

Antibacterial Activity of Patchouli Oil Refinery Waste Againsts *Staphylococcus aureus* Bacteria

Sarmila^{1*}, Abd. Rahman Razak¹, Jamaluddin¹

¹ Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Science, Tadulako University, Palu, Central Sulawesi

ABSTRACT	
Article info Received: 29/11/2021 Review: 04/12/2021 Available online: 06/04/2022	<p>Patchouli oil refining waste is biomass or organic waste which has chemical content so that it has antibacterial potential. This study aims to determine the antibacterial activity of patchouli oil refining waste against <i>Staphylococcus aureus</i> and knowing the groups of compounds identified as having antibacterial activity after the TLC Bioautography test was carried out. The sample was extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent. Antibacterial activity testing was carried out with a concentration variant of 50%, 25% and 10% with the well method. Thin layer Chromatography (TLC) using n-hexane : ethyl acetate (3:1) elucants. TLC Bioautography using contact bioautography method. From the research that has been done, it is found that the ethanol extract of patchouli oil refining can inhibit <i>Staphylococcus aureus</i> which has the largest diameter of resistance with a concentration of 50% which is categorized as very strong. The results of the TLC Bioautography study showed the saponin compound class after being sprayed with H₂SO₄ 10% reagent, it was found that the ethanol extract of patchouli oil refined pulp has antibacterial activity against <i>Staphylococcus aureus</i> and compounds to play a role in antibacterial activity are saponins.</p>
Corresponding Author: Sarmila Faculty of Mathematics and Natural Science, Tadulako University, Palu, Central Sulawesi. email: sarmilaalhusein@gmail.com	
Keyword:	Patchouli oil refining waste, Antibacterial, <i>Staphylococcus aureus</i> , Well method, TLC Bioautography



Copyright ©2022 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Minyak nilam merupakan jenis minyak atsiri yang sering juga disebut dengan minyak eteris atau minyak terbang (*essential oil, volatil oil*) yang dihasilkan oleh daun nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) yang diperoleh dari akar, batang, daun, bunga tanaman. Minyak nilam banyak dimanfaatkan untuk industri kosmetik. Proses pembuatan minyak nilam dapat dilakukan dengan destilasi air, destilasi uap-air dan destilasi uap sehingga akan terdapat ampas penyulingan minyak nilam¹.

Ampas penyulingan minyak nilam merupakan biomassa atau limbah organik yang memiliki kandungan kimia sehingga mempunyai potensi antibakteri². Yuliani (2005)

menyatakan bahwa di dalam limbah penyulingan mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, glikosida, triterpenoid dan flavonoid³. Senyawa-senyawa tersebut ternyata cukup tahan pemanasan karena selama proses penyulingan masih dapat bertahan (tidak rusak), hal ini berarti bahwa limbah penyulingan minyak nilam masih memungkinkan untuk dapat dimanfaatkan untuk berbagai macam produk sesuai dengan kegunaan senyawa-senyawa tersebut salah satunya adalah sebagai antibakteri.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang dijumpai sebagai flora normal dikulit dan dihidung⁴. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan

infeksi pada kulit dan luka terbuka (Retno, 2019). Infeksi merupakan masuknya organisme parasit di dalam tubuh serta pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme patogen dibagian tubuh dan jaringan, karena adanya infeksi kulit dan luka terbuka akan lebih mudah mengaplikasikan minyak nilam dengan mengoleskan pada kulit yang terinfeksi^{5,6}. Berdasarkan uraian di atas bahwa ampas penyulingan minyak nilam berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber senyawa antibakteri.

METODE

Alat yang digunakan antara lain: Seperangkat alat ekstraksi, toples, *vacuum rotary evaporator* (EYELA[®]), neraca analitik (ADAM[®]), oven (She LAB), *hotpale* (IKA[®]), erlenmeyer (IWAKI PIREX[®]), autoklaf (Hirayama), tabung reaksi (IWAKI PIREX[®]), incubator (Eyela[®]), gelas kimia (IWAKI PIREX[®]), cawan petri (NORMAX), *laminar air flow* (Stremlin[®]) pinset, jarum ose, batang pengaduk, lampu spiritus, jangka sorong, bunsen, mikropipet, sendok tanduk, botol vial, vortex, pipa kapiler, gelas ukur (IWAKI PIREX[®]), lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, chamber, penggaris, dan pencadangan baja (sumuran). Dan bahan yang digunakan adalah Ampas hasil penyulingan minyak nilam, bakteri *Staphylococcus aureus*, NaCl fisiologis 0,9%, lempeng KLT, etanol 96%, Dimetilsulfoksida (DMSO), kertas saring, media NA (*Nutrient Agar*), larutan Mc. Farland, alkohol, aquadest steril, aluminium foil, pereaksi H₂SO₄, pereaksi FeCl₃, pereaksi Dragendorff, pereaksi Lieberman-burchard, pereaksi AlCl₃, tisu, kapas, kertas, handscoon dan masker.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel ampas penyulingan minyak nilam dilakukan di Desa Sausu Kecamatan Sausu Kabupaten Parigi Moutong Sulawesi Tengah.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel ampas penyulingan minyak nilam menggunakan metode maserasi. Maserasi ampas penyulingan nilam sebanyak 424,61 g masukkan dalam bejana maserasi lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 6 L ditutup dan dibiarkan selama 3x24 jam yang tiap 24 jam dilakukan pengadukan. Setelah 3 hari ekstrak disaring. Ekstrak ampas penyulingan minyak nilam diekstrak kembali dengan pelarut etanol 96% yang lain dengan cara yang sama seperti perlakuan sebelumnya hingga 2 kali dan filtrat yang diperoleh disatukan. Kemudian Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental ampas penyulingan minyak nilam⁷. Ekstrak kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemen⁸.

Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang terbuat dari logam disterilisasi dengan cara pemijaran menggunakan api gas tidak berwarna atau pembakar spiritus, semua alat dikenakan api langsung tidak kurang dari 20 detik. Alat-alat yang terbuat dari kaca atau alat-alat gelas disterililasi dengan memakai udara panas (kering) menggunakan oven dengan suhu 170°C selama 2 jam (Ma'at, 2009), sedangkan untuk media atau bahan kultur dengan cara uap air panas bertekanan tinggi menggunakan autoklaf dengan, tekanan 2 atm, suhu 121°C selama 15-20 menit⁹.

Pembuatan Media Agar Miring NA (*Nutrient Agar*)

Sebanyak 5 gram nutrient agar dilarutkan dengan 250 mL aquadest dalam erlemeyer dan dipanaskan di atas *hot plate* menggunakan batang pengaduk sampai terbentuk larutan jernih. Kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit. Nutrient agar kemudian dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi dengan jumlah yang telah ditentukan, tabung yang telah berisi agar diletakkan pada kemiringan 30-45°¹⁰.

Pembuatan Media Agar Miring NA (*Nutrient Agar*)

Sebanyak 5 gram nutrient agar dilarutkan dengan 250 mL aquadest dalam erlemeyer dan dipanaskan di atas *hot plate* menggunakan batang pengaduk sampai terbentuk larutan jernih. Kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit. Nutrient agar kemudian dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi dengan jumlah yang telah ditentukan, tabung yang telah berisi agar diletakkan pada kemiringan 30-45°¹⁰.

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri menggunakan agar miring NA, peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu bakteri diambil satu ose menggunakan ose steril selanjutnya digoreskan pada permukaan agar miring dengan cara silang (zig-zag) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C¹¹.

Pembuatan Sampel Uji

Larutan induk dibuat dengan cara menimbang 1 gram ekstrak, yang kemudian dilarutkan dalam 1 mL DMSO. Dari larutan induk ini kemudian dibuat pengenceran 50%, 25% dan 10% sebagai kontrol negatif digunakan DMSO 50 µL¹⁰.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri dari biakan murni *Staphylococcus aureus*, ditambahkan larutan natrium klorida fisiologis (NaCl) 0,9% sebanyak 10 ml kedalam biakan tersebut lalu dihomogenkan¹².

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan menggunakan cara sumuran (*hole/cup*). Media NA ±10 mL dituang kedalam cawan petri steril kemudian didiamkan hingga memadat sebagai lapisan dasar. Setelah memadat, ditanam pencadangan baja pada permukaan lapisan dasar yang diatur jaraknya agar daerah pengamatan tidak bertumpu. Dicampurkan suspensi bakteri sebanyak 0,1 mL kedalam pembenihan NA. Kemudian dituang 20 mL medium pada cawan petri yang diletakkan pencadangan sebagai

lapisan kedua dan tunggu hingga memadat. Diangkat pencadangan menggunakan pinset sehingga membentuk sumuran yang akan digunakan dalam uji bakteri¹³. Sumuran yang terbentuk diisi larutan uji masing-masing 50 µl menggunakan mikropipet dengan variasi konsentrasi larutan uji yaitu 50%, 25%, dan 10%. Masing-masing cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan 3 kali pengulangan¹⁴.

Pengujian KLT Bioautografi

a. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak etanol sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 1 mL methanol dan 1 mL kloroform. Selanjutnya ekstrak tersebut ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa. Ekstrak ditotolkan 1 cm dari tepi bawah lempeng, lalu dibiarkan beberapa saat sampai kering. Selanjutnya lempeng dimasukkan kedalam chamber yang masing-masing berisi cairan pengelusi menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (3:1). Lempeng dibiarkan terelusi sampai batas 0,5 cm dari tepi atas. Lempeng dikeluarkan dari chamber dan diaging-anginkan sampai cairan pengelusnya menguap. Kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selajutnya noda-noda yang memberikan flouresensi ditandai pada lempeng dan dihitung nilai Rf dari masing-masing noda¹⁵.

b. Pengujian Secara KLT Bioautografi

Medium NA steril yang telah didinginkan sebanyak 10 mL diinokulasikan dengan suspensi bakteri sebanyak 0,5 mL dan dituang kedalam cawan petri steril dan dilakukan secara aseptis. Setelah medium agak memadat, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium. Setelah 30 menit, lempeng tersebut dipindahkan. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan akan terlihat pada medium, dan dibandingkan

dengan kromatogram hasil pengujian KLT¹⁵.

Identifikasi Senyawa

Lempeng KLT hasil uji KLT bioautografi kemudian diidentifikasi golongan senyawa antibakterinya menggunakan pereaksi semprot dengan menyemprotkan reagen penampak noda pada lempeng seperti FeCl₃ 5% untuk mendeteksi senyawa fenolik, H₂SO₄ 10% untuk mendeteksi senyawa saponin, AlCl₃ 5% untuk mendeteksi senyawa flavonoid, pereaksi Dragendorff untuk mendeteksi senyawa alkaloid, dan pereaksi Lieberman-Burchard untuk mendeteksi senyawa steroid. Hasil positif untuk fenolik hijau-kehitamam, ungu untuk saponin, kuning untuk flavonoid, orange berlatar kuning untuk alkaloid, biru dan coklat untuk steroid¹³.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Ampas Penyulingan Minyak Nilam

Hasil ekstraksi ampas penyulingan minyak nilam yang dilakukan dengan metode meserasi menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh ekstrak kental sebanyak 32,49gram dengan hasil persen rendemen. penelitian ini sampel yang digunakan dalam pengujian adalah ampas penyulingan minyak nilam. Penggunaan ampas penyulingan minyak nilam digunakan karena memanfaatkan ampas atau limbah yang terbuang yang masih mengandung beberapa senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, glikosida, triterpenoid dan flavonoid sehingga dimanfaatkan dalam pengujian antibakteri.

Sebelum dilakukan ekstraksi pada ampas penyulingan minyak nilam dilakukan pembuatan simplisia terlebih dahulu dengan dilakukan pengeringan kemudian dilakukan perajangan dan sortasi kering. Ampas penyulingan minyak nilam dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi dipilih karena dianggap sebagai metode yang sederhana dengan prinsip difusi, dimana cairan penyari akan menembus dinding sel tanaman dan akan masuk ke rongga sel yang

mengandung zat aktif, sehingga zat aktif yang merupakan larutan terpekat akan didesak keluar dari sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang didalam sel dengan yang diluar sel¹⁶. Alasan penggunaan pelarut etanol 96% yaitu pelarut ini tidak beracun, bersifat universal yang cocok mengekstrak semua golongan senyawa metabolit sekunder, dan mempunyai sifat selektif¹⁷.

Tabel 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Ampas Penyulingan Minyak Nilam

No	Uraian	Jumlah
1	Simplisia yang diekstraksi	424,61 gram
2	Ekstrak kental	32,49 gram
3	Rendemen	7,65 %

Uji rendemen dilakukan dengan membandingkan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Hasil penelitian pada Tabel 1 didapatkan rendemen sebesar 7,65%. Penelitian Hasnaeni *et al.* (2019) rendemen berhubungan dengan senyawa aktif dari suatu sampel semakin banyak jumlah rendemen maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak¹⁸.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ampas Penyulingan Minyak Nilam Terhadap *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam dilakukan pada konsentrasi 50%, 25% dan 10% terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran diameter zona hambat dari pengujian tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol ampas penyulingan minyak

Tabel 2. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*

Ekstrak uji	Konsentrasi (%)	Loading dose (mg)	Replikasi			Diameter Zona Hambat ± SD (mm)
			1	2	3	
Ekstrak Etanol	50	25,0	20,14	20,21	20,62	20,32± 0,21
	25	12,5	16,55	15,68	15,81	16,01± 0,38
	10	5,0	15,59	14,98	14,65	15,07± 0,38
Kontrol negatif	0	0,0	0	0	0	0

nilam terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi dengan cara sumuran menjadi pilihan karena ekstrak langsung dimasukkan disetiap lubang maka efek untuk menghambat bakteri lebih kuat ¹⁹.

Hasil penelitian pada Tabel 2 adanya zona hambat yang ditandai adanya zona bening. Hal ini menunjukkan adanya kepekaan bakteri uji terhadap ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam. Mekanisme yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri adalah kerusakan membran sel aktif antibakteri. Kerusakan membran sel akan mengganggu integritas komponen-komponen seluler dan menyebabkan proses respirasi bakteri tidak terjadi. Pada akhirnya mengakibatkan tidak tercukupinya energi untuk transport aktif zat hara sehingga pertumbuhan bakteri terganggu. Hasil yang diperoleh menunjukkan diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* yang terbentuk pada konsentrasi 50% lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 25% dan 10%. Hal ini dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan

tidak mempunyai lapisan lipopolisakrida sehingga senyawa antibakteri yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik dapat dengan mudah melewati dinding sel dengan kerusakan sel bakteri yang terjadi pada dinding, membran dan bagian internal sel akan menyebabkan bakteri tidak dapat menahan tekanan osmotik tinggi dari dalam sel sehingga mengakibatkan sel menjadi lisis ²⁰. Hasil ini sesuai dengan Ajizah (2004) bahwa semakin besar konsentrasi suatu bahan antibakteri yang diberikan maka aktivitas antibakteri semakin besar pula. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka kandungan senyawa fitokimia berkhasiat antibakteri juga akan semakin banyak ²¹.

Hasil KLT Bioautografi

Hasil KLT bioautografi dari ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang terlokalisir pada kromatogram ditandai dengan adanya zona hambat pada permukaan media yang terlihat seperti pada Tabel 3.

Pengujian secara KLT Bioautografi dilakukan terhadap ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam secara kromatografi lapis tipis. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT yang telah diberi tanda batas bagian bawah dan bagian atas lempeng sebagai tanda batas elusi. Jarak elusi yang dibuat 7 cm. Pemisahan senyawa ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam menggunakan perbandingan eluen *n*-heksan : etil asetat (3:1). Pemilihan eluen ini didasarkan pada hasil orientasi eluen yang telah dilakukan yang

Tabel 3. Hasil KLT Bioautografi lempeng KLT silica gel F254

Eluen	Spot Noda	Nilai Rf	Zona Hambatan
<i>n</i> -heksan: etil asetat (3:1)	1	0,14	Negatif
	2	0,15	Negatif
	3	0,3	Positif
	4	0,37	Negatif
	5	0,4	Negatif
	6	0,42	Negatif
	7	0,68	Negatif

Tabel 4. Hasil identifikasi golongan senyawa

Eluen	No Noda	Nilai Rf	Warna Noda					Golongan Senyawa
			FeCl ₃ 5%	Dragendroff	AlCl ₃ 5%	H ₂ SO ₄ 10%	Lieberman-Buchard	
n-heksan: etil asetat (3:1)	1	0,14	Hitam	-	-	-	-	Fenolik
	2	0,15	-	-	Kuning	-	-	Flavonoid
	3	0,3	-	-	-	Ungu	-	Saponin
	4	0,37	-	-	-	-	Coklat	Steroid
	5	0,4	Hitam	-	-	-	-	Fenolik
	6	0,42	-	-	Kuning	-	-	Flavonoid
	7	0,68	-	-	-	Ungu	-	Saponin

mana pada eluen ini menghasilkan pemisahan terbaik. Hasil penelitian pada Tabel 3 ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam didapatkan ada satu noda memiliki zona hambat, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada medium didaerah noda plat yang telah dikontakkan pada permukaan medium. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat setelah inkubasi selama 24 jam. Hasil ini sesuai dengan penelitian Isti (2018) bahwa pada KLT bioautografi didapatkan satu noda memiliki zona hambat ²².

Hasil Identifikasi Golongan Senyawa

Noda yang memberikan aktivitas pada bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian diidentifikasi golongan senyawa dengan menggunakan pereaksi semprot FeCl₃ 5% untuk fenolik, H₂SO₄ 10% untuk saponin, Dragendroff untuk alkaloid, AlCl₃ 5% untuk flavonoid, dan Lieberman-Burchard untuk steroid. Hasil identifikasi golongan senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* maka dilakukan identifikasi senyawa menggunakan lempeng KLT yang telah disemprotkan dengan pereaksi. Hasil penelitian pada Tabel 4 ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam mengandung senyawa saponin yang memberikan warna ungu ketika disemprotkan dengan pereaksi semprot H₂SO₄ 10%. Menurut Junianti (2018) penyemprotan dengan menggunakan pereaksi

H₂SO₄ 10% akan menimbulkan noda berwarna ungu ¹³. Saponin memiliki aktivitas antibakteri dengan memecahkan dinding sel bakteri yang menyebabkan kebocoran AKP (Alkaline phosphatase) pada bakteri ²³. Penelitian ini tidak sesuai dengan Nuriyah (2016) didapatkan bahwa ekstrak etanol daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dari hasil identifikasi senyawa menggunakan pereaksi sitroborat menunjukkan warna kuning ²⁴. Golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah flavonoid. Adanya perbedaan golongan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yang diperoleh bisa disebabkan karena perbedaan lingkungan tempat tumbuh kedua sampel dimana sampel pada penelitian ini tumbuh di Sulawesi Tengah Desa Sausu sedangkan penelitian Nuriyah (2016) tumbuh di Jawa Timur daerah Lamongan ²⁴. Hal tersebut didukung oleh Rahman et al. (2017) mengatakan bahwa perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh suatu tanaman dapat menyebabkan perbedaan jenis dan jumlah metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman ²⁵.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil identifikasi KLT bioautografi ekstrak etanol ampas penyulingan minyak nilam diperoleh golongan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu senyawa saponin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setya NH, Aprilia B, Mahfud. Proses Pengambilan Minyak atsiri Dari Daun Nilam Dengan Pemanfaatan Gelombang Mikro (Microwave). *Jurnal Teknik ITS*. 2012; 1(1):25–29
2. Riwayati I, Setianto MS. Pemanfaatan Limbah Penyulingan Daun Nilam Sebagai Bahan Bakar Alternatif Melalui Pembuatan Briket. *Momentum*. 2010; 6(2):1–4
3. Yuliani S, Usmiati S, Nurdjannah N. Efektivitas Lilin Penolak Lalat (Repelen) Dengan Bahan Aktif Limbah Penyulingan Minyak Nilam. *Journal Penelitian Pascapanen Pertanian*. 2005; 2(1):1–10
4. Sanarto S. Mekanisme Resistensi Antimikroba Pada Bakteri Penyebab Infeksi Kulit. In: *Skin Infection it's Amust Know Disease*. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press). 2016, p. 25
5. Adriani M, Wirjatmadi B. *Gizi Dan Kesehatan Balita: Peranan Mikro Zinc Pada Pertumbuhan Balita*. Jakarta: KENCANA Prenada Media Group. 2014
6. Widowati R, Handayani S, Lasdi I. Aktivitas Antibakteri Minyak Nilam (*Pogostemon Cablin*) Terhadap Beberapa Spesies Bakteri Uji. *Pro-Life*. 2019; 6 Nomor 3:244
7. Novaldi N, Prismawiryanti P, Hardi J, Ys H. Mikroenkapsulasi Ekstrak Ampas Jahe Merah Dari Hasil Pemisahan Minyak Jahe Merah. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*. 2019; 5(1):17–23
8. Afni N, Said N, Yuliet Y. Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*. 2015; 1(1):48–58
9. Sumarsih S. *Untung Besar Usaha Bibit Jamur Tiram*. I. Jakarta: Penebar Swadaya
10. Bakhtra, Dwi DA; Jubahar, Junuary; Yusdi E. Uji Aktivitas Fraksi Dari Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Higea*. 2018; 10(1):10–18
11. Rahmadani F. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Jakarta. 2015
12. Usman S, Ibrahim I. Uji Aktivitas Senyawa Bioaktif Antimikroba Dari Ekstrak Daun Sembukan (*Paederia foetida* L.) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Bioautografi. *Media Farmasi*. 2019; 13(2):42
13. Junianti J. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sumambu (*Hyptis scitita Jacq.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Palu. 2018
14. Lasut MRC, Fatimawali F, Antasionasti I. Uji Daya Hambat Nanopartikel Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Urin pada Penderita Infeksi Saluran Kemih Resisten Antibiotik Ciprofloxacin. *Pharmacon*. 2019; 8(4):870
15. Djide MN, Sartini. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. 2005
16. Wahyulianingsih W, Handayani S, Malik Abd. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016; 3(2):188–193

17. Suryanto E. *Fitokimia Antioksidan*. Surabaya: Putra Media Nusantara. 2012
18. Hasnaeni, Wisdawati, Usman S. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia Amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*. 2019; 5(2):175–182
19. Misna M, Diana K. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*. 2016; 2(2):138–144
20. Paputungan WA, Lolo WA, Siampa JP. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Klt-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner). *Pharmacon*. 2019; 8(3):516
21. Ajizah A. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Sensitivitas Salmonella Typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L.* 2004; 1:31–38
22. Jangnga ID, Kambaya PP, Kosala K. Uji Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa* L) terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro. *ODONTO: Dental Journal*. 2018; 5(2):102
23. Khan MI et al. Green Tea Seed Isolated Saponins Exerts Antibacterial Effects against Various Strains of Gram Positive and Gram-Negative Bacteria, a Comprehensive Study in Vitro and in Vivo. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.*; 2018. DOI: 10.1155/2018/3486106
24. Nuriyah B. Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Dari Beberapa Daun Tanaman di Indonesia Terhadap Bakteri Salmonella Typhi Serta Bioautografinya. *Skripsi*. Surakarta. 2016
25. Rahman FA, Haniastuti T, Utami TW. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Streptococcus Mutans ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2017; 3(1):1