aktif yang optimal. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, peningkatan viskositas dan potensi pengendapan senyawa aktif dilaporkan dapat menghambat difusi dalam media uji sehingga memengaruhi aktivitas antibakteri yang teramati [14]

Kontrol negatif berupa etanol 96% dan kontrol positif berupa klindamisin 1%. Suspensi bakteri sebanyak 0,1 mL ditambahkan ke tabung berisi media NB dan ekstrak, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kekeruhan media menjadi indikator pertumbuhan. Penegasan hasil dilakukan melalui metode dilusi padat menggunakan media NA dan BA [15].

C. Hasil dan Pembahasan

Penggunaan metode maserasi dengan etanol 96% dipilih karena etanol bersifat semi-polar sehingga mampu mengekstraksi berbagai senyawa metabolit sekunder, baik yang bersifat polar maupun non-polar, dari daun sirih hijau. Penggantian pelarut secara berkala bertujuan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi dengan mencegah kejenuhan pelarut terhadap senyawa terlarut.

Tahap purifikasi menggunakan n-heksan dilakukan untuk menghilangkan senyawa non-polar seperti lemak, klorofil, dan zat pengotor lainnya. Pemilihan n-heksan sebagai pelarut purifikasi didasarkan pada sifat nonpolarnya yang efektif dalam menghilangkan senyawa lipofilik seperti klorofil, lilin, dan lemak tanpa melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid yang berperan sebagai antibakteri. Penggunaan n-heksan juga relatif umum dalam skala laboratorium dan industri awal, sehingga berpotensi mendukung pengembangan produk turunan, dengan catatan diperlukan tahapan penguapan dan pengendalian residu pelarut pada proses hilirisasi [16], [17].

Perubahan warna fase n-heksan menjadi jernih menunjukkan bahwa sebagian besar zat pengotor non-polar telah terpisahkan dari ekstrak sebagaimana ditunjukkan pada **Gambar 1**, menandakan bahwa proses purifikasi telah berlangsung secara optimal.

Selanjutnya, penguapan menggunakan Rotary Vacuum Evaporator bertujuan untuk menghilangkan sisa pelarut tanpa merusak

senyawa aktif akibat pemanasan berlebih, sehingga diperoleh ekstrak kental yang lebih murni dan siap digunakan untuk tahap penelitian selanjutnya. Proses purifikasi dihentikan ketika ekstrak telah terpisah dengan n-heksan yang jernih seperti yang dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Proses purifikasi ekstrak etanol daun sirih

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin, sedangkan terpenoid tidak terdeteksi. Golongan senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri melalui mekanisme perusakan dinding dan membran sel bakteri, pengendapan protein, serta peningkatan permeabilitas membran, yang efektif terhadap bakteri Gram-positif termasuk *P.acnes* dan *S.epidermidis* [18]. Tidak terdeteksinya terpenoid diduga berkaitan dengan proses purifikasi menggunakan n-heksan yang menghilangkan senyawa nonpolar, sehingga memperkaya senyawa polar dan semipolar yang berkontribusi lebih dominan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak [19].

Tabel 1. Hasil karakterisasi ekstrak etanol daun sirih yang telah dipurifikasi

Gol. Senyawa	Hasil	Ket
Alkaloid	Endapan jingga	Ada
Flavonoid	Hijau	Ada
Terpenoid	Merah Bata	Tidak Ada
Tanin	Biru kehitaman	Ada
Saponin	Busa	Ada

Hasil organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi berwarna hijau kehitaman, bertekstur kental, beraroma khas, serta memiliki rasa pahit. Adapun hasil karakterisasi dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil karakterisasi ekstrak etanol daun sirih yang telah dipurifikasi

karakterisasi	Hasil	Standar
Parameter spesifik		
Kadar sari larut	10,54%	>17,6%

etanol

Kadar sari larut air 23,99% >20,8%

Parameter non-spesifik

Kadar air 9,58% <10%

Kadar Abu 2,97% <3,7%

Data karakterisasi (Tabel 1) memperlihatkan bahwa sebagian besar parameter telah sesuai standar Farmakope Herbal Indonesia, yang menandakan bahwa proses pemurnian tidak mengubah kualitas dasar ekstrak [20]. Adapun bobot jenis ekstrak didapatkan sebesar 0,84.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas bakteri *S.epidermidis* dengan metode dilusi cair

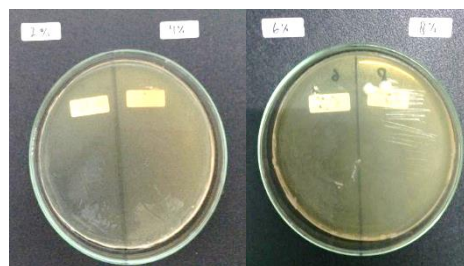
Konsentrasi Ekstrak	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol positif (klindamisin)	-	-	-
Kontrol negatif (Etanol 96%)	++	++	++
2%	-	-	+
4%	+	-	-
6%	-	+	-
8%	+	-	-

Tabel 4. Hasil uji aktivitas bakteri *P.acnes* dengan metode dilusi cair

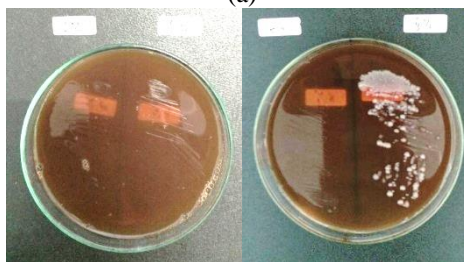
Konsentrasi Ekstrak	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol positif (klindamisin)	-	-	-
Kontrol negatif (Etanol 96%)	++	++	++
2%	+	-	-
4%	-	+	-
6%	-	+	-
8%	-	-	+

Keterangan: +++ Sangat keruh
 ++ Keruh
 + Agak Keruh

Kekeruhan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, salah satu replikasi ekstrak pada masing-masing bakteri menunjukkan kekeruhan namun hal tersebut diduga dipengaruhi oleh kepekatan warna ekstrak sehingga mempengaruhi warna dari uji dilusi cair. Karakteristik ekstrak tanaman yang berwarna berpotensi menimbulkan kekeruhan, sehingga pembacaan *endpoint* berdasarkan turbiditas dapat menghasilkan bias (*false positive/false negative*). Selain itu, kelarutan ekstrak yang terbatas dapat menyebabkan presipitasi dan distribusi senyawa aktif yang tidak homogen antar replikasi, sehingga efek antibakteri tampak fluktuatif [21]. Oleh sebab itu, berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan pengujian dengan metode dilusi padat untuk mempertegas hasil yang diperoleh.



(a)



(b)

Gambar 2. (a) Hasil penegasan uji KBM pada *S.epidermidis* dan (b) *P.acnes*

Pada uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi cair, beberapa replikasi menunjukkan kekeruhan yang diduga bukan berasal dari pertumbuhan bakteri, melainkan akibat warna ekstrak yang pekat. Karena itu, diperlukan pengujian lanjutan melalui metode dilusi padat. Hasil uji dilusi padat memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan *S. epidermidis* pada seluruh konsentrasi, menunjukkan bahwa ekstrak mampu memberikan efek bakterisidal pada rentang uji. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan kemampuan ekstrak sirih dalam menghambat *S. epidermidis* pada konsentrasi rendah^[8], dimana ekstrak daun sirih memiliki zona hambat terhadap bakteri *S.epidemidis* pada konsentrasi 3% dan 5%.

Untuk *P. acnes*, aktivitas antibakteri tampak jelas pada konsentrasi 2%, 4%, dan 6%. Namun, pertumbuhan bakteri masih ditemukan pada konsentrasi 8%, sehingga diperlukan eksplorasi lebih lanjut mengenai pengaruh konsentrasi tinggi terhadap efektivitas ekstrak.

Penurunan aktivitas antibakteri pada konsentrasi tinggi (8%) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi total ekstrak tidak selalu meningkatkan efektivitas yang teramati dalam uji media padat atau mikroplate. Aktivitas yang teramati dalam metode berbasis difusi sangat bergantung pada kemampuan senyawa aktif berdifusi ke dalam media, dan ekstrak yang semakin pekat/viskos dapat menghambat laju difusi tersebut sehingga jumlah senyawa aktif yang mencapai zone of inhibition menjadi lebih

rendah meskipun konsentrasi totalnya meningkat. Konsentrasi tinggi juga dapat menyebabkan pengendapan (presipitasi) atau kompleksasi antar metabolit yang mengurangi fraksi senyawa aktif bebas yang tersedia untuk berinteraksi dengan sel bakteri, fenomena yang umum terjadi pada uji antibakteri ekstrak tanaman [22].

Selain itu, senyawa fenolik utama seperti hidroksikavikol dan flavonoid diketahui bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas dan integritas membran sel bakteri Gram-positif seperti *Cutibacterium acnes* melalui kerusakan struktur dinding/membran, sehingga terganggunya difusi ke sel target pada konsentrasi tinggi dapat menjelaskan turunnya aktivitas yang teramati pada 8% [23].

Fenomena penurunan aktivitas pada konsentrasi tertentu juga dilaporkan oleh Nurhamidin dkk (2021)[24] yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi tidak selalu berbanding lurus dengan kekuatan antibakteri. zona hambat yang ditunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 40% jauh lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi 30%, 20% dan 10%. Namun demikian, perlu verifikasi lebih lanjut dengan menggunakan konsentrasi di atas 8% untuk menyatakan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak terpurifikasi daun sirih terhadap bakteri *P.acnes* hanya berada pada konsentrasi di bawah 8%.

Variasi metode ekstraksi turut memengaruhi efektivitas, sebagaimana dilaporkan oleh Bustanussalam dkk, (2015) [25] bahwa metode refluks menghasilkan daya hambat terbaik pada konsentrasi 20%, berbeda dengan maserasi yang optimum pada 25%.

Selain itu, hasil yang berbeda kemungkinan akan terlihat bila diuji dengan *disk diffusion* karena metode difusi dipengaruhi kuat oleh difusibilitas/kelarutan ekstrak dalam agar, sedangkan MIC mengukur konsentrasi minimal yang menghambat pertumbuhan secara kuantitatif. Sehingga, untuk memastikan konsistensi dan kekuatan antibakteri ekstrak terpurifikasi perlu uji lanjutan seperti MIC *determination* (broth microdilution/agar dilution) terhadap ekstrak terpurifikasi daun sirih [26].

D. Simpulan

Ekstrak daun sirih hijau yang terpurifikasi memiliki karakteristik yang sesuai dengan farmakope herbal Indonesia. Ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau menunjukkan potensi antibakteri terhadap bakteri *S.epidermidis* pada konsentrasi 2%, 4%, 6% dan 8% dan terhadap bakteri *P.acnes* pada konsentrasi 2%, 4% dan 6%. Perlu studi

lanjutan dengan menguji konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari 8% untuk mengevaluasi batas optimal aktivitas antibakteri. Selain itu, analisis fitokimia kuantitatif seperti penetapan kadar fenol total dan flavonoid total perlu dilakukan untuk mengkorelasikan kandungan senyawa bioaktif dengan aktivitas antibakteri. Penelitian lanjutan juga disarankan mencakup uji *in vivo* serta pengembangan formulasi topikal untuk menilai efektivitas, keamanan, dan potensi aplikasi ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau sebagai bahan anti-jerawat.

Pustaka

- [1] W. Madelina and Sulistyaningsih, "Review: Resistensi Antibiotik pada Terapi Pengobatan Jerawat," *Jurnal Farmaka*, vol. 16, no. 2, pp. 105–117, 2018.
- [2] A. A. Fadilah, "Hubungan Stres Psikologis Terhadap Timbulnya Akne Vulgaris," *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 2021, doi: 10.35816/jiskh.v10i2.625.
- [3] E. Leonita, T. Setyaningrum, M. F. Qorib, and D. -, "Comparison of the Efficacy of Topical Clindamycin versus Niacinamide in the Treatment of Mild to Moderate Acne Vulgaris: a Systematic Review," *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 2022, doi: 10.20473/bikk.v34.1.2022.15-22.
- [4] T. R. Walsh, J. Efthimiou, and B. Dréno, "Systematic review of antibiotic resistance in acne: An increasing topical and oral threat," 2016. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00527-7.
- [5] R. H. Wibowo, R. Setiawan, W. Darwis, S. Sipriyadi, R. Supriati, and A. A. F. Ginting Sinisuka, "Aktivitas Antibakteri dan Analisis Fitokimia Ekstrak Metanol dari Daun Paku Sarang Burung (*Asplenium nidus*)," *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 2022, doi: 10.18343/jipi.27.2.295.
- [6] N. F. Agustina W. Djumaa, Loisa R. Y. Ollab, "Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Agustina," *Karya Tulis Ilmiah*, 2019.
- [7] N. Amrillah, R. Triyandi, M. Iqbal, and C.

- Y. Pardilawati, "Literature Study: Antibacterial Activity of Betel Leaf Extract (Piper betle L.) Against Staphylococcus aureus," *Medula*, vol. 13, no. 4, pp. 578–582, 2023.
- [8] S. Kursia *et al.*, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis," *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, vol. 3, no. 2, pp. 72–77, 2016.
- [9] H. H. Sadiyah, A. I. Cahyadi, and S. Windria, "Kajian Daun Sirih Hijau (Piper betle L) Sebagai Antibakteri," *Jurnal Sain Veteriner*, 2022, doi: 10.22146/jsv.58745.
- [10] T. A. Syahrinastiti, A. Djamal, and L. Irawati, "Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli," *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2015, doi: 10.25077/jka.v4i2.265.
- [11] R. Meinisasti, Z. Muslim, Krisyanella, and R. Sunita, "The Effectiveness Test of Betel Leaf Ethanol Extract Cream (Piper Betle Linn) Toward Propionibacterium acnes Bacterial Growth," *Bioscientia Medicina : Journal of Biomedicine and Translational Research*, vol. 4, no. 2, 2020, doi: 10.32539/bsm.v4i2.112.
- [12] Widyaningtias, Yustiantara, and Paramita, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Terhadap Bakteri Propionibacterium acnes," *Jurnal Farmasi Udayana*, 2014.
- [13] Depkes RI, *Farmakope Indonesia edisi IV*. 2020.
- [14] P. Chauhan and Monika, "Formulation and Evaluation of Antibacterial Gel containing Ethanol Extract of Thorns of Bombax ceiba," *International Journal of Drug Delivery Technology*, vol. 12, no. 3, 2022, doi: 10.25258/ijddt.12.3.16.
- [15] R. R. S. Manu, "Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun beluntas (," *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2013.
- [16] O. R. Alara, N. H. Abdurahman, and C. I. Ukaegbu, "Extraction of phenolic compounds: A review," 2021. doi: 10.1016/j.crfs.2021.03.011.
- [17] D. Ayu Palupi, D. Pratimasari, C. Dhurhania, and S. Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, "Identifikasi Kualitatif Ekstrak, Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Herba Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Qualitative Identification of Extract, n-Heksan Fraction, Ethyl Acetate Fraction, Water Fraction of Herb Bandotan (Ageratum conyzoides L.)," Indonesia, Apr. 2025.
- [18] H. H. Sadiyah, A. I. Cahyadi, and S. Windria, "Kajian Daun Sirih Hijau (Piper betle L) Sebagai Antibakteri," *Jurnal Sain Veteriner*, 2022, doi: 10.22146/jsv.58745.
- [19] J. Azmir *et al.*, "Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review," *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 4, 2013, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
- [20] Kementerian Kesehatan Indonesia, "Farmakope Indonesia Herbal," *Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, 2017.
- [21] R. Gonzalez-Pastor *et al.*, "Current Landscape of Methods to Evaluate Antimicrobial Activity of Natural Extracts," 2023. doi: 10.3390/molecules28031068.
- [22] N. Zouine, N. El Ghachtouli, S. El Abed, and S. I. Koraichi, "A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents: Factors, mechanism insights and future prospects," 2024. doi: 10.1016/j.sciaf.2024.e02395.
- [23] D. Singh, A. G. Majumdar, S. Gamre, and M. Subramanian, "Membrane damage precedes DNA damage in hydroxychavicol treated E. coli cells and facilitates cooperativity with hydrophobic antibiotics," *Biochimie*, vol. 180, 2021, doi: 10.1016/j.biochi.2020.11.008.
- [24] A. P. R. Nurhamidin, F. Fatimawali, and I. Antasionasti, "Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsung (Lansium Domesticum Corr) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Klebsiella Pneumoniae,” *PHARMACON*, 2021, doi: 10.35799/pha.10.2021.32772.

- [25] B. Bustanussalam, D. Apriasi, E. Suhardi, and D. Jaenudin, “Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle Linn) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923,” *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2015, doi: 10.33751/jf.v5i2.409.
- [26] J. N. Eloff, “Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results,” 2019. doi: 10.1186/s12906-019-2519-3.