

Uji Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Benedicta N. D. Rori
Johanna A. Khoman
Aurelia S. R. Supit

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran
Universitas Sam Ratulangi Manado
Email: nathania.deandra10@gmail.com

Abstract: The main problem in dental health is dental caries that occurs due to the fermentation by *Streptococcus mutans* bacteria. Gedi leaf (*Abelmoschus manihot* L. Medical) is one of the common plants in Northern Celebes that contains antimicrobial compounds namely flavonoid, alkaloid, steroid, and saponin; all of them have been proved to inhibit the growth of *S. mutans*. This study was aimed to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of gedi leaf extract (*Abelmoschus manihot* L. Medical) to *S. mutans* growth. This was a true experimental study with a randomized pretest-posttest control group design. The method used in this study was serial dilution method with turbidimetry and spectrophotometry. Samples of gedi leaves were obtained at Paal 2 Manado, and were extracted with maceration method using ethanol 96%. *S. mutans* bacteria were obtained from the pure bacterial stock at Microbiology Laboratory of Pharmacy Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Science University of Sam Ratulangi Manado. The turbidimetry test showed that the tube content became clearer at 25% of extract concentration. Moreover, the UV-Vis spectrophotometer showed a decrease of ΔOD value for the first time at 25% of extract concentration.

Conclusion: The minimal inhibitory concentration (MIC) of gedi leaf extract (*Abelmoschus manihot* L. Medical) to *Streptococcus mutans* growth was at concentration of 25%.

Keywords: gedi leaf (*Abelmoschus manihot* L. Medical), *Streptococcus mutans*, MIC, dental caries

Abstrak: Masalah utama dalam kesehatan gigi ialah karies gigi yang terbentuk karena proses peragian oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) merupakan salah satu tanaman khas daerah Sulawesi Utara yang mengandung senyawa antimikroba berupa flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin yang telah terbukti memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Jenis penelitian ialah eksperimental murni dengan *pretest-posttest control group design*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode serial dilusi dengan pengujian turbidimetri dan spektrofotometri. Daun gedi diperoleh dari Kecamatan Paal 2 Manado, dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Bakteri *S. mutans* diambil dari stok bakteri murni Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Hasil pengujian turbidimetri memperlihatkan bahwa larutan dalam tabung terlihat mulai jernih pada konsentrasi ekstrak 25%. Pada pengujian spektrofotometer UV-Vis terlihat penurunan nilai ΔOD pertama kali pada konsentrasi 25%. **Simpulan:** Konsentrasi hambat minimum ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 25%.

Kata kunci: daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik), *Streptococcus mutans*, KHM, karies

Kesehatan gigi dan mulut sudah menjadi prioritas yang utama bagi masyarakat saat ini. Gigi dan mulut merupakan pintu gerbang masuknya kuman dan bakteri yang dapat mengganggu kesehatan organ tubuh lainnya. Menurut data Riskesdas tahun 2013, prevalensi nasional masalah gigi dan mulut ialah sebesar 25,9% dan sebanyak 14 provinsi mempunyai prevalensi masalah gigi dan mulut di atas angka nasional. Masalah utama dalam kesehatan gigi ialah karies gigi yang diderita oleh hampir semua penduduk di Indonesia.¹

Karies gigi terbentuk karena proses peragian oleh bakteri *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) yang merupakan salah satu mikroflora normal dalam rongga mulut. Meskipun merupakan flora normal, dalam keadaan tertentu bakteri tersebut bisa menjadi patogen karena adanya faktor predisposisi. Sisa-sisa makanan yang terdapat pada rongga mulut akan diuraikan oleh bakteri ini menjadi asam. Asam yang terbentuk kemudian menempel pada email dan dapat menyebabkan demineralisasi. Jika demineralisasi berlangsung secara terus menerus, maka terjadi karies gigi.²

Berbagai upaya pencegahan karies gigi dilakukan baik secara mekanis maupun kimiawi; diantaranya ialah pengaturan diet, kontrol plak, penggunaan fluor, kontrol bakteri kariogenik, penggunaan obat kumur, dan *fissure sealant*. Pencegahan dengan cara kimiawi sering menggunakan bahan sintesis yang memiliki efek samping kurang baik. Oleh karena itu, penggunaan tanaman herbal saat ini telah dikembangkan di bidang kedokteran maupun kedokteran gigi.³

Salah satu tumbuhan yang mudah ditemukan di daerah Sulawesi Utara yaitu edi (*Abelmoschus manihot* L. Medik). Daun gedi merupakan salah satu tanaman khas daerah Sulawesi Utara yang biasa dikonsumsi sebagai sayuran. Daun gedi merupakan salah satu tumbuhan dari famili *Malvaceae*. Penggunaan daun gedi sebagai obat tradisional telah banyak dikenal oleh masyarakat di Minahasa. Daun gedi dimanfaatkan sebagai penanganan herbal yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit seperti diabetes, kolesterol dan hipertensi.⁴

Penelitian yang dilakukan oleh Mandey et al.⁵ serta Santi et al.⁶ membuktikan bahwa daun gedi mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin yang memiliki efek sebagai antimikroba dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda. Penelitian lebih lanjut dilakukan oleh Mokoginta et al.⁷ membuktikan bahwa ekstrak daun gedi pada konsentrasi 100% memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*. Namun, dari penelitian-penelitian tersebut belum diketahui nilai konsentrasi hambat minimumnya.⁷

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental murni dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi pada bulan Maret-April 2018. Subjek penelitian ialah bakteri biakan murni *Streptococcus mutans* dari rongga mulut yang diperoleh di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Metode penelitian yang digunakan ialah metode serial dilusi atau pengenceran bertingkat dengan perbandingan 1:2 (w/v). Metode pengujian yang dipakai dalam penelitian ini ialah metode turbidimetri dan metode spektrofotometri.

Sebanyak 2 kg daun gedi dicuci bersih dibawah air mengalir, ditiriskan, dipotong-potong, dan dikeringkan pada suhu ruangan selama 5 hari, kemudian di maserasi sebanyak 2x pengulangan. Maserasi I menggunakan 1500 ml aquades dan maserasi II menggunakan 750 ml aquades. Hasil proses maserasi I dan II yang telah disaring menggunakan kertas Whatman no. 42, diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan oven pada suhu 40⁰C untuk mendapatkan ekstrak gedi 100%.

Pembuatan media stok kultur bakteri menggunakan *nutrient agar* (NA). Pembuatan media suspensi bakteri menggunakan *nutrient broth* (NB). Selain itu digunakan juga larutan BaCl₂ 1,175% dan larutan H₂SO₄ 1% sebagai larutan baku McFarland 1. Nilai absorban larutan baku McFarland 1

setara jumlah sel bakteri dengan kepadatan $0,3 \times 10^9$ bakteri/ml.

Satu koloni bakteri *S. mutans* diambil dengan menggunakan jarum ose steril, ditanamkan pada media NA miring dengan cara menggores, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Stok kultur bakteri *S. mutans* yang telah tumbuh diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri sama dengan kekeruhan larutan standar McFarland 1. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan memipet 0,1 ml suspensi bakteri, dimasukkan ke dalam tabung steril dan ditambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 9,9 ml dan dikocok hingga homogen.

Sebanyak 6 tabung reaksi steril disiapkan. Tabung uji 1-4 diberi label 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Pada tabung 5 diberi label K(+) yang merupakan kontrol positif, yaitu tabung yang berisi larutan standar Mc Farland 1. Pada tabung 6 diberi label K(-) yang merupakan kontrol negatif, yaitu tabung berisi media NB.

Sebanyak 4 ml media NB steril dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi 1-4, kemudian ditambahkan 0,5 ml ekstrak dengan masing-masing ekstrak dibuat 4 konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5% (100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, dan 12,5 mg/ml). Selanjutnya ke dalam tabung reaksi 1-4 ditambahkan 0,5 ml suspensi bakteri *S. mutans* yang sudah disesuaikan dengan larutan standar kekeruhan McFarland 1. Pada tabung 5 dimasukkan 5 ml larutan McFarland 1, sedangkan pada tabung 6 dimasukkan 5 ml media NB. Tabung-tabung reaksi tersebut kemudian diukur nilai *optical density* (OD) dengan menggunakan spektrofotometer, lalu diinkubasi ke dalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37°C . Pada penelitian ini, perlakuan dan pengujian diulang sebanyak tiga kali.

Pengujian dengan menggunakan metode turbidimetri dilakukan setelah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam. Semua tabung tersebut dilihat kekeruhannya secara visual. Apabila kekeruhan

masing-masing tabung masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) yang berisi larutan standar McFarland 1, berarti bakteri masih dapat bertumbuh tetapi bila larutan dalam tabung terlihat mulai lebih jernih daripada tabung K(+) atau mendekati kejernihan tabung K(-) yang berisi media NB, berarti pertumbuhan bakteri sudah mulai terhambat; hal ini yang menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM).

Setelah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung perlakuan diukur lagi nilai OD-nya dengan spektrofotometer untuk melihat selisih nilai OD (ΔOD). Jika nilai ΔOD (nilai OD setelah inkubasi 1x24 jam dikurangi nilai OD sebelum inkubasi 1x24 jam) positif, maka disimpulkan bahwa masih terjadi pertumbuhan bakteri namun jika nilai ΔOD negatif, maka disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri telah dihambat. Konsentrasi hambat minimum ditentukan dengan melihat konsentrasi ekstrak terkecil pada tabung perlakuan dengan nilai $\Delta\text{OD} \leq 0$.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi yang bertujuan untuk mendapatkan data tentang KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *S. mutans*, yang diuji dengan menggunakan metode turbidimetri dan metode spektrofotometri.

Pengujian menggunakan metode turbidimetri dilakukan dengan tiga kali perlakuan. Hasil pengujian turbidimetri pada perlakuan ke-1 (Gambar 1), ke-2 (Gambar 2), dan ke-3 (Gambar 3) menunjukkan KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *S. mutans* yaitu pada konsentrasi 25%, dimana pada konsentrasi 25% tabung sudah terlihat mulai jernih. Larutan pada tabung menjadi semakin jernih pada konsentrasi 50% dan 100%, tetapi terlihat semakin keruh pada konsentrasi 12,5% (Tabel 1).

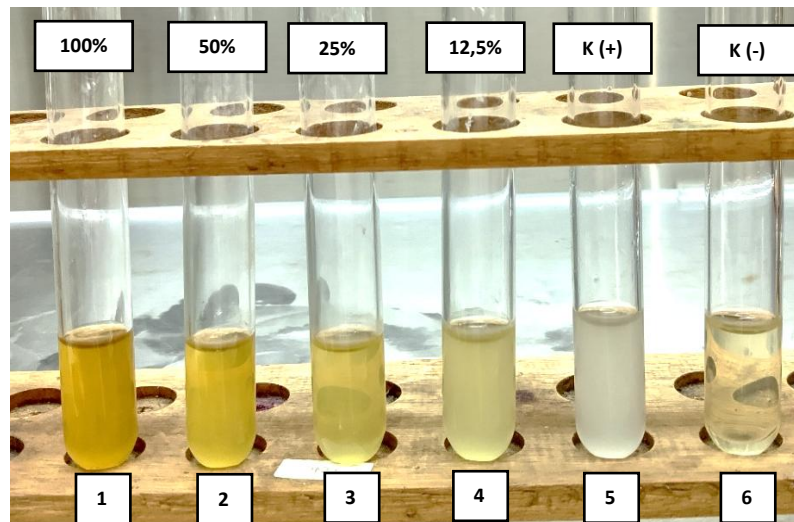
Pengujian dilanjutkan dengan pengukuran nilai OD menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran nilai OD dilakukan pada tabung 1-6 sebanyak tiga kali perlakuan, sebelum dan setelah inku-

basi 1x24 jam untuk melihat nilai ΔOD . Dari hasil pengujian spektrofotometer UV-Vis terlihat penurunan nilai ΔOD pertama kali pada konsentrasi 25% (Tabel 2). Oleh karena itu konsentrasi 25% ditentukan sebagai KHM ekstrak daun gedé terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

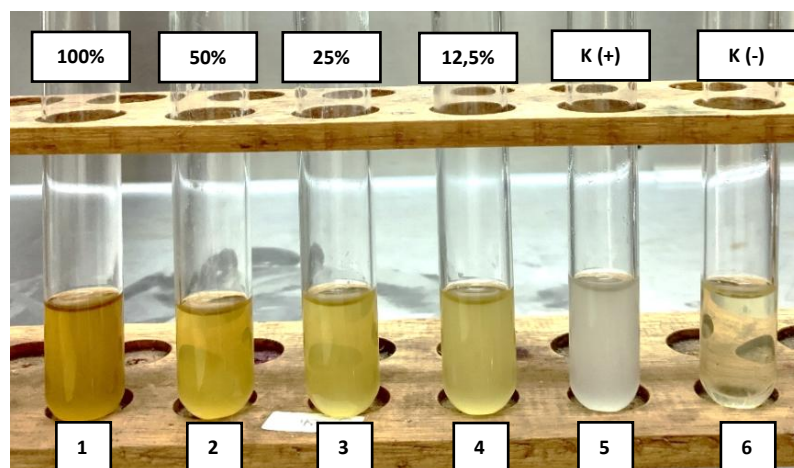
BAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji KHM ekstrak daun gedé (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan menggunakan pengenceran bertingkat perbandingan 1:2 (w/v) yaitu 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Terdapat dua cara

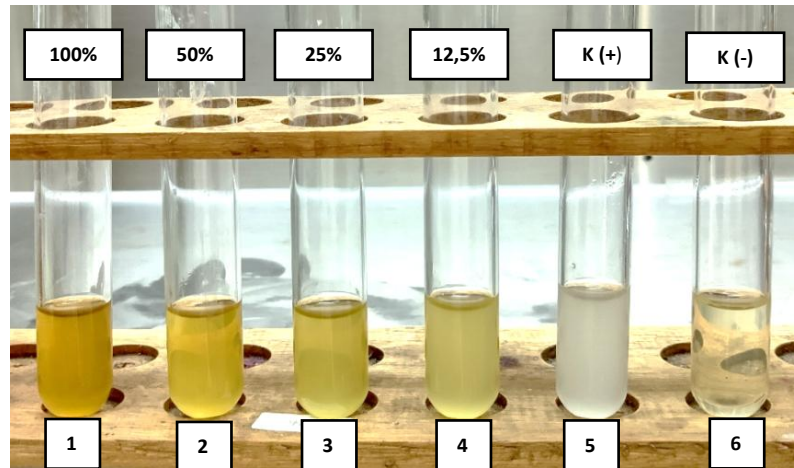
pengujian, yaitu: uji turbidimetri untuk melihat nilai kekeruhan secara visual dan pengukuran nilai OD menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pada penelitian ini tabung yang akan diuji diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam, guna memaksimalkan pertumbuhan bakteri dengan cara menyamakan dengan habitat aslinya yaitu dalam tubuh manusia.⁸ Pengujian dengan metode turbidimetri dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam sedangkan pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan sebelum dan setelah inkubasi selama 24 jam.



Gambar 1. Perlakuan pertama, uji KHM ekstrak daun gedé (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan metode turbidimetri



Gambar 2. Perlakuan kedua, uji KHM ekstrak daun gedé (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan metode turbidimetri



Gambar 3. Perlakuan ketiga, uji KHM ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot L. Medik*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan metode turbidimetri

Tabel 1. Hasil uji KHM ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot L. Medik*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada perlakuan pertama, kedua dan ketiga dengan metode turbidimetri

Nomor Tabung	Konsentrasi ekstrak daun gedi	Hasil		
		Perlakuan ke-1	Perlakuan ke-2	Perlakuan ke-3
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	+	+	+
5	K (+)	+	+	+
6	K (-)	-	-	-

Keterangan : Tanda (+) menunjukkan larutan di dalam tabung terlihat keruh yang berarti bahwa bakteri *Streptococcus mutans* masih dapat bertumbuh; sedangkan tanda (-) menunjukkan larutan di dalam tabung terlihat jernih yang berarti bahwa pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* mulai terhambat.

Tabel 2. Hasil uji KHM ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot L. Medik*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada perlakuan pertama, kedua dan ketiga dengan menggunakan spektrofotometerUV-Vis

Nomor tabung	Konsentrasi ekstrak daun gedi	Nilai Optical Density (OD)						ΔOD
		Perlakuan I		Perlakuan II		Perlakuan III		
		Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi	Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi	Sebelum inkubasi	Setelah inkubasi	
1	100%	0,340	0,568	0,352	0,549	0,354	0,448	0,173
2	50%	0,276	0,210	0,223	0,210	0,230	0,209	-0,033
3	25%	0,263	0,177	0,290	0,182	0,302	0,178	-0,106
4	12,5%	0,156	0,232	0,154	0,245	0,154	0,260	0,091
5	K (+)	0,783	0,767	0,692	0,759	0,769	0,765	0,015
6	K (-)	0,066	0,055	0,069	0,059	0,061	0,059	-0,008

Melalui uji turbidimetri dengan penglihatan secara kasat mata sebanyak 3 kali perlakuan, didapatkan KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi 25% karena pada tabung dengan konsentrasi 25% sudah mulai terlihat perubahan turbiditasnya (isi tabung mulai jernih) yang berarti tidak ada pertumbuhan bakteri dan dapat dikatakan sebagai KHM.⁹ Nilai KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang mampu melakukan penghambatan.¹⁰ Hasil pengamatan KHM melalui metode turbidimetri (pengamatan secara visual) pada penelitian ini sebenarnya sudah cukup untuk menentukan KHM, tetapi metode ini bersifat kualitatif dan dapat dipengaruhi oleh warna larutan yang bisa mencapai warna kecoklatan (pekat).⁸ Selain itu, metode turbidimetri juga memiliki kelemahan yaitu ketidakmampuan mata manusia untuk membedakan antara sel bakteri hidup dengan sel bakteri mati pada saat pengamatan kekeruhan yang dapat menghasilkan hasil yang kurang akurat.¹¹ Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil yang akurat perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan mengukur nilai OD menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan KHM melalui metode spektrofotometri dilakukan dengan membandingkan selisih OD sebelum dan sesudah inkubasi. Jika nilai OD ≤ 0 maka didapatkan nilai KHM.¹² Nilai ΔOD yang negatif (-) menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi yang berarti terjadi penurunan jumlah bakteri setelah inkubasi 24 jam, sedangkan nilai ΔOD yang positif (+) menunjukkan tidak adanya penurunan melainkan terjadi peningkatan nilai absorbansi yang berarti masih terjadi peningkatan jumlah sel bakteri setelah inkubasi 24 jam.¹³ Penurunan nilai ΔOD pertama kali terjadi pada tabung dengan konsentrasi 25% sehingga konsentrasi 25% ditetapkan sebagai KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Melalui hasil penelitian terdapat perbedaan hasil uji pada konsentrasi 100% yang dianalisis menggunakan metode

turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis. Peningkatan nilai ΔOD pada konsentrasi 100% dengan uji spektrofotometri UV-Vis setelah inkubasi 1x24 jam dapat disebabkan oleh karena partikel lain dalam larutan berupa sisa ekstrak (residu) yang tidak homogen bersama larutan dapat menyerap cahaya. Juga dapat dipengaruhi oleh penyerapan cahaya oleh larutan dalam tabung yang tidak sepenuhnya diserap oleh senyawa ekstrak, tetapi juga ikut terserap oleh sel bakteri yang telah mati.¹⁴ Selain itu dapat juga diakibatkan karena faktor kelemahan spektrofotometri UV-Vis dalam selektivitas untuk membedakan sampel dengan partikel-partikel lain atau kontaminan yang menyerap cahaya dalam panjang gelombang yang sama.¹⁵⁻¹⁷

Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dibutuhkan pengujian dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Alat KCKT ialah suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat yang mempunyai banyak kelebihan dibandingkan metode lainnya.¹⁸ Dengan penggunaan metode KCKT, dapat dihasilkan data yang lebih rinci karena dalam instrumen KCKT terjadi pemisahan tiap-tiap komponen sehingga dapat diketahui kandungan dari sampel hasil ekstraksi. Hasil analisis KCKT ini merupakan analisis senyawa murni.¹⁹ Penelitian yang dilakukan di India oleh Joshi et al.²⁰ yang membandingkan hasil metode spektrofotometri dengan metode KCKT melaporkan bahwa metode KCKT memiliki hasil yang lebih baik dari pada metode spektrofotometri dari segi ketelitian, sensitivitas, serta keakuratan dalam membaca nilai absorbansi.

Uji KHM ekstrak daun gedi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* dengan 3 kali perlakuan belum pernah dilakukan sebelumnya. Berdasarkan penelitian ini, KHM ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yaitu pada konsentrasi 25% yang diperoleh melalui hasil pengukuran dengan metode turbidimetri serta metode spektrofotometri.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 25%.

SARAN

Disarankan untuk melakukan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Dapat dilakukan penelitian lebih mendalam mengenai kandungan zat-zat aktif pada ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang dapat memengaruhi pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Dapat dilakukan penelitian mengenai uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk memperoleh hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset kesehatan dasar riskesdas 2013. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI; 2013.h.147 – 54.
2. Imaculata R, Tedjosongko U, Cornelia S. Pemberian minyak wijen (*Sesamum indicum*, L) terhadap *Streptococcus mutans* (*in vitro*). Indonesian Pediatric Dental Journal. 2010;2(3):2.
3. Tarigan R. Karies Gigi (2nd ed). Jakarta: EGC, 2013; p. 1, 75-7.
4. Suoth E, Kaempe H, Tampi A. Evaluasi kandungan total polifenol dan isolasi senyawa flavonoid pada daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.). Chemistry Progress Majalah Publikasi Ilmu Kimia. 2013;6(2):86-9.
5. Mandey JS, Soetanto H, Sjojfan O, Tulung B. Genetic characterization, nutritional and phytochemical potential of gedi leaves (*Abelmoschus manihot* L. Medik) growing in the North Sulawesi of Indonesia as a candidate of poultry feed. Journal of Research in Biology. 2014;4(2):1276-86.
6. Sangi M, Runtuwene Max RJ, Simbala Henry EI, Makang Veronica MA. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. Chemistry progress. 2008;1(1):49.
7. Mokoginta AS, Abidjulu J, Leman MA. Uji daya hambat sediaan ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. [Skripsi]. Manado: Universitas Sam Ratulangi; 2016.
8. Astutiningsih C, Setyani W, Hindratna H. Uji daya antibakteri dan identifikasi isolat senyawa katekin dari daun teh (*Camellia sinensis* L. var *Assamica*). Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas. 2014;11(2):50-7.
9. Munfaati PN, Ratnasari E, Trimulyono G. Aktivitas senyawa antibakteri ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Lentera Bio. 2015;4(1):64-71.
10. Maisak H, Tipmongkolsilp N, Wongtatchai J. Minimum inhibitory concentrations of antimicrobials against clinical vibrio and streptococcus isolated from aquaculture. Diseases in Asian Aquaculture. 2011;VII:309-16.
11. Pajan SA, Waworuntu O, Leman MA. Potensi antibakteri air perasan bawang putih (*Allium Sativum* L) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. eG. 2016;5(4):77-89.
12. Yunika N, Irdawati, Fifendy M. Konsentrasi hambat minimum ekstrak daun sawo (*Achras Zapota* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* secara *in vitro*. Bioscience. 2017;1(1): 53-9.
13. Maftuhah A, Bintari SH, Mustikaningtyas D. Pengaruh infusa daun beluntas (*Pluchea Indica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Unnes Journal of Life Science. 2015; 4(1):62.
14. Dewi FK. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap bakteri pembusuk daging segar [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret: 2010.
15. Geisler J, Thompson T. Choosing the best detection method: absorbance vs. fluorescence. [internet]. [cited 11 Mei 2018]. Available from: www.

- biocompare.com/BenchTips/17396-Choosing-the-Best-Detection-Method-Absorbance-vs-Fluorescence.
- 16. Watson DG.** *Pharmaceutical Analysis* (2nd ed). London: Elsevier, 2005; p. 88.
- 17. Septian K.** Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak spons laut *Callyspongia sp.* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Dentire*. 2016;5(1): 510.
- 18. Joshi HR, Patel AH, Captain AD.** Spectrophotometric and reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of doxophylline in pharmaceutical formulations. *J Young Pharm*. 2010;2(3): 295.
- 19. Annisa S, Surjani W, Nena Z.** Perbandingan metode spektrofotometri UV-Vis dan KCKT (Kromotografi Cair Kinerja Tinggi) pada analisis kadar asam benzoat kafein dalam teh kemasan. Malang; Universitas Negeri Malang; 2011.
- 20. Joshi HR, Patel AH, Captain AD.** Spectrophotometric and reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for determination of doxophylline in pharmaceutical formulations. *J Young Pharm*. 2010; 2(3):289-96.