

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes*

Vilya Syafriana^{1*}, Fathin Hamida¹, Rani Damayanti¹, Elsa Vera Nanda²

¹Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, Jakarta 12640

²Program Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jl. Rawamangun Muka, Jakarta 13220

*E-mail korespondensi: v.syafriana@istn.ac.id

ABSTRAK

Biji anggur (*Vitis vinifera* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin dan saponin yang diketahui bersifat antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes*. Ekstrak biji anggur dibuat secara maserasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram pada media MHA dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 20%, dan 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*. Ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etil asetat maupun ekstrak n-heksan.

Kata kunci: antibakteri, biji anggur, *Streptococcus pyogenes*, *Vitis vinifera*

Antibacterial Activity of Grape Seed Extract Against Streptococcus pyogenes

ABSTRACT

Grape seed (*Vitis vinifera* L.) is one of the plant that contain secondary metabolites such as flavonoid, tannin, saponin, and triterpenoid which can affect as antibacterial. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of grape seed extract against *Streptococcus pyogenes*. The extracts were prepared by maceration using n-hexane, ethyl acetate, and ethanol 70%. Antibacterial activity test was carried out by disk diffusion method on Mueller Hinton Agar (MHA) media with extract concentration of 5%, 10%, 20%, and 40%. The results showed that grape seed extract (*Vitis vinifera* L.) had antibacterial activity against *Streptococcus pyogenes*. Ethanol extract 70% has better antibacterial activity compared to ethyl acetate extract and n-hexane extract.

Keywords: antibacterial, grape seed, *Streptococcus pyogenes*, *Vitis vinifera*

PENDAHULUAN

Anggur (*Vitis vinifera* L.) merupakan salah satu tanaman buah di dunia dengan tingkat produksi yang tinggi, yaitu sekitar 75 juta ton/tahun. Sekitar 50% dari produksi anggur tersebut digunakan untuk membuat wine, sepertiganya dikonsumsi sebagai buah segar, dan sisanya dipasarkan dalam bentuk buah yang dikeringkan atau dibuat jus buah (nonfermentasi) (FAO-OIV, 2016). Anggur diketahui mengandung berbagai nutrisi, seperti vitamin, mineral, karbohidrat, serat, dan senyawa-senyawa fitokimia. Senyawa fitokimia yang banyak ditemukan pada buah anggur adalah polifenol yang memiliki peran penting dalam kesehatan, salah satunya sebagai antimikroba (Xia *et al.*, 2010; Kanagarlaa, 2013).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenol yang dimiliki oleh setiap bagian tanaman anggur

memiliki potensi sebagai antimikroba dengan sensitivitas yang berbeda. Jayaprakasha *et al.* (2003) menunjukkan bahwa ekstrak biji anggur dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 340–390 mg GAE/L terhadap bakteri Gram positif dan 475–575 mg GAE/L terhadap bakteri Gram negatif. Penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak etanol biji anggur dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Mirkarimi *et al.*, 2013), menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus circulans*, dan *Vibrio vulnificus* (Kumar & Vijayalakshmi 2013), serta ekstrak metanolnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *Escherichia coli*, dan *K. pneumoniae* (Ranjitha *et al.*, 2014). Akan tetapi, penelitian mengenai efek ekstrak biji anggur terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* belum pernah dilaporkan.

Streptococcus pyogenes merupakan bakteri Gram positif, yang dapat menyebabkan faringitis (radang tenggorokan) dan infeksi kulit setempat (impetigo), tonsilitis, serta demam *scarlet*. Sekitar 5-15% individu normal memiliki bakteri ini dan biasanya terdapat pada saluran pernafasan. *Streptococcus pyogenes* merupakan bakteri paling umum yang menyebabkan penyakit faringitis akut pada sekitar 15-37% kasus pada anak, dan 5-10% kasus pada orang dewasa (Pato et al., 2018). Selama ini pengobatan infeksi *S. pyogenes* hanya menggunakan terapi antibiotik. Akan tetapi, terapi ini diketahui menimbulkan masalah karena dapat menekan sistem imun, menimbulkan alergi, dan terjadi resistensi. Oleh sebab itu, pengembangan penemuan antimikroba baru diperlukan, terutama dari bahan alam karena diharapkan dapat mengurangi resiko-resiko di atas (Paul et al., 2019).

Berdasarkan paparan di atas, dilakukan penelitian antibakteri yang berasal dari bahan alam, yaitu ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) terhadap salah satu mikroba patogen yakni *S. pyogenes*. Ekstrak biji anggur dimaserasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 70%. Cara maserasi dipilih karena merupakan cara penyarian simplisia yang paling sederhana (Depkes RI, 1995). Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer disk diffusion*) dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekeliling cakram sebagai Diameter Daya Hambat (DDH) (Hudzicki, 2016). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) terhadap *S. pyogenes*. Adapun manfaat penelitian ini untuk menambah pengetahuan masyarakat mengenai manfaat ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) sebagai antibakteri terhadap *S. pyogenes*, serta diharapkan dapat menjadi dasar dalam pengembangan penelitian lebih lanjut.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat, Alat yang digunakan maserator, timbangan analitik, batang pengaduk kaca, corong kaca, *vacuum rotary evaporator*, cawan, gelas ukur, *Beaker glass*, oven, *waterbath*, *autoclave*, inkubator, *laminar air flow*, tabung reaksi, rak tabung cawan petri, batang L, jarum ose bulat, pipet tetes, mikro pipet, *vortex*, jangka sorong, mikroskop, *object glass*, dan *hot plate*.

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah biji anggur (*Vitis vinifera L.*) yang diperoleh dari pasar Induk Kramat Jati, Jakarta Timur; biakan bakteri *Streptococcus pyogenes*, *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), kontrol positif amoksisilin, DMSO, blank disk, NaCl 0,9%, akuadest, etanol 70%, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, spiritus, reagen Mayer, Bouchardat, Dragendorff, FeCl₃, gelatin, AlCl₃, amoniak, kloroform, NaOH 1 N, dan Iodium 0,1 N.

Pembuatan Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera L.*). Pembuatan ekstrak biji anggur dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 3 pelarut (n-heksan, etil asetat dan etanol 70%). Serbuk biji anggur dimaserasi dengan

perbandingan serbuk:pelarut sebesar 1:10 selama 1 x 24 jam, diselingi pengadukan setiap 6 jam. Setelah itu, dilakukan remaserasi selama 2 kali dengan merendam sisa penyaringan dengan pelarut yang baru sampai maserat yang diperoleh menjadi jernih sebagai tanda bahwa semua senyawa tertarik semua. Hasil filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak kental.

Uji Bebas Etanol. Ekstrak etanol yang diperoleh dilakukan pemeriksaan etanol dengan cara sebanyak 5 ml larutan dari ekstrak etanol 70% biji anggur diambil dan ditambahkan 1 ml NaOH 1 N (normalitas) perlahan-lahan, (setelah 3 menit) ditambahkan 2 ml Iodium 0,1 N setelah itu akan timbul bau Iodoform dan terbentuk endapan kuning dalam waktu 30 menit. Apabila tidak timbul bau Iodoform dan tidak terbentuk endapan berwarna kuning, maka ekstrak tersebut bebas dari etanol (Sumiati, 2014).

Skrining Fitokimia. Uji yang dilakukan merupakan uji kualitatif meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid (Depkes RI, 1980; Dirjen POM, 2000; Yadav & Agarwala 2011).

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji. Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan cara mengambil beberapa ose bakteri *S. pyogenes* berumur 24 jam, dan diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9% steril. Suspensi dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian kekeruhannya disamakan dengan Mc Farland 3 yang setara dengan konsentrasi 9×10^8 CFU/ml. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan mengambil sebanyak 1 ml dari suspensi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl 0,9% (9×10^7 CFU/ml) (Pratiwi, 2008).

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Suspensi bakteri uji sebanyak 0,1 ml dipipet lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi MHA dan dihomogenkan dengan batang L agar suspensi bakteri tersebar secara merata. Setelah media dan suspensi bakteri mengering, kertas cakram steril dimasukan ke dalam cawan petri dan ditetesi larutan uji sebanyak 20 µl, masing-masing percobaan dengan konsentrasi larutan uji 5%, 10%, 20%, dan 40%. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksisilin dan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 100%. Hasil inokulasi tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati zona bening yang terbentuk di sekitar cakram. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong sebagai nilai Diameter Daya Hambat (DDH) (Hudzicki, 2016)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 70% sebagai cairan penyari. Pemilihan jenis pelarut disesuaikan dengan

polaritas bahan aktif yang akan diekstraksi sesuai dengan hukum kesamaan dan ketidakcocokan (*like dissolves like*) (Zhang et al., 2018). Pelarut nonpolar n-heksan untuk mengekstrak bahan aktif yang bersifat nonpolar, pelarut semipolar etil asetat dipilih untuk mengekstrak bahan aktif semipolar, dan pelarut polar etanol 70% untuk mengekstrak bahan aktif yang bersifat polar.

Hasil maserasi dengan pelarut n-heksan diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehijauan sebanyak 2,14 g dengan rendemen 7,13%. Hasil maserasi dengan pelarut etil asetat diperoleh ekstrak kental berwarna hitam kehijauan sebanyak 1,94 g dengan rendemen 6,46%. Hasil maserasi dengan pelarut etanol 70% diperoleh ekstrak kental sejumlah 22,6 g dengan rendemen 56,5% . Dari data yang telah didapat ekstrak dari pelarut etanol

70% menghasilkan rendemen ekstrak yang paling tinggi dibandingkan dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Perhitungan rendemen dan hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Ekstrak etanol 70% biji anggur yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji bebas etanol. Uji dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol yang diperoleh bebas kontaminasi etanol atau tidak. Hal ini dikarenakan etanol dapat berperan sebagai antibakteri, sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Sumiati, 2014; Kurniawati, 2015). Hasil yang diperoleh menunjukkan tidak adanya bau iodoform dan tidak ada endapan kuning dalam waktu 30 menit (Sumiati, 2014). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak tersebut bebas dari etanol.

Tabel 1. Hasil persentase rendemen ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*)

Simplisia	Ekstrak	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Biji Anggur	n- heksan	30	2,14	7,13
	Etil asetat	30	1,94	6,46
	Etanol 70%	40	22,60	56,50

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia terhadap simplisia biji anggur (*Vitis vinifera L.*) yang dilakukan pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kandungan metabolit

sekunder dari biji anggur meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik dan steroid/triterpenoid. Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak biji anggur dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia serbuk dan ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*)

Senyawa Kimia	Hasil pemeriksaan biji anggur			
	Serbuk	Ekstrak n-Heksan	Ekstrak etil asetat	Ekstrak etanol 70%
Alkaloid	(-)	(-)	(-)	(-)
Flavonoid	(+)	(-)	(-)	(+)
Saponin	(+)	(+)	(-)	(+)
Tanin	(+)	(-)	(+)	(+)
Triterpenoid	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan : (-) = Tidak mengandung senyawa yang diidentifikasi
(+) = Mengandung senyawa yang diidentifikasi

Berdasarkan hasil skrining fitokimia dengan pereaksi warna tampak bahwa terdapat perbedaan kemampuan pelarut dalam menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel. Hasil menunjukkan bahwa pelarut etanol, yang merupakan pelarut paling polar yang umum digunakan dalam ekstraksi, lebih banyak menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam serbuk biji anggur dibandingkan pelarut etil asetat dan n-heksan. Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak etanol terdapat senyawa flavonoid, sedangkan ekstrak etil asetat dan n-heksan menunjukkan hasil negatif. Krithika et al. (2015) melaporkan bahwa biji anggur memiliki kandungan senyawa fenolik, diantaranya golongan flavonoid, polifenol, dan asam galat. Berdasarkan Tiwari et al. (2011), pelarut alkohol akan menarik lebih banyak senyawa-senyawa polifenol dibandingkan yang lainnya. Berdasarkan hasil ini, maka dapat direkomendasikan

bahwa pelarut terbaik untuk proses ekstraksi biji anggur adalah etanol.

Hasil skrining pada ekstrak n-heksan menunjukkan hasil positif mengandung senyawa saponin. Saponin dapat ditarik oleh pelarut n-heksan karena saponin merupakan senyawa golongan triterpen yang kerangka dasarnya merupakan senyawa karbon yang bersifat nonpolar. Heksan merupakan salah satu pelarut terbaik untuk ekstraksi senyawa nonpolar (Hepsibah & Jothi, 2017). Saponin dapat tergolong semipolar sampai dengan nonpolar bergantung gugus-gugus fungsi yang terdapat pada kerangka utamanya. Ekstraksi bertingkat yang dilakukan pada penelitian ini dimulai dari pelarut yang paling nonpolar yaitu n-heksan. Perlakuan ini memungkinkan senyawa-senyawa golongan saponin dan terpenoid dengan kepolaran yang rendah, ditarik semua oleh pelarut n-heksan sehingga hasil skrining ekstrak, positif untuk saponin dan terpenoid. Hasil skrining juga menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat mengandung

tanin, sedangkan ekstrak n-heksan negatif terhadap tanin. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, sehingga dapat menarik senyawa-senyawa dengan rentang polaritas lebar dari bersifat polar (golongan fenolik seperti tanin) hingga nonpolar (seperti triterpenoid) (Putra et al., 2019).

Uji Aktivitas Antibakteri

Prinsip percobaan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan pemberian ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) terhadap bakteri *S. pyogenes* pada media MHA dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40%. Penghambatan pertumbuhan tersebut dapat dilihat dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang menandakan tidak adanya bakteri yang tumbuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel ekstrak yang digunakan memiliki aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Hudzicki, 2016).

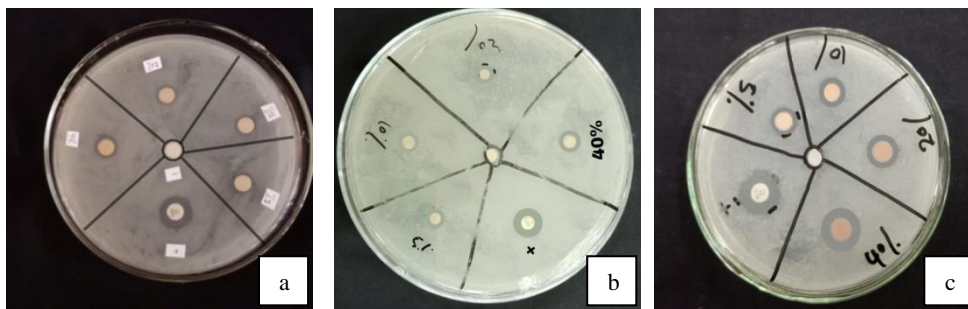
Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik amoksisilin 25 µg/disk. Amoksisilin merupakan

antibiotik berspektrum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif pada manusia (Pratiwi, 2008). Kontrol positif ini berfungsi sebagai pembanding diameter hambat terhadap ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) terhadap bakteri uji. Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut DMSO 100% yang diteteskan pada kertas cakram steril.

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) terhadap *S. pyogenes* tercantum pada Tabel 3 dan Gambar 3. Hasil menunjukkan bahwa keempat konsentrasi dan ketiga pelarut ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) yang diujikan memiliki aktivitas penghambatan terhadap *S. pyogenes*. Hasil juga menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula diameter daya hambat yang ditunjukkan terhadap bakteri *S. pyogenes*. Hal ini membuktikan bahwa semakin banyak senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut (Lingga et al., 2016).

Tabel 3. Rata-rata Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak biji anggur

No	Ekstrak	Konsentrasi (mm)				Kontrol (mm)	
		5%	10%	20%	40%	Amoksisilin 25 µg(+)	DMSO 100 %(-)
1	n-heksan	9,34	9,99	10,41	11,89	12,52	0
2	Etil asetat	8,96	9,29	10,16	10,33	15,19	0
3	Etanol 70%	11,12	12,18	13,92	14,17	16,32	0



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*). (a) Ekstrak n-heksan (b) Ekstrak etil asetat (c) Ekstrak etanol 70%

Hasil perbandingan dari ketiga pelarut menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etanol 70% memiliki aktivitas daya hambat lebih tinggi dibandingkan pelarut n-heksan dan etil asetat. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak dari etanol 70% mengandung lebih banyak senyawa metabolit dibandingkan etil asetat dan n-heksan (Tabel 3). Semakin banyak zat aktif yang terekstrak, maka akan semakin banyak senyawa yang bersifat antimikroba sehingga nilai daya hambat yang dihasilkan lebih besar (Lingga et al., 2016).

Terbentuknya daya hambat diduga karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam biji anggur. Biji anggur mengandung beberapa senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri, diantaranya adalah flavonoid, tanin, dan saponin sehingga dapat memberikan diameter daya hambat sebagai aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *S. pyogenes*. Flavonoid memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak membran sel (Gorniak et al., 2019). Tanin merupakan

senyawa polifenol yang bekerja dengan mengganggu kerja DNA gyrase (Khameneh et al., 2019). Saponin dapat melarutkan lipid pada membran sel bakteri (lipoprotein), akibatnya dapat menurunkan tegangan permukaan lipid, fungsi sel bakteri menjadi tidak normal dan sel bakteri lisis sehingga bakteri akan mati (Syafriana et al., 2019). Berdasarkan hal-hal tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa biji anggur (*Vitis vinifera L.*) memiliki efek antibakteri terhadap *S. pyogenes*.

KESIMPULAN

Ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*. Ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etil asetat maupun ekstrak n-heksan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kemenristekdikti yang telah memberikan dana hibah pada skema Penelitian Dosen Pemula 2019 (PDP) No. 42/AKM/MONOPNT/2019, sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1980). *Materia Medika Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal : 300-304
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*, Jakarta. Hal: 1112-1114
- Direktorat Jendral POM, Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Halaman 31-32.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Organisation of Vine and Wine [FAO-OIV]. (2016). FAO-OIV FOCUS 2016: Table and dried grapes. Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Organisation of Vine and Wine
- Gorniak, I., Bartoszewski, R., & Krociczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochem Rev.*, 18, 241-272.
- Hepsibah, A.H. & Jothi G.J. (2017). A Comparative Study on The Effect of Solvents on The Phytochemical Profile and Biological Potential of *Ormocarpum conchinchinense* Auct.Non (Lour.) Merrill. *Int J Pharm Sci*, 9(1), 67-72.
- Hudzicki, J. (2016). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, 1-23.
- Jayaprakasha G, Singh R, Sakariah K. 2003. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73, 285-290.
- Kanagarla, N.S.S.A.V., Kuppast, I.J., Veerashekar, T., & Reddy, C.L. (2013). A review on benefits and uses of *Vitis vinifera* (grape). *Research & Reviews in BioScience*, 7(5), 175-180.
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & Bazzaz, B.S.F. (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8, 1-28.
- Krithika, V., Naik, R., & Pragalyaashree. (2015). Functional properties of grape (*Vitis vinifera*) seed extract and possible extraction techniques - A review. *Agri. Review*, 36 (4), 313-320.
- Kumar, K.A. & Vijayalakshmi, K. (2013). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.*, 2(5), 196-204.
- Kurniawati, E. (2015). Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193-199.
- Lingga, A.R., Pato, U., & Rossi, E. (2016). Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*, 3(1), 1-15.
- Mirkarimi, M., Amin-Marashi, S.M., Bragrizan, M., Abtahi, A., & Fooladi, A.A.I. (2013). The antimicrobial activity of grape seed extract against two important oral pathogens. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 15(1), 43-46.
- Pato, C., Melo-Cristino, J., Ramirez, M., & Friaes, A. (2018). *Streptococcus pyogenes* causing skin and soft tissue infections are enriched in the recently emerged emm89 Clade 3 and are not associated with abrogation of CovRS. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-13.
- Paul, R.K., Dutta, D., Chakraborty, D., Nayak, A., Dutta, P.K., & Nag, M. (2019). Antimicrobial agents from natural sources: An overview. *Advance Pharmaceutical Journal*, 4(2), 41-51.
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga. Jakarta, Hal 154-160, 188-190
- Putra, A.Y.T., Supriyadi, & Santoso, U. (2019). Skrining fitokimia ekstrak etil asetat daun simpur (*Dillenia suffruticosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 4(1), 36-40.
- Ranjitha, C.Y., Priyanka, S., Deepika, R., Rani, G.P.S., Sahana, J., & Kekuda, T.R.P. (2014). Antimicrobial activity of grape seed extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 1483-1488.
- Sumiati, E. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kloroform dan ekstrak etanol biji bidara laut (*Strychnos ligustrina* Bl) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi*. *Biogenesis*, 2(1), 1-10.
- Syafriana, V., Ningsih, W., & Wahidin. (2019, Juni). Uji aktivitas antibakteri metanol daun hijau tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* [oral presentation]. *Prosiding Seminar Nasional Pemanfaatan Bahan Alam sebagai Obat, Kosmetik dan Pangan Fungsional*, Jakarta, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1): 98-106.
- Xia, E-Q., Deng, G-F., Guo, Y-J., & Li, H-B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *Int. J. Mol. Sci.*, 11, 622-646.
- Yadav, R.N.S. & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12), 10-14.
- Zhang, Q-W., Lin, L-G., & Ye, W-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med.*, 13(20), 1-26.