

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus sobrinus* dan *Salmonella typhi*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TESTING OF METHANOL EXTRACT OF GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) AGAINST THE BACTERIA *Streptococcus sobrinus* and *Salmonella typhi*

Niken Kusumawardani^{*}, Chairul Saleh², Winni Astuti³

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman,
Jalan Barong Tongkok No.4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

*Corresponding Author : niken.kusumawrdn@gmail.com

Received: 5 July 2022, Accepted: 25 July 2022

ABSTRACT

Plants at this time are widely used as medicine because according to some research medicinal materials, plants that have the potential as medicine do not cause too many side effects. One of the plants that are used as medicine is agarwood leaves because it is known to have several medicinal properties, one of them is as an antibacterial drug. This study was conducted to find out the secondary metabolite compounds contained in agarwood leaves and to determine the *MIC* value of agarwood leaves methanol extract against *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 and *Salmonella typhi* ATCC 422, by means of agarwood leaves extracted using methanol, phytochemical screening, and antibacterial activity tests using disc diffusion method. Phytochemical screening of agarwood leaves methanol extract results revealed alkaloids, steroids and phenolics. The *MIC* value of agarwood leaves methanol extract toward *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 and *Salmonella typhi* ATCC 422 is 1.25%.

Keywords: *agarwood leaves, antibacterial, secondary metabolites, Streptococcus sobrinus KCCM 11898, Salmonella typhi ATCC 422.*

PENDAHULUAN

Tumbuhan dan tanaman pada saat ini banyak dimanfaatkan sebagai obat karena menurut beberapa penelitian bahan obat, tanaman dan tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tidak terlalu menyebabkan efek samping [1]. Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat yaitu gaharu karena dikenal memiliki beberapa khasiat pengobatan. Dalam pengobatan tradisional di negara India (Ayurveda), tumbuhan gaharu memiliki manfaat untuk membantu penyembuhan luka yang membusuk [2]. Di Cina terdapat pengobatan tradisional yang menggunakan tumbuhan gaharu untuk mengobati gangguan pada perut, sistem pernafasan, dan ginjal. Selain itu, tumbuhan gaharu juga dimanfaatkan sebagai bahan baku pada produksi kosmetik, obat rematik, obat gosok, penyembuhan perut kembung, dan obat sakit jantung [3]. Ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri [4].

Antibakteri merupakan suatu zat yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ataupun membunuh mikroorganisme lain [5]. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422. *Streptococcus sobrinus* merupakan salah satu mikroorganisme yang banyak ditemukan di rongga mulut manusia dan penyebab awal proses karies gigi [6]. *Salmonella typhi* dapat menimbulkan suatu gejala reaksi inflamasi sistemik yaitu demam, malaise, mialgia, sakit perut, sakit kepala, ketidakstabilan vascular, gangguan mental dan koagulasi [7].

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan uji pada ekstrak metanol dari daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) terhadap bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Hendra [4] ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap jenis

bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan berdasarkan penelitian Janshen [8] ekstrak metanol daun gaharu pada konsentrasi 30 % menghasilkan aktivitas antibakteri yang paling kuat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Karena menurut penelitian Silaban [9] daun gaharu memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, senyawa glikosida, tanin, dan steroid atau triterpenoid. Kandungan senyawa kimia tersebut menyebabkan daun gaharu memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, corong kaca, botol kaca gelap, botol semprot, labu ukur, *hot plate*, spatula, oven, *rotary evaporator*, pipet mikro, *water bath*, cawan petri, blender, inkubator, autoklaf, jarum ose, pinset, *laminar airflow*, Labu Erlenmeyer, mikro pipet 100-1000 μL , penggaris, sikat tabung, Bunsen, *freezer*, *shaker*, bohlam lampu UV, pinset dan neraca analitik.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.), metanol, $\text{HCl}_{(p)}$, serbuk Mg, pereaksi Mayer, H_2SO_4 , asam asetat anhidrat, bubuk agar, aluminium foil, tisu, kapas, kertas saring, kertas label, kain kasa, plastik tahan panas, *plastic wrap*, *nutrient agar*, *yeast extract*, tripton, ampicilin 10 $\mu\text{g/mL}$, FeCl_3 1%, aquades, bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan bakteri *Salmonella typhi* ATCC 422.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Daun gaharu dibersihkan dari pengotor dengan cara dicuci dibawah air mengalir, ditiriskan, dikeringkan pada suhu ruang. Kemudian, dipotong kecil-kecil, dihaluskan dengan cara diblender.

Ekstraksi

Serbuk daun gaharu diambil sebanyak 1 kg dan direndam dalam metanol sebanyak 5 liter selama 3 hari menggunakan botol kaca gelap pada suhu ruang. Campuran tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh residu dan filtrat. Dipekatkan filtrat menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental yang kering.

Uji Fitokimia

Uji Flavonoid

Ekstrak kasar daun gaharu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pelarut yang sesuai, ditambahkan serbuk Mg, ditambahkan 10 tetes $\text{HCl}_{(p)}$. Reaksi positif ditandai adanya perubahan warna kuning, merah, dan jingga [10].

Uji Alkaloid

Ekstrak kasar daun gaharu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pelarut yang sesuai, ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 2N, dihomogenkan, didiamkan beberapa saat, ditambahkan 3 tetes pereaksi *Dragendroff*. Reaksi positif ditandai adanya endapan berwarna jingga hingga merah kecoklatan [10].

Uji Steroid atau Triterpenoid

Ekstrak kasar daun gaharu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pelarut yang sesuai, ditambahkan 10 tetes asam asetat (CH_3COOH) glasial ditambahkan 5 tetes $\text{H}_2\text{SO}_4_{(p)}$ dan diamati. Reaksi positif steroid ditandai larutan berwarna hijau-biru dan reaksi positif triterpenoid ditandai larutan berwarna merah-ungu [10].

Uji Fenolik

Ekstrak kasar daun gaharu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pelarut yang sesuai, ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Reaksi positif ditandai adanya perubahan warna menjadi lebih hitam dibandingkan warna ekstrak murni [10].

Uji Saponin

Ekstrak kasar daun gaharu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pelarut yang sesuai, dikocok hingga terbentuk busa. Ditambahkan 2-3 tetes larutan $\text{HCl}_{(p)}$ dan diamati. Jika busa yang terbentuk stabil, berarti positif terdapat saponin [10].

Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi Alat

Alat-alat kaca yang akan digunakan seperti cawan petri dicuci hingga bersih, dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas kemudian dilakukan sterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 1 jam [11].

Pembuatan Media *Nutrient Agar* dan *Luria Bertani (LB)*

Media bakteri yang digunakan adalah media *Nutrient Agar* (NA) dan *Luria bertani* (LB). Media NA dibuat dengan menimbang 4 gram NA dan dilarutkan dalam 150 mL aquades, larutan dihomogenkan dan dipanaskan sampai *nutrient agarnya* larut semua diatas *hot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*, ditutup rapat dengan kapas dan *aluminium foil*. Untuk pembuatan media cair *Luria Bertani* yaitu

sebanyak 10 gram NaCl, 5 gram *yeast* dan 10 gram tripton dilarutkan dalam 1000 mL aquades, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*, media cair Luria Bertani ditutup rapat dengan kapas dan *aluminium foil*. Selanjutnya NA dan LB disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 1 jam [11].

Persiapan Bakteri Uji

Masing-masing bakteri uji dibiakkan dengan cara diinokulasikan sebanyak 10 µL bakteri uji yang telah dijadikan gliserol stock ke dalam 5 mL media cair LB steril yang kemudian dishaker selama 16-18 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji yang telah dibiakkan masing-masing diinokulasi pada media padat NA dengan menggunakan teknik *swab*. Kapas *swab* dicelupkan ke dalam bakteri uji *Staphylococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 kemudian di *swab* pada media padat NA hingga merata secara aseptik. NA yang telah berisi bakteri selanjutnya dapat digunakan untuk uji aktivitas antibakteri [11].

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol daun gaharu dengan metode difusi agar dengan kertas cakram (*Kirby-Bauer*). Kertas cakram steril dicelupkan ke dalam masing-masing ekstrak kasar dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif berupa ampisilin dan kontrol negatif berupa metanol lalu diletakkan diatas media NA yang telah di *swab* bakteri uji. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Daerah bening disekitar kertas cakram, menunjukkan uji positif yaitu adanya aktivitas antibakteri. Diameter daerah zona hambat yang diperoleh diukur dengan menggunakan penggaris [11].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) yang diperoleh dari hutan di Gunung Tua Sumatera Utara. Sampel yang digunakan telah diidentifikasi di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Samarinda. Hasil identifikasi tanaman yaitu daun gaharu jenis *Aquilaria malaccensis* Lamk.

Hasil Ekstraksi

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia kedalam pelarut [11]. Metode maserasi ini dipilih karena peralatan yang digunakan sederhana, teknik pengerjaannya mudah, dan tidak merusak senyawa aktif yang akan diteliti.

Pelarut yang digunakan untuk maserasi yaitu metanol, karena metanol bersifat universal sehingga dapat menarik Sebagian besar senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dan nonpolar pada sampel [13]. Proses awal pada penelitian ini yaitu sampel daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) dibersihkan, dikeringkan kemudian dihaluskan. Tujuan dari proses penghalusan ialah untuk meningkatkan luas permukaan sampel sehingga pelarut lebih mudah masuk ke dalam sel dan menarik komponen yang aktif untuk keluar dari sel tumbuhan. Sehingga proses ekstraksi makin efektif. Simplisia yang diperoleh, kemudian dimaserasi dengan cara simplisia direndam kedalam metanol menggunakan botol kaca gelap pada suhu ruang. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel [10].

Setelah simplisia dimaserasi, kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40 °C bertujuan agar pelarut metanol yang terdapat di filtrat dapat menguap terlebih dahulu sebelum mencapai titik didihnya. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya pengaruh tekanan pada *rotary evaporator* yang diperkecil dengan memanfaatkan pompa vakum sehingga pelarut menguap pada suhu di bawah titik didihnya [12]. Jumlah massa ekstrak metanol sebesar 56 gram dan % rendemen 6,43%.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif terhadap ekstrak kasar metanol daun gaharu untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya meliputi flavonoid, alkaloid, steroid atau triterpenoid, fenolik, dan saponin. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kasar metanol daun gaharu yaitu mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, steroid, dan fenolik yang ditunjukkan dalam Tabel 1.

Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 mewakili sebagai bakteri gram positif mewakili sebagai bakteri gram negatif. Rerata hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun gaharu terhadap bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Metanol Daun Gaharu

Golongan Senyawa	Hasil Uji Fitokimia
Alkaloid	+
Flavonoid	-
Steroid	+
Triterpenoid	-
Fenolik	+
Saponin	-

Keterangan: (+) mengandung senyawa metabolit sekunder dan (-) tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Tabel 2. Rerata Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk)

No.	Sampel	Konsentrasi (%)	Rerata Diameter Zona Hambat (mm)	
			<i>S. sobrinus</i> KCCM 11898	<i>S. typhi</i> ATCC 422
1	Ekstrak Metanol	0,625	0	0
		1,25	7,7	7
		2,5	8,7	8
		5	11,3	11
		10	13,8	13
2	Kontrol Positif (Ampisilin)	-	19,8	19,3
3	Kontrol Negatif (Metanol)	-	-	-

Diameter Kertas Cakram 6 mm

Tabel 3. klasifikasi aktivitas senyawa antibakteri

Diameter zona terang	Diameter zona terang
>20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Berdasarkan data yang terdapat pada Tabel 2 bahwa ekstrak metanol daun gaharu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422. Pada kontrol negatif dengan menggunakan metanol ini tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak daun gaharu terhadap bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 hanya berasal dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak daun gaharu tanpa ada pengaruh dari pelarut metanol. Sedangkan pada ampisilin sebagai kontrol positif dapat menghambat *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dengan terbentuknya diameter zona bening 19,8 mm dan pada *Salmonella typhi* ATCC 422 19,3 mm.

Menurut Handayani [14] semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka akan semakin banyak jumlah senyawa aktif antibakteri yang ada didalam suatu ekstrak maka akan semakin luas zona hambat yang terbentuk. Hal ini berlaku pada penelitian ini karena berdasarkan data yang diperoleh, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan hasil zona hambat yang terbentuk semakin luas. Adanya aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun gaharu diduga karena didalam ekstrak metanol mengandung metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun gaharu antara lain alkaloid, steroid dan fenol.

Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri memiliki yaitu sintesis protein dinding sel akan dihambat oleh senyawa alkaloid maka menyebabkan sel mengalami lisis sehingga sel akan mati. Mekanisme senyawa steroid terhadap bakteri yaitu membran plasma sel mikroba dirusak oleh

senyawa steroid, sehingga menyebabkan sitoplasmanya keluar dari sel karena terjadinya kebocoran pada sitoplasma yang selanjutnya menyebabkan kematian sel. Hal ini dapat terjadi dikarenakan molekul steroid memiliki gugus non polar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik) sehingga memiliki efek surfaktan yang dapat melarutkan komponen fosfolipid membran plasma [15].

Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri yaitu protein pada sel bakteri didenaturasi oleh senyawa fenol sehingga semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti. Karena protein pada sel bakteri bertindak sebagai enzim yang mengkatalisis semua aktivitas metabolisme pada sel bakteri [16]. Senyawa fenol jika berkonsentrasi tinggi, senyawa tersebut dapat menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Sedangkan jika senyawa fenol dengan konsentrasi lebih rendah, senyawa tersebut menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri [17].

Berdasarkan data rata-rata daya hambat pada bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 pada Tabel 2 daya hambat yang dihasilkan *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 sekitar 7-13 mm dan jika dikaitkan dengan Tabel 3 Davis and Stout [18] klasifikasi aktivitas senyawa antibakteri yaitu daya hambat pada bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 termasuk golongan daya hambat yang sedang hingga kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, ekstrak metanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) mengandung senyawa alkaloid, steroid, dan fenolik. Ekstrak metanol daun gaharu dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 dengan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) untuk bakteri *Streptococcus sobrinus* KCCM 11898 dan *Salmonella typhi* ATCC 422 yaitu 1,25%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dalimartha, S. 2006. *Biji Mahoni (swietenia mahagoni Jacq) Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- [2] Snelder, D.J. and Lasco R.D. 2008. *Smallholder Tree Growing for Rural Development and Environmental Services: Lessons from Asia*. Gainesville: Springer.
- [3] Setyowati, F.M. & Wardah. 2007. *Keanekaragaman tumbuhan obat masyarakat talang mamak di sekitar taman nasional bukit tigapuluh, Riau*. Biodiversitas. 8 (3): 228 - 232.
- [4] Hendra, H. 2015. *Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.)*. Naskah Tesis S-2. Yogyakarta: Pasca Sarjana Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.
- [5] Yosephine, A.D. 2013. *Mouthwash formulation of basil oil (Ocimum basilicum) and In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activities Against Streptococcus mutans*. Traditional Medicine Journal: 2(3): 18-22.
- [6] Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Bonang, G. 2018. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 27*. Jakarta: EGC Buku Kedokteran.
- [7] Nelwan, R.H.H. 2007. *Demam: Tipe dan Pendekatan*. Dalam: Sudoyo, Aru W., Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata K, Setiati S, editor. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- [8] Janshen, Yudha Ryan. 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Duan Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk.) Terhadap Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*. Yogyakarta: Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- [9] Silaban, S.F. 2013. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (Aquilaria malaccensis Lamk)*. Skripsi. Fakultas Pertanian: Univeritas Sumatera Utara.
- [10] Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Terbitan Kedua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- [11] Arwidhiah, N. 2019. *Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dari Biji Mahoni (Swietenia mahagoni (L.) Jacq) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans dan Salmonella typhi*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam: Universitas Mulawarman.
- [12] Ibrahim, S. 2013. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- [13] Verdiana, M., I Wayan R.W., dan I Dewa M. P. 2018. *Pengaruh Jenis Pelarut Ekstrak Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (Citrus limon (Linn.) Burm F.)*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 7(4): 213-222.
- [14] Handayani, F., Husnul, W., dan Siti J. N. 2016. *Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Streptococcus mutans dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Salam*. Media Sains. 9(1): 74-84.

- [15] Samputri, R.D., Angeline, N.T., dan Ratna W. 2020. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kamandrah (Croton tiglium L.) Terhadap Pertumbuhan Salmonella Typhi Dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer)*. Herb-Medicine Journal. 3(3):19-33.
- [16] Marfuah, I. Eko, N.D., dan Laras R. 2018. *Kajian Potensi Anggur Laut (Caulerpa racemosa) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan. 7(1): 7-14.
- [17] Purwantiningsih, T. I., Yustina Y. S., dan Widodo. 2014. *Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (Morinda citrifolia) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis*. Buletin Peternakan. 38(1): 59-64.
- [18] Davis, W.W. and T.R Stout. 1971. *Disc Plate Methods Of Microbiological Antibiotic Assay*. J. Microbiology. (4):659-665.