

Antibacterial Activity Test Of Nanoparticle Extract Of Young Manila Sapota Fruit (*Achras zapota* L.) Against *Vibrio cholerae* Bacteria

[Uji Efektifitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio cholerae*]

Rihan Andi Wiguna¹⁾, Chylen Setiyo Rini^{*2)}

¹⁾Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Jl. Mojopahit No.666 B, Sidowayah, Celep, Kec. Sidoarjo, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur 61215

²⁾Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Jl. Mojopahit No.666 B, Sidowayah, Celep, Kec. Sidoarjo, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur 61215

*Email Penulis Korespondensi: chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract. *Nanoparticles are colloidal solid particles with a diameter ranging from 1 to 1000 nm. Ionic gelation nanoparticles are an effective technique for forming nanoparticles, with the advantages of a simple process, the use of non-organic solvents, and ease of process control. Sapodilla is one of the fruits that can be used as an alternative herbal medicine. The purpose of this study was to compare the effectiveness of extracts without nanoparticles and nanoparticles of young manila sapodilla fruit extract (*Achras zapota* L.) on the growth of *Vibrio cholerae* bacteria with 3 repetitions using the diffusion method. The results showed that the inhibitory power of young manila sapodilla extract with a concentration of 25% got a result of 7.62 mm, 50% got a result of 6.98, and 75% got a result of 16.35 mm while in the negative control there was no inhibition zone and in the antibiotic ciprofloxacin got an inhibition zone of 22.33 mm. Furthermore, in the nanoparticle extract combined with a variation of 25%, the results were 6 mm, 50% were 6 mm, and 75% were also 6 mm, while in the negative control there was also no inhibition zone and in the antibiotic ciprofloxacin, the inhibition zone was 22.33 mm against the growth of *Vibrio cholerae* bacteria. The statistical test showed that the nonparametric Friedman showed a value ($p < 0.05$), which indicated a significant difference between the groups tested.*

Keywords – Nanoparticles, Young Manila Sapodilla Fruit Extract (*Achras zapota* L.), *Vibrio cholerae*, Diffusion Method

Abstrak. *Nanopartikel adalah partikel padat koloid dengan diameter mencapai rentang 1-1000 nm. Nanopartikel metode gelasi ionik merupakan teknik yang efektif untuk membentuk nanopartikel, memiliki keunggulan berupa proses yang sederhana, penggunaan pelarut non-organik, dan kemudahan dalam pengendalian prosesnya. Tanaman sawo merupakan salah satu buah yang dapat dijadikan sebagai obat herbal alternatif. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan efektivitas antara ekstrak tanpa nanopartikel dan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* dengan pengulangan sebanyak 3 kali menggunakan metode difusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak sawo manila muda dengan konsentrasi 25% mendapat hasil 7,62 mm, 50% mendapat hasil 6,98, dan 75% mendapat hasil 16,35 mm sedangkan pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat dan di antibiotik ciprofloxacin mendapat zona hambat 22,33 mm. Selanjutnya pada nanopartikel ekstrak dikombinasi variasi 25% mendapat hasil 6 mm, 50% mendapat hasil 6 mm, dan 75% juga mendapat hasil 6 mm sedangkan pada kontrol negatif juga tidak terdapat zona hambat dan di antibiotik ciprofloxacin mendapat zona hambat 22,33 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*. Pada uji statistik menunjukkan bahwa nonparametrik Friedman menunjukkan nilai ($p < 0,05$), yang mengindikasikan perbedaan signifikan antara kelompok yang diuji.*

Kata Kunci - Nanopartikel, Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.), *Vibrio cholerae*, Metode Difusi

I. PENDAHULUAN

Tahun 2022, menurut WHO (*World Health Organization*) jumlah kasus kolera meningkat secara signifikan dalam beberapa tahun terakhir. Terdapat laporan dari 44 negara sebanyak 472.697 kasus dan 2.349 kematian. Jumlah kasus dan kematian yang dilaporkan ini kemungkinan hanya sebagian kecil dari jumlah kasus dan kematian yang sebenarnya terjadi [1].

Kolera merupakan suatu penyakit seperti diare yang dapat menyebabkan tingkat kesakitan dan kematian yang signifikan di berbagai belahan dunia. Penyakit ini adalah jenis penyakit infeksi usus terjadi akibat adanya bakteri *Vibrio cholerae*. Penularan dapat terjadi melalui jalur fecal-oral, yaitu dari kotoran manusia atau hewan yang terinfeksi ke makanan atau air yang kemudian dikonsumsi oleh orang lain ke dalam usus. Ketika bakteri kolera masuk ke dalam tubuh manusia, bakteri tersebut akan melepaskan enterotoksin ke dalam usus. Enterotoksin adalah racun yang dapat menyebabkan diare yang sangat parah disertai muntah. Diare yang parah dapat menyebabkan kehilangan cairan tubuh yang signifikan dalam beberapa hari, yang pada akhirnya dapat menyebabkan dehidrasi [18].

V. cholerae adalah jenis bakteri yang memiliki bentuk seperti batang yang bengkok atau melengkung dan tergolong pada kategori bakteri gram negatif. Gejala penyakit kolera antara lain kram pada perut, muntah, diare, demam, bahkan kejang pada otot [14]. Ciri khas penyakit kolera adalah kotorannya yang menyerupai air cucian beras. Bakteri enterotoksigenik gram negatif *V. cholerae* adalah penyebab kolera. Infeksi *V. cholerae* dapat menular namun dapat pula muncul tanpa gejala [64].

Tanaman sawo merupakan salah satu buah yang dapat dijadikan sebagai obat herbal alternatif. Buah sawo muda, bila dipanaskan atau direbus, dipotong dadu, dihaluskan, atau diperas, dapat dikonsumsi sebagai obat diare. Usai melahirkan, ibu-ibu bisa memanfaatkan bunga tanamannya untuk membuat bubuk parem. Daun sawo juga memiliki manfaat kesehatan lebih yang dapat digunakan sebagai obat pengganti untuk mengobati bisul, luka, demam, dan pendarahan [66]. Pada penelitian tentang efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota* L.) terhadap *Salmonella typhi* dengan menggunakan ekstraksi maserasi etanol 96% menunjukkan bahwa sawo manila memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Salmonella typhi*. Aktivitas ini meningkat sejalan dengan meningkatnya kadar ekstrak sawo manila. Pada konsentrasi 100%, ekstrak sawo manila dapat menghasilkan zona hambat dengan diameter 15 mm (resisten). Pada konsentrasi 200%, diameter zona hambat meningkat menjadi 18 mm (intermediet). Sedangkan pada konsentrasi 400%, diameter zona hambat meningkat menjadi 22,2 mm (sensitif) [27].

Nanoteknologi telah memunculkan minat yang signifikan dalam beberapa tahun terakhir di berbagai disiplin ilmu seperti biologi, fisika, dan kimia. Dalam perkembangannya, cabang nanoteknologi yang mengalami pertumbuhan pesat adalah nanomedisin, nanoemulsi, dan penggunaan nanopartikel. Keberagaman aplikasi nanoteknologi, terutama dalam konteks biomedis, telah menjadi daya tarik utama dalam penelitian ini. Nanopartikel adalah partikel padat koloid dengan diameter mencapai rentang 1-1000 nm. Karakteristik bentuk dan ukuran partikel ini memiliki dampak yang signifikan pada efisiensi obat, mengingat bahwa ukuran partikel mempengaruhi proses disolusi, absorpsi, dan distribusi obat dalam tubuh [34]. Salah satu polimer yang dapat digunakan dalam formulasi nanopartikel adalah kitosan, dengan natrium tri-poli-fosfat (Na-TPP) sebagai agen pengikat silang. Proses gelasi ionik merupakan teknik yang efektif untuk membentuk nanopartikel, memiliki keunggulan berupa proses yang sederhana, penggunaan pelarut non-organik, dan kemudahan dalam pengendalian prosesnya [17]. Dengan kemampuannya meningkatkan pengiriman obat, memberikan efek antimikroba langsung, dan meminimalisir efek samping. Keunggulan nanopartikel terletak pada ukurannya yang kecil dan sifatnya yang serbaguna, memungkinkan interaksi langsung dengan sel mikroba, meningkatkan pengiriman dan efektivitas agen terapeutik [4]. Hasil pengujian yang telah dilakukan oleh [54] menunjukkan bahwa ekstrak daun matoa pada konsentrasi 25% dan 50% memiliki aktivitas antibakteri kategori intermediate (sedang), sedangkan pada konsentrasi 75% masuk kategori susceptible (sensitif) terhadap bakteri *E. coli*. Sebaliknya, nanopartikel ekstrak daun matoa pada konsentrasi 2,5%, 5%, dan 7,5% termasuk kategori resistant.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian mengenai potensi nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda sebagai senyawa antimikroba dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae* perlu dilakukan untuk mengetahui perbandingan efektivitas antara ekstrak buah sawo manila muda tanpa nanopartikel dan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda.

II. METODE

Penelitian ini telah lulus uji etik di Universitas Negeri Airlangga Surabaya dengan nomor sertifikasi: 0800/KEPK/HRECC.FODM/VII/2024. Penelitian ini menggunakan penelitian yang bersifat eksperimental. Jenis penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak tanpa nanopartikel dan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Farmakologi di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Uji Fitokimia dan Evaporasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Uji *Fourier Transform Infra Red (FTIR)* dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Negeri Surabaya. Sedangkan Uji *Particel Size Analyzer (PSA)* dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Populasi penelitian menggunakan buah sawo manila muda yang berasal dari Kabupaten Sragen, Jawa Tengah. Bakteri *Vibrio cholerae* yang berasal dari Indonesia Paramartha Laboratories. Alat yang diperlukan meliputi mesin penghalus, autoklaf, kulkas, inkubator, rotary vacuum evaporator, tabung reaksi, rak tabung, bulb, pipet ukur, labu ukur, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, batang pengaduk, sendok zat, pipet tetes, mikropipet, blue tip, yellow tip, bunsen, cawan petri, ose jarum, ose bulat, vortex, colony counter, botol reagen, pelet KBr, PSA, FTIR. Magnetic stirrer. Bahan yang diperlukan meliputi sawo manila (*Achras zapota* L.) yang diperoleh dari Sragen, bakteri *Vibrio Cholerae* yang diperoleh dari Indonesia Paramartha Laboratories, etanol 96%, tisu, kertas saring, media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Aucrose*) NaCl 0,9%, akuades, *McFarland* 0,5, HCl 2 N, klorida 10%, asam setat anhidrat, asam sulfat pekat, Liebermann – Burchard, kloroform, HCl pekat, logam magnesium, Dragendorff, Mayer, NaOH 1N, kitosan 0,1, Na-TPP 0,1%, H₂SO₄ 1%, BaCl₂, Mg, FeCl₃.

Simplisia dibuat menggunakan buah sawo manila yang masih muda atau masih belum matang. Buah sawo manila muda sebanyak 3 kg lalu dibersihkan dengan air mengalir hingga bersih kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditimbang beratnya, lalu dihaluskan dengan cara ditumbuk/digiling menggunakan blender hingga menjadi simplisia serbuk kemudian ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup dan diberi label, selanjutnya simplisia siap untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

Pembuatan ekstrak etanol buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 600 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah dan dicampur dengan 1000 ml etanol 96%, lalu wadah ditutup rapat dan dilindungi dari cahaya selama satu hari sambil sering diaduk dan diperas untuk menghasilkan maserat I. Pada hari kedua, ampas dibilas dengan 1000 ml etanol untuk memperoleh maserat II. Kemudian dihari ketiga ampas ditambahkan lagi 2000 ml etanol dan diperas di hari berikutnya. Setelah 3 hari maserat I, II, dan III digabung, kemudian diuapkan menggunakan *vacuum evaporator rotasi* pada suhu maksimum 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji fitokimia yang mengacu dari [51].

Nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda dibuat dengan menggunakan metode gelas ionik dengan prosedur kerja pertama menimbang 1 g ekstrak buah sawo manila muda. Dalam beker berkapasitas 1000 mL, ekstrak buah sawo manila muda dicampur dengan 35 mL etanol 96% dan 15 mL aquades. Selanjutnya, ditambahkan 100 mL larutan kitosan 0,1% dan 35 mL Na-TPP. Setelah semua bahan tercampur, campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan stabil 1000 rpm selama kurang lebih 2 jam. Setelah itu, koloid nanopartikel kitosan dan Na-TPP dari buah sawo manila muda disentrifugasi selama 25 menit pada kecepatan 4000 rpm. Kemudian, padatan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda tersebut disimpan di lemari pendingin pada suhu $\pm 3^{\circ}\text{C}$ hingga menjadi padatan kering.

Uji karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*A. zapota* L.) menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Sebelum digunakan, alat *Particle Size Analyzer* (PSA) dipanaskan terlebih dahulu selama ± 20 menit. Setelah itu, perangkat komputer yang terhubung dengan alat dinyalakan. Kemudian mulai dilakukan pengaturan pada alat. Dengan menggunakan *vortex mixer* selama ± 1 menit, larutan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda dikocok. Kemudian dimasukkan ke dalam cuvet yang bersih hingga terisi 2/3 cuvet. Kemudian, larutan standar dimasukkan ke dalam alat dan ditutup dengan sensor. Sebelum pengukuran dilakukan, suhu diatur terlebih dahulu pada 25°C dengan menekan menu "*Temp.Panel*". Kemudian, dengan menekan menu "*Auto1*" alat akan mengukur ukuran partikel secara otomatis.

Uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,0020 g sampel nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda dan 0,1980 g KBr ditimbang kemudian dihaluskan dan dicetak membentuk plat tipis (transparan). Sampel dibaca menggunakan alat FTIR dengan serapan infra merah pada bilangan gelombang 4000–450 cm^{-1} . Selanjutnya kromatogram yang dihasilkan dianalisa lebih lanjut.

Pengujian Efektivitas Anti Bakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan ekstrak etanol buah sawo manila muda pada konsentrasi 25 persen, 50 persen, dan 75 persen, serta nanopartikel ekstrak etanol buah sawo manila muda dengan konsentrasi yang sama, untuk melawan bakteri *Vibrio cholerae*. Sebagai kontrol negatif, digunakan aquadest steril, sementara kontrol positif menggunakan kertas cakram antibiotik ciprofloxacin. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap konsentrasi. Sebanyak 15 ml media MHA dituangkan ke dalam setiap cawan petri untuk uji sifat antibakteri, dan media dibiarkan memadat hingga matang. Dengan metode steril, kapas atau cotton swab dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *Vibrio cholerae*. Tekan kapas yang sudah jenuh ke dinding bagian dalam tabung untuk menghilangkan inokulum berlebih. Untuk memastikan pertumbuhan yang merata, gosok kapas tersebut secara merata di seluruh permukaan media MHA. Biarkan media mengering selama lima menit. Menggunakan pinset steril, letakkan cakram yang telah direndam dalam larutan uji ekstrak etanol buah sawo manila muda dan nanopartikel ekstrak etanol buah sawo manila muda pada jarak yang sama di media. Tekan perlahan setiap cakram dengan pinset untuk memastikan cakram menempel pada permukaan media MHA. Cawan kemudian diinkubasi dalam posisi terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi, diameter zona hambat (ZOI), yang terlihat sebagai area bening di sekitar cakram, diukur menggunakan jangka sorong digital dalam satuan millimeter (mm). Nilai zona hambat (ZOI) dihitung berdasarkan pengukuran ini.

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan program SPSS versi 25.0 kemudian dilihat normalitas data menggunakan uji Shaphiro-Wilk. Jika distribusi data normal, maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik Two Way Anova dan Post Hoc Duncan. Jika data tidak normal, maka dilakukan uji non parametrik menggunakan Friedman.

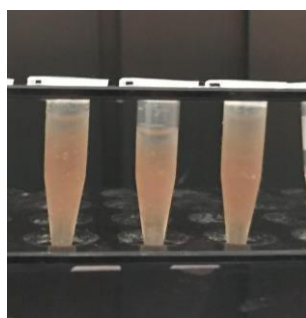
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Fitokimia

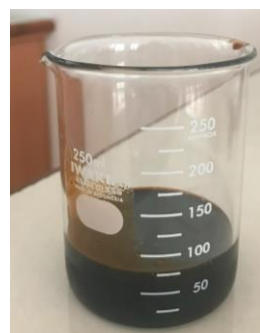
Buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) dimaserasi menggunakan etanol 96% dan setelah dilakukan perhitungan didapat hasil rendemen 15,5%, Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui senyawa sekunder yang terkandung dalam buah sawo manila muda (*A. zapota* L.) (Tabel. 2).

Tabel 1. Hasil Proses Ekstraksi Maserasi

Parameter	Hasil Maserasi
Bobot Basah	3000 gram
Bobot Kering	2400 gram
Bobot Serbuk	600 gram
Bobot Kental	93 gram
Rendemen	15,5 %



(a)



(b)

Gambar 1. (a) hasil nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) (b) hasil ekstrak kental buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.)

Menurut penelitian tentang efektifitas ekstrak buah sawo manila (*Achras Zapota* L.) terhadap *Salmonella typhi* dengan metode agar difusi, didapatkan hasil bahwa ekstrak buah sawo manila (*Achras zapota* L.) efektif melawan *Salmonella Typhi* melalui metode difusi agar dan menunjukkan sifat antibakteri yang kuat. Kandungan tanin yang tinggi pada sawo manila memberikan rasa pahit dan getir, dan kedua zat aktif tersebut menghambat ikatan mikroba (terutama pada *fimbriae*) serta merangsang sel-sel fagosit, yang memainkan peran penting dalam respons imun seluler [27].

Penelitian ini menunjukkan bahwa sawo manila muda mengandung berbagai senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin, yang semuanya dikenal memiliki aktivitas antimikroba. Menurut [52], alkaloid dapat mengganggu struktur peptidoglikan pada sel bakteri, mengakibatkan dinding sel tidak terbentuk dengan baik dan menyebabkan kematian bakteri. Selain itu, saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, sehingga protein dan enzim dari dalam sel keluar dan menyebabkan hemolisis. Sedangkan steroid berinteraksi dengan membran fosfolipid sel, mempengaruhi integritas lipofilik dinding sel. Untuk mengetahui kandungan ekstrak buah sawo manila muda (*A. zapota* L.) dilakukan uji fitokimia. Hasil dari uji fitokimia pada ekstrak buah sawo manila muda (*A. zapota* L.) dapat dilihat pada Tabel 2. :

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota L.*)

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan (+)/(-)
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
	Wagner	Endapan coklat	+
	Dragendorf	Endapan jingga	+
Flavonoid	Mg + HCl _{pekat} + etanol	Warna merah	+
Saponin	-	Adanya busa stabil	+
Steroid	Libermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	+
Triterpenoid	Kloroform + H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	+
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1 %	Endapan Putih	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Coklat Kehijauan	+

Keterangan : (+) = Mengandung Senyawa

(-) = Tidak Mengandung Senyawa

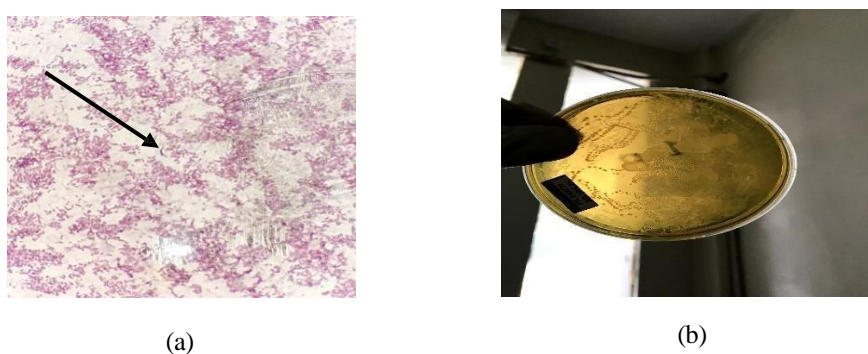
Berdasarkan hasil uji fitokimia didapatkan hasil bahwa ekstrak buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota L.*) memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik dan tanin. Hal ini dapat disebabkan karena faktor pertumbuhan lingkungan yang dapat mempengaruhi fisiologis dan biokimia yang terdapat pada buah sawo manila muda. Kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak buah sawo manila muda menunjukkan hasil positif dikarenakan terjadi perubahan warna menjadi merah. Senyawa flavonoid memiliki fungsi efektif sebagai antibakteri. Senyawa saponin ekstrak buah sawo manila muda menunjukkan hasil positif dikarenakan terbentuknya busa stabil. Hal ini disebabkan karena saponin memiliki sifat fisik yang mudah larut dalam air sehingga akan menimbulkan busa saat diguncang. Senyawa steroid menunjukkan hasil positif dikarenakan terjadi reaksi antara steroid yang terkandung dalam buah sawo manila muda dengan pereaksi libermann-burchard sehingga terjadi perubahan warna hijau atau kebiruan. Perubahan warna larutan diakibatkan adanya reaksi antara steroid dengan asetat anhidridat (reaksi asetilasi gugus OH pada steroid yang menghasilkan kompleks asetil steroid). Senyawa tanin menunjukkan hasil positif pada ekstrak buah sawo manila muda dengan perubahan warna menjadi coklat kehijauan. Hal ini terjadi dikarenakan senyawa tanin bereaksi dengan Fe³⁺. Senyawa fenolik menunjukkan hasil positif dikarenakan adanya endapan putih yang dihasilkan dari NaCl 10% dan Gelatin 1 %. Triterpenoid juga menghasilkan perubahan warna menjadi merah kecoklatan yang dikarenakan adanya reaksi di Kloroform dan H₂SO₄ pekat terhadap ekstrak buah sawo manila. Pengujian alkaloid dilakukan dengan 3 pereaksi yang pertama ada mayer yang menunjukkan adanya endapan putih, kedua dengan pereaksi wagner dan ada endapan coklat, ketiga pereaksi dragendorf dan ada endapan jingga yang menunjukkan hasil positif disemua pereaksi alkaloid yang telah dilakukan [8].

Beberapa faktor mempengaruhi efektivitas suatu bahan antibakteri dalam menghambat bakteri, termasuk kepadatan populasi bakteri, sensitivitas terhadap bahan antibakteri, volume bahan antibakteri, durasi penggunaannya, konsentrasi bahan antibakteri, suhu, dan kandungan bahan organik. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dapat dibagi menjadi beberapa jenis: antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengubah permeabilitas membran sel atau menghalangi transportasi aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghentikan sintesis protein, dan antibakteri yang menghentikan sintesis asam nukleat sel. Tanin, yang merupakan salah satu jenis polifenol, banyak ditemukan dalam tumbuhan. Tanin memiliki sifat antibakteri karena kemampuannya yang toksik untuk merusak membran sel bakteri. Selain itu, sifat astringent dari tanin dapat memicu pembentukan kompleks dengan ion logam, yang meningkatkan toksisitasnya. Salah satu cara kerja tanin adalah dengan menyebabkan pengerutan dinding sel atau membran sel, yang mengganggu permeabilitas sel, menghambat aktivitas hidupnya, dan akhirnya menyebabkan kematian sel. Alkaloid juga memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri, yang menghalangi pembentukan lapisan dinding sel yang utuh dan mengakibatkan kematian sel. Selain itu, senyawa alkaloid memiliki gugus basa yang mengandung nitrogen yang berinteraksi dengan asam amino yang membentuk DNA dan dinding sel bakteri. Perubahan pada struktur dan susunan asam amino terjadi akibat reaksi ini. Perubahan tersebut mengganggu keseimbangan genetik pada rantai DNA, menyebabkan kerusakan dan lisis bakteri, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri. Triterpenoid bertindak sebagai antibakteri dengan berinteraksi dengan purin pada membran luar sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat, yang merusak purin. Kerusakan purin, yang berfungsi sebagai pintu keluar masuk senyawa, mengurangi permeabilitas membran sel bakteri, yang mengurangi asupan nutrisi, menghambat pertumbuhan bakteri, atau membunuh bakteri. Flavonoid menghambat berbagai reaksi oksidasi, baik yang bersifat enzimatis maupun non-enzimatis. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstra seluler, yang menyebabkan denaturasi protein bakteri dan kerusakan pada membran sel. Identifikasi metabolit sekunder dari senyawa fenolik menunjukkan bahwa senyawa ini dapat membentuk kompleks yang mengubah warna menjadi biru hitam atau ungu. Uji ini menghasilkan perubahan warna akibat reaksi antara FeCl₃ dengan sampel [2].

Ion Fe^{3+} yang mengalami hibridisasi berperan dalam proses ini. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota L.*) mengandung saponin yang berguna. Karena sifat polar saponin, ia dapat larut dalam pelarut seperti air, tetapi saponin juga bersifat nonpolar karena adanya gugus hidrofob, aglikon, atau saponin. Di dalam air terdapat glikosida yang dapat membentuk busa dan terhidrolisis menjadi glukosa serta bahan lainnya [2]. Busa terbentuk dalam uji saponin. Senyawa steroid, yang merupakan senyawa nonpolar, tidak larut dalam pelarut polar seperti fraksi air. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk menghasilkan turunan asetil, sedangkan penambahan H_2SO_4 berfungsi untuk menghidrolisis air, yang kemudian bereaksi dengan turunan asetil dan menghasilkan larutan berwarna. Proses oksidasi pada senyawa triterpenoid atau steroid menyebabkan perubahan warna melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi [57].

B. Identifikasi Bakteri

Uji identifikasi dilakukan dengan cara pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi bakteri dan jenis bakteri. Pada hasil pewarnaan gram menunjukan bakteri dengan morfologi batang kokus, bergerombol dan berwarna merah atau negatif. Hal ini menunjukan bahwa bakteri yang didapat adalah *Vibrio Cholerae*. Koloni bakteri yang tumbuh di medium TCBS berwarna kuning dan besar [14].



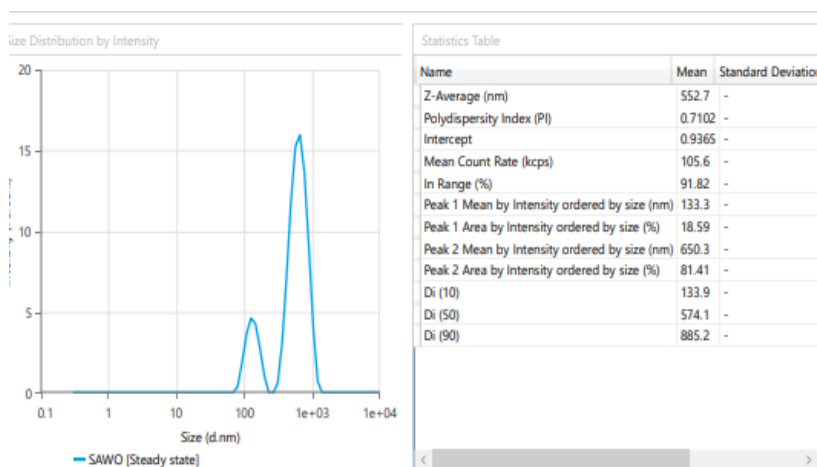
Gambar 2. Hasil Karakterisasi Bakteri Uji (a) Pewarnaan Gram: Bakteri gram negatif berbentuk batang bengkok (b) Penanaman pada agar TCBS: Koloni besar berwarna kuning

C. Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota L.*)

Pembuatan nanopartikel berupa koloid menghasilkan endapan nanopartikel hasil sentrifuge berwarna coklat. Metode gelasi ionik menghasilkan nanopartikel melalui proses ikatan silang antara polielektrolit dengan pasangan ion multivalen. Interaksi elektrostatik antara gugus amina (NH^{3+}) pada kitosan dan gugus bermuatan negatif (PO_4^{3-}) dari Na-TPP menyebabkan terbentuknya ikatan silang, yang meningkatkan kekuatan mekanis partikel yang dibuat dalam penelitian ini [16]. Penelitian ini menggunakan polimer kitosan karena memiliki sifat bioaktif, biokompatibel, pengkelat, antibakteri, dan biodegradabel. Namun, kitosan cepat menyerap air dan memiliki derajat pembengkakan yang tinggi di lingkungan berair, sehingga sistem penghantaran dan pelepasan obat untuk aplikasi biologis dan medis kurang efektif. Untuk menghasilkan turunan kitosan dengan biokompatibilitas yang lebih baik dan derajat pembengkakan yang lebih rendah, Na-TPP perlu ditambahkan. Penggunaan agen crosslinker Na-TPP dalam dosis rendah bertujuan untuk menghindari ikatan berlebihan antara polianion TPP dan gugus amina pada kitosan. Metode gelasi ionik digunakan dengan pasangan polimer kitosan dan Na-TPP. Interaksi elektrostatik antara gugus amina pada kitosan dan gugus negatif pada polianion, seperti tripolifosfat, menyebabkan terbentuknya nanopartikel kitosan. Dibandingkan dengan metode lainnya, metode gelasi ionik lebih sederhana untuk digunakan. Kitosan yang terlarut dalam asam asetat kemudian dicampurkan dengan polianion atau polimer anionik. Dengan menggunakan pengaduk magnetik pada suhu ruangan, nanopartikel terbentuk secara spontan. Mengubah rasio antara kitosan dan Na-TPP memungkinkan penyesuaian ukuran dan struktur permukaan partikel [35]. Teknik gelasi ionik memanfaatkan Na-TPP yang digunakan sebagai agen *crosslinker* dengan konsentrasi rendah dilakukan supaya tidak terbentuk ikatan tautan silang antara polianion pada TPP dengan gugus amino pada polikation kitosan. Counter charge tersebut akan berinteraksi dan menyebabkan rantai polimer kitosan menggulung. Senyawa-senyawa polifenol dalam ekstrak akan berikatan dengan gugus kation pada kitosan, sedangkan sisa kation akan bereaksi dengan Na-TPP sehingga menyebabkan rantai molekul kitosan membentuk partikel-partikel berbentuk nano. Metode ini merupakan metode yang paling mudah dilakukan jika dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya. Kitosan yang terprotonasi pada asam kemudian ditambahkan dengan counter charge, secara spontan akan terbentuk nanopartikel. Ukuran dan struktur permukaan pada partikel dapat dimodifikasi dengan memvariasikan rasio atau komposisi kitosan dan Na-TPP [53].

D. Ukuran Partikel

Ukuran partikel merupakan karakteristik nanopartikel yang penting karena menentukan distribusi obat, toksisitas, mempengaruhi *drug loading*, *drug release*, dan kestabilan sistem nanopartikel [30]. Ukuran dan distribusi ukuran partikel nanopartikel dapat diukur menggunakan Alat *Particle Size Analyzer* (PSA).

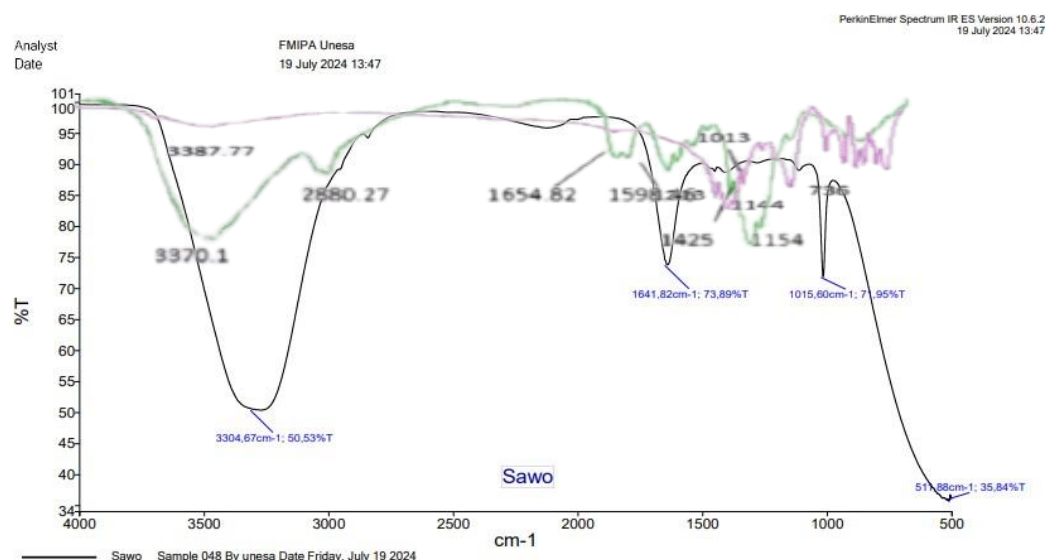


Gambar 3. Hasil Uji *Particle Size Analyzer* (PSA)

Gambar 3. menunjukkan hasil uji nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) yang diperoleh dari pengukuran menggunakan Alat *Particle Size Analyzer* (PSA) selama pengujian sebesar $\pm 552,7$ nm dan mempunyai nilai PI (*Polydispersity Index*) di bawah 1, hal tersebut menunjukkan bahwa membunyai ukuran partikel yang homogen dan cenderung seragam. Nilai indeks polidesperasi yang lebih tinggi dari satu mengakibatkan partikel yang terbentuk lebih besar dan cenderung tidak seragam [60]. Alat PSA banyak digunakan untuk menguji sampel-sampel dalam ukuran nanometer dan submikron. Biasanya material atau sampel memiliki kecenderungan menggumpal yang tinggi. Pada pengecekan menggunakan PSA ini, sampel serbuk didispersikan ke dalam media, sehingga partikel tidak saling beraglomerasi (menggumpal). Hal ini dapat menghasilkan ukuran partikel yang terbaca adalah ukuran dari partikel tunggal (*single particle*). Bentuk dari hasil pengukuran adalah berupa distribusi, sehingga kondisi hasil pengukuran sampel yang diambil dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel [62].

E. Analisis Gugus Fungsi dengan *Fourier Transformed Infrared* (FT-IR) Pada Material Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.)

Tahap ini memiliki tujuan untuk melihat karakterisasi secara kimia yaitu mengetahui gugus fungsi pada larutan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) dengan FT-IR. FT-IR melakukan analisis secara kualitatif dengan melihat absorbansi pada sinar inframerah. Selain itu, karakterisasi dengan FT-IR memiliki tujuan untuk mengidentifikasi jenis vibrasi ikatan antar atom dalam gugus fungsional tertentu yang akan muncul pada bilangan gelombang $4.000-500\text{ cm}^{-1}$ [9]. Hasil karakterisa FT-IR pada larutan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*Achras zapota* L.) terdapat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Karakterisasi FT-IR Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.) (hitam), kitosan (hijau) dan NA-TPP (ungu).

Hasil analisis spektrum FT-IR menunjukkan adanya beberapa pita serapan yang signifikan, yang masing-masing mewakili gugus fungsi tertentu dalam senyawa yang dianalisis. Pada spektra Gambar 4 di atas menunjukkan pita serapan pertama muncul pada bilangan gelombang 3304,67 cm⁻¹ dengan tingkat transmisi sebesar 50,53%. Pita ini menunjukkan adanya regangan gugus hidroksil (OH), yang dihasilkan dari vibrasi ikatan hidrogen intramolekul. Kehadiran gugus OH ini sering kali mengindikasikan keberadaan alkohol atau asam karboksilat dalam senyawa. Pergeseran gelombang pada gugus O-H dari 3370 cm⁻¹ (kitosan murni), 3387 cm⁻¹ (NA-TPP) menjadi 3304,67 cm⁻¹ menunjukkan serapan gugus O-H yang dihasilkan dari kitosan-ekstrak dan NA-TPP [6]. Absorbansi gugus N-H yang bergeser dari 1597,06 cm⁻¹ ke 1653,05 cm⁻¹ dua bilangan gelombang yang menunjukkan interaksi antara kitosan dengan ekstrak yaitu *crosslinking* antara ion NH₄⁺ dari kitosan dan ion posphat dari NA-TPP dan ekstrak. *Crosslinking* ini terjadi karena adanya kandungan senyawa metabolik yang mengandung gugus O-H. Dimana gugus amina dari kitosan berinteraksi dengan O-H dari flavonoid yang terprotonasi menjadi O⁻ sehingga kompleks ikatan terbentuk antara kitosan dan ekstrak. Pita serapan kedua berada pada bilangan gelombang 1641,82 cm⁻¹ dengan tingkat transmisi sebesar 73,89%. Pita ini menunjukkan keberadaan gugus karbonil (C=O), yang umumnya ditemukan dalam aldehida, keton, atau asam karboksilat. Selanjutnya, pita serapan ketiga muncul pada bilangan gelombang 1015,60 cm⁻¹ dengan tingkat transmisi sebesar 71,95%. Pita ini menandakan adanya regangan gugus C-O-C (eter) atau C-O-H (alkohol). Kehadiran puncak ini mengindikasikan adanya ikatan oksigen-karbon dalam struktur senyawa dan juga pergeseran yang terjadi dari 1013 cm⁻¹ ke 1015,60 cm⁻¹ menunjukkan ikatan silang antara gugus amino dari kitosan dengan gugus anionik pada NA-TPP [6]. Terakhir, pada bilangan gelombang 511,88 cm⁻¹ dengan tingkat transmisi sebesar 35,84%, terdapat pita serapan yang menunjukkan regangan gugus C-H aromatik. Gugus ini biasanya ditemukan dalam senyawa aromatik yang mengandung cincin benzena. Secara keseluruhan, spektrum FT-IR dari sampel nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda (*A. zapota* L.) ini mengidentifikasi adanya gugus hidroksil (OH), karbonil (C=O), eter/alkohol (C-O-C/C-O-H), dan C-H aromatik dalam senyawa yang dianalisis, yang memberikan gambaran tentang komposisi kimia dan struktur molekul dari senyawa tersebut [15].

F. Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.)

Diketahui bahwa sawo manila mengandung flavonoid (seperti flavanol, flavon, dan turunannya) serta tanin. Flavonoid dan tanin memiliki sifat antimikroba yang dapat menghentikan atau memperlambat pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme. Flavonoid diperkirakan bekerja sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri, sementara tanin bertindak sebagai antibakteri dengan menghentikan metabolisme bakteri melalui kerusakan pada reseptor bakteri [27].

Berdasarkan Tabel 3, konsentrasi 25 persen, 50 persen, dan 75 persen dari sawo manila yang diencerkan dengan DMSO menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25 persen dan 50 persen terbentuk zona hambat dengan interpretasi resisten, sedangkan pada konsentrasi 75 persen terbentuk zona hambat dengan interpretasi intermediate. Untuk bakteri *Vibrio cholerae*, antibakteri ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif. Zona hambat yang menunjukkan sensitivitas pada bakteri uji ditemukan pada kontrol positif antibiotik ciprofloxacin. Tabel referensi

interpretasi zona hambat digunakan untuk menentukan arti dari zona hambat tersebut. Zona hambat dengan ukuran antara 0 dan 14 mm dianggap tahan, antara 15 dan 19 mm dianggap intermediate, dan lebih dari 20 mm dianggap sensitif. Ekstrak buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.) efektif membunuh bakteri *Vibrio cholerae* menggunakan metode difusi. Adanya zona bening di sekitar cakram kertas menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Vibrio cholerae*. Selanjutnya, diameter zona bening atau hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan dilaporkan dalam satuan milimeter (mm). Semakin besar zona hambat yang terbentuk, semakin tinggi aktivitas antibakteri dari sawo manila. Zona hambat di sekitar cakram yang mengandung antibiotik ciprofloxacin 500 mg dibandingkan dengan berbagai konsentrasi sawo manila (25%, 50%, dan 75%) pada koloni *Vibrio cholerae*. Berdasarkan hasil penelitian, sawo manila dengan konsentrasi 25% menunjukkan zona hambat minimal (ZHM) dengan interpretasi resisten, dengan diameter rata-rata 7 mm, sawo manila pada konsentrasi 50% menunjukkan zona hambat minimal (ZHM) dengan interpretasi resisten, dengan diameter rata-rata 6,98 mm dan sawo manila pada konsentrasi 75% menunjukkan zona hambat minimal (ZHM) dengan interpretasi intermediate, dengan diameter rata-rata 16,3 mm.

Tabel 3. Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.)

No.	Konsentrasi (%)	Rata-rata± St.Dev (mm)	Interpretasi
1	K.P.C 100%	22,33 ± 2,08	Sensitive
2	K.N.A.S	0 ± 0	Resisten
3	ESMM 25%	7,62 ± 1,29	Resisten
4	ESMM 50%	6,98 ± 0,74	Resisten
5	ESMM 75%	16,35 ± 9,95	Intermediate

Keterangan :

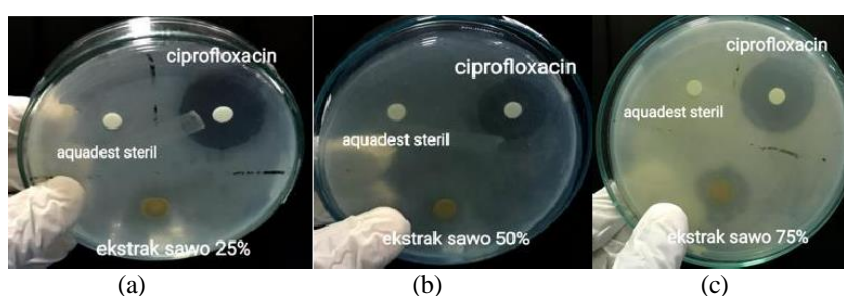
K.P.C = Kontrol Positif Ciprofloxacin

K.N.A.S = Kontrol Negatif Aquadest Steril

ESMM = Ekstrak Sawo Manila Muda

Tabel 4. Acuan Zona Hambat Minimal Ciprofloxacin [60]

Acuan Zona Hambat	
Interprestasi	Zona Hambat Minimal
Resisten	≤15
Intermediate	16-20
Sensitive	≥21



Gambar 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.) dan Kelompok Kontrol

G. Uji Daya Hambat Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.)

Hasil pengukuran zona hambat nanopartikel ekstrak sawo manila muda (*Achras zapota* L.) di konsentrasi 25%, 50% dan 75% yaitu adalah 6 mm. Hal ini menunjukkan nanopartikel ekstrak sawo manila muda (*Achras zapota* L.) memiliki kemampuan daya hambat yang resisten. Untuk kontrol negatif tidak terdapat zona hambat sama sekali. Sedangkan kontrol positif antibiotik ciprofloxacin memiliki kemampuan daya hambat sensitive. Larutan kitosan, yang dapat menghentikan pertumbuhan bakteri, mempengaruhi pembentukan zona hambat pada nanopartikel. Kitosan mungkin memiliki dua mekanisme antibakteri. Pertama, kitosan dapat menempel pada permukaan sel bakteri dan membentuk membran polimer yang menghalangi nutrisi masuk ke dalam sel, sehingga menyebabkan kematian sel.

Kedua, kitosan dengan bobot molekul rendah dapat masuk ke dalam sel dan melapisinya, karena kemampuannya untuk mengadsorpsi substansi bermuatan negatif di dalam sel, yang mengganggu aktivitas bakteri [34].

Tabel 4. Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.)

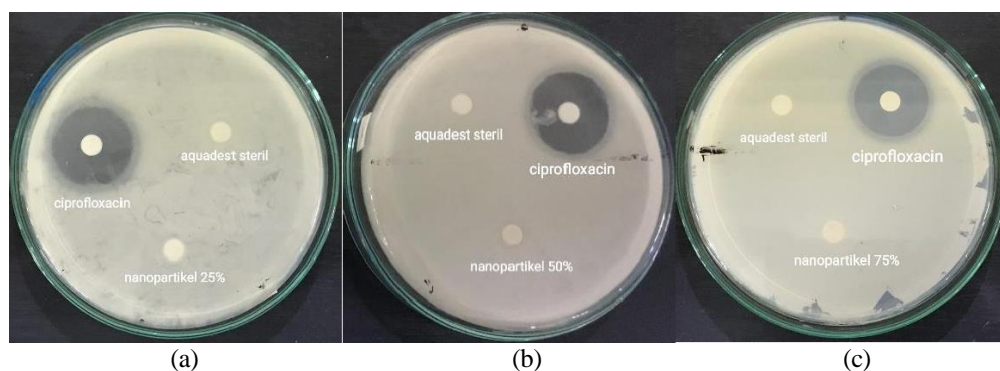
No.	Konsentrasi (%)	Rata-rata ± St.Dev (mm)	Interpretasi
1	K.P.C 100%	22,33 ± 0,57	Sensitive
2	K.N.A.S	0 ± 0	Resisten
3	NESMM 25%	6 ± 0	Resisten
4	NESMM 50%	6 ± 0	Resisten
5	NESMM 75%	6 ± 0	Resisten

Keterangan :

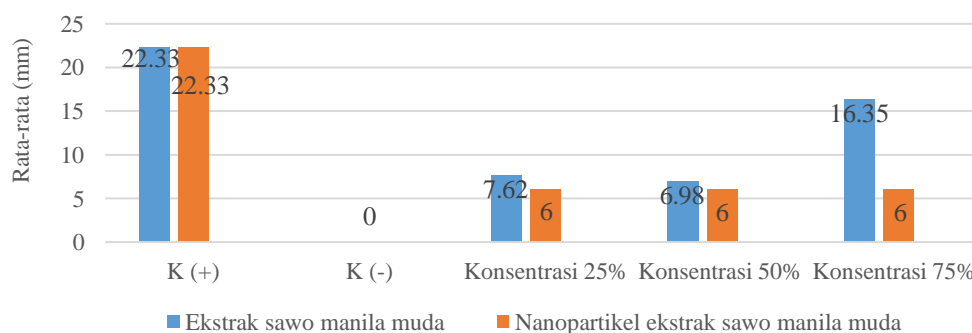
K.P.C = Kontrol Positif Ciprofloxacin

K.N.A.S = Kontrol Negatif Aquadest Steril

NESMM = Nanopartikel Ekstrak Sawo Manila Muda



Gambar 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.) dan Kelompok Kontrol



Gambar 7. Diagram Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila Muda dan Nanopartikel Ekstrak Buah Sawo Manila Muda (*Achras zapota* L.)

Nanopartikel yang tidak stabil atau menggumpal akan mengurangi luas permukaan aktif yang dapat berinteraksi dengan mikroorganisme, sehingga efektivitasnya menurun. Metode sintesis nanopartikel juga mempengaruhi ukuran, bentuk, dan distribusi partikel, yang pada gilirannya berdampak pada aktivitas antibakteri dalam uji zona hambat. Ukuran partikel juga mempengaruhi efektivitas nanopartikel terhadap pertumbuhan bakteri semakin kecil ukuran partikel dari nanopartikel maka akan memiliki sifat fisika kimia yang unik seperti luas permukaan yang besar dan reaktivitas yang besar sehingga dapat meningkatkan interaksi antar muatan pada permukaan bakteri dan mengakibatkan efek antimikroba yang lebih besar. Karena luas permukaan nanopartikel besar, nanopartikel dapat diadopsi lebih banyak dipermukaan sel bakteri sehingga menyebabkan ketidakstabilan membran sel dan kebocoran zat-zat intraseluler, sehingga menyebabkan kematian sel [55].

Berdasarkan hasil zona hambat diatas tampak bahwa ekstrak sawo manila muda tanpa nanopartikel memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik terhadap bakteri *Vibrio cholerae*. Kondisi ini sesuai dengan penelitian yang sudah

dilakukan [49] yang menggunakan sawo manila ekstrak etanol 80% terhadap bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Penelitian [27] menggunakan ekstraksi maserasi etanol 96% juga menunjukkan bahwa sawo manila memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Salmonella typhi* gram negatif. Namun, bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks dengan kandungan lipid yang tinggi. Akibatnya, senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri mengalami kesulitan dalam menembus dinding sel bakteri gram negatif [51]. Sedangkan pada uji nanopartikel diperoleh rata-rata di konsentrasi 25%, 50%, dan 75% yaitu didapat hasil resisten terhadap bakteri bakteri *Vibrio cholerae*. Hasil menunjukkan bahwa baik ekstrak tanpa nanopartikel maupun nanopartikel memiliki potensi antimikroba, karena keduanya mampu menghambat dan membunuh *Vibrio cholerae* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Jadi pada hasil uji efektivitas antibakteri menggunakan sampel ekstrak dan nanopartikel ekstrak sawo manila muda (*Achras zapota* L.) perlu dicari konsentrasi variasi yang tepat untuk memperoleh hasil penghambatan yang lebih baik.

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas

Kategori	Shapiro-wilk (Sig).
Ekstrak sawo manila	p = 0,045
Nanopartikel sawo manila	p = 0,000

Uji normalitas zona hambat yang digunakan adalah *Saphiro-Wilk* karena data kurang dari 50 dan diperoleh p-value zona hambat ekstrak buah sawo manila muda 0,045 sedangkan zona hambat nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda memiliki p-value 0,00. Data terdistribusi normal apabila p-value >0,05, maka data zona hambat ekstrak buah sawo manila muda dan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda tidak terdistribusi normal. Analisis data untuk menguji hipotesis yaitu menggunakan uji non parametrik Friedman karena data tidak terdistribusi normal. Uji ini berfungsi untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara beberapa kelompok yang terkait atau pengukuran berulang dengan jenis data non parametrik. Hasil uji hipotesis didapatkan hasil bahwa nilai signifikansi $p < 0,05$ yaitu 0,000. Berdasarkan nilai tersebut maka terdapat perbedaan zona hambat pada ekstrak buah sawo manila muda dan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda.

VII. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah sawo manila kurang optimal dijadikan nanopartikel karena senyawa bioaktifnya bisa tidak stabil selama proses sintesis, yang menyebabkan ukuran dan distribusi partikel tidak ideal. Konsentrasi dari nanopartikel terlalu rendah atau partikel menggumpal juga bisa mempengaruhi zona hambat dalam uji antibakteri mungkin kecil atau tidak terbentuk. Hasil uji daya hambat ekstrak sawo manila muda (*Achras zapota* L.) tanpa nanopartikel dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% terhadap bakteri *Vibrio cholerae* menunjukkan hasil resistensi di konsentrasi 25% dan 50% sedangkan pada 75% menunjukkan hasil intermediate. Selanjutnya pada nanopartikel ekstrak di semua variasi diantaranya yaitu 25%, 50%, dan 75% didapat hasil resisten. Selain itu, zona hambat minimal (ZHM) ekstrak dan nanopartikel ekstrak sawo manila muda terhadap bakteri *Vibrio cholerae* lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat minimal (ZHM) antibiotik ciprofloxacin yang digunakan sebagai kontrol positif. Berdasarkan analisis data hasil uji Friedman menunjukkan nilai ($p < 0,05$) yaitu 0,000, yang mengindikasikan perbedaan signifikan zona hambat pada ekstrak buah sawo manila muda dan nanopartikel ekstrak buah sawo manila muda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada pihak Laboratorium Bakteriologi dan Farmakologi di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, serta kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

- [1] WHO, "Kolera" Diakses dari : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cholera>
- [2] Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa fraksi dari kulit batang jarak (*Ricinus communis L.*). *ALOTROP Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 1(2), 117-122. ISSN 2252-8075. Jurusan PMIPA FKIP, Universitas Bengkulu. Diakses dari : <https://ejournal.unib.ac.id/index.php/alotropjurnal/article/view/3529>
- [3] Aini, N., Nur Endah Sari, Y., & Suhartin. (2023). Hubungan Kepatuhan Minum Zinc Pada Balita Diare Dengan Kejadian Diare Berulang. *Jurnal Penelitian Perawat* 6 (1) 41–48. <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/JPPP>
- [4] Al-Adham, I. S. I., Jaber, N., Ali Agha, A. S. A., Al-Remawi, M., Al-Akayleh, F., Al-Muhtaseb, N., & Collier, P. J. (2024). Sporadic regional re-emergent cholera: A 19th century problem in the 21st century. Faculty of Pharmacy and Medical Sciences, University of Petra; Faculty of Pharmacy, Al Zaytoonah University, *Journal of Applied Microbiology*. Diakses dari : <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae055>
- [5] Ambat, K. N., Abida, I. W., & Maherlina, R. (2022). Kelimpahan Bakteri *Vibrio sp.* Pada Sampel Air Tambak di UPT Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Pasuruan Jawa Timur. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan* 3 (3), 66–72. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v3i3.16461>
- [6] Amilatussholihah, M. (2020). Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) Menggunakan Metode Ultrasonikasi . *Skripsi*. Program Studi S1-Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan <http://repository2.unw.ac.id/id/eprint/584>
- [7] Amin, R. R., & Sutoyo, S., (2022). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Derived from Ethanol Extract of Sappan Wood. Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Surabaya. *International Journal of Current Science Research and Review* ISSN: 2581-8341 Volume 05. DOI: 10.47191/ijcsrr/V5-i7-21
- [8] Anugraheni. (2022). Pengaruh Ekstrak Bunga Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* : TIME KILL TEST. *Skripsi*. Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Diakses dari : <https://eprints.uad.ac.id/46472/>
- [9] Akbar, A. F., & Cahyaningrum, S. E. (2022). Characterization and anti-bacterial activity testing of nano hydroxyapatite clove (*Eugenia caryophyllus*) against *Streptococcus mutans* bacteria. *Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Indo. J. Chem. Sci., 11(1). Indonesian Journal of Chemical Science*. Diakses dari : <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- [10] Assagaf, A. S. H., & Gani, S. A. (2019). Total Flavonoids Contain of Leaves of *Sapodilla* (*Manilkara zapota L.*) *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences* 4(2), 51-54. Diakses dari : <https://www.jpms-stifa.com/index.php/jpms/article/view/92>
- [11] Balerdi, C. F., Crane, J. H., & Maguire, I. (2006). Sapodilla Growing in the Florida Home Landscape. *Edis*, 2006(18), 1–7. <https://doi.org/10.32473/edis-mg057-2005>
- [12] Bano, M., & Ahmed, B. (2017). *Manilkara zapota* (L.) P. Royen (Sapodilla): A Review. *International Journal of Advance Research*, 3(6), 1364–1371. Diakses dari : <https://www.ijariit.com/manuscripts/v3i6/V3I6-1490.pdf>
- [13] Deshmukh, P. S., Manjunatha, S. S., & Raju, P. S. (2015). Rheological behaviour of enzyme clarified sapota (*Achras sapota L*) Juice at Different Concentration and Temperatures. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 1896–1910. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1222-5>
- [14] Dwicahmi, P. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholerae* Secara In Vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 3(1), 1–17. Diakses dari : <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jfk/article/view/13726>
- [15] Dwisaksana, A., & Tukiran. (2021). Analisis spektroskopi UV-Vis dan FTIR senyawa hasil isolasi dari ekstrak diklorometana kulit batang tumbuhan jambu semarang (*Syzygium samarangense*). *UNESA Journal of Chemistry*, 10(2), 121-130. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya. DOI: <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p121-127>
- [16] Dwitarni, N., Amin, R. R., Sofyah, T. M., Ramadhani, D. N., & Sutoyo, S. (2021). Sintesis dan karakterisasi nanoherbal ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 102-108. Online ISSN: 2528-0422. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya. Diakses dari : <https://e-journal.unair.ac.id/JKR/article/view/30883>
- [17] Fitri, D., Kiromah, N. Z. W., & Widiastuti, T. C. (2020). Formulasi Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan Dengan Metode Gelasi Ionik. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 5(1), 61. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v5i1.39269>
- [18] Guli, M. (2016). Patogenesis Penyakit Kolera Pada Manusia. *Jurnal* 10(2), 1978–6417. Diakses dari : <https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/Biocelebes/article/download/7373/5908/>

- [19] Gunadi, muh. agung, Yani, S., Musa, inna mutmainnah, DK, indah lestari, & Syahril, E. (2022). Efektivitas Kandungan Ekstrak Kulit Batang Sawo Manila Dalam Menekan Pertumbuhan Bakteri Salmonella Typhi. *Fakumi medical journal* 2(3), 216–223. Diakses dari : <https://fmj.fk.umi.ac.id/index.php/fmj/article/view/157/136>
- [20] Guntina, rizka khoirunnisa, & Kusuma, sri agung fitri. (2016). Deteksi Bakteri Vibrio cholerae. *Jurnal. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran*, 15(1), 1–13. Diakses dari : <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/12913/pdf>
- [21] Hasanah, N., Kardhinata, E. H., & Nasution, J. (2020). Uji Anti Bakteri Ekstrak Daun Sawo Manila (*Manilkara zapota*) Terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA). 1*, 64–71. Diakses dari : <https://jurnalmahasiswa.uma.ac.id/index.php/jibioma/article/view/164/0>
- [22] Hastutiek, P., & Fitri, L. E. (2013). Potensi Musca domestica Linn. Sebagai Vektor Beberapa Penyakit. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 23(3), 125–136. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2007.023.03.4>
- [23] High, G. E. N., & Group, M. (2020). Disertasi Efek Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras Zapota L*) Terhadap Ekspresi Mrna Gen High Motility Group Box 1 (Hmgb1) Dan Solubel Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-A) Pada Mencit Yang Terinfeksi Salmonella Typhi *Effect Of Sapodilla Fruit (Achras Zapota L). Skripsi. 1*, 1–118. Diakses dari : <http://repository.unhas.ac.id/id/eprint/455/>
- [24] Hitijahubessy, H., Samid, A., Kristiyanti Jalmaf, W., Hasanela, N., Marcia Ch Huwae, L., & Perikanan Negeri Tual, P. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri *Vibrio Sp.* Dari Daun Sernai (*Wedelia biflora*) Antibacterial Activity Of Sernai Leaves (*Wedelia biflora*) Againts *Vibrio Sp.* *Biofaal Journal*, 3(1), 43–50. Diakses dari : <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/biofaal/article/view/5950>
- [25] Idrus, H. H., Budu, B., & Mustamin, M. (2020). Pembuatan Ekstrak metode Maserasi dan Skrining Fitokimia (Kualitatif) Senyawa Buah Sawo manila (*Achras zapota Linn*) Van Royen. *Wal'afiat Hospital Journal*, 1(1), 1–12. <https://doi.org/10.33096/whj.v1i1.7>
- [26] Idrus, H. H., Rinendyaputri, R., & Fitriani. (n.d.). Molekuler *achras zapota L* terhadap *salmonella typhi*. *buku referensi tinjauan biologi*. Diakses dari : <https://repository.penerbiteureka.com/media/publications/560715-buku-referensi-tinjauan-biologi-molekule-07a3ac9b.pdf>
- [27] Idrus, H. H., Yuniarti, L., Fadilah, A. M., Sodikah, Y. (2004). Efektifitas Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras Zapota L.*) Terhadap *Salmonella Typhi* Dengan Metode Agar Difus. *Jurnal . Fakultas Kedokteran, Universitas Muslim Indonesia*. Diakses dari : <https://jurnal.fk.umi.ac.id/index.php/umimedicaljournal/article/view/30>
- [28] Ilmiah, J., Sina, I., Arsyad, M., & Annisa, A. R. (2016). Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Ekstrak Etanol Buah Sawo (*Achras Zapota L .*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. 1(September), 211–218. Diakses dari : <https://e-jurnal.stikes-isfi.ac.id/index.php/JIIS/article/view/51>
- [29] Juwita, J. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buahmuda, Daun Dan Kulit Batang Sawomanila (Manilkara Zapota (L.) Van Royen) Terhadap Vibrio Cholerae Dan Clostridium Perfringens. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Diakses dari : <https://e-journal.uajy.ac.id/1431/>
- [30] Julianawati, T., Hendarto, H., & Widjiati. (2020). Penetapan total flavonoid, aktivitas antioksidan, dan karakterisasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma Gaertn.*). Ilmu Kesehatan Reproduksi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga; Departemen Anatomi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*, Volume 11, Nomor 1. DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf111110>
- [31] Kammona, O., & Kiparissides, C. (2012). Recent advances in nanocarrier-based mucosal delivery of biomolecules. *Journal of Controlled Release*, 161(3), 781–794. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.05.040>
- [32] Karim, Z., Sulistijowati, R., & Yusuf, N. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Flavonoid Buah Mangrove Sonneratia Albaterhadap Bakteri Vibrio Alginolitycus. : *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 6(2), 55–60.
- [33] Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., & Rizki, K. (2019). Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan Escherichia Coli Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), 151. <https://doi.org/10.32807/jkp.v13i2.257>
- [34] Kumowal, S., Fatimawali, F., & Jayanto, I. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia Galanga (L.) Willd*) Terhadap Bakteri Klebsiella pneumoniae. *Pharmacon*, 8(4), 781. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29354>
- [35] Kurniasari, D., & Atun, S. (2017). Pembuatan Dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan. *Jurnal Sains Dasar*, 6(1), 31. <https://doi.org/10.21831/jsd.v6i1.13610>
- [36] Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187–198. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>
- [37] Lindmark, B. (2009). *Modulators of Vibrio cholerae predator interaction and virulence*. Diakses dari : <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:281137/FULLTEXT01.pdf>

- [38] Made, N., Rakasari, G., Duniaji, A. S., Nocianitri, K. A., Pertanian, F. T., Pertanian, F. T., & Jimbaran, K. B. (2019). *Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (Caesalpinia Sappan L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap Vibrio cholerae*. 8(2), 216–225. Diakses dari : <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12>
- [39] Mukhriani, Nurlina, & Baso, fajrul fhaloq. (2014). Uji Aktivitas Antimikroba Dan Identifikasi Ekstrak Buah Sawo Manila (Achras Zapota L.) Terhadap Beberapa Mikroba. *Skripsi*. 2(2), 69–74. Diakses dari : <https://repositori.uin-alauddin.ac.id/2264/>
- [40] Mukhtarini. (2014). Mukhtarini, “Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif,” J. Kesehat., vol. VII, no. 2, p. 361, 2014. *J. Kesehat.*, VII(2), 361. <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>
- [41] Nazim Nur Faudiyah. (2020). *Identifikasi Bakteri Vibrio Cholerae Pada Tubuh Lalat Hijau (Chrysomya Megacephala) Di Pasar Legi. Karya tulis ilmiah*. Studi di Laboratorium Bakteriologi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang. 1–71. Diakses dari : <https://docplayer.info/195353923-Identifikasi-bakteri-vibrio-cholerae-pada-tubuh-lalat-hijau-chrysomya-megacephala-di-pasar-legi-jombang.html>
- [42] Nifa, destiani tama. (2021). Optimasi Gel Ekstrak Etanol Daun Sawo Manila (*Manilkara Zapota L*) Dengan Kombinasi Na-Cmc Dan Carbopol Serta Uji Aktivitas Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta. Diakses dari : <https://librepo.stikesnas.ac.id/815/2/KTI.pdf>
- [43] Ningsih, N., Yasni, S., & Yuliani, S. (2017). Sintesis Nanopartikel Ekstrak Kulit Manggis Merah Dan Kajian Sifat Fungsional Produk Enkapsulasinya. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 28(1), 27–35. <https://doi.org/10.6066/jtip.2017.28.1.27>
- [44] Nofiyanti, S. H., Susilo, B., Lastriyanto, A., Keteknikan, J., Teknologi, P.-F., Brawijaya, P.-U., Veteran, J., & Korespondensi, P. (2019). Ekstraksi Polifenol Dan Flavonoid Dari Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia Pendans*) Dengan Pretreatment Ohmic Heating. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 6(3), 207–217. <https://www.jkptb.ub.ac.id/index.php/jkptb/article/view/476>
- [45] Pakaya, M. S., Astuti Kai, J., & Zuriati Uno, W. (2021). Potensi Ekstrak Etanol Kulit Buah Matoa (*Pometia Pinnata J.R Forst & G.Forst*) Terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi. *Jambura Journal of Chemistry*, 3(2), 76–83. <https://doi.org/10.34312/jambchem.v3i2.11204>
- [46] Prasetyorini, Ae, zainal hasan, & Rofiqoh, S. (2011). Penerapan Teknologi Nanopartikel Propolis Trigona Spp Asal Bogor Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli* Secara In-Vitro. *Ekologia*, 11(1), 36–43. Diakses dari : <https://journal.unpak.ac.id/index.php/ekologia/article/view/237>
- [47] Pratiwi, E. (2010). Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi Dan Reperkolasi Dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide Dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis Paniculata (Burm.F.) Nees*). *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor Bogor 1–50. Diakses dari : <https://journal.unpak.ac.id/index.php/ekologia/article/view/237>
- [48] Prayudo, A. N., Novian, O., Setyadi, & Antaresti. (2019). Koefisien Transfer Massa Kurkumin dari Temulawak. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, 14(1), 26–31. Diakses dari : <https://www.neliti.com/id/publications/547748/koefisien-transfer-massa-kurkumin-dari-temulawak>
- [49] Primadhamanti, A., Purnama, R. C., & Aulia, R. (2018). Uji Daya Hambat Daun, Kulit Batang Dan Buah Sawo Manila Muda (*Manilkara Zapota L*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analisis Farmasi*, 3(4), 239–245. Diakses dari : <https://www.ejurnalmalahayati.ac.id/index.php/analisfarmasi/article/view/2815>
- [50] Raymon, M., Taebe, B., Ali, A., & Khairuddin. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras zapota L*) dengan Berbagai Cairan Penyari Terhadap *Salmonella typhimurium*. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(1), 6–11. Diakses dari : <http://eprints.unm.ac.id/15019/>
- [51] Rohmah, J., Rini, C. S., & Wulandari, F. E. (2019). Uji aktivitas sitotoksik ekstrak selada merah (*Lactuca sativa* var. Crispa) pada berbagai pelarut ekstraksi dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Riset*, 4(1), 18-32. *Online ISSN: 2528-0422*. Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo; Pendidikan IPA, Fakultas Psikologi dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Diakses dari : <http://eprints.umsida.ac.id/id/eprint/10861>
- [52] Romadhoni T. R. N. (2020). Uji Aktivitas Antimikroba Nanopartikel Kombinasi *Allium sativum* Linn., *Curcuma mangga* Val. DAN *Acorus calamus* L. SECARA IN VITRO. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Diakses dari : <http://etheses.uin-malang.ac.id/23135/1/15620098.pdf>
- [53] Samudra, A. G., Ramadhani, N., Sani, F. K., Lestari, G., & Nugroho, B. H. (2021). Formulasi nanopartikel kitosan ekstrak metanol alga laut coklat (*Sargassum hystrix*) dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(1), 92-99. Akademi Farmasi Samarinda. DOI: <https://doi.org/10.51352/jim.v7i1.428>

- [54] S, R. C., J, R., & Y, widyaningrum L. (2018). *The antibacterial activity test galanga (Alpinia galangal) on the growth of bacteria Bacillus subtilis and Escherichia coli*. 1–6. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/420/1/012142>
- [55] Siregar, H. N., Rahayu, Y. P., Nasution, H. M., & Nasution, M. P. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata J.R. Forst & G. Forst*) Terhadap Bakteri Escherichia coli. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 5(1), 24–41. <https://doi.org/10.33759/jrki.v5i1.329>
- [56] Suharto, M. A. P., Edy, H. J., & Dumanauw, J. M. (n.d.). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum L.*). 86–92. Diakses dari : <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/pharmacon/article/view/914>
- [57] Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2022). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder batang buah naga (*Hylocereus polyrhizus*). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “Yayasan Pharmasi Semarang”. DOI: <http://dx.doi.org/10.3194/ce.v5i1.3322>
- [58] Susiloningrum, D., Permanasari, A. A., Adianti, M., Tumewu, L., Wahyuni, T. S., Tanjung, M., Widyawaruyanti, A., & Hafid, A. F. (2020). The alkaloid fraction from melicope latifolia leaves inhibits hepatitis C Virus. *Pharmacognosy Journal*, 12(3), 535–540. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.81>
- [59] Sutomo, S., Hasanah, N., Arnida, A., & Sriyono, A. (2021). Standardization of Simplicia and Extract of Matoa (*Pometia pinnata J.R Forst & G. Forst*) Leaf from South Kalimantan. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 101. Diakses dari : <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience/article/view/10275>
- [60] Tunjungsari, F., Jumaeri, & Sumarni, W. (2019). Karakteristik adhesive polymer polivinil asetat termodifikasi butil akrilat untuk aplikasi transfer metalize. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 8(2). Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Diakses dari: <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>.
- [61] Thohari, G. (2018). Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium Sativum*) Sebagai Penghambat Pembentukan Biofilm Bakteri *Vibrio Cholerae* Secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Malang. Diakses dari : <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/168188/>
- [62] Van Hoten, H. (2020). Analisis Karakterisasi Serbuk Biokeramik dari Cangkang Telur Ayam Broiler. *Jurnal ROTOR*, 13(1), 1–10. Staf Pengajar Program Studi Teknik Mesin, Fakultas Teknik, Universitas Bengkulu. DOI: <https://doi.org/10.19184/rotor.v13i1.18874>
- [63] Wahyudi, N. T., Ilham, F. F., Kurniawan, I., & Sanjaya, A. S. (2018). Rancangan Alat Distilasi untuk Menghasilkan Kondensat dengan Metode Distilasi Satu Tingkat. *Jurnal Chemurgy*, 1 (2), 30-33. <https://doi.org/10.30872/cmg.v1i2.1142>
- [64] WS, I. P. A., P, I. W., Dhinarananta, I., A, P. Y., & Hendrayana, M. A. (2013). Serotype Identification of *Vibrio Cholerae* Isolated From Ice That Use for Marine Product Preservative Between Modern and Traditional Market in Denpasar. *E-Jurnal Medika Udayana*, 2(6), 971–986. Diakses dari : <https://jurnal.harianregional.com/index.php/eum/article/view/5615>
- [65] Yudiati, E., Subagiyo, & Azhar, N. (2021). Antimicrobial susceptibility and minimum inhibition concentration of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio harveyi* isolated from a white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pond. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 763(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/763/1/012025>
- [66] Yunika, N. (2017). Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Sawo (*Achras Zapota L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *BioScience*, 1(1), 53. <https://doi.org/10.24036/02017117432-0-00>

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.