



AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN ILER (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.) TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi*

No	Nama Penulis (Lengkap, tidak disingkat, tanpa gelar)	Email
1	Dini Mardhiyani	dini.mardhiyani@univrab.ac.id
2	Dinda Aulia Irma	dinda.aulia.i@student.univrab.ac.id
3	Denia Pratiwi	denia.pratiwi@univrab.ac.id

^{1,3}Prodi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrah, Pekanbaru

²Prodi DIII Anafarma, Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrah

✉ dini.mardhiyani@univrab.ac.id (Penulis Korespondensi)

Abstrak

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat yaitu tanaman iler darah (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.). Secara empiris rebusan daun iler darah bermanfaat sebagai obat antibakteri atau antiradang, demam, diare, obat bisul, dan sebagainya. Daun iler darah mengandung senyawa seperti senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun iler darah terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun iler darah dengan menggunakan tiga konsentrasi yaitu konsentrasi 30%, 20%, dan 10%. Pada penelitian ini digunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif dengan masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menggunakan metode difusi cakram kertas. Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun iler darah memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* baik pada konsentrasi 30% (15,01 mm), 20% (10,08 mm) maupun pada konsentrasi 10% (7,52 mm).

Kata Kunci: Iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.); Bakteri; *Salmonella typhi*

 ©2022. Diterbitkan oleh Jurnal Edukasi Patriot. Artikel ini memiliki akses terbuka di bawah lisensi BY-NC <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

1. Pendahuluan

Secara empiris rebusan daun iler darah bermanfaat sebagai obat antibakteri atau antiradang, demam, diare, obat wasir maupun sebagai penambah nafsu makan. Daun iler darah mengandung senyawa polifenol, karvakrol, eugenol, etil salisilat, lendir, alkaloid, metil eugenol, phytosterol, kalsium oksalat, timol dan *camphor*. Kandungan kimia seperti senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri [1]. Salah satu bakteri yang masuk melalui mulut dan merupakan penyebab penyakit infeksi di dalam tubuh adalah *Salmonella typhi* [2]. Bakteri

berbentuk batang gram negatif ini merupakan penyebab penyakit demam tifoid atau tipus. Orang yang terinfeksi bakteri ini akan mengalami demam, diare, kram perut, mual dan sakit kepala [3]. Resistensi bakteri terhadap antibiotik saat ini terjadi peningkatan. Penelitian dan pengembangan obat-obat baru diharapkan bisa mengatasi permasalahan ini [4]. Daun iler merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mpila *et al.* [5] bahwa ekstrak etanol daun iler darah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi ekstrak etanol daun iler darah 20% (10,67 mm), 40% (11,17 mm), dan 80% (12,33 mm) merupakan konsentrasi efektif untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak etanol daun iler darah 10% (10,33 mm), 20% (11,17 mm), 40% (12,50 mm) dan 80% (14,17 mm) merupakan konsentrasi efektif untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan konsentrasi ekstrak etanol daun iler darah 40% (11,00 mm) dan 80% (11,83 mm) merupakan konsentrasi efektif untuk menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian lain yang menguji manfaat daun iler darah sebagai antibakteri dilakukan oleh Kumala dan Desi [6] yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun iler darah pada konsentrasi 10% dan 20% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Salmonella paratyphosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian diatas, belum ada informasi apakah ekstrak daun iler darah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji antibakteri ekstrak daun iler darah (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.) terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 30%, 20%, dan 10%.

2. Metode

2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun iler darah, aquades, spiritus, alkohol 70%, etanol 96%, bakteri *Salmonella typhi*, Media MHA (Mueller Hinton Agar), Disk kosong, Disk antibiotik kloramfenikol, H₂SO₄ (Asam sulfat), BaCl₂.2H₂O (Barium klorida dihidrat), NaCl (Natrium klorida) 0.9% steril dan DMSO (Dimetil Sulfoksida).

2.2 Prosedur Kerja

Pembuatan Simplisia

Sampel daun iler darah sebanyak 2 kg lalu disortasi basah lalu digunting kecil-kecil. Selanjutnya dikeringkan dengan cara dikering anginkan sampai kering. Kemudian dilakukan sortasi kering yaitu memisahkan kotoran dan debu yang menempel. Daun iler darah yang telah kering dihaluskan dengan blender dan dimasukkan simplisia daun iler yang telah halus ke dalam wadah bersih dan tertutup [7].

Pembuatan Ekstrak Etanol

Ditimbang 150 g simplisia daun iler darah dimasukkan ke dalam bejana kaca dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL. Dimaserasi selama 5 hari sambil

diaduk sesekali. Ekstrak etanol daun iler darah disaring kemudian ampasnya dimaserasi dengan pelarut etanol 96% yang baru sebanyak 500 mL selama 2 hari. Hasil maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental dikumpulkan untuk dibuat konsentrasi 30 %, 20 %, dan 10 %.

Membuat Larutan Ekstrak dengan Konsentrasi 30%, 20%, dan 10% [5]

1. Konsentrasi 30%
Ekstrak kental daun iler darah ditimbang sebanyak 3 gram kemudian dilarutkan dalam 10 ml DMSO.
2. Konsentrasi 20%
Ekstrak daun iler darah konsentrasi 30% dipipet sebanyak 6,6 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan DMSO hingga tanda batas dan diaduk hingga homogen
3. Konsentrasi 10%
Larutan ekstrak daun iler darah 20% dipipet sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan DMSO hingga tanda batas dan diaduk hingga homogen

Sterilisasi Alat

Alat dicuci sampai bersih lalu dikeringkan. Alat dibungkus dengan kertas dan disterilisasi menggunakan oven. Kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 170⁰ C selama 1 jam. Setelah cukup waktu dikeluarkan dari dalam oven.

Pembuatan Media

Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) ditimbang sebanyak 3,8 gram dan dimasukkan ke dalam erlemeyer 100 mL. Kemudian ditambahkan aquadest hingga 100 mL, dilarutkan sampai homogen diatas kompor, ditutup dengan kapas dan disterilkan di *autoclave*. Klep pipa *autoclave* ditutup rapat, maka suhu terus menerus akan naik sampai dengan suhu 121⁰C, lalu waktu diatur selama 15 menit. Setelah cukup waktu, klep pipa dibuka dan suhu akan turun sedikit demi sedikit. Media *Mueller Hinton Agar* dikeluarkan dari autoclave, lalu dituangkan kedalam masing-masing cawan petri dan dibiarkan beku.

Pembuatan Larutan Standar *Mc.Farland* (Standart Brown)

Dipipet sebanyak 9,5 mL larutan H₂SO₄ 1% lalu dicampurkan dengan 0,5 mL BaCl₂.2H₂O 1,175% dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan dikocok sampai terbentuk larutan keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri [8].

Pembuatan Suspensi *Salmonella typhi*

Disiapkan tabung reaksi dan bakteri *Salmonella typhi*. Kemudian diambil bakteri *Salmonella typhi* dengan kapas steril. Kemudian dimasukkan NaCl steril dalam tabung reaksi dan dilakukan hingga menjadi keruh sama dengan kekeruhan larutan standar *Mc.Farland* [8].

Pengujian Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun iler Darah

Suspensi *Salmonella typhi* dioleskan dengan cara goresan zig zag pada permukaan media menggunakan kapas lidi steril, sampai semua bagian media rata terolesi. Kemudian kertas disk kosong diletakkan pada permukaan media dan ditetaskan ekstrak etanol daun iler darah dosis 10%, 20%, dan 30% dengan diberi tekanan. Kertas disk kosong diletakkan ditengah cawan petri pada permukaan media dan ditetaskan DMSO steril sebagai kontrol negatif (-). Kertas disk antibiotik diletakkan dibagian pinggir kanan cawan petri pada permukaan media sebagai kontrol positif (+). Kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C dan dikur diameter daya hambatnya menggunakan jangka sorong [8].

Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini yaitu hasil pengukuran diameter zona hambatan ekstrak daun iler darah terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang ditandai dengan adanya zona hambatan berupa lingkaran bening disekitar kertas disk pada setiap perlakuan. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dan data yang diperoleh dari hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif.

3. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan tabel I menunjukkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun iler darah (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) terhadap *Salmonella typhi* sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun iler terhadap *Salmonella typhi*

Konsentrasi Perlakuan	I	II	III	Rata-rata Daya Hambat (mm)	Respon Hambatan
	(mm)				
Kontrol Positif (+)	25,08	26,25	26	25,77	Sangat Kuat
Kontrol Negatif (-)	0	0	0	0	Tidak ada hambatan
Konsentrasi 10%	6,83	8	7,75	7,52	Sedang
Konsentrasi 20%	9,75	11	9,5	10,08	Kuat
Konsentrasi 30%	13,3	16,5	15,25	15,01	Kuat

Keterangan :

1. Kontrol Positif (+) : Kelompok kontrol positif (+) kloramfenikol
2. Kontrol Negatif (-) : Kelompok kontrol negatif (-) DMSO
3. Sangat Kuat : Kelompok zona hambat lebih dari 20 mm
4. Kuat : Kelompok zona hambat 10-20 mm
5. Sedang : Kelompok zona hambat 5-10 mm
6. Lemah : Kelompok zona hambat kurang dari 5 mm (Davis dan Stout , 1971)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun iler darah (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 30%, 20%, dan 10%. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun iler darah dengan bentuk daun yang sempurna atau tidak berlubang dan berwarna merah kecoklatan yang diambil di Desa Okura Kecamatan Rumbai Pesisir Kota Pekanbaru.

Langkah awal pengerjaan yaitu pembuatan simplisia daun iler darah dengan cara mengumpulkan sampel daun iler darah yang tidak rusak sebanyak 2 kg lalu disortasi basah yaitu dibersihkan atau dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan debu dan kotoran yang menempel. Tiriskan lalu digunting kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Selanjutnya dikeringkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung dengan cara dikering anginkan sampai kering untuk mengurangi kadar air yang terkandung didalam daun iler darah sehingga dapat tahan lama pada saat penyimpanan. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran dan debu yang menempel. Daun iler darah yang telah kering dihaluskan dengan blender yang bertujuan untuk lebih memperluas kontak permukaan bahan baku sehingga proses ekstraksi akan dapat berjalan lebih optimal [7].

Simplisia yang telah dihaluskan dibuat menjadi ekstrak dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Dipilihnya metode maserasi ini dikarenakan selain peralatan dan teknik pengerjaan yang sederhana serta biaya yang rendah, metode ini juga tidak memerlukan pemanasan dalam pengerjaannya sehingga dapat mengekstrak senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Sedangkan tujuan digunakannya pelarut etanol 96% dimaksudkan agar pada proses penguapan dapat terlaksana dengan cepat karena lebih sedikit mengandung air. Pelarut etanol juga dapat melarutkan berbagai zat aktif dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak [9].

Setelah melakukan perendaman, ekstrak etanol daun iler darah disaring kemudian maserat dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental dibuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 30%, 20% dan 10%. Dipilihnya konsentrasi tersebut karena pada penelitian yang dilakukan oleh Mpila *et al.*[5], daun iler darah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dalam pembuatan larutan konsentrasi tersebut, ekstrak kental dilarutkan dengan pelarut DMSO karena pelarut DMSO ini lebih dapat melarutkan ekstrak kental daun iler darah dengan baik dibandingkan dengan aquadest.

Langkah selanjutnya melakukan pembuatan media MHA (*Mueller Hitton Agar*). Penggunaan media MHA dikarenakan media ini merupakan media universal yang kaya akan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri serta

media ini telah direkomendasikan oleh *Foods and Drugs Administration* (FDA) dan *World Health Organization* (WHO) untuk tes pengujian antibakteri [10]. Media MHA mengandung kadar timin, dan timidin yang rendah, inhibitor tetrasiklin yang rendah, trimetoprim, kalsium dan magnesium yang terkontrol serta baik digunakan untuk prosedur difusi agar dan memberikan pertumbuhan patogen yang cukup [11].

Pada pembuatan larutan suspensi *Salmonella typhi*, mikroba uji diambil dengan kapas steril kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaCl steril sampai kekeruhannya sama dengan larutan standar *Mc. Farland*. Larutan NaCl digunakan karena larutan tersebut menyerupai cairan didalam tubuh. Perbandingan kekeruhan larutan standar *Mc. Farland* diasumsikan jumlah mikroba uji pada media tidak terlalu rapat dan tidak terlalu jarang. Standar *Mc. Farland* adalah campuran larutan barium klorida dihidrat dan asam sulfat sehingga menghasilkan endapan barium sulfat yang menyebabkan terbentuknya kekeruhan yang digunakan sebagai pembanding pada pembuatan suspensi bakteri [12].

Pada pengujian daya hambat ekstrak etanol daun iler darah, suspensi bakteri dioleskan dengan cara goresan zig zag diatas permukaan media dan diletakkan kertas disk yang telah ditetesi dengan masing-masing larutan konsentrasi 30%, 20% dan 10%. Kemudian diletakkan juga kertas disk berisi pelarut DMSO pada bagian tengah cawan petri sebagai kontrol negatif (-) dan kertas disk kloramfenikol pada bagian pinggir kanan cawan petri sebagai kontrol positif (+).

Pemilihan pelarut DMSO sebagai kontrol negatif (-) karena pelarut ini digunakan sebelumnya sebagai pelarut dalam pembuatan larutan konsentrasi dan juga telah terbukti tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri atau bersifat tidak bakterisidal [14]. Pemilihan kloramfenikol sebagai kontrol positif (+) karena kloramfenikol masih merupakan pilihan utama untuk pengobatan demam tifoid karena efektif, murah, mudah didapat, dan dapat diberikan secara oral. Selain itu kandungan kloramfenikol dapat menghambat sintesis protein kuman pada enzim peptidil transferase yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptida pada proses sintesis protein kuman [15].

Setelah media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam kemudian diamati zona bening yang terbentuk pada masing-masing kertas disk yang menandakan adanya potensi sebagai antibakteri. Setelah dilakukan pengukuran dan perhitungan didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat pada kontrol positif (+) antibiotik kloramfenikol sebesar 25,77 mm dan pada kontrol negatif (-) tidak memberikan zona hambat. Sedangkan hasil rata-rata diameter zona hambat dimana pada konsentrasi 30% sebesar 15,01 mm, konsentrasi 20% sebesar 10,08 mm dan konsentrasi 10% sebesar 7,52 mm. Hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda dari penelitian yang dilakukan oleh Mpila *et al.* [5] dimana pada konsentrasi tertinggi dari ekstrak daun iler darah memiliki diameter zona hambat yang cukup besar. Hasil rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh menunjukkan semakin besar

konsentrasi ekstrak etanol daun iler darah maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, karena semakin meningkatnya senyawa-senyawa berkhasiat dalam ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut Davis dan Stout [16], kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan hasil rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh pada konsentrasi 30% dan 20% dapat dikategorikan dalam kategori kuat, sedangkan pada 10% dapat dikategorikan dalam kategori sedang. Dengan demikian, diketahui bahwa konsentrasi 30% dan 20% merupakan konsentrasi efektif untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi* karena pada konsentrasi tersebut daya antibakterinya dikategorikan kuat untuk menimbulkan zona hambatan yang besar.

Ekstrak etanol daun iler darah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* karena mengandung zat aktif yang berperan sebagai antibakteri, diantaranya saponin, tanin, dan flavonoid [5]. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil yang mengakibatkan hemolisis sel dan dapat menyebabkan terjadinya penurunan tegangan permukaan dinding sel bakteri yang dapat menyebabkan kebocoran sel sehingga pertumbuhan sel bakteri terhambat (Dewi *et al.*, 2015: 140). Mekanisme kerja tanin sebagai bahan antibakteri antara lain melalui merusak membran sel bakteri karena toksisitas tanin dan pembentukan ikatan kompleks ion logam dari tanin yang berperan dalam toksisitas tanin. Bakteri yang tumbuh dalam kondisi aerob memerlukan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Adanya ikatan antara tanin dan besi akan menyebabkan terganggunya berbagai fungsi bakteri [17].

Senyawa Flavonoid bersifat antibakteri melalui 3 mekanisme, yaitu: menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme kerja Flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat dilakukan melalui cincin B pada flavonoid yang mempunyai peranan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat sintesis DNA dan RNA. Flavonoid menghambat fungsi membran sel bakteri melalui ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri. Selain itu penghambatan metabolisme energi bakteri oleh flavonoid dilakukan dengan cara menghambat proses respirasi bakteri sehingga adanya energi yang dihambat akan berpengaruh terhadap aktivitas penyerapan metabolit dan biosintesis makromolekul bakteri [18].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mpila *et al.* [5] menunjukkan bahwa aktivitas ekstrak etanol daun iler darah dalam

menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif lebih peka bila dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Menurut Radji [19], hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan. Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya. Selain itu, perbedaan struktur dinding sel inilah yang menyebabkan kedua jenis bakteri tersebut memberikan respon terhadap pewarnaan Gram.

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun iler darah (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* baik pada konsentrasi 30% (15,01 mm), 20% (10,08 mm) maupun pada konsentrasi 10% (7,52 mm).

Daftar Pustaka

1. Ariyanti, T. (2007). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus atropurpureus* L. Benth.) terhadap Infeksi *Salmonella enteritidis* pada Mencit (*Mus musculus*). In Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
2. Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Brooks, G. F., Butel, J. S., & Ornston, L. N. (2007). *Medical microbiology* 24th ed. Appleton & Long, 266-267.
3. Radji, M., & Manurung, J. (2010). buku ajar mikrobiologi, panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran, Jakarta, Buku kedokteran EGC.
4. Humaida, R. (2014). Strategy to handle resistance of antibiotics. *Jurnal Majority*, 3(7).
5. Mpila, D., Fatimawali, F., & Wiyono, W. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in-vitro. *Pharmacon*, 1(1).
6. Kumala, S. Desi. 2009. Aktivitas antibakteri ekstrak daun iller (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap beberapa bakteri Gram (+) dan Gram (-). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(1), 12-18.
7. Agoes, G. 2013. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: ITB.
8. Munira, M. M., Rasidah, R. R., Melani, E. M., & Nasir, M. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Warna Hijau

- dan Warna Merah serta Kombinasinya. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 1(2).
9. Marjoni, R. (2016). *Dasar-dasar fitokimia untuk diploma III farmasi*. Jakarta: Cv. Trans Info Media, 153.
 10. Acumedia. (2011). Muller Hinton Agar. PI 7101. Rev 03
 11. Wayne, P. (2006). Clinical, and Laboratory Standards Institute (CLSI).; 2010. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2010; 20: 1–5. 1. Paul CR. *Introduction to electromagnetic compatibility*.
 12. Dalynn Biologicals .(2014). Mcfarland Standard for In Vitro Use. Catalogue No. TM50-TM60. Canada: Dalynn Biologicals Inc.;
 13. Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi 18*. Jakarta. Penerbit Erlangga.
 14. Pratiwi, R. S., Tjiptasurasa, T., & Wahyuningrum, R. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus Heterophylla* Lmk.) Terhadap *Bacillus Subtilis* Dan *Escherichia Coli*. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 8(03).
 15. Sandika, J., & Suwandi, J. F. (2017). Sensitivitas *Salmonella thypi* penyebab demam tifoid terhadap beberapa antibiotik. *Jurnal Majority*, 6(1), 41-45.
 16. Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied microbiology*, 22(4), 659-665.
 17. Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 48(4), 487-491.
 18. Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
 19. Radji, M. (2011). *Mikrobiologi panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.