

Optimasi Komposisi Ekstrak Etanol Herba Ciplukan dan Kulit Buah Pinang menggunakan Metode *Simplex Lattice Design* dengan Parameter Daya Hambat Bakteri

Riwayat artikel:

Diterima: 19 Agustus 2024

Direvisi: 20 Desember 2024

Diterbitkan: 24 Desember 2024

Marcelina Fransisca Alecia Ismaurasi^{1*}, Rollando¹, Michael Resta Surya Yanuar¹

Kata kunci:

Antibakteri;

Ekstrak Etanol Herba Ciplukan dan Kulit Pinang;

Simplex Lattice Design

Indonesia has a diversity of medicinal plants as traditional medicine. Traditional medicine has shortcomings in the use of the main composition and components used, making it less effective. Therefore, medicinal plants need to be optimized in composition and add two or more plants to maximize treatment. Medicinal plants have properties as antibacterial. Indonesia has medicinal plants that have the potential to be antibacterial, namely the Ciplukan and areca nut plants. There are 5 stages of work procedures in the research method. The first stage is plant determination. The second stage is the optimization of the composition of ethanol extracts of herbs and areca nut peels using the simplex lattice design method. The third stage is extraction by the maceration method. The fourth stage is an antibacterial activity test. The last stage of data analysis uses software design experts and SPSS. The results of this study were composition optimization with the simplex lattice design method resulting in 8 compositions. The results of the antibacterial activity test were the presence of antibacterial activity in composition 7 (87.5 µg and areca nuts hell 62.5 µg) with an inhibition diameter of 11.32 mm and composition number 8 (62.5 µg and areca nut shell 87.5 µg) with an inhibition diameter of 11.58 mm. The final result of the confirmation of composition 8 has the strongest antibacterial potential shown by the diameter of inhibition of 15.27 mm and the desirability value, which is 1. Through the results of this study, it is concluded that the simplex lattice design method can be applied to produce optimal compositions. In addition, the results of the study showed the antibacterial activity of the composition of ethanol extracts of the herb ciplukan (*Physalis angulata* L.) and areca nut peel (*Areca catechu* L.) against *Staphylococcus aureus* bacteria using the well diffusion method.



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Menurut *World Health Organizing* (WHO), penggunaan obat tradisional di dunia sangat diminati yaitu lebih dari 50% penduduk. Penggunaan obat tradisional tersebut diminati karena harganya yang lebih murah dan terjangkau dibanding dengan obat berbahan kimia. Indonesia merupakan salah satu negara yang masih menggunakan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan [1]. Indonesia juga merupakan negara dengan sumber daya alam yang

melimpah, khususnya pada keanekaragaman tumbuhan. tumbuhan. Berbagai jenis tumbuhan digunakan sebagai pengobatan sudah sejak zaman dahulu. Pengobatan sejak zaman dahulu atau turun Berbagai jenis tumbuhan digunakan sebagai pengobatan sudah sejak zaman dahulu. Pengobatan sejak zaman dahulu atau turun dinamakan pengobatan tradisional. Pengobatan tradisional

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Ma Chung, Malang, Jawa Timur, Indonesia

*Email: 612010030@student.machung.ac.id

sering menggunakan tanaman obat yang ada di lingkungan sekitar.

Berdasarkan hasil data penelitian mengenai keanekaragaman tumbuhan sebagai tumbuhan obat, Indonesia memiliki sekitar 2.500 jenis tanaman [2]. Berbagai jenis tanaman yang dijadikan sebagai pengobatan secara tradisional di Indonesia masih memiliki kekurangan yaitu memiliki takaran dan/atau komposisi yang belum tepat pada penggunaannya. Penggunaan tanaman pada pengobatan tradisional juga masih banyak menggunakan satu tanaman sebagai komposisi bahan utama. Penggunaan satu tanaman untuk obat tradisional sering kali kurang efektif untuk pengobatan dibandingkan dengan penggunaan dua tanaman obat atau lebih yang memiliki khasiat yang sama. Oleh karena itu, kombinasi dua tanaman obat atau lebih direkomendasikan untuk pengobatan. Kombinasi dua tanaman obat atau lebih memerlukan komposisi yang tepat supaya khasiat pengobatan dapat tercapai dengan maksimal. Cara untuk membuat komposisi yang tepat adalah dengan mengoptimalkan komposisi dari dua atau lebih tanaman obat. Optimasi komposisi dapat menggunakan desain eksperimen.

Desain eksperimen merupakan metode yang banyak digunakan dalam suatu penelitian. Desain eksperimen berfungsi untuk mengidentifikasi, merancang, mengoptimalkan dan mengevaluasi data dari suatu penelitian. Desain eksperimen paling sering digunakan untuk proses optimasi [3]. Tujuan dari optimasi adalah menentukan hasil yang optimal. Optimasi digunakan dalam bidang kesehatan khususnya dalam pengembangan sediaan obat. Optimasi banyak digunakan dalam menentukan formula dan komposisi dari suatu obat. Tidak hanya pada obat-obatan yang berbahan dasar kimia atau sintesis tetapi, obat-obat tradisional yang menggunakan bahan dari alam juga dapat dioptimalkan komposisi bahan kandungannya [4,5]. Optimasi komposisi dapat menggunakan metode desain eksperimental yaitu *mixture design*. Salah satu metode *mixture design* yang umum digunakan dalam optimasi komposisi

adalah *Simplex Lattice Design*. Metode ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan jumlah komposisi yang optimal sehingga mendapatkan komposisi yang tepat untuk digunakan salah satunya sebagai komposisi obat tradisional [6]. Desain eksperimen merupakan metode yang banyak digunakan dalam suatu penelitian. Desain eksperimen berfungsi untuk mengidentifikasi, merancang, mengoptimalkan dan mengevaluasi data dari suatu penelitian. Desain eksperimen paling sering digunakan untuk proses optimasi [3]. Tujuan dari optimasi adalah menentukan hasil yang optimal. Optimasi digunakan dalam bidang kesehatan khususnya dalam pengembangan sediaan obat. Optimasi banyak digunakan dalam menentukan formula dan komposisi dari suatu obat. Tidak hanya pada obat-obatan yang berbahan dasar kimia atau sintesis tetapi, obat-obat tradisional yang menggunakan bahan dari alam juga dapat dioptimalkan komposisi bahan kandungannya [4,5]. Optimasi komposisi dapat menggunakan metode desain eksperimental yaitu *mixture design*. Salah satu metode *mixture design* yang umum digunakan dalam optimasi komposisi adalah *Simplex Lattice Design*. Metode ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan jumlah komposisi yang optimal sehingga mendapatkan komposisi yang tepat untuk digunakan salah satunya sebagai komposisi obat tradisional [6].

Obat tradisional atau obat herbal yang memiliki komposisi berasal dari tanaman memiliki berbagai aktivitas senyawa seperti antidiabetes, antioksidan, antiinflamasi, antikanker, sampai antibakteri sehingga dapat digunakan dalam berbagai pengobatan penyakit. Salah satu senyawa yang dimiliki beberapa tanaman adalah antibakteri. Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri atau memperlambat pertumbuhan bakteri [7]. Tanaman yang mengandung senyawa antibakteri dapat dijadikan alternatif pengobatan infeksi bakteri. Terdapat dua tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional atau pengobatan herbal yaitu tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan tanaman pinang (*Areca catechu* L.). Tanaman tersebut mengandung

senyawa aktif seperti polifenol, alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan steroid yang memiliki potensi sebagai antibakteri [8,9].

Berdasarkan penelitian terdahulu, berbagai senyawa yang terdapat pada tanaman ciplukan dan tanaman pinang khususnya kulit buah pinang memiliki potensi aktivitas antibakteri yang diteliti secara terpisah [8]. Belum ada penelitian yang mengoptimalkan dan menggabungkan kedua tanaman tersebut untuk dijadikan sebagai senyawa antibakteri. Oleh karena itu, peneliti memiliki ketertarikan untuk mengoptimalkan kombinasi komposisi kedua tanaman tersebut untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil dan Pembahasan

Determinasi tanaman dilakukan sebelum tanaman digunakan dalam penelitian. Tujuan dari determinasi untuk mengetahui informasi terkait tanaman sehingga menghindari kesalahan pengumpulan tanaman yang digunakan dalam penelitian [10]. Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan pada tanaman ciplukan dan tanaman pinang. Cara determinasi dengan mengidentifikasi tanaman dilakukan dengan mengamati tanaman kemudian ciri-ciri dari tanaman dicocokkan dengan kunci determinasi. Kunci determinasi tanaman ciplukan yaitu 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225a-226a-228a: Solanaceae-1b-3b-5a :Physalis-3: *P.angulata*. Kunci determinasi tanaman ciplukan 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-

219b-220b-224b-225a-226a-228a menunjukkan klasifikasi tanaman dengan suku Solanaceae. Kunci 1b-3b-5a menunjukkan tanaman memiliki marga Physalis dan lebih spesifik yaitu *Physalis angulata*. Pada tanaman pinang yang dideterminasi, kunci determinasi tanaman pinang yaitu 1b-2b-3b-4b-6b-7a-8b-1b-3b-4b-6b-7b-8b: Palmae-10: *Areca catechu*. Kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7a-8b-1b-3b-4b-6b-7b-8b menunjukkan tanaman teridentifikasi dari suku Palmae dengan spesies yaitu *Areca catechu*. Hasil determinasi berdasarkan buku Flora, untuk Sekolah di Indonesia yang ditulis oleh Cornelis Gijsbert Gerrit Jan van Steenis.

Penelitian optimasi komposisi ekstrak etanol herba ciplukan dan ekstrak etanol kulit buah pinang menggunakan metode *Simplex Lattice Design* ditunjukkan pada **tabel 1**. Optimasi komposisi ekstrak etanol herba ciplukan dan ekstrak etanol kulit buah pinang menghasilkan 8 komposisi. Optimasi menggunakan desain eksperimen metode *Simplex Lattice Design* menghasilkan variasi komposisi yang paling optimal sehingga tidak banyak komposisi yang diuji untuk meminimalisir *trial* dan *error*. 8 komposisi memiliki total komposisi yang sama yaitu 150 µg dengan 2 komponen ekstrak yang berbeda yaitu ekstrak etanol herba ciplukan dan ekstrak etanol kulit buah pinang karena pada prinsip *Simplex Lattice Design* (SLD) melakukan optimasi komposisi dengan membedakan jumlah komposisi tetapi dengan total komposisi yang tetap sama. Metode *Simplex Lattice Design* dapat mengoptimasi mulai dari 2-30 komponen [11,12].

Tabel 1. Hasil Variasi Komposisi Ekstrak Herba Ciplukan dan Kulit Buah Pinang menggunakan Metode SLD

Komposisi	Ciplukan (µg)	Kulit Pinang (µg)
1	75	75
2	100	50
3	100	50
4	50	100
5	50	100
6	75	75
7	87.5	62.5
8	62.5	87.5

Penelitian ini dipilih metode maserasi untuk diterapkan pada ekstraksi herba ciplukan dan kulit buah pinang. Ekstraksi dengan metode maserasi hanya dengan cara perendaman dengan pelarut sambil diaduk tanpa adanya pemanasan. Pada proses ekstraksi dengan metode maserasi pada penelitian ini digunakan etanol 70% karena etanol pada dasarnya merupakan pelarut universal yaitu pelarut yang dapat mengikat senyawa bioaktif yang bersifat polar dan/atau nonpolar [13]. Hasil yang didapat dari proses ekstraksi yaitu persen rendemen ekstrak dari rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100$$

Rendemen ekstrak ciplukan yang didapat sebesar 1,496 % dengan warna ekstrak hijau tua, sedangkan rendemen ekstrak kulit pinang yang didapat sebesar 6,245% dengan warna ekstrak coklat tua kemerahan. Rendemen yang didapatkan masih belum sesuai dengan persyaratan rendemen yang baik yaitu persen rendemen harus diatas 10%. Rendemen tidak memenuhi persyaratan dapat disebabkan oleh pelarut yang digunakan dan waktu ekstraksi [14]. Waktu proses maserasi pada penelitian ini memungkinkan ekstrak yang didapat lebih sedikit, karena lebih lama proses maserasi maka ekstrak yang didapat lebih maksimal, apabila waktu maserasi singkat memungkinkan senyawa yang terambil tidak maksimal [15,16].

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri komposisi campuran ekstrak etanol ciplukan dan ekstrak etanol kulit buah pinang menunjukkan aktivitas antibakteri terdapat pada komposisi nomor 7 dan 8. Dilihat dari **tabel 2**, daya hambat paling besar ditunjukkan pada komposisi nomor 8 dengan diameter daya hambat sebesar 11.58 mm. Komposisi 8 berisi 62,5 µg ekstrak etanol ciplukan setara dengan 41,7% ekstrak etanol ciplukan dan 87,5 µg ekstrak etanol kulit pinang setara dengan 58,3% ekstrak etanol kulit pinang. Sedangkan pada komposisi lainnya, 50 µg ekstrak setara dengan 33,3% ekstrak, 75 µg ekstrak setara dengan 50% ekstrak, 100 µg setara dengan 66,7% ekstrak.

Aktivitas antibakteri dapat disebabkan karena metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Metabolit sekunder yang paling banyak terdapat di ekstrak etanol ciplukan yaitu asam oleat [17]. Asam oleat merupakan salah satu senyawa asam lemak. Asam oleat memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Terdapat 3 mekanisme kerja sebagai antibakteri dari asam oleat yaitu peningkatan permeabilitas membran dan lisis sel, mengganggu rantai transport elektron dan fosforilasi oksidatif serta menghambat aktivitas enzim bakteri [18].

Peningkatan permeabilitas membran dan lisis sel diakibatkan interaksi antara asam lemak oleat dengan membran bakteri sehingga mengganggu kestabilan dari membran bakteri sampai terjadi kebocoran sitosol dari sitoplasma (terjadinya lisis sel). Selain itu, senyawa asam oleat mampu menurunkan nilai polaritas membran bakteri mengakibatkan peningkatan fluiditas membran yang mengakibatkan kematian sel pada bakteri.

Rantai transport elektron dan fosforilasi oksidatif terdapat dalam membran yang memiliki fungsi penting dalam pengangkutan elektron dan proses menghasilkan sumber energi dan ATP. Apabila transport elektron terganggu maka sel bakteri akan kekurangan energi untuk bertumbuh dan akhirnya terjadi kematian bakteri karena sel-sel dalam bakteri tidak berfungsi dengan normal.

Penghambatan aktivitas enzim bakteri oleh asam lemak khususnya asam oleat dengan cara menghambat aktivitas GTase (Glukosiltransferase). GTase merupakan enzim yang berperan dalam produksi glukon pada sel bakteri. GTase digunakan untuk sebagai pengkatalis dalam produksi glukon. Apabila aktivitas GTase terhambat maka produksi glukon akan terganggu. Glukon sangat penting bagi sel bakteri. Glukon digunakan sebagai sistem pertahanan bakteri pada dinding sel bakteri.

Metabolit sekunder yang paling banyak terdapat di ekstrak etanol kulit buah pinang yaitu epicatechin. Epicatechin merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan di pinang. Terdapat tiga mekanisme kerja dari epicatechin sebagai

antibakteri dengan menghambat pembentukan biofilm pada bakteri melalui interaksi sortase enzim dalam membran sitoplasma. Epicatechin juga menyebabkan agregasi bakteri melalui fusi membran menyebabkan berkurangnya bakteri dalam penyerapan nutrisi yang dapat menghalangi pertumbuhan bakteri dan mengakibatkan kematian bakteri. Mekanisme epicatechin lainnya yaitu menghambat aktivitas enzim pada bakteri yaitu menginaktivasi GTase sehingga tidak dapat memproduksi glikan [19].

Desirability atau desirabilitas merupakan nilai yang memperlihatkan komposisi yang dihasilkan memenuhi kriteria yang telah ditetapkan pada komposisi yang dihasilkan setelah proses analisis data hasil optimasi. Nilai *desirability* yang sempurna adalah 1 [20]. Jadi, komposisi yang memiliki *desirability* 1 menunjukkan komposisi yang optimal. Hasil dari analisis data 8 komposisi ekstrak etanol herba ciplukan dan kulit pinang yang sudah dioptimasi dengan metode *simplex lattice design* yaitu nilai *desirability* paling baik terdapat pada komposisi 8. Pada gambar 1 menunjukkan komposisi 8 memiliki nilai *desirability* sebesar 1.

Tabel 2. Hasil Data Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil Data Uji Aktivitas Antibakteri								
Komposisi	Ciplukan (µg)	Pinang (µg)	Replikasi (mm)				Rata-Rata (mm)	SD (Standar Deviasi)
			1	2	3	4		
1	75	75	0	0	0	0	0	0
2	100	50	0	0	0	0	0	0
3	100	50	0	0	0	0	0	0
4	50	100	0	0	0	0	0	0
5	50	100	0	0	0	0	0	0
6	75	75	0	0	0	0	0	0
7	87.5	62.5	11,84	10,28	9,68	13,46	11,32	1,695
8	62.5	87.5	11,08	10,01	9,66	15,56	11,58	2,722
Kontrol Positif			21,29	21,12	20,44	18,24	20,27	1,404
Kontrol Negatif			0	0	0	0	0	0

Component Coding: Actual

All Responses

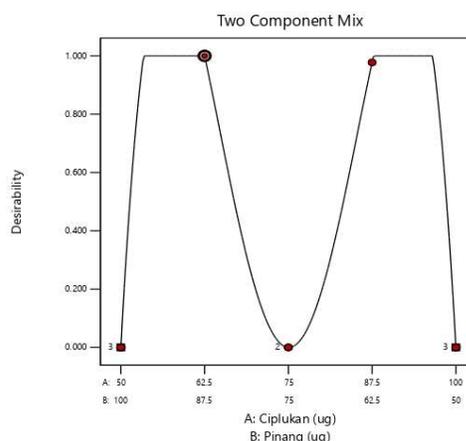
● Design Points

Std # 3 Run # 8

X1 = A = 62.5

X2 = B = 87.5

Y = Desirability = 1.000



Gambar 1. Grafik hubungan antara komposisi ekstrak etanol dan ekstrak kulit pinang dengan *desirability*

Pengujian selanjutnya yaitu uji *Kruskal-Wallis* untuk membuktikan hipotesis pada penelitian ini dengan melihat dari nilai *p-value*. Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* dilihat dari **tabel 3** menunjukkan nilai dari *p-value* <0.05 pada replikasi 1, 2, 3, dan 4 yaitu signifikan. Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

1. H_0 : Tidak ada komposisi yang optimal dari optimasi komposisi ekstrak etanol ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan ekstrak etanol kulit buah pinang (*Areca catechu* L.).
2. H_1 : Ada komposisi yang optimal dari optimasi komposisi ekstrak etanol ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan ekstrak etanol kulit buah pinang (*Areca catechu* L.).

Berdasarkan hasil analisis uji *Kruskal-Wallis* dengan *p-value* <0.05, maka hipotesis yang ditolak adalah H_0 dan hipotesis yang diterima adalah H_1 . Apabila hipotesis yang diterima adalah H_1 , maka

dapat disimpulkan ada komposisi yang optimal dari optimasi komposisi yang telah dilakukan.

Hasil **tabel 4** menunjukkan diameter daya hambat dari komposisi nomor 8 lebih besar dibandingkan dengan komposisi nomor 7. Hal ini membuktikan perbandingan komposisi ekstrak etanol ciplukan sebesar 62,5 µg dan ekstrak etanol pinang sebesar 87,5 µg pada komposisi nomor 8 memiliki komposisi yang optimal dan memberikan aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan dengan komposisi lainnya.

Hasil uji verifikasi komposisi nomor 8 dilakukan konfirmasi seperti pada gambar 2 dan didapat hasil nilai prediksi sebesar 11,58 mm dengan nilai pengamatan verifikasi sebesar 15,27 mm sehingga tidak memiliki perbedaan yang jauh. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari nilai prediksi dan pengamatan akhir masuk dalam rentan aktivitas antibakteri yang kuat dilihat dari persyaratan bakteri yaitu pada rentan 10-20 mm [21].

Tabel 3. Uji *Kruskal-Wallis* Replikasi 1-4

Komposisi Optimal	<i>p-value</i>	Keterangan
Replikasi 1	<0.05	Signifikan
Replikasi 2	<0.05	Signifikan
Replikasi 3	<0.05	Signifikan
Replikasi 4	<0.05	Signifikan

Tabel 4. Data Uji Aktivitas Antibakteri untuk *Post-Analysis Confirmation*

Komposisi	Ciplukan (µg)	Pinang (µg)	Verifikasi			Rata-Rata (mm)
			Replikasi (mm)			
			1	2	3	
7	87.5	62.5	14,75	13,94	14,69	14,46
8	62.5	87.5	14,94	14,47	16,41	15,27
Kontrol Positif			18,3	17,72	18,94	18,32
Kontrol Negatif			0	0	0	0

Confirmation

Two-sided Confidence = 95%

Analysis	Predicted Mean	Predicted Median	Observed	Std Dev	n	SE Pred	95% PI low	Data Mean	95% PI high
Daya Hambat Bakteri*	11.58	11.58		0	1	0	11.58	15.27	11.58

Gambar 5. Hasil Konfirmasi Prediksi dan Daya Hambat Bakteri Komposisi Nomor 8 Ekstrak Etanol dan Ekstrak Kulit Pinang dengan *Design Expert*

Kesimpulan

Metode *Simplex Lattice Design* dapat diterapkan untuk mendapatkan komposisi ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan ekstrak etanol kulit buah pinang (*Areca catechu* L.) yang optimal. Aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan ekstrak etanol kulit buah pinang (*Areca catechu* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumuran yaitu komposisi nomor 7 (ekstrak etanol ciplukan 87,5 µg dan ekstrak etanol kulit pinang 62,5 µg) dan komposisi nomor 8 (ekstrak etanol ciplukan 62,5 µg dan ekstrak etanol kulit pinang 87,5 µg) memiliki potensi aktivitas antibakteri. Sedangkan komposisi 1 sampai komposisi 6 tidak terdapat aktivitas antibakteri.

Bahan dan Metode

Determinasi Tanaman Ciplukan dan Tanaman Pinang

Determinasi tanaman ciplukan dan tanaman pinang dilakukan di Materia Medica Batu, Jawa Timur. Determinasi menggunakan buku Flora, untuk Sekolah di Indonesia.

Optimasi Komposisi Metode *Simplex Lattice Design*

Proses optimasi menggunakan *Simplex Lattice Design* (SLD) pada *Software Design Expert* 13.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan secara terpisah antara herba ciplukan dan kulit buah pinang. Herba ciplukan dan kulit buah pinang dibuat menjadi simplisia kering. Pengeringan dilakukan penjemuran secara dengan sinar matahari dalam waktu 3-4 hari. Herba ciplukan

dan kulit pinang yang sudah kering kemudian blender. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Perbandingan yang dibutuhkan dalam proses maserasi yaitu pada herba ciplukan 1:10 untuk simplisia dan etanol 70%, sedangkan pada kulit buah pinang 1:10 untuk simplisia dan etanol 70%. Sampel herba ciplukan dan kulit buah pinang di rendam secara terpisah dengan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam. Ampas dan sisa pelarut dipisahkan. Sisa pelarut yang dipisahkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Setelah proses penguapan didapatkan ekstrak kental, yang selanjutnya dikeringkan dengan cara diuapkan di atas waterbath dengan suhu 60°C supaya didapat ekstrak kering.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode *Well-Diffusion*

Media MHA disiapkan sebanyak 15 ml dan diinokulasi dengan 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sesuai dengan standard McFarland 0,5 setara dengan 1,5x10⁸ CFU/mL. Cawan petri dibagi menjadi 6 area dengan menggunakan penanda. Enam area pada cawan petri berisi area kontrol negatif (DMSO 2%), area kontrol positif (Sterptomycin), dan 4 area uji dengan komposisi yang berbeda-beda. Masing-masing cairan dengan volume 50 µl dimasukkan menggunakan mikropipet pada 6 area sumuran. Cawan petri kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam dalam suhu 37°C. Parameter aktivitas antibakteri dilihat dari diameter daya hambat bakteri yang terbentuk pada media MHA yang disekeliling sumuran terlihat zona atau area bening. Area hambatan diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter [22].

Analisis Statistik dan Data Visual

Analisis statistik dan data visual menggunakan *Design Expert* 13 dan Uji *Kruskall-walis* pada SPSS untuk mengetahui komposisi yang optimal dari optimasi komposisi ekstrak etanol herba ciplukan dan ekstrak etanol kulit buah pinang. Nilai *desirability* 1 menunjukkan komposisi yang optimal dan *p-value* <0.05 menunjukkan hasil signifikan.

Daftar Pustaka

1. Oktarlina RZ, Tarigan A, Carolia N, Utami ER. Hubungan Pengetahuan Keluarga dengan Penggunaan Obat Tradisional di Desa Nunggalrejo Kecamatan Pungur Kabupaten Lampung Tengah. *J K edokteran Unila*. 2018;2(1):42–6.
2. Hadi MA, Latifah S, Aji IML, Valentino N, Prasetyo AR. Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Obat di Hutan Kemasyarakatan Wana Lestari Desa Karang Sidemen. *J For Sci Avicennia*. 2023;06(37):26–38.
3. Suksaeree J, Monton C. Evaluation of the interaction of phenolic compounds contained in the trisamo recipe using simplex lattice design. *J Curr Sci Technol*. 2021;11(1):100–13.
4. Sabariman M, Sandrasari DA, Azni IN, Permata TD. Aplikasi Metode Mixture Design Pada Formulasi Minuman Fungsional Serbuk Temulawak, Jahe Merah Dan Gula Merah. *Jtepakes*. 2021;3(1):41–8.
5. Putri WE, Anindhita MA. Optimization of cardamom fruit ethanol extract gel with combination of HPMC and Sodium Alginate as the gelling agent using Simplex Lattice Design. *J Ilm Farm*. 2022;107–20.
6. Suryani S, Nafisah A, Mana'an S. Optimasi Formula Gel Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Bligo (*Benincasa hispida*) dengan Metode Simplex Lattice Design (SLD). *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy)*. 2017;3(2):150–6.
7. Habibi AR, Johannes E, Sulfahri. Potensi Senyawa Bioaktif Bajakah *Spatholobus litoralis* Hassk Sebagai antimikroba dengan cara in-vitro dan in-silico. *J Ilmu Alam dan Lingkungan*. 2022;13(1):38–44.
8. Choirunnisa A, Sutjiatmo AB. Pengaruh kombinasi ekstrak etanol herba cecendet (*Physalis angulata* L.) dengan beberapa antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Kartika J Ilm Farm*. 2017;5(2):50.
9. Aini Q, Nuralang N, Pradina AD, Yamin MA, Amanda A, Gusti DR. Immobilisasi Nanopartikel Tembaga (Cu) dan Ekstrak Kulit Buah Pinang (*Areca catechu*) pada Kain Katun. *al-Kimiya*. 2022;9(1):26–31.
10. Happy M, Klau C, Hesturini RJ. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgesik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *J Farm SAINS Indones*. 2021;4(1):6–12.
11. Hajrin W, Subaidah WA, Juliantoni Y, Wirasisya DG. Jurnal Biologi Tropis Application of Simplex Lattice Design Method on The Optimisation of Deodorant Roll-on Formula of Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Biol Trop*. 2021;21(2):501–9.
12. Sopyan I, Zuhrotun A, Hidayat Rifky I. Design-Expert Sebagai Alat Optimasi Formulasi Sediaan Farmasi. *Maj Farmaksetika*. 2021;6(1):99–120.
13. Pujiastri E, El'Zeba D. PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL 70 % DAN 96 % KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus*). 2021;5(1):28–43.
14. Al S, Fathoroni A. Analisis Rendemen dan Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun *Viola odorata*). 2023;2(3):591–8.
15. Miradita Lestari NM, Yusa NM, Ayu Nocianitri K. PENGARUH LAMA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN ULTRASONIK TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.). *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2020;9(3):321.
16. Asworo RY, Widwastuti H. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit *Sirsak*. *Indones J Pharm Educ*. 2023;3(2).
17. Pillai JR, Wali AF, Menezes GA, Rehman MU, Wani TA, Arafah A, et al. Chemical Composition Analysis, Cytotoxic, Antimicrobial and

Antioxidant Activities of *Physalis angulata* L.: A Comparative Study of Leaves and Fruit. *Molecules*. 2022;27(5):1–20.

18. Yoon BK, Jackman JA, Valle-gonz ER, Cho N joon. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities , Experimental Testing , and Therapeutic Applications. *Mol Sci*. 2018;19(1114):1–40.
19. Cheemanapalli S, Mopuri R, Golla R, Anuradha CM. Biomedicine & Pharmacotherapy Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence , Biosynthesis , Pharmacological and Industrial Importance. *Biomed Pharmacother*. 2018;108:547–57.
20. Ramadhani RA, Herdian D, Riyadi S, Triwibowo B. Review Pemanfaatan Design Expert untuk Optimasi Komposisi Campuran Minyak Nabati sebagai Bahan Baku Sintesis Biodiesel. 2017;1(1):11–6.
21. Kumowal S, Fatimawali, Jayanto I. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacon*. 2019;8(4):781–90.
22. Puspitasari MD, Wardana FY, Widara RT, Ibrahim KB. Uji ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *J Ris Kesehat Poltekkes Depkes Bandung*. 2023;16(1):78–87.