

ABSTRAK

Tanaman miana (*Coleus scutellarioides* L. Benth) merupakan tanaman hias yang memiliki potensi sebagai antibakteri karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun miana terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Simplisia daun miana sebanyak 900 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari, menghasilkan ekstrak kental sebanyak 111,24 gram dengan rendemen sebesar 12,36%. Uji daya hambat dilakukan menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi ekstrak 10%, 20%, dan 30%. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi 10% menghasilkan zona hambat rata-rata 4,78 mm (kategori lemah), sedangkan konsentrasi 20% dan 30% menghasilkan zona hambat masing-masing 5,26 mm dan 5,37 mm (kategori sedang). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun miana memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan efektivitas yang meningkat seiring peningkatan konsentrasi.

Kata kunci : Ekstrak daun miana, *Streptococcus mutans*, uji daya hambat antibakteri

Abstract

Miana plant (*Coleus scutellarioides* L. Benth) is an ornamental plant that has potential as an antibacterial because it contains secondary metabolite compounds such as flavonoids, tannins, and terpenoids. This study aims to determine the antibacterial effectiveness of miana leaf extract against the growth of *Streptococcus mutans*. Simplisia of 900 grams of miana leaves were extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent for 3 days, producing a thick extract of 111.24 grams with a yield of 12.36%. Inhibition tests were carried out using the disc diffusion method against *Streptococcus mutans* bacteria with extract concentrations of 10%, 20%, and 30%. The results showed that the 10% concentration produced an average inhibition zone of 4.78 mm (weak category), while the 20% and 30% concentrations produced inhibition zones of 5.26 mm and 5.37 mm respectively (medium category). Based on these results, it can be concluded that the ethanol extract of miana leaves has antibacterial activity against *Streptococcus mutans* with increasing effectiveness as the concentration increases.

Keywords: Miana leaf extract, *Streptococuss mutans*, antibacterial inhibition test.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang sering terjadi, baik yang menginfeksi anggota tubuh maupun pada rongga mulut. Infeksi diakibatkan adanya kuman yang sebenarnya merupakan flora normal pada rongga mulut. Kebanyakan infeksi yang berasal dari rongga mulut bersifat campuran (polimikrobial). Secara umum, infeksi rongga mulut disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* (Baker et al., 2023). Bakteri ini adalah salah satu flora normal rongga mulut. Sifat oportunistiknya memungkinkannya menjadi patogen penyebab karies gigi (Liu et al., 2023). Karies gigi sering kali disebabkan oleh *Streptococcus mutans*, dan hal ini signifikan.

Miana (*Couleur Scutellarioides* L. Benth) merupakan tanaman hias berwarna merah kehitaman yang sangat berkhasiat, dimana daunnya mengandung tanin, steroid, alkaloid, kumarin, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan polifenol, zat-zat alkaloida, mineral serta sedikit lendir (Ariyanti et al., 2007). Kandungan kimia tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang berguna bagi tumbuhan sendiri dan bagi lingkungannya, termasuk memiliki khasiat obat untuk manusia (Supriatna, 2015).

Keberadaan metabolit sekunder menjadi faktor penting melalui mekanismenya terhadap bakteri. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria et al., 2009). Tannin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan adhesin sel mikroba juga menginaktivkan enzim, dan mengganggu

transport protein pada pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Menurut Sari dan Sari (2011), tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Selain itu, menurut Akiyama et al. 2001, kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin.

Berdasarkan penelitian Yusriyani et al. (2023), ekstrak etanol daun miana merah (*coleus benth*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 20% dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata 7,2 mm.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian terhadap daun Miana *Couleus Scutellarioides* L. Benth dengan membuat ekstrak etanol daun miana Miana *Couleus Scutellarioides* L. Benth dan diuji daya hambat antibakterinya terhadap *Streptococcus mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ?
2. Pada konsentrasi berapakah ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
2. Untuk mengetahui pada konsentrasi berapakah ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukannya penelitian ini diharapkan adalah sebagai berikut:

1. Bagi Peneliti
Memperoleh informasi mengenai efektivitas ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
2. Bagi Masyarakat
Memperoleh informasi mengenai pemanfaatan ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth).
3. Untuk Ilmu Pengetahuan dan Teknologi
Memberikan informasi secara ilmiah mengenai daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sebagai antibakteri sehingga bisa dikembangkan lebih lanjut lagi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Tanaman

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Daun Miana (*Couleur Scutellarioides* L. Benth)

Daun miana adalah daun dari tumbuhan miana, merupakan daun tunggal, panjang tangkai 3-4 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung, ujung meruncing, tepi beronggit, tulang daun menyirip jelas (berupa alur) berbentuk gambaran seperti jala, permukaan daun agak mengkilap, berambut halus, panjang 7-11 cm, lebar 3,5-6 cm, berwarna ungu kecoklatan sampai ungu kehitaman (Kinho et al., 2011).



Gambar 2.1 Tanaman miana (*Couleur Scutellarioides* L. Benth)

(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2024)

klasifikasi tanaman daun miana (*Couleur Scutellarioides* L. Benth) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Lamiales</i>
Famili	: <i>Lamiaceae</i>
Genus	: <i>Couleur</i>

Spesies : *Couleus Scutellarioides* (L.) Benth. (Untan , 2024)

2.1.2 Morfologi Tanaman Daun Miana

Couleus adalah salah satu marga tumbuhan dari family *lamiaceae* yang persebarannya ini ditemukan hampir di seluruh pelosok Nusantara. Miana dapat tumbuh di daerah rendah sampai ketinggian 1500 meter di atas permukaan laut. Miana juga dapat ditemukan di sekitar sungai atau pematang sawah atau di tepi-tepi jalan pedesaan sebagai tumbuhan liar. Bagian yang menyentuh tanah biasanya keluar akar dan apabila diremas akan mengeluarkan bau yang harum. Batang persegi empat dengan alur yang agak dalam pada masing-masing sisinya, berambut, percabangan banyak, berwarna ungu kemerahan. Berdaun tunggal, panjang tangkai 3-4 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung, ujung meruncing, tepi bergerigi, tulang daun menyirip jelas (berupa alur) berbentuk gambaran seperti jala, permukaan daun agak mengkilap, berambut halus, panjang 7-11 cm, lebar 3,5-6 cm berwarna merah kecoklatan hingga merah kehitaman (Haswira, 2006).

2.1.3 Manfaat Daun Miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth)

Daun Miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) merupakan tanaman hias berwarna merah kehitaman yang sangat berkhasiat, dimana daunnya mengandung tanin, steroid, alkaloid, kumarin, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan polivenol, zat-zat alkaloida, mineral serta sedikit lendir (Ariyanti et al., 2007). Tanin bertindak sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dalam berbagai cara. Tanin memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri melalui mekanisme perlekatan pada membran sel bakteri, yang merusak dinding sel dan mengganggu metabolisme bakteri. Mekanisme ini dapat menghentikan pertumbuhan bakteri

dan membantu mengendalikan infeksi *Streptococcus mutans* (Masduki, 1996). Flavonoid mencegah perkembangan mikroba dengan masuk ke dalam sel dan menyebabkan koagulasi protein pada membran sel, yang merusak struktur protein, dinding sel, membran sitoplasma, dan permeabilitas menjadi tidak stabil, dan kontrol protein sel *Streptococcus mutans* terganggu, yang menyebabkan sel lisis (Makarewicz et al., 2021). Dalam daun miana juga terkandung antosianin yang telah banyak digunakan sebagai pewarna khususnya minuman. Tangkeallo dan Widyaningsih (2014) dalam penelitiannya berhasil membuat serbuk minuman instan berbasis daun miana, serbuk minuman ini bermanfaat sebagai sumber antioksidan karena mengandung senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antioksidan. Karena senyawa ini merupakan sekelompok zat warna kemerahan yang larut dalam air dan tersebar luas pada tumbuhan. Oleh karena itu dapat digunakan sebagai pewarna alami. maka daun miana ini memiliki khasiat dan manfaat yang dapat dikembangkan di bidang kesehatan terutama untuk menggantikan obat-obat kimia.

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang di pergunakan sebagai obat yang belum Simplisia dapat berupa bahan simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican atau mineral. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya Eksudat tanaman dapat berupa zat-zat atau bahan nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan atau diisolasi dari tanamannya (Depkes RI, 1985)

Pada umumnya pembuatan simplisia meliputi tahapan sebagai berikut (Depkes RI, 1985)

1. Pengumpulan bahan baku

Tahapan pengumpulan bahan baku sangat menentukan kualitas bahan baku dan untuk memperoleh bahan baku yang memenuhi standar mutu, menghindari terbuangnya hasil panen pasca percuma agar semua hasil panen dapat dimanfaatkan sesuai harapan.

2. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lain dari bahan simplisia.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah atau pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air mengalir sehingga kotoran yang lepas tidak menempel kembali. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air mengalir dilakukan pencucian dalam waktu sesingkat mungkin.

4. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah pengeringan, pengepakan, dan penggilingan.

5. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam kurun waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan sampai kadar air $<10\%$, sebab pada kadar air tersebut reaksi enzimatis akan berhenti dan tidak akan timbul pembusukan atau tumbuh jamur.

6. Sotrasi kering

Memisahkan simplisia yang sudah kering dari bahan pencemar (adanya kontaminasi dari mikroorganisme seperti bakteri dan jamur yang dapat merusak kualitas simplisia) yang masih ada.

7. Pengepakan

Simplisia harus dikemas dalam wadah yang sesuai dengan sifat simplisianya.

8. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam satu wadah yang tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia yang satu dengan yang lainnya. Selanjutnya, wadah-wadah yang berisi simplisia disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia tanaman dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan cara yang tepat sehingga diperoleh hasil yang secara kualitatif dan kuantitatif memenuhi persyaratan. Ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut organik terhadap bahan segar maupun bahan kering. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar, sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan menggunakan pelarut non polar (Harbone, 1996).

Ekstraksi dikerjakan untuk simplisia yang mengandung zat-zat yang berkhasiat atau zat-zat lain untuk keperluan tertentu. Tujuan utama ekstraksi ialah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan dari zat-zat yang tidak berfaedah, agar lebih mudah dipergunakan

dibandingkan simplisia asal, dan tujuan pengobatannya lebih terjamin (Syamsuni, 2006).

Dalam proses ekstraksi, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan antara lain (Harbone, 1996):

1. Jumlah simplisia yang akan diekstrak
2. Derajat kehalusan simplisia, semakin halus maka luas kontak permukaan akan semakin besar sehingga proses ekstraksi akan lebih optimal.
3. Jenis pelarut yang digunakan, hal yang perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi adalah senyawa yang memiliki kepolaran yang sama akan lebih mudah tertarik/terlarut dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama.
4. Lama waktu ekstraksi, menentukan banyaknya senyawa-senyawa yang terambil. Ada waktu saat pelarut/ekstrak jenuh maka semakin lama dilakukannya ekstraksi maka semakin bertambah banyak pula senyawa-senyawa yang tertarik oleh pelarut.
5. Metode ekstraksi (termasuk suhu yang digunakan). Terdapat banyak metode ekstraksi namun secara ringkas dapat dibagi berdasarkan penggunaan panas sehingga ada metode ekstraksi dengan cara panas serta tanpa panas. Metode panas digunakan jika senyawa-senyawa yang terkandung sudah dipastikan tahan panas.
6. Proses ekstraksi menentukan hasil ekstrak. Beberapa proses ekstraksi menghendaki kondisi yang terlindung dari cahaya terutama pada proses ekstraksi bahan-bahan yang mengandung kumarin dan kuinon. Ekstrak bisa dilakukan secara batch atau secara kontinu. Umumnya pada ekstrak

yang dibuat dengan skala industri dilakukan secara kontinu. Ekstrak bisa juga dilakukan secara static (tanpa pengadukan) atau dengan proses dinamik (dengan pengadukan).

2.4 Maserasi

Maserasi adalah proses penarikan zat pada simplisia dengan merendam simplisia tersebut dalam larutan penyari menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruang. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam larutan penyari. Larutan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang berada didalam sel dan yang berada diluar sel (Ansel, 1989).

Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan digantikan oleh larutan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Selama proses maserasi dilakukan pengadukan atau penggantian cairan penyari setiap hari. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan zat aktif. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan penyari akan semakin baik hasil yang diperoleh. Maserasi dilakukan untuk ekstraksi simplisia yang mengandung zat-zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung zat-zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, atau pelarut lain. Bila cairan penyari yang digunakan adalah air maka untuk mencegah timbulnya kapang dapat ditambahkan zat pengawet yang diberikan pada saat proses awal penyarian. Metode ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode maserasi (Voight, 1994).

2.5 Tinjauan Tentang *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang secara alami ada di dalam rongga mulut manusia, terutama di permukaan gigi, lidah, pipi, dan dalam air liur. Dengan lokasi yang lebih spesifik pada plak gigi yang merupakan sebuah biofilm multispecies yang terbentuk pada permukaan gigi yang keras. Bakteri ini umumnya dijumpai di mulut setiap orang dan memegang peranan penting di antara semua bakteri yang menempati area- area tersebut. *Streptococcus mutans* menjadi penghuni utama rongga mulut dan seringkali lebih banyak terdapat pada gigi yang memiliki lubang atau celah, menyumbang pada persentase yang signifikan dari total *Streptococcus* dalam rongga mulut (Lemos et al., 2019).

2.5.1 Klasifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Menurut Jawetz dkk 2005 klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>



Gambar 2.2 Bakteri *Streptococcus mutans* (Steve, 2023)

2.5.2 Deskripsi Gambar Bakteri *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans memiliki sel yang berbentuk bulat atau lonjong dengan diameter sekitar 1 μm , yang biasanya tersusun dalam bentuk rantai atau berpasangan. *Streptococcus mutans* termasuk dalam kategori bakteri Gram positif dikata kan bakteri Gram positif coccus karena pada saat pewarnaan Gram bakteri bakteri ini berwarna ungu dan berbentuk bulat menurut Fanourgiakis (2003). bersifat alfa hemolitik, dan bersifat fakultatif dalam kebutuhan oksigennya. Morfologi *Streptococcus mutans* pada media agar mitis salivarius terlihat dalam bentuk koloni dengan diameter antara 0,1 hingga 1 mm. Koloni ini bersifat keras, mirip dengan buah raspberry, dan menonjol setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam lingkungan anaerob (Asri & Hartatiek, 2017).

2.5.3 Patogenitas Bakteri *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans adalah bakteri gram-positif yang dapat menyebabkan karies gigi. Bakteri ini secara alami tumbuh di dalam rongga mulut manusia, terutama pada permukaan gigi. Bakteri ini dapat membentuk biofilm pada permukaan gigi dan menghasilkan asam yang dapat merusak lapisan email gigi. Selain itu, bakteri ini dapat menyebabkan endokarditis bakterial sub-akut, yang merupakan peradangan pada katup jantung.

Kemampuan *Streptococcus mutans* untuk bertahan di lingkungan yang didominasi telah memungkinkan mereka untuk mengembangkan cara untuk mempertahankan keberadaannya di dalam biofilm gigi (Lemos et al., 2019).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri. Ada 3 cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode silinder, dan metode cakram (Pratiwi, 2008). Uji aktivitas dengan metode cakram kertas metode kertas cakram merupakan metode yang di gunakan untuk menguji aktivitas anti mikroba. Kepekaan mikro organisme pathogen maupun non pathogen terhadap zat uji terlihat dari ukuran zona bening yang terbentuk. Kertas cakram yang di gunakan adalah kertas cakram saring yang mengandung zat anti mikroba tertentu. Hasil yang di dapat dari uji ini berupa zona hambat (diameter zona hambat yang menunjukkan kemampuan uji dalam menghambat pertumbuhan mikro organisme (Ariani et al., 2018).

2.7 Uji Daya Hambat

Uji daya hambat antibakteri adalah suatu metode untuk menguji kemampuan suatu zat atau senyawa untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Uji ini dilakukan dengan menempatkan zat atau senyawa tersebut pada media pertumbuhan bakteri dan mengamati apakah bakteri tumbuh atau tidak. Jika bakteri tidak tumbuh, maka zat atau senyawa tersebut memiliki daya hambat antibakteri (Magvirah et al., 2020). Uji daya hambat antibakteri penting dilakukan untuk mengetahui efektivitas suatu zat atau senyawa dalam

menghambat atau membunuh bakteri, sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar dalam pengembangan obat-obatan atau produk-produk sanitasi (Rohimah et al., 2021).

2.8 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Beberapa metode yang bisa dilakukan dalam pengukuran daya antibakteri untuk zona hambat pada suatu sediaan adalah sebagai berikut:

1. Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi (Brooks, 2007).

Pada metode difusi dapat dilakukan dengan 3 metode:

a. Metode Cakram (*Disk*)

Cara ini merupakan yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada metode ini, digunakan suatu cakram kertas saring yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang

diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri.

Kelebihannya adalah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode *cakram disk* biasanya sulit untuk diinterpretasikan (Maradona, 2013). Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit (Maradona, 2013).

Tabel 1. Kekuatan Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat	Kriteria kekuatan
< 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20mm	Sangat kuat

(Sumber: David dan stout, 1971)

b. Cara Parit (*Ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum

yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang terbentuk disekitar parit (Maradona, 2013).

c. Cara Sumuran (*Hole/cup*)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang (Maradona, 2013).

2. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan prinsip pengenceran antibakteri sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi bakteri dalam media. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, jika ada diamati tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri dengan cara menghitung jumlah koloni (Hasibuan, 2016). Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yang diuji (Brooks et al., 2007).

Metode dilusi dapat dibedakan menjadi dua, yaitu:

a. Metode dilusi cair (*Broth Dilution Test*)

Metode ini digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri

pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun agen antibakteri, dan diinkubasi selama 18 –24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Hasibuan, 2016).

b. Metode dilusi padat (*Solid Dilution Test*)

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Pada dilusi padat tiap konsentrasin obat dicampurkan dengan media agar lalu ditanami bakteri dan diinkubasi. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa bakteri uji (Hasibuan, 2016).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Dalam penelitian ini, alat-alat yang akan digunakan adalah autoclave (*American 75 x*), Batang pengaduk, Batang L, Baskom, Cawan petri, Enkas, Erlenmeyer (*pyrex*), Breaker gelas (*pyrex*), Gelas ukur (*pyrex*), Incubator (*memmert*), Lampu spritus, Jangka sorong (*insize*), Kertas saring, Kertas sampul, Mikro pipet (*dragon med*), Neraca analitik (HWH), Oven (*memret incubator IN30*), Ose, Tabung reaksi (*pyrex*), Toples kaca dan Vacuum rotary evaporator (*scilogex*).

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan penelitian ini adalah daun miana, alkohol dan aquadest pro injeksi, bakteri *Streptococcus mutans*, etanol 96%, larutan NaCl fisiologis, medium Nutrient Agar (NA).

3.3 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2024 – Maret 2025. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak dan Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Miana *Couleus Scutellarioides* L. Benth Terhadap Bakteri *Straptococcus muntas*. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak.

3.4 Determinasi Tanaman Miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth)

Proses Tujuan dilakukannya determinasi tanaman untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama yang digunakan dalam penelitian.

Determinasi tanaman miana dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Tanjungpura Pontianak Kalimantan Barat.

3.4.1 Pengelolaan Sampel

1. Pembuatan Simplisia Daun Miana

Sampel daun miana yang diambil dari kota Pontianak yaitu daun miana. Bagian yang digunakan adalah daun yang masih segar. Langkah pertama yaitu disortasi daun miana yang sudah dikumpulkan untuk memisahkan bagian yang rusak, kemudian dicuci sampai bersih dengan air mengalir. Daun miana yang telah dibersihkan kemudian dirajang menjadi ukuran yang lebih kecil untuk selanjutnya dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara dijemur secara tidak langsung, yaitu dikeringkan di ruangan dan ditutup dengan kain hitam. Daun miana yang sudah kering selanjutnya dibuat serbuk dengan cara diblender hingga menjadi serbuk simplisia (Sari, Sanitasari, dan Widyasari 2022).

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\%$$

2. Ekstraksi Daun Miana

Serbuk simplisia Daun miana diekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari menggunakan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dilakukan selama 1 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat ditampung dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator (Astuti, Lestari, dan Nurviana 2021).

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang di peroleh (gram)}}{\text{bobot simplisia sebelum di ekstraksi (gram)}} \times 100\%$$

3.4.2 Sterilisasi Alat

Seluruh alat-alat gelas terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan dan alat yang akan digunakan selanjutnya disterilkan dalam oven yaitu pada suhu 170°C selama 2 jam (Ikenganyia, et al., 2017). Jarum ose disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala Bunsen. Untuk cawan petri dan pipet tetes disterilkan menggunakan larutan etanol 96%. (Dewi Handayani, Nurhamidah, 2021). Sudip dan pipet tetes direndam dengan etanol 96%, jarum ose dan pinset disterilkan dengan dipijarkan menggunakan nyala Bunsen. Media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. (Lay dan Hastowo, 1992).

3.4.3 Pembuatan Media NA

Media pembenihan Nutrient Agar (NA) dibuat dengan melarutkan 4 gram NA ke dalam 200 mL aquades dan dipanaskan hingga larut. Selanjutnya disterilkan didalam *inkubator* selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. (Handayani dan Nurhamidah, 2021)

3.4.4 Peremajaan Bakteri

Diambil 1 ose bakteri uji *Streptococcus muntas* kemudian digoreskan kedalam media NA miring dan diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C. (Yusrina, 2014)

3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bertujuan untuk mengencerkan bakteri uji yang pekat sehingga bakteri dapat menyebar sempurna dan homogen ke dalam media agar Penggunaan NaCl 0,9% bertujuan agar tekanan osmosa sel-sel bakteri sama

dengan tekanan osmosa cairan tubuh sehingga tidak terjadi kematian sel (lisis) (Suriawiria, 1996).

Pembuatan larutan suspensi dibuat dengan diambil dengan 1 ose bakteri, dimasukan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, dengan biakan murni didalam tabung reaksi dan dikocok sampai homogen (Yusrina, 2014).

3.4.6 Metode Sterilisasi Kering

Sterilisasi kering dilakukan dengan menggunakan oven. Alat yang akan disterilkan adalah cawan petri, tabung reaksi, kertas cakram dan batang pengaduk. Kemudian alat yang akan disterilkan dimasukan kedalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Ose disterilkan dengan cara pemijaran pada nyala api spiritus.

3.4.7 Metode Sterilisasi Basah

Sterilisasi basah dilakukan dengan menggunakan autoklaf. Alat yang akan disterilkan dalam metode ini adalah Erlenmeyer, gelas beaker, medium nutrient agar dan gelas ukur dengan cara alat-alat yang digunakan dicuci bersih dengan sabun lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Alat-alat yang akan digunakan untuk uji mikrobiologis dibungkus dengan kertas sampul dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5 Peremajaan Bakteri

Masukan 10 ml medium NA (*Nutrien Agar*) ke dalam tabung reaksi dan letakkan tabung reaksi dengan posisi miring dan biarkan hingga padat. Diinokulasikan sebanyak 1 ose bakteri uji pada medium agar miring NA (*Nutrien Agar*) dalam tabung reaksi dengan cara menggoreskan zig-zag secara aseptik,

kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didalam inkubator (Tandah, 2016).

3.6 Penyiapan Cakram Disk

Kertas *cakram disk* dengan diameter 1 cm disiapkan kemudian direndam kedalam formula masing-masing larutan sampel yang akan digunakan dan direndam selama 15 menit, dilakukan secara aseptik kemudian setelah direndam didalam larutan sampel dan kertas *cakram disk* siap digunakan diletakkan pada media yang digunakan untuk siap dilakukan uji (Husnani & Rizki, 2018).

3.7 Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Cakram Disk

Bakteri hasil isolasi disupensikan dengan mengambil 1 ose dimasukkan kedalam 10 ml NaCl fisiologis (Tandah, 2016). Pengujian daya hambat ekstrak daun miana (*Couleus Scutellarioides* L. Benth) dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Suspensi bakteri uji dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan 10 ml medium Na steril yang telah didinginkan sampai suhu 40°C-45°C. Cawan petri ditutup dan digoyang-goyangkan hingga tercampur homogen, lalu dibiarkan sampai membeku.

Selanjutnya, kertas cakram yang telah di rendam dalam sampel pada masing-masing dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% diletakakn pada permukaan medium Nutrient Agar (NA) yang telah berisi bakteri uji kemudian diinkubasi didalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik (Meiriza et al., 2019) Hal ini dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali replikasi.

3.8 Pengamatan dan pengukuran Diameter Zona Hambat / Bunuh

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat/bunuh. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Jangka sorong, sebagai alat ukur panjang, yang memiliki tingkat ketelitian mencapai 0,01 cm atau 0,1 mm. Selain digunakan untuk mengukur panjang suatu objek, alat ini juga berperan dalam pengukuran dimensi bagian dalam, bagian luar, dan mendeteksi kedalaman celah atau lubang pada benda.

Adapun dengan cara diukur diameter total zona bening/keruh cakram. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan (Lalamentik et al., 2017)

3.9 Analisis Data

Data hasil uji daya hambat ekstrak daun miana *couleus scutellarioides* L. benth terhadap pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans* akan dihitung secara manual dengan menggunakan rumus perhitungan diameter zona hambat. Pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk akan menggunakan satuan milimeter (mm). Setelah dihitung akan ditentukan kategori zona hambatnya. Hasil data tersebut akan disajikan dalam bentuk tabel. Adapun rumus perhitungan diameter zona hambat sebagai berikut:

Perhitungan zona hambat, apabila tidak ada zona hambat atau zona hambat terbentuk diameternya sama dengan diameter kertas cakram maka zona hambat dianggap 0 mm. Apabila dihasilkan bentuk yang bulat menggunakan rumus

$$\frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan:

Dv: Diameter vertikal

Dh: Diameter horizontal

Dc: Diameter cakram (Alamsyah Y et al., 2024)

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun Miana memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* .
2. Ekstrak daun Miana memiliki zona daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri pada semua konsentrasi yaitu 10% dengan rata-rata daya hambat sebesar 4,78 mm , 20% dengan rata-rata daya hambat sebesar 5,26 mm dan 30% dengan rata-rata daya hambat sebesar 5,37 mm terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan bahwa :

Untuk melakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak daun miana yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri, agar dapat dikembangkan menjadi bahan aktif potensial dalam produk farmasi atau kesehatan mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, H. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(4), 487-491. <https://doi.org/10.1093/jac/48.4.487>. Diakses pada tanggal 27 Juni 2018
- Ansel, H.C., 1989. *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi*. Edisi 4. UI Press.Jakarta. Halaman 96,147.
- Andries JR, Gunawan PN, dan Supit A. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. *Jurnal E-GiGi (EG)*, 2014; 2(2).
- Amiliah, Nurhamidah, & Handayani, D. (2021). Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 5(1), 92–105.
- Ariyanti T, dkk. (2007). *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Iler (Coleus atropurpureus L. Benth.) terhadap Infeksi Salmonella enteritidis pada Mencit (Mus musculus)*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner
- Baker, J. L., Mark Welch, J. L., Kauffman, K. M., McLean, J. S., & He, X. (2023). The oral microbiome: Diversity, biogeography and human health. *Nature Reviews Microbiology*, 1-16. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00963-6>
- Brooks, G. F., Janet, S. B., & Stephen A. M. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran: Jawetz, Melnick and Adelberg*. Edisi 23. Alih Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Cowan, M.M. 1994. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4):564-582.
- Depkes RI. 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Dirjen Bina Kesehatan Masyarakat.
- Dewatisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Sansevieria sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197.
- Davis WW, Stout TR. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure and its evaluation. *Applied Microbiology*. 1971 Oct;22(4):666–670. doi:10.1128/am.22.4.666-670.1971. PMID: 5002144.

- Fanourgiakis, P., A, Georgala., M, Vekemans., D, Daneau., C, Heymans., dan M, Aoun. 2003. "Bacteremia due to *Stomatococcus mucilaginosus* in neutropenic patients in the setting of a cancer institute". *Clinical Microbiology and Infection* 9(10):1068-1072.
- Haswira C.S. 2006. Isolasi dan identifikasi senyawa antibakteri daun terong pungo (*Solanum sp*). hasil penapisan tanaman dan hewan obat Aceh. [testis].
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi I, 9-10, ITB. Bandung.
- Husnani, H., & Rizki, F. S. (2018). Pengaruh Pembentuk Film Pva Pada Sediaan Masker Gel *Peel-Off* Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherina Palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat. *Jiffk : Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 15(2), 24.
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M.Y., Oskoueian, E. (2011). Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 12:3422-3431.
- Ikenganyia, E.E., M.A.N. Anikwe, T. E. Omeje, and J. O. Adinde. (2017). Plant tissue culture regeneration and aseptic techniques. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology* 1(3), 1-6.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. *Stafilokokus*. EGC (14).211-217.
- Juventus, A., Paulina, G., dan Aurelia., 2014. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. *J eG*, 2(2): 1-5.
- Kinho, J, dkk. (2011). *Tumbuhan Obat Tradisional Di Sulawesi Utara* Jilid I. Manado: Balai Penelitian Kehutanan Manado.
- Lay, B. W. dan S. Hastowo. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali Press: Jakarta.
- Liu, Y., Daniel, S. G., Kim, H.-E., Koo, H., Korostoff, J., Teles, F., Bittinger, K., & Hwang, G. (2023). Addition of cariogenic pathogens to complex oral microflora drives significant changes compositions in functionalities. 11(1), biofilm and Microbiome, 123. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01561-7>
- Lemos, J., Palmer, S., Zeng, L., Wen, Z., Kajfasz, J., Freires, I., Abranches, J., & Brady, L. (2019). The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology Spectrum*, 7(1), 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018>
- Lalamentik, G. J., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2017). Aktivitas

- Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Klyxum* sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado. *Pharmacon*, 6(3), 46–56.
- Murniwati, Djafri, D., Kurniawati, B., Susi -, & Minarni -. (2019). Efektivitas infusum daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Cakradonya Dental Journal*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.24815/cdj.v1111.13622>
- Magvirah, T., Ardhani, F., Peternakan Fakultas Pertanian, J., & Teknologi Hasil Pertanian, J. (2019). *Uji daya hambat bakteri Staphylococcus aureus menggunakan ekstrak daun Tahongai (Kleinhovia hospita L.) Bacterial Inhibitory Test of Staphylococcus aureus Using Leaf Extract of Tahongai (Kleinhovia hospita L.)*. 2, 2019.
- Maradona, D. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* L), Daun Lengkek (*Dimocarpus longan* Lour), dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L), Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Jakarta,
- Misna dan Khusnul Diana. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L). Terhadap Bakteri *Staphylococcus sureus*. *Journal of Pharmacy*. (2). Jurusan Farmasi, Fakultas Tropikal dan Kimia. Universitas Mulawarman Samarinda. 3(1): 12-21.
- N. A. Ariyanto and M. K. Usman, 'Pengaruh Variasi Kecepatan Feeding Pada CNC Router 3 Axis Dengan Material Aluminium Dan Acrylik', *Journal Mechanical Engineering*, vol. 7, no. 2, p. 18, 2018.
- Nugraheni IA, Setianah H, Wibowo DS. Aktivitas antibakteri dari bakteri endofit asal akar ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Biomedika*. 2021;13(1):48–55.
- Nuria, C., Faizatun, A., Sumantri. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha Curcas L) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Atcc 25923, Escherichia Coli Atcc25922, dan Salmonella Typhi Atcc1408*. *Jurnal Ilmu ilmu Pertanian.*, 5(2): 26-37.
- Nur Hidayat, I. A. D. dan D. A. H. (2016). Ekstraksi Minyak Melati (*Jasminum sambac*) (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Industria*, 4(2), 82–88.
- Nurlaili, F. A., P. Darmadji, & Pranoto, Y. (2014). Mikroenkapsulasi oleoresin ampas jahe (. *Agritech*, 34(1), 22–28. <https://doi.org/10.1111/tmi.12209>
- Pratiwi S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Yogyakarta.

- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 8–18. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v3i1.481>
- Supriyatna, A., D. Amalia, A. A. Jauhari dan D. Holydaziah. 2015. Aktivitas enzim amilase, lipase dan protease dari larva. Edisi Juli 9 (2): 1-15.
- Sari, Rizka F. 2011. Kajian Potensi Senyawa Bioaktif *Spirulina platensis* sebagai Antioksidan [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Semarang. Setyawan P.E, Yudha S. 2013. Optimalisasi ekstraksi dan uji stabilitas phycocyanin dari mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri* 2(2):61-67.
- Syamsuni, 2006, *Farmasetika Dasar Dan Hitungan Farmasi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 29-31.
- Sanitasari, Widyasari, R., & Sari, D. Y. (2022). Aktivitas Mukolitik Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa Hassk*) Secara In Vitro. *Komunitas farmasi nasional*, 2(1), 1-52.
- Sari, D. Y., Widiyantoro, A., & Alimuddin, A. H. (2018). Isolasi Brazilin Dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan Formulasinya Untuk Lipstik Batang. *Jurnal Ilmu Dan Terapan Kimia*, 3(1), 1–15.
- Suriawiria. (1995). *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Salimi, Yuszda K. 2021. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951-952. Daun Miana Sebagai Antioksidan & Antikanker.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). RENDEMEN EKSTRAK AIR REBUSAN DAUN TUA MANGROVE *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- Sari, F.P. dan Sari, S.M. (2011). Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha Multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Technical Report. Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Voigt. R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi (Edisi V)*. Penerjemah: Soendari Noerono. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Wahyuni, S., Pramudono, B., & Nugroho, R. A. (2018). Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 125–131.

- Wahyuni, L., et al. (2020). "Aktivitas Ekstrak Daun Suji (*Dracaena angustifolia*) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*." Jurnal Biotropikal, 7(1), 45-52.
- Yusriana C.S., Chrisnawan S.B., Trisna D. 2014. Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbhan Bakteri *Staplylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia Vol 5 (2): 1-7*. Politeknik Kesehatan Permata Indonesia. Yogyakarta.
- Yusriyani, Asfi D, Yuliasuti RK. Uji daya hambat ekstrak etanol daun miana merah (*Coleus benth*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*. 2023; 7(1): 14.