

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN, KULIT BATANG, DAN GETAH ANGSANA (*PTEROCARPUS INDICUS WILLD*) TERHADAP PERTUMBUHAN *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Dera Armedita*, Verry Asfrizal*, Masyhudi Amir*

Keywords:

Angsana leaves, Angsana stem bark, Angsana latex, Pterocarpus indicus Willd, antibacterial activity, Streptococcus mutans.

ABSTRACT

Background: Indonesia has many types of plants, which have medicinal properties and are used to cure various diseases. One of plant that has medicinal properties is the Angsana plant (*Pterocarpus indicus Willd.*) which traditionally can cure dental and oral diseases. Normal flora that can cause dental and oral diseases especially dental caries is *Streptococcus mutans*. One of alternative medications to prevent the disease by using natural products as antibacterial. The purpose of this research to know the antibacterial activity of the Angsana plant parts of the leaves ethanol extract, stem bark, and Angsana latex in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans*.

Method: This research used experimental laboratory with disc diffusion methods. Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) was taken from as city ornamental tree in Samarinda city. The bacteria which used were *Streptococcus mutans*. The samples consisted of 11 treatment groups is leaves ethanol extract, stem bark, and Angsana latex respectively with concentration 25%, 50%, 75%, positive control group (chlorhexidine 0,2%), and negative control group (sterile aquades). Data analysis using Shapiro-Wilk test and One-Way Annova test.

Result: The results showed that leaves ethanol extract, stem bark, and Angsana latex (*Pterocarpus indicus Willd.*). All concentrations have antibacterial activity against the growth of *Streptococcus mutans*. The highest and the lowest concentrations that can inhibit the growth of *Streptococcus mutans* are 50% ethanol stem bark extract and 25% leaves ethanol extract.

Conclusion: The conclusion of this study proves that the leaves, stem bark ethanol extract, and Angsana latex (*Pterocarpus indicus Willd.*) Have antibacterial activity against the growth of *Streptococcus mutans*.

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang sangat penting. Berdasarkan data WHO (2012), mengungkapkan bahwa kesehatan gigi dan mulut menjadi salah satu aspek pendukung paradigma sehat serta merupakan strategi pembangunan nasional demi mewujudkan Indonesia sehat.¹ Hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) yang dilaporkan oleh Kementerian Kesehatan Nasional Indonesia tahun 2010 menunjukkan dari 10 kelompok penyakit terbanyak yang dikeluhkan masyarakat, penyakit gigi dan mulut menduduki peringkat pertama yaitu

meliputi 60% penduduk.² Penyakit gigi dan mulut yang terbanyak yang diderita masyarakat Indonesia salah satunya adalah karies gigi yang merupakan penyakit pada jaringan keras gigi yang dapat mempengaruhi email, dentin, dan sementum.³

Bakteri predominan yang sangat berperan pada proses terjadinya karies gigi dalam rongga mulut dan sebagai bakteri utama dalam permulaan awal timbulnya karies gigi yaitu *Streptococcus mutans*.⁴

Menanggulangi banyaknya prevalensi penyakit karies di Indonesia maka perlu dilakukan suatu alternatif pengobatan yang mudah didapat. Catatan yang diperoleh

* Fakultas Kedokteran Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman
Korespondensi: deraarmedita@gmail.com

dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) bahwa sekitar 75-80% dari populasi dunia menggunakan tanaman obat berbahan alami (TOBA) sebagai obat medis karena baik ditoleransi oleh tubuh manusia, dan memiliki efek samping lebih sedikit. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat adalah tanaman Angsana yang pada bagian kayunya secara tradisional bisa mengobati penyakit gigi dan mulut seperti stomatitis.⁵ Angsana diketahui banyak manfaat kesehatan secara tradisional dalam kehidupan sehari-hari antara lain kulit kayunya digunakan sebagai obat sariawan sedangkan getah batangnya digunakan untuk pengobatan kanker terutama kanker mulut juga bisa mengobati luka serta sariawan mulut sebagai obat luar.⁶

Beberapa senyawa kimia antibakteri yang terkandung dalam tanaman ini juga telah banyak diteliti antara lain seperti senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid.^{7,8,9,10}

Dalam penelitian Junanto (2008), ekstrak kulit batang Angsana dalam beberapa pelarut mempunyai daya antibakteri pada bakteri gram positif maupun negatif, sedangkan ekstrak etanol daun dengan pelarut metanol hanya memberikan daya antibakteri dan pada gram negatif saja. Pada penelitian lain, ekstrak etanol daun Angsana dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang baik pada *Staphylococcus aureus* sebagai gram positif.⁸ Ditemukan juga bahwa ekstrak getah Angsana mempunyai aktivitas antibakteri pada *Streptococcus mutans* serotipe C.¹¹

Berdasarkan data yang ada telah menyebutkan bahwa bagian daun, kulit batang, dan getah Angsana bisa bermanfaat khususnya untuk kesehatan gigi dan mulut. Data perbandingan aktivitas antibakteri dari setiap bagian tanaman belum ada, sehingga

penulis merasa perlu melakukan penelitian ini.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain penelitian yang digunakan adalah the post test only control group design. Uji zona hambat bakteri yang digunakan adalah metode *Disc diffusion (Kirby-Bauer Test)*. Protokol penelitian ini sudah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Mulawaraman.

Penelitian ini menggunakan media *Mueller-hinton Agar (MHA)*, *Mueller-hinton Broth (MHB)*, *blank disc* dari OxoidTM berdiameter 6 mm, sediaan bakteri *Streptococcus mutans* (Standar ATCC), *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dari MINOSEP®, etanol 96%, petridish, rotary evaporator, kertas saring Wathman® no.42, digital caliper dari TRICLE BRAND®, spektrofotometer, kapas lidi steril, dan aquadest sterile.

Penelitian ini menggunakan daun, kulit batang, dan getah Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) yang tumbuh di sepanjang jalan Kecamatan Gunung Kelua Samarinda. Sampel daun yang tampak sehat, segar, dan berwarna hijau, sedangkan kulit batang diambil dari batang pohon yang cukup tua berwarna coklat gelap kehitaman. Sampel getah diambil pada pagi hari pada pukul 05.00-08.00 WITA. Identifikasi subyek tumbuhan dilakukan oleh ahli taksonomi Laboratorium Anatomi dan Sistemika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman. Daun dan kulit batang Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) masing-masing dicuci secara terpisah hingga bersih lalu dikeringkan selama 7 hari. Getah yang ditampung dalam botol lalu disimpan

pada wadah gelas tertutup. Daun, kulit batang dan getah yang sudah keringkan dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring Whatman® no.42 dan filtrat dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator dengan suhu 50 °C sampai didapatkan ekstrak kasar yang kental. Ekstrak pekat dikeringkan lebih lanjut dalam oven suhu 60 °C.

Penelitian dilakukan dalam tiga tahapan. Tahap awal adalah persiapan *Streptococcus mutans*. Bakteri di kultur menggunakan media MHB. Bakteri *Streptococcus mutans* yang digunakan dengan kepekatan McFarland 0,5 atau setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.¹²

Tahapan kedua adalah uji disc diffusion. Blank disc direndam ekstrak etanol daun, kulit batang, dan getah *Angsana (Pterocarpus indicus Willd.)* dengan masing-masing konsentrasi 25%, 50%, dan 75%, sebagai kontrol digunakan Chlorhexidine gluconate 0,2%, dan aquadest sterile. Disc dikeringkan dalam oven suhu 60 °C selama 5 menit untuk menguapkan sisa pelarut. Sebanyak 100 µl suspensi bakteri diapus secara merata pada permukaan media MHA agar. Disc ekstrak etanol daun, kulit batang, dan getah *Angsana*

berbagai konsentrasi, Chlorhexidine gluconate 0,2% dan etanol 96% diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi bakteri. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam di inkubator.

Tahap terakhir penelitian adalah pengukuran diameter zona hambat menggunakan digital caliper. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan secara horizontal dan vertikal kemudian dirata-ratakan.

Analisis Data

Data disajikan dalam bentuk mean + SEM. Analisa data menggunakan program SPSS for MACintosh® Version 23.0. Uji statistik dengan Shapiro-Wilk, dengan nilai terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan uji One-way Anova, dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ tidak bermakna.

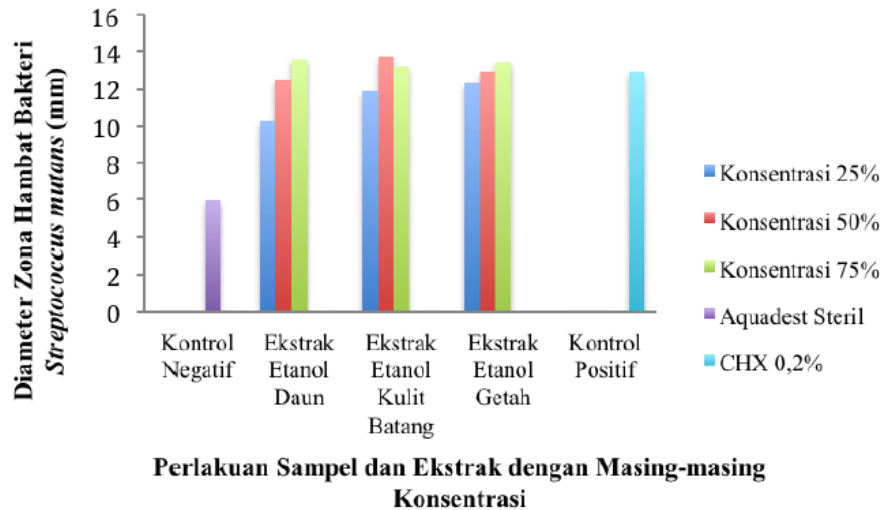
HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya diameter zona hambat pada semua kelompok ekstrak etanol saun, kulit batang, dan getah *Angsana (Pterocarpus indicus Willd.)* dan Chlorhexidine gluconate 0,2% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbedaan Hasil Diameter Zona Hambat (mm) Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang, dan Getah *Angsana (Pterocarpus indicus Willd.)* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.

Jenis Perlakuan	Konsentrasi Ekstrak	Mean±SE (Sebelum dikurangi diameter disc)
Ekstrak Etanol Daun	25%	10,29±0,635
	50%	12,51±0,711
	75%	13,61±0,997
Ekstrak Etanol Kulit Batang	25%	11,91±0,430
	50%	13,77±0,786
	75%	13,20±0,446
Ekstrak Etanol Getah	25%	12,35±0,546
	50%	12,95±0,968
	75%	13,50±0,996
Kontrol Positif		12,91±0,150
Kontrol Negatif		6±0,000

Keterangan : Pengulangan tiga kali, data disajikan dalam bentuk mean±SE. Diameter disc 6 mm. Kontrol Positif = *Chlorhexidine gluconate* 0,2%.



Keterangan: Data disajikan dalam bentuk mean sebelum dikurangi disc (6 mm). CHX = *clorhexidine gluconate* 0,2%.

Gambar 1. Perubahan Zona Hambat (mm) Bakteri *Streptococcus mutans* pada Masing-masing perlakuan

Pengukuran diameter zona hambat pada Kontrol Negatif aquadest sterile yang digunakan penelitian ini tidak menunjukkan adanya zona hambat (Gambar 1). Pada Kontrol Positif Chlorhexidine gluconate 0,2% didapatkan zona hambatan $12,91 + 0,15$ mm (Tabel 1).

Uji statistik dengan *One-way Anova test* memperlihatkan nilai $p > 0,05$ untuk kelompok ekstrak etanol daun, $p > 0,05$ untuk ekstrak etanol kulit batang, dan $p > 0,05$ untuk ekstrak etanol getah menunjukkan tidak terdapat perbedaan luas zona hambat yang signifikan antara masing-masing konsentrasi ekstrak $p < 0,05$ (Tabel 1).

Lalu dilanjutkan dengan *Post Hoc test*, *Least Significant Difference (LSD) test* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar tiap individu perlakuan. Hasil uji beda lanjut untuk kelompok ekstrak etanol daun konsentrasi 25% dan kontrol negatif memperlihatkan nilai $p < 0,05$ terhadap semua kelompok ekstrak lainnya menunjukkan bahwa

hanya kelompok ekstrak daun konsentrasi 25% dan kelompok kontrol negatif yang terdapat perbedaan luas zona hambat yang signifikan.

DISKUSI

Hasil penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun, kulit batang, dan getah Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* seperti yang ditunjukkan pada tabel 1. Hasil penelitian ini dibuktikan dengan adanya daerah bening pada semua konsentrasi ekstrak yang dilakukan perlakuan. Jawetz (2012) menyatakan bahwa daerah bening disekitar disc merupakan kekuatan hambatan zat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Bell dalam Suciati (2012), bahwa suatu bahan dikatakan memiliki efek antibakteri apabila diameter zona

hambat yang terbentuk sama dengan atau lebih besar dari diameter disc yaitu 6 mm.^{13,14}

Kategori kekuatan daya antibakteri menurut Davis dan Stout (1971) berdasarkan zona hambat yang dikurangi dengan diameter disc yaitu sebesar 6 mm dalam metode *disc diffusion* diinterpretasikan bahwa ekstrak etanol daun Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) dengan konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri lemah. Sedangkan ekstrak etanol daun konsentrasi 50% dan 75%, serta kulit batang, dan getah Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) dengan masing-masing konsentrasi 25%, 50%, dan 75% memiliki aktivitas antibakteri sedang terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian ini sependapat dengan Suwondo (2007) bahwa ekstrak getah Angsana mempunyai aktivitas antibakteri pada *Streptococcus mutans* serotipe C.¹¹

Diameter zona hambat ekstrak etanol daun Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) mengalami peningkatan sesuai dengan ditingkatkannya konsentrasi ekstrak yang diuji. Hal ini juga berlaku sama pada hasil penelitian ekstrak etanol getah Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*). Namun tidak demikian untuk ekstrak etanol kulit batang Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*). Pada ekstrak etanol kulit batang Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) daya hambat tertinggi berada di titik tengah yaitu pada konsentrasi 50%, lalu kembali menurun daya hambatnya pada konsentrasi 75%, tetapi tetap lebih besar bila dibanding dengan konsentrasi 25%. Fenomena yang sama juga terjadi pada hasil uji zona hambat yang dilakukan oleh Elifah (2010), bahwa diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. Jenis

dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu. Ketidakteraturan besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji adalah pada waktu pengeringan disk yang tidak sama. Oleh karena itu, menyebabkan zona hambat pada konsentrasi 75% terjadi penurunan. Disk yang waktu pengeringannya cukup lama, saat diletakkan diatas media pembenihan bakteri maka luas daerah zona hambatnya kecil, zona ini terbentuk dari ekstrak yang terdifusi dari disk ke media agar. Pada disk yang waktu pengeringannya hanya sebentar, saat diletakkan diatas media pembenihan bakteri, ekstrak yang masih menempel langsung menyebar disekeliling disk dan cepat berdifusi ke media agar sehingga membentuk zona hambat yang lebih besar.^{15,16}

Ditinjau dari senyawa aktifnya, hasil penelitian ini sependapat dengan penelitian yang dilakukan oleh Sinarsih (2016) bahwa adanya kinerja antibakteri yang tidak stabil pada konsentrasi tinggi kemungkinan disebabkan karena senyawa-senyawa metabolit sekunder umumnya memiliki batas kemampuan dalam bioaktivitasnya. Sehingga pada peningkatan konsentrasi tertentu senyawa metabolit sekunder tidak memberikan peningkatan respon yang signifikan atau tidak berbeda nyata. Hal ini juga mungkin berkaitan dengan pelarut etanol yang digunakan dalam ekstrak. Pelarut etanol merupakan pelarut yang memiliki spektrum luas untuk melarutkan senyawa dalam tumbuhan. Sifat tersebut mengakibatkan senyawa polar atau pun nonpolar yang tidak memiliki aktivitas antibakteri ikut terekstraksi. Pada saat tingkat konsentrasi ekstrak etanol daun tinggi, konsentrasi senyawa-senyawa yang tidak memiliki aktivitas antibakteri juga semakin tinggi sehingga menyebabkan

laju difusi senyawa aktif menjadi berkurang sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga tidak dapat maksimal.¹⁷

Beberapa senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam tanaman ini dan diduga mempunyai daya hambat antibakteri antara lain seperti senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid.^{7,8,9,18}

Senyawa flavonoid yang merupakan kandungan khas tumbuhan hijau yang terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu dan kulit. Flavonoid memiliki efek farmakologis sebagai bahan antibiotik alami yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, virus maupun jamur. Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah hidroksil. Perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid tersebut akan mengalami lisis dan mati.^{19,20}

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat didalam Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) yang memiliki efek antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.^{21,23}

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis, jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida sehingga akhirnya sel bakteri tidak dapat tumbuh dan berkembang.^{23,24}

Senyawa terpenoid yang terdapat dalam Angsana dapat menghambat bakteri yang menyebabkan perubahan komposisi membran sel, sehingga membran sel mengalami kerusakan. Senyawa tersebut dapat berinteraksi dengan protein membran yang menyebabkan lisis atau pecahnya isi sel sehingga semua materi dalam sel keluar dan selnya tidak berfungsi lagi atau mati.²²

Metabolit sekunder lainnya yang ditemukan Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) adalah tannin yang terbukti memiliki efek antibakteri pada bakteri Gram Positif maupun Gram Negatif. Mekanisme tannin sebagai antibakteri yaitu dapat menginaktivasi sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel melalui enzim yang terkait pada membran sel dan polipeptida dinding sel.^{25,26}

Setiap golongan senyawa aktif memberikan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah nutrisi, suhu, pH, dan kelembapan. Kemampuan bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga dapat dipengaruhi oleh sifat dinding sel bakteri itu sendiri.²⁵ Penelitian ini membuktikan bahwa metabolit sekunder yang terdapat didalam ekstrak etanol ketiga jenis bagian Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) yang telah disebutkan diatas, memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri yang ada dalam ekstrak etanol daun, kulit batang, dan getah Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) kemungkinan besar disebabkan oleh beberapa metabolit sekunder tersebut, sehingga mekanisme yang terjadi bukan mekanisme spesifik dari satu senyawa metabolit sekunder.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
2. Ekstrak etanol kulit batang Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
3. Ekstrak etanol getah Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
4. Daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang paling kuat berturut-turut adalah ekstrak etanol daun > ekstrak etanol getah > ekstrak etanol kulit batang Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Farmakologi dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman yang telah memberikan sarana untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Iswandanis, W. Gambaran Pengetahuan Anak Usia 7 sampai dengan 12 Tahun tentang Oral Hygiene berdasarkan Karakteristik di SD Jalan Anyar Kota Bandung. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia; 2015.
2. Kristanti, Hapsari, D., & Pradono, J. Status Kesehatan Gigi dan Mulut di Indonesia. Analisis Data Survei Kesehatan Rumah tangga (SKRT). Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Department, Kesehatan Republik Indonesia; 2011.
3. Fejerskov, O., & Kidd, E. Dental Caries: The Disease and its Clinical Management (2nd ed.). Australia: Blackwell Munksgaard; 2008.
4. Isnarianti, R., Wahyudi, I., & Puspita, R. Muntingia calabura L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus mutans*. Journal of Dentistry Indonesia; 2013; 20(2); 59-63.
5. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Formularium Ramuan Etnomedisin Obat Asli Indonesia (Vol. 3). Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan RI; 2013.
6. Biofarmaka IPB. Herbal Plants Collection Temulawak; 2013. Diunduh dari <http://biofarmaka.ipb.ac.id/biofarmaka/2015/BCCS%20Herbal%20Plants%20Collections%20Temulawak.pdf>
7. Krishanaveni, K., & Rao, J. An Isoflavone from *Pterocarpus santalinus*, *Phytochemistry*; 2000; 53.
8. Fatimah, C. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus Willd.*) secara In Vitro, Jurnal Ilmiah PANNMED (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwifery, Environment, Dentist); 2006; 1(1).
9. Gunawan, V. C. Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Tanin pada Kulit Batang Angsana (*Pterocarpus Indicus Willd.*). (Thesis, Universitas Ubaya, Surabaya); 2010. Diunduh dari <http://digilib.ubaya.ac.id/pustaka.php/131832>
10. Vinori, Y. Isolasi Terpenoid dari Kulit Tumbuhan Angsana (*Pterocarpus Indicus Willd.*). (Skripsi tidak dipublikasikan). Universitas Negeri Padang, Padang; 2002.
11. Suwondo, S. Skrining Tumbuhan Obat yang Mempunyai Aktivitas Antibakteri Penyebab Karies Gigi dan Pembentuk Plak. Jurnal Bahan Alam Indonesia; 2007; 6 (2).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute.. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition, CLSI Document M02-A11. Wayne: Author; 2012.
13. Jawetz, Melnick, & Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran (25 ed.). (A. Adityaputri, Penyunt., & A. W. Nugroho, Penerj.) Jakarta: EGC; 2012.
14. Suciati, A., Wardiyanto, & Sumino. Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan; 2012; 1(1).
15. Elifah, E. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum* D.Don) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. (Skripsi tidak dipublikasikan). FMIPA Universitas Negeri Surakarta, Surakarta; 2010.
16. Syarif, N., & Panagan, T. A. Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (*Tristania abavata*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Universitas Sriwijaya: Sumatera Selatan; 2009.

17. Sinarsih, N. K., Rita, W. S., Puspawati, N. M. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Chemistry*; 2016; 4(2).
18. Yulianti, R. Standardisasi Ekstrak Etanol Daun Angsana. Jakarta: UIN Syarifhidayatullah; 2013. Diunduh dari: <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/26472/1/RISDA%20YULIANTI-FKIK.pdf>
19. Gunawan, A. W. I. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*. Skripsi. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mahasaraswati Denpasar; 2009.
20. Susilowati, A., & Andi, B. Pengaruh Getah Tanaman jarak Pagar *Jatropha curcas* L) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Skripsi. Semarang: Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro; 2014.
21. Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yamego, S., Mantesano, C., Simpo, J., Traore. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida Acuta*. *African Journal of Biotechnology*; 2006; 5(2); 195-200. Diunduh dari <http://www.academicjournals.org/AJB>.
22. Kurniawan, B., & Aryana, W.F. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *Majority Journal*; 2015; 4(4); 100-104.
23. Darsana, I. G. O., Besung, I. N. K., dan Mahatmi, H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara in vitro, *Indonesia Medicus Veterinus*; 2012; 1(3); 337– 51.
24. Astarina, N. W. G., K. W. Astuti, N. K. Warditiani. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). 2013; Diunduh dari <http://ojs.unud.ac.id/index.php/jfu/article/download/7399/5649>
25. Maftuhah, D., Bintari, S. H., Mustikaningtyas, D. Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Unnes Journal of Life Science*; 2015; 4(1); 60-65. Diunduh dari <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/UnnesJLifeSci>
26. Ismarani. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. 2013; 3(2); 46-55.