

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SUNGKAI
(*Peronema canescens* Jack) TERHADAP 2 JENIS BAKTERI PENYEBAB
JERAWAT DENGAN KLT-BIOAUTOGRAFI**

**Dina Erliana¹, Devi Nurhasana², Khafit Wiradimafan³, Avidlyandi
Avidlyandi⁴, Salprima Yudha⁵, Morina Adfa⁶
Universitas Bengkulu^{1,2,3,4,5,6}, Universitas Jambi¹
morina@unib.ac.id⁶**

ABSTRAK

Penelitian ini memiliki tujuan untuk melihat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai tua (DST) (*Peronema canescens* Jack) terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode KLT-bioautografi. Konsentrasi ekstrak uji sebesar 15%, dengan jumlah penotolan ekstrak 25 μL , dan eluen yang digunakan kloroform p.a. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kromatogram KLT ekstrak etanol DST memperlihatkan 10 bercak/spot yang rapat, 6 bercak diantaranya dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* (bercak no 2-7), dan 7 bercak diantaranya (bercak no. 1-7) dapat menghambat pertumbuhan *S. epidermidis*. Bercak dengan $R_f = 0,06$; $0,12$; $0,27$; $0,35$ (bercak no 2-5) memperlihatkan zona bening yang lebih besar daripada bercak dengan $R_f = 0,47$ dan $0,64$ (bercak no. 6-7) dalam menghambat *S. aureus*. Sedangkan, bercak no 1 ($R_f = 0$) memperlihatkan zona bening paling jelas diantara 6 bercak lainnya dalam menghambat *S. epidermidis*. Simpulan, ekstrak etanol daun sungkai tua (DST) memiliki sifat antibakteri yang kuat terhadap *S. aureus* dan *S. epidermidis*. Hasil penelitian ini berpotensi dikembangkan untuk mendapatkan kandidat senyawa potensial sebagai antibakteri dari daun sungkai.

Kata Kunci: Antibakteri, KLT-bioautografi, *Peronema canescens* Jack, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

ABSTRACT

*This research aims to examine the antibacterial activity of an ethanol extract of old sungkai leaves (DST) (*Peronema canescens* Jack) against the test bacteria *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* using the TLC-bioautography method. The concentration of the test extract was 15%, with the amount of extract spotting being 25 μL , and the eluent used was chloroform p.a. The results showed that the TLC chromatogram of DST ethanol extract showed 10 dense spots/spots, 6 spots of which could inhibit the growth of *S. aureus* (spots no. 2-7), and 7 of them (spots no. 1-7) could inhibit the growth of *S. epidermidis*. Spots with $R_f = 0.06$; 0.12 ; 0.27 ; 0.35 (spots no. 2-5) showed a larger clear zone than spots with $R_f = 0.47$ and 0.64 (spots no. 6-7) in inhibiting *S. aureus*. Meanwhile, spot number 1 ($R_f = 0$) showed the clearest zone among the other 6 spots in inhibiting *S. epidermidis*. In conclusion, the ethanol extract of old sungkai leaves*

(DST) has strong antibacterial properties against *S. aureus* and *S. epidermidis*. The results of this research have the potential to be developed to obtain potential candidate compounds as antibacterials from sungkai leaves.

Keywords: Antibacterial, TLC-bioautography, *Peronema canescens* Jack, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Sungkai (*Peronema canescens* Jack) merupakan spesies tanaman dari suku verbenaceae yang banyak ditemui di Pulau Sumatera dan Kalimantan. Masyarakat lokal telah lama memanfaatkan sebagai obat herbal pada bagian daun dan kulit untuk meredakan sakit gigi, meredakan demam dan infeksi kurap (Wuart, 2006). Uji fitokimia ekstrak etanol daun sungkai terdeteksi senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik, dan saponin (Pindan et al., 2021). Telah diisolasi 7 senyawa diterpenoid baru tipe *clerodane* dari daun sungkai yang tumbuh di Bengkulu dan diberi nama *peronemin B2*, *peronemin A2*, *peronemin B1*, *peronemin C1*, *peronemin B3*, *peronemin A3*, dan *peronemin D1* (Kitagawa et al., 1994).

Fransisca et al. (2020) melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Pada konsentrasi 25% memberikan diameter daya hambat sebesar 3,75 mm. Ekstrak n-heksan daun sungkai juga juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode KLT-Bioautografi pada kadar 1 mg/ml. Hasil pengujian menunjukkan 4 (empat) spot yang memperlihatkan zona bening dengan nilai Rf sebesar 0,75; 0,68; 0,29 dan 0,21 (Ningsih & Ibrahim, 2013). Hanifa et al. (2022) menyelidiki efek kombinasi antara ekstrak etanol daun sungkai tua dengan ekstrak metanol daun ketepeng cina dalam menghambat *S. epidermidis* menggunakan metode sumuran memperlihatkan efek *additive/indifferent*.

Namun sejauh ini, belum ada laporan tentang aktivitas antibakteri khusus sampel menggunakan daun tua yang berwarna hijau pekat terhadap bakteri patogen penyebab infeksi pada kulit. Jerawat merupakan penyakit yang sering terjadi pada permukaan kulit wajah, leher, dada dan punggung. Beberapa bakteri penyebab jerawat yaitu bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis* (Meilina & Hasanah, 2018). Pengobatan jerawat biasanya menggunakan antibiotik yang dapat menghambat inflamasi dan membunuh bakteri. Masalah yang timbul akibat penggunaan antibiotik secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama adalah munculnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Oleh karena itu diperlukan adanya alternatif dengan memanfaatkan tanaman obat sebagai pengganti antibiotik (Wardania et al., 2020).

Beberapa penelitian melaporkan, bahwa kandungan senyawa bioaktif baik kualitas maupun kuantitasnya dari tumbuhan dapat bervariasi tergantung pada

beberapa faktor, diantaranya faktor lingkungan (tempat tumbuh, iklim, suhu, kelembaban, nutrisi, oksigen) maupun faktor internal dari tanaman itu sendiri seperti bagian tumbuhan yang berbeda (akar, batang, daun, buah, bunga, dll.), tingkat kematangan buah, usia daun, masa panen, dan lain sebagainya (Banon et al., 2023). Pada penelitian ini akan diuji aktivitas antibakteri ekstrak daun sungkai yang sudah tua berwarna hijau tua (DST) dalam menghambat pertumbuhan 2 jenis bakteri penyebab jerawat yaitu *S. aureus* dan *S. epidermidis* dengan metode KLT-bioautografi.

METODE PENELITIAN

Ekstrak etanol daun sungkai tua (DST) (*Peronema canescens* Jack) diperoleh dengan metode maserasi, dan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 didapat dari Laboratorium Mikrobiologi, Institut Pertanian Bogor (IPB). Bahan lain seperti *Nutrient Agar* (Merck), *Nutrient Broth* (Merck), kloroform p.a (Merck), etanol 70%, etanol 96%, akuades, antibiotik clindamycin kapsul 300 mg, kertas saring *Whatman* No. 3, dan Plat KLT (TLC Silica gel 60). Peralatan seperti *Rotary evaporator* (Heidolph), *oven* (Philips), inkubator (Froilabo), lampu UV 365 nm, autoklaf, *Laminar air flow* (Telstar AV-100), dan Spektrofotometer UV-VIS (Agilent Technologies Cary 60 Uv-Vis). Adapun prosedur melakukan penelitian sebagai berikut:

Ekstraksi

Sebanyak 150 gram daun sungkai tua (DST) kering-angin dimasukkan ke dalam botol gelap, lalu ditambahkan 1,5 L etanol 96%. Remaserasi dilakukan sebanyak 5 kali hingga pelarut bening. Hasil maserasi disaring, lalu pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45-50 °C untuk mendapatkan ekstrak etanol pekat DST.

Suspensi Bakteri dan OD (*Optical Density*)

Suspensi bakteri dibuat dengan cara mengambil bakteri uji sebanyak 1 ose, selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 100 mL media NB steril. Larutan media diaduk selama 1 jam dengan kecepatan yang sangat rendah, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Didapatkan larutan keruh yang berisi koloni bakteri, sehingga bakteri siap digunakan. Pengukuran *Optical Density* (OD) dilakukan dengan mengambil sebanyak 3 ml suspensi *S. aureus* dan *S. epidermidis* masing-masing ditempatkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada $\lambda=625$ nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan nilai absorbansi sebesar 0,1.

KLT-Bioautografi

Profil kromatogram ekstrak DST ditentukan menggunakan plat KLT. Pada masing-masing plat KLT berukuran 6 x 1 cm ditotolkan ekstrak DST sebanyak 25 μ L dengan konsentrasi 15 %, kemudian dielusi dengan eluen kloroform p.a.

Selanjutnya, plat KLT hasil elusi diamati bercak kromatogram yang muncul dengan lampu UV 365 nm, kemudian bercak yang muncul ditandai dengan pensil dan dihitung nilai Rfnya.

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode KLT-Bioautografi

Masing-masing plat KLT yang sudah dielusi dengan kloroform p.a dan diamati bercak dengan lampu UV 365 nm, kemudian dibebaskan dari eluentnya. Plat KLT tersebut ditempelkan pada cawan petri berisi media NA dan masing-masing suspensi bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis* yang sudah padat, plat KLT didiamkan selama 2 jam. Setelah 2 jam plat KLT diangkat, lalu cawan petri uji diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian diamati spot mana yang memperlihatkan zona bening/zona hambat.

HASIL PENELITIAN

Hasil ekstraksi didapatkan sebanyak 22,1 g ekstrak pekat DST dengan rendemen sebesar 14,73%. Profil kromatogram KLT ekstrak etanol DST memberikan informasi kandungan metabolit setiap sampel yang dapat ditarik dengan etanol 96% (Gambar 1). Dari noda-noda yang terbentuk kemudian dihitung nilai Rfnya. *Retention/retardation factor* (Rf) adalah sebuah nilai yang didapatkan dengan cara membandingkan nilai jarak tempuh noda dengan jarak yang ditempuh eluen. Nilai Rf memiliki rentang nilai dari 0,0 hingga 1, nilai ini dapat bervariasi karena disebabkan oleh berbagai faktor, seperti kualitas adsorben, kelembapan, ketebalan plat, jarak elusi, dan suhu lingkungan (Srivastava, 2011).

Nilai Rf dari spot/noda ekstrak etanol pekat DST yang terbentuk pada plat KLT setelah disinari dengan lampu UV 365 nm dapat dilihat pada Tabel 1. Kemudian plat KLT yang telah ditandai spot yang terbentuk dengan pensil, dihilangkan eluentnya, lalu digunakan untuk uji KLT-bioautografi. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode KLT-bioautografi ekstrak etanol DST terhadap dua bakteri uji *S. aureus* ATCC 6538 dan *S. epidermidis* ATCC 1228 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak etanol daun sungkai tua (DST) menggunakan penampak noda lampu UV 365 nm

Tabel 1 menyajikan hasil pengamatan nilai Rf dari spot yang terdeteksi pada plat KLT setelah pengembangan.

Tabel 1. Nilai Rf Spot Ekstrak Etanol Daun Sungkai Tua (DST) pada Plat Klt

Spot/ Noda	Nilai Rf ekstrak etanol DST	Penampak Noda lampu UV 365 nm
1	0	Biru-ungu
2	0,06	Kuning-ungu
3	0,12	Kuning redup
4	0,27	Kuning terang
5	0,35	Kuning-ungu
6	0,47	Merah muda-ungu
7	0,64	Merah muda
8	0,70	Ungu
9	0,76	Merah muda
10	0,83	Ungu

Catatan: Plat KLT silika gel berukuran 6 x 1 cm, klorofom p.a. sebagai eluen



a

B

Gambar 2. Hasil uji KLT-bioautografi ekstrak etanol DST terhadap bakteri *S. aureus* (a) dan *S. epidermidis* (b)

PEMBAHASAN

Profil Kromatogram KLT Ekstrak Etanol Daun Sungkai Tua (DST)

Profil kromatogram ekstrak etanol DST dengan metode KLT bertujuan untuk mendeteksi profil senyawa-senyawa yang terkandung didalam ekstrak tersebut menggunakan penampak noda. Penampak noda yang digunakan pada penelitian ini adalah lampu UV 365 nm. Lampu UV 365 nm adalah penampak noda universal yang biasa digunakan untuk mendeteksi metabolit sekunder. Dengan penampak noda lampu UV 365 nm beberapa metabolit sekunder yang mempunyai gugus aromatik dan ikatan rangkap berkonyugasi dapat berpendar seperti kumarin, flavonoid, fenolik, serta beberapa metabolit sekunder lainnya (Forestryana & Arnida, 2020; Talamond et al., 2015).

Hasil kromatogram KLT ekstrak etanol DST memperlihatkan 10 bercak yang sangat berdekatan dengan nilai Rf 0; 0,06; 0,12; 0,27; 0,35; 0,47; 0,64; 0,70; 0,76;

dan 0,83 seperti pada Tabel 1. Dengan penampak noda lampu UV 365 nm, bercak tersebut terlihat berfluoresensi ungu, merah muda, kuning-ungu, kuning terang, kuning redup, dan biru ungu. Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan Halim et al., (2020), dimana hasil KLT ekstrak metanol daun sungkai memperlihatkan bercak-bercak yang rapat dengan nilai Rf 0,23-0,94 menggunakan eluen n-heksan:etil asetat:isopropanol (7:4:0,3). Kalau diamati dari warna fluoresensi bercak yang dihasilkan pada penelitian ini menggunakan penampak noda lampu UV 365 nm ada indikasi kandungan senyawa-senyawa fenolik, dan flavonoid (Urbain & Simões-Pires, 2006). Kepolaran senyawa juga bermacam macam, mulai dari yang nonpolar, semi polar (RF tertinggi), sampai senyawa polar (RF terendah). Terlihat masih ada satu bercak yang tidak naik (Rf = 0) yang menandakan senyawa ini sangat polar dan tidak bisa dielus dengan eluen kloroform p.a.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai Tua (DST) dengan Metode KLT-Bioautografi

Salah satu metode uji aktivitas antibakteri untuk dapat menentukan bercak mana dari ekstrak tumbuhan yang berpotensi dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu dapat dilakukan dengan uji KLT-bioautografi, dimana aktivitas antimikroba dilokalisasi dalam kromatogram yang diperoleh dari uji kromatografi lapis tipis (KLT). Gambar 2 menunjukkan hasil uji KLT-bioautografi ekstrak etanol DST dengan konsentrasi 15% terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*, hasil uji memperlihatkan adanya senyawa/ bercak yang dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar bercak hasil penempelan plat KLT pada media uji.

Gambar 2a menunjukkan bahwa ekstrak etanol DST yang memiliki 10 bercak/spot dari hasil kromatogram KLT, memperlihatkan 6 bercak aktif menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar bercak. Bercak yang aktif tersebut adalah bercak nomor 2-7 dengan Rf = 0,06; 0,12; 0,27; 0,35; 0,47; dan 0,64. Bercak 2, 3, 4, 5 memperlihatkan zona bening yang lebih besar dibandingkan bercak 6 dan 7. Sedangkan bercak yang dapat menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* adalah 7 bercak (1-7) (Gambar 2b). Bercak nomor 1 merupakan bercak yang masih tinggal pada titik penotolan yang memperlihatkan zona bening paling jelas diantara 6 bercak lainnya dalam menghambat *S. epidermidis*. Kalau diperhatikan kemampuan bercak/spot komponen kimia ekstrak etanol DST dalam menghambat pertumbuhan *S. Aureus* lebih baik dibandingkan *S. epidermidis* dari uji KLT-bioautografi ini, terlihat zona bening terhadap *S. aureus* yang lebih jelas dan bening.

Senyawa-senyawa aktif yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *S. epidermidis* dari ekstrak etanol DST adalah senyawa-senyawa polar sampai semi polar yang dilihat dari nilai Rf. Metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari daun sungkai telah dilaporkan oleh Kitagawa et al. (1994) dan Simanjuntak et al. (1996), berupa senyawa furanoditerpen tipe *clerodane* yang

dinamakan peronemin A2, A3, B1, B2, B3, C1, dan D1, serta 2 senyawa glikosida yaitu akteosida dan flavonoid glikosida turunan asam kafeat. Senyawa-senyawa tersebut diduga mempunyai peranan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *S. epidermidis*.

Terdapat 5 mekanisme penghambatan terpenoid mikroba seperti yang sudah dilaporkan sebelumnya, yaitu menghancurkan membran sel, tindakan penginderaan anti-kuorum (QS), penghambatan ATP dan enzimnya, penghambatan sintesis protein, dan terbentuknya efek sinergis dengan senyawa lain. Sedangkan, mekanisme antimikroba flavonoid terutama mencakup aspek-aspek berikut menghambat metabolisme energi bakteri, mengganggu dinding sel bakteri, menghancurkan integritas membran sel dan meningkatkan permeabilitasnya, menghambat pompa efflux bakteri, menghambat metabolisme asam nukleat bakteri, menghambat mobilitas bakteri, dan mengurangi ekspresi faktor virulensi untuk melemahkan patogenisitas (Huang et al., 2022).

SIMPULAN

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai tua (DST) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis* menggunakan metode KLT-bioautografi menggunakan eluen kloroform p.a memperlihatkan hasil yang cukup menggembirakan. Sebanyak 6 dari 10 bercak/spot dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan 7 dari 10 bercak/spot dapat menghambat *S. epidermidis*. Dari kromatogram KLT menggunakan penampak noda lampu UV 365 nm, diketahui bercak-bercak tersebut memperlihatkan fluoresensi dengan warna beragam yang diduga berasal dari senyawa fenolik, atau senyawa organik yang mempunyai ikatan rangkap berkonyugasi. Namun dari hasil penelitian ini belum dapat ditentukan golongan metabolit sekundernya, hanya dapat diduga berdasarkan data hasil isolasi senyawa dari daun sungkai yang telah dilaporkan sebelumnya. Penelitian ini masih dilanjutkan dengan mengisolasi bercak/noda yang memberikan zona hambat terhadap bakteri uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Banon, C., Triawan, D. A., Adfa, M., Sihite, M. S. A., Nurwidiyani, R., & Rahmi, W. (2023). Classification of makasar fruit extract (*Brucea javanica* L. Merr.) based on the level of ripeness using a combination of ftir and uv-vis spectroscopy with chemometrics. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 26(12), 483–488. <https://doi.org/10.14710/jksa.26.12.483-488>
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *escherichia coli* dengan metode difusi cakram kirby-bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 4(1), 460–470. <https://doi.org/10.36813/jplb.4.1.460-470>

- Forestryana, D., & Arnida. (2020). Phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of ethanol extract jeruju leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113-124. <https://journal.uniga.ac.id/index.php/JFB/article/view/859/777>
- Halim, K. F. K., Jalani, K. J., Mohsin, H. F., & Wahab, I. A. (2020). Phytochemical screening of *Peronema canescens* Jack. *International Journal of Pharmaceuticals, Nutraceuticals and Cosmetic Science*, 1(3), 7–15. <https://ijpnscs.uitm.edu.my/index.php/en/>
- Hanifa, A. P., Erliana, D., Avidlyandi, A., Rizka, M., Triawan, D. A., Yudha S, S. P., & Adfa, M. (2022). Efektivitas ekstrak metanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus epidermidis* secara tunggal dan kombinasi. *Jurnal Biosilampari: Jurnal Biologi*, 5(1), 57–66. <https://doi.org/10.31540/biosilampari.v5i1.1787>
- Huang, W., Wang, Y., Tian, W., Cui, X., Tu, P., Li, J., Shi, S., & Liu, X. (2022). Biosynthesis investigations of terpenoid, alkaloid, and flavonoid antimicrobial agents derived from medicinal plants. *Antibiotics*, 11(10), 1380. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101380>
- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H., & Kobayashi, M. (1994). Indonesian medical plants. VII. seven new clerodane-type diterpenoids, peronemins A2, A3, B1, B2, B3, C1, and D1, from the leaves of *Peronema canescens* (Verbenaceae). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 42(5), 1050-1055. <https://doi.org/10.1248/cpb.42.1050>
- Meilina, N. E., & Hasanah, A. N. (2018). Review artikel: Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap bakteri penyebab jerawat. *Farmaka*, 16(2), 322–328. <https://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17550>
- Ningsih, A., & Ibrahim, A. (2013). Aktivitas antimikroba ekstrak fraksi n -heksan daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap beberapa bakteri dengan metode KLT-Bioatografi. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*, 2(2), 76–82. <http://dx.doi.org/10.25026/jtpc.v2i2.51>
- Pindan, N. P., Daniel, C., Saleh, R., & Agustina, M. (2021). Uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol sisa dari daun sungkai (*Peronema canescens* Jack.) dengan metode DPPH. *Jurnal Atomik*, 22–27. <https://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JA/article/view/815>
- Simanjuntak, P. (1996). Studi kimia senyawa glikosida tumbuhan sungkai, *Peroneme canescens* (Verbenaceae). *Jkti*, 6(1), 8–12. <https://dx.doi.org/10.14203/jkti.v6i1-2.229>
- Srivastava, M. (2011). *High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)*. Springer.
- Talamond, P., Verdeil, J. L., & Conéjéro, G. (2015). Secondary metabolite localization by autofluorescence in living plant cells. *Molecules*, 20(3),

5024–5037. <https://doi.org/10.3390/molecules20035024>

- Urbain, A., & Simões-Pires, C. A. (2006). Thin-layer chromatography for the detection and analysis of bioactive natural products. *Encyclopedia of analytical chemistry: applications, theory and instrumentation*, 1–29. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9907.pub2>
- Wardania, A. K., Malfadinata, S., & Fitriana, Y. (2020). Uji aktivitas antibakteri penyebab jerawat *staphylococcus epidermidis* menggunakan ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), 14-19. <https://doi.org/10.31764/lf.v1i1.1206>
- Wiart, C. (2006). *Medicinal plants of asia and the pacific*. Boca Raton: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420006803.ch9>