

**EFEKTIVITAS KONSENTRASI DAN WAKTU MASERASI
EKSTRAK DAUN BELUNTAS (*PLUCHEA INDICA L.*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *STREPTOCOCCUS
PYOGENES***

*THE EFFECTIVENESS OF CONCENTRATION AND MACERATION TIME
OF BELUNTAS LEAF EXTRACT (*Pluchea indica L.*) ON THE GROWTH
OF *Streptococcus pyogenes**

Siti Ismi Yulandari^{1*}, Asep Dermawan², Iis Kurniati³, Asep Iin Nur Indra⁴

^{1*}Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung
Email : ismiyulandari16@gmail.com

²Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung
Email : dermawanasep@gmail.com

³Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung
Email : kurniati20260@gmail.com

⁴Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung
Email : asepiinnurindra@gmail.com

ABSTRACT

*One of the most common diseases in Indonesia, namely pharyngitis, is caused by *Streptococcus pyogenes*. Inappropriate treatment of pharyngitis with antibiotics can result in bacteria that are resistant to antibacterials. Therefore, herbal plants that are effective as natural antibacterials are needed, such as beluntas leaves (*Pluchea indica L.*) to prevent this. Apart from that, the right method is needed so that the contents of the beluntas leaves can be attracted properly. The aim of this research was to determine the effective concentration and maceration time of beluntas leaf extract in inhibiting the growth of *S.pyogenes*. This research used varying maceration times of 24 and 72 hours. Then, from each variation of maceration time, beluntas leaf extract was made in concentrations of 5%, 10%, 15%, 20%, and 25%. Beluntas leaf extract was tested for its inhibitory power against *S.pyogenes* using the Kirby Bauer method. The data obtained was the diameter of the inhibitory power of beluntas leaf extract on the growth of *S.pyogenes*, then the data was processed statistically using the Kruskal-Wallis test and a further test, namely the Post Hoc Test. The results of this research were that beluntas leaf extract which was macerated for 72 hours with a concentration of 20% and 25% had an average diameter of inhibition against *S.pyogenes* of 9.04 mm and 12.71 mm. Therefore, a maceration time of 72 hours with a concentration of 25% is effective in inhibiting the growth of *S.pyogenes*.*

Key words : *Beluntas leaf extract, inhibition zone, Streptococcus pyogenes*

ABSTRAK

Salah satu penyakit terbanyak di Indonesia, yaitu faringitis disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes*. Pengobatan faringitis dengan antibiotik yang tidak tepat dapat mengakibatkan bakteri resisten terhadap antibakteri. Oleh karena itu diperlukan tumbuhan herbal yang efektif sebagai antibakteri alami seperti daun beluntas (*Pluchea indica L.*) untuk mencegah hal tersebut. Selain itu, diperlukan cara yang tepat agar kandungan dari daun beluntas ini dapat tertarik secara baik.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi dan waktu maserasi yang efektif dari ekstrak daun beluntas dalam menghambat pertumbuhan *S.pyogenes*. Penelitian ini menggunakan variasi waktu maserasi selama 24 dan 72 jam. Kemudian dari masing masing variasi waktu maserasi, ekstrak daun beluntas dibuat konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Ekstrak daun beluntas diuji daya hambatnya terhadap *S.pyogenes* dengan metode Kirby Bauer. Data yang diperoleh adalah diameter daya hambat ekstrak daun beluntas terhadap pertumbuhan *S.pyogenes*, lalu data diolah secara statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan uji lanjutan yaitu Uji Post Hoc. Hasil dari penelitian ini yaitu pada ekstrak daun beluntas yang dimaserasi selama 72 jam dengan konsentrasi 20% dan 25% memiliki rata-rata diameter daya hambat terhadap *S.pyogenes* sebesar 9,04 mm dan 12,71 mm. Oleh karena itu, waktu maserasi selama 72 jam dengan konsentrasi sebesar 25% efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.pyogenes*.

Kata kunci : Ekstrak daun beluntas, daya hambat, *Streptococcus pyogenes*

PENDAHULUAN

Di Indonesia, penyakit infeksi merupakan permasalahan utama di bidang kesehatan. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), 1-20% kematian anak di bawah usia 5 tahun disebabkan oleh penyakit infeksi¹. Infeksi saluran pernapasan merupakan Salah satu penyakit infeksi yang banyak ditemui di masyarakat. Berdasarkan data Riskesdas 2018, Infeksi Saluran Pernapasan Atas (ISPA) merupakan penyakit yang paling banyak menyerang masyarakat yaitu sebesar 25%².

Salah satu jenis infeksi adalah faringitis atau radang tenggorokan, yaitu infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh infeksi *Streptococcus pyogenes* atau infeksi *Streptococcus* grup A. Bakteri ini menyebabkan 10% kasus radang tenggorokan akut pada orang dewasa dan 15%-30% pada anak-anak³.

Salah satu pengobatan untuk menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* adalah penggunaan antibiotik. Namun tidak semua antibiotik berhasil menghambat pertumbuhan bakteri tersebut⁴. Infeksi yang diobati antibiotik dapat

mempengaruhi resistensi bakteri⁵. Resistensi bakteri masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Menurut Permenkes RI tahun 2021, mengatasi tingginya angka resistensi bakteri terhadap antibiotik memerlukan penggunaan antibiotik yang tepat⁶.

Tumbuhan herbal adalah salah satu cara terbaik untuk mengurangi perkembangan bakteri yang resisten terhadap antibiotik⁷. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan herbal memiliki sifat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antibakteri⁸.

Salah satu tumbuhan herbal yang belum banyak dibudidayakan namun memiliki sifat antibakteri adalah daun beluntas (*Pluchea indica Less*). Beluntas merupakan salah satu jenis tanaman perdu yang sering dimanfaatkan sebagai sayuran dan obat-obatan herbal. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Nurrohman dkk. (2021), ekstrak daun beluntas diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Streptococcus mutans*, dengan diameter daya hambat sebesar 13,9 mm pada konsentrasi 5%, 14,9 mm pada konsentrasi 10%,

15,7 mm pada konsentrasi 15%, 16,9 mm pada konsentrasi 20%, dan 19,6 mm pada konsentrasi 25%⁹. Hal ini dikarenakan daun beluntas mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin¹⁰.

Memperoleh kandungan suatu memerlukan proses ekstraksi atau proses pemisahan kimia. Salah satu cara untuk memperoleh kandungan tersebut adalah dengan metode maserasi. Keunggulan metode maserasi adalah alat yang digunakan sederhana dan berbiaya rendah, namun memakan waktu yang lama¹¹. Salah satu faktor yang mempengaruhi maserasi adalah waktu maserasi. Waktu maserasi merupakan waktu yang diperlukan perendaman selama proses maserasi dilakukan. Menurut Diantika dkk. (2014), jika waktu maserasi melebihi waktu batas optimal maka hasil ekstraksi akan kurang optimal. Oleh karena itu, diperlukan waktu maserasi yang optimal untuk mencapai hasil yang maksimal¹².

METODE

Jenis penelitian ini adalah Quasi Eksperimen dengan desain penelitian yaitu perbandingan kelompok statistik. Jenis data yang digunakan adalah data primer yang diperoleh dari eksperimen pengujian ekstrak daun beluntas dengan variasi lama waktu maserasi 24 dan

72 jam lalu dibuat konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% yang ditambahkan ke cakram kosong untuk menentukan daya hambat *S. pyogenes*. Penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak daun beluntas yang dimaserasi selama 24 jam dan 72 jam, dibuat konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, cakram disk kosong dipipet 100 µg ekstrak dengan variasi konsentrasi tersebut. Cakram tersebut kemudian ditempatkan media *Mueller Hinton* Darah yang telah diinokulasikan suspensi bakteri *S. pyogenes*. Setelah media diinkubasi selama 24 jam, diameter daya hambat diukur menggunakan jangka sorong.

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 9 Mei - 31 Mei 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Kimia Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Penelitian ini dinyatakan layak etik dengan No. 38/KEPK/EC/IV/2024. Data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan aplikasi SPSS. Lalu analisis data dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan uji Post Hoc.

HASIL

Sebelum proses ekstraksi dilakukan uji kadar air pada simplisia kering daun beluntas. Kemudian didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Air

Berat Cawan Kosong (g)	Berat Sampel (g)	Berat cawan + sampel setelah pemanasan (g)	Kadar Air (%)
43,7216	2,034	45,6145	6,91

Setelah simplisia daun beluntas kering dihaluskan, simplisia tersebut direndam dalam etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:5. Setelah dilakukan

perendaman (maserasi), dilakukan proses evaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental daun beluntas. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak yang didapat. Uji

fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif dari daun beluntas. Hasil uji fitokimia dilakukan pada

ekstrak daun beluntas hasil maserasi 24 jam dan 72 jam. Didapatkan hasil uji sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia

Kandungan	Ekstrak dengan Maserasi 24 Jam	Ekstrak dengan Maserasi 72 Jam	Hasil Reaksi Positif
Saponin	+	+	Terbentuk busa stabil
Flavonoid	-	+	Terbentuk warna merah jingga atau kuning
Tanin	+	+	Terbentuk warna biru kehitaman
Alkaloid	Mayer : - Dragendroff : -	Mayer : + Dragendroff : +	Terdapat endapan oranye-merah/oranye-co klat

Uji selanjutnya yaitu inokulasi kultur murni *S. pyogenes* kemudian diinkubasi selama 24 jam. Koloni dengan ciri berwarna putih cenderung bening, β – hemolitik,

ukuran sekitar 1 mm diambil dari media agar darah lalu digunakan untuk uji penegasan. Hasil uji penegasan pada *S.pyogenes* didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Uji Penegasan

Uji Penegasan	Hasil	Hasil Positif
Hemolisis	β - hemolitik	Terdapat warna transparan disekitar koloni
Katalase	-	Terbentuk gelembung udara
Pewarnaan Gram	Gram Positif	Berwarna ungu, bersusun seperti rantai
Sensitivitas Bacitracin	+	Terdapat zona bening disekitar disk bacitracin dengan diameter >13 mm

Selanjutnya suspensi *S.pyogenes* diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm didapatkan absorbansi sebesar 0,126.

Setelah cakram kosong direndam dengan ekstrak yang sudah dimaserasi selama 24 dan 72 jam dengan masing-masing konsentrasi sebesar 5%, 10%, 15%,

20%, dan 25%, cakram tersebut diletakkan pada media *Mueller Hinton* Darah yang telah digoreskan suspensi bakteri *S.pyogenes* lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, diameter zona bening disekitaran cakram diukur dengan jangka sorong. Didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Beluntas

Waktu Maserasi (jam)	Konsentrasi (%)	Diameter Daya Hambat (mm)		
		1	2	3
	5	0,00	0,00	0,00
	10	0,00	0,00	0,00

24	15	0,00	0,00	0,00
	20	0,00	0,00	0,00
	25	0,00	0,00	0,00
72	5	0,00	0,00	0,00
	10	0,00	0,00	0,00
	15	0,00	0,00	0,00
	20	9,04	10,02	8,07
	25	13,05	13,03	12,05

Setelah data diperoleh dilanjutkan dengan uji statistik yaitu uji normalitas. Berikut hasil dari uji normalitas :

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas

<i>Shapiro-Wilk</i>			
	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for diameter	.929	30	.045

Data dari penelitian ini berjumlah kurang dari 30, maka pada uji normalitas digunakan *Shapiro-Wilk*. Berdasarkan tabel diperoleh nilai signifikan $< 0,05$, yang berarti data tidak terdistribusi dengan normal. Jika data tidak terdistribusi dengan normal syarat untuk uji Two Way Anova tidak

terpenuhi. Oleh karena itu pengujian data dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*.

Didapatkan hasil uji *kruskal-wallis* adalah sebagai berikut:

Tabel 6. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Variabel Konsentrasi

Diameter	
Chi-Square	10.880
df	4
Asymp. Sig.	.028

Tabel 7. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Variabel Waktu Maserasi

Diameter	
Chi-Square	7.134
df	1
Asymp. Sig.	.008

Hasil dari uji *Kruskal-Wallis* pada tabel 4.7 dan 4.8 diperoleh nilai Asymp Sig. $< 0,05$, yang berarti perlakuan dengan variasi konsentrasi dapat memberikan hasil diameter daya hambat pertumbuhan bakteri yang berbeda dan perlakuan

dengan variasi waktu maserasi dapat memberikan hasil diameter daya hambat pertumbuhan bakteri yang berbeda pula. Oleh karena itu dilanjutkan dengan uji lanjutan yaitu uji Post Hoc.

Berikut hasil uji Post Hoc yang didapatkan.

Tabel 8. Hasil Uji Post Hoc

(I)Konsentrasi	(J)Diameter	Mean Difference	Std. Error	Sig	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
20%	5%	1.52167	.98251	.714	-1.5871	4.6304
	10%	1.52167	.98251	.714	-1.5871	4.6304
	15%	1.52167	.98251	.714	-1.5871	4.6304
	25%	-1.83333	.98251	.517	-4.9421	1.2754
	kontrol positif	-5.47833*	1.20333	.002	-9.2858	-1.6709
	kontrol negatif	1.52167	1.20333	.862	-2.2858	5.3291
25%	5%	3.35500*	.98251	.028	.2462	6.4638
	10%	3.35500*	.98251	.028	.2462	6.4638
	15%	3.35500*	.98251	.028	.2462	6.4638
	20%	1.83333	.98251	.517	-1.2754	4.9421
	kontrol positif	-3.64500	1.20333	.068	-7.4525	.1625
	kontrol negatif	3.35500	1.20333	.112	-.4525	7.1625
Kontrol positif	5%	7.00000*	1.20333	.000	3.1925	10.8075
	10%	7.00000*	1.20333	.000	3.1925	10.8075
	15%	7.00000*	1.20333	.000	3.1925	10.8075
	20%	5.47833*	1.20333	.002	1.6709	9.2858
	25%	3.64500	1.20333	.068	-.1625	7.4525
	kontrol negatif	7.00000*	1.38948	.000	2.6035	11.3965
Kontrol negatif	5%	.00000	1.20333	1.000	-3.8075	3.8075
	10%	.00000	1.20333	1.000	-3.8075	3.8075
	15%	.00000	1.20333	1.000	-3.8075	3.8075
	20%	-1.52167	1.20333	.862	-5.3291	2.2858
	25%	-3.35500	1.20333	.112	-7.1625	.4525
	kontrol positif	-7.00000*	1.38948	.000	-11.3965	-2.6035

Jika nilai signifikansi < 0.05 , artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar variasi konsentrasi terhadap diameter daya hambat pertumbuhan bakteri. Pada tabel 4.6 terlihat konsentrasi 25% memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik terhadap diameter daya hambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Pada konsentrasi 25% tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif $> 0,05$. Akan tetapi untuk konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% terdapat perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif karena nilai sig ($< 0,05$).

PEMBAHASAN

Proses ekstraksi diawali dengan merendam simplisia kering daun beluntas dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96% karena bersifat universal, mudah didapat, dan polar. Etanol 96% juga dipilih karena kapasitas filtrasinya yang tinggi dalam menyaring senyawa polar, non-polar, dan semi polar¹³. Waktu maserasi diberikan perlakuan berbeda yaitu, 24 jam dan 72 jam. Setelah proses maserasi selesai, proses evaporasi dilanjutkan hingga menghasilkan ekstrak kental dari daun beluntas.

Ekstrak kental dari daun beluntas ini kemudian diuji keberadaan kandungan senyawa aktifnya dengan uji fitokimia. Uji fitokimia terhadap ekstrak yang dimaserasi selama 24 dan 72 jam menunjukkan positif mengandung saponin dan tanin. Akan tetapi, ekstrak yang dimaserasi selama 24 jam negatif mengandung flavonoid dan alkaloid yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna menjadi kuning atau jingga pada ekstrak yang diuji. Sedangkan pada ekstrak yang dimaserasi selama 72 jam positif mengandung flavonoid dan alkaloid yang ditandai dengan adanya perubahan warna ekstrak menjadi kuning atau jingga. Hal ini dikarenakan pada waktu maserasi 24 jam kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam daun beluntas tidak dapat terlarut dengan sempurna oleh pelarut.

Koloni bakteri dari media agar darah diambil dan dibuat suspensi bakteri dengan pengencer yaitu NaCl 0,9% steril. Kekeruhan suspensi bakteri ini sebanding dengan standar *Mc Farland* 0,5. Absorbansi suspensi bakteri diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Didapatkan hasil absorbansi sebesar 0,126, yang sesuai dengan rentang absorbansi larutan standar *Mc Farland* 0,5 sebesar 0,08-0,1 pada panjang gelombang 600-625 nm¹⁴.

Diameter daya hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong dan diperoleh hasil untuk ekstrak yang dimaserasi selama 24 jam, semua konsentrasi tidak terbentuk daya hambat. Hal ini sejalan dengan uji fitokimia pada ekstrak yang dimaserasi selama 24 jam tidak terdapat kandungan flavonoid dan alkaloid. Flavonoid bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri. Sedangkan

alkaloid mendegradasi komponen penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri sehingga mengakibatkan pembentukan lapisan dinding sel tidak sempurna¹⁵. Waktu maserasi sangat berpengaruh terhadap senyawa yang dihasilkan, dengan waktu maserasi selama 24 jam, pelarut tidak bekerja secara optimal untuk menarik kandungan antibakteri dari daun beluntas tersebut. Dengan demikian, waktu maserasi daun beluntas selama 24 jam tidak efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.pyogenes*. Pada uji statistik *Kruskal-Wallis* pun nilai asymp. sig < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan antara waktu maserasi 24 jam dan 72 jam terhadap diameter daya hambat pertumbuhan *S.pyogenes*.

Untuk ekstrak yang dimaserasi selama 72 jam, tidak terdapat daya hambat pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% akan tetapi, terdapat daya hambat pada konsentrasi 20% dan 25% dengan rata-rata diameter pada konsentrasi 20% sebesar 9,04 mm dan rata-rata diameter pada konsentrasi 25% sebesar 12,71 mm. Semakin tinggi konsentrasi larutan, maka senyawa antimikroba akan semakin banyak berdifusi ke dalam media, sehingga berpotensi menimbulkan penghambatan¹⁶. Hal ditunjukkan dengan penghambatan pertumbuhan diameter maksimum *S. pyogenes* terjadi pada konsentrasi ekstrak 25%. Penelitian yang dilakukan Mangendong tahun 2016 yang menguji efektivitas daun beluntas terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*, menemukan bahwa diameter daya hambat pada konsentrasi 80% ternyata masih jauh lebih rendah dibandingkan kontrol positif siprofloksasin¹⁷. Oleh karena itu, agar daun beluntas efektif dalam

menghambat pertumbuhan *S.pyogenes* perlu dibuat konsentrasi ekstrak yang lebih besar atau minimal diameter daya hambatnya mendekati diameter daya hambat kontrol positif bacitracin.

Menurut Davis-Stout kategori daya hambat bakteri dibedakan menjadi kategori sangat kuat (≥ 20 mm), kuat (10-20 mm), lemah (5-10 mm), dan sangat lemah (≤ 5 mm)¹⁸. Dengan demikian pada konsentrasi 20% kategori daya hambat tergolong lemah dan pada konsentrasi 25% tergolong kuat. Mengacu pada standar sensitivitas bacitracin 10 units menurut NCCLS, konsentrasi 25% efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.pyogenes*, dikarenakan ada diameter daya hambat sebesar 13 mm¹⁹. Hasil Uji Post Hoc menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$ antara diameter konsentrasi 25% dengan diameter kontrol positif. Artinya tidak terdapat perbedaan nilai yang signifikan antara konsentrasi 25% dengan kontrol positif.

SIMPULAN

Ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) pada konsentrasi 25% efektif menghambat pertumbuhan *S.pyogenes* karena memiliki diameter daya hambat sebesar 13 mm. Sedangkan waktu maserasi ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S.pyogenes* adalah 72 jam. Bagi peneliti selanjutnya, dapat melakukan penelitian lebih lanjut ekstrak daun beluntas terhadap *S.pyogenes* dengan konsentrasi yang lebih besar dari 25% dan dapat melakukan penelitian lebih lanjut uji fitokimia secara kuantitatif terhadap ekstrak daun beluntas.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO. *World Health Statistics: World Health Statistics 2015*. Vol 151.; 2015.
2. Kementerian Kesehatan RI. Riskendas 2018. *Lap Nas Riskendas 2018*. 2018;44(8):181-222. [http://www.yankes.kemkes.go.id/assets/downloads/PMK No. 57 Tahun 2013 tentang PTRM.pdf](http://www.yankes.kemkes.go.id/assets/downloads/PMK_No_57_Tahun_2013_tentang_PTRM.pdf)
3. Chan AMW, Au WWY, Chao DVK, et al. Antibiotic management of acute pharyngitis in primary care. *Hong Kong Med J*. 2019;25(1):58-63. doi:10.12809/hkmj187544
4. Siemens N, Lütticken R. Streptococcus pyogenes ("group a streptococcus"), a highly adapted human pathogen—potential implications of its virulence regulation for epidemiology and disease management. *Pathogens*. 2021;10(6). doi:10.3390/pathogens10060776
5. Sari DP, Sari PS, Deccati RF, Elizar LJA. Edukasi Kesehatan Pencegahan Resistensi Antibiotik Menggunakan Video Animasi Pada Anak Panti Asuhan Di Kota Mataram. *J Abdi Insa*. 2023;10(2):707-721. doi:10.29303/abdiinsani.v10i2.960
6. Kementerian Kesehatan RI. Peraturan Menteri Kesehatan Tahun 2021.
7. Puteri T, Milanda T. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Buaya (Aloe vera L.) Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus: Review. *Farmaka*. 2021;18(1):53-59.
8. Makmun A, Azizah FN. Beberapa Khasiat Buah Tin (Ficus Carica) Dari Antikonvulsan, Antialergi, Antiinflamasi, Antihiperglikemi,

- Antikanker Hingga Terapi Hati. *Unram Med J*. 2020;9(3):184-201. doi:10.29303/jk.v9i3.4365
9. Nurrohman E, Pantiwati Y, Susetyarini E, Umami EK. Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica*) sebagai Antibakteri *Streptococcus mutans* ATCC25175 Penyebab Karies Gigi. 2021;6(1):9-17.
 10. Agustin BA, Puspawaty N, Rukmana RM. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica* Less.) dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. 2018;11(02).
 11. Handoyo DLY. The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (*Piper Betle*). *J Farm Tinctura*. 2020;2(1):34-41. doi:10.35316/tinctura.v2i1.1546
 12. Diantika F, Sutan SM, Yulianingsih R. Pengaruh Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Effect of Long Extraction and Concentration and Concentration of Ethanol Solvent Extraction Antioxidant Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.). *J Teknol Pertan*. 2014;15(3):159-164.
 13. Trifanni. *Ekstraksi Pelarut Cair-Cair*. Universitas Indonesia; 2012.
 14. Dalyn. *McFarland Standard. Dalynn Biological Catalogue No. TM50 – TM60*; 2014.
 15. Putra AH, Corvianindya Y, Wahyukundari MA. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminata*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Antibacterial Activity of Ethanol Extract of White Frangipani leaf (*Plumeria acuminata*) Against the Growth of *Streptococcus mutans*). *Pustaka Kesehat*. 2017;5(3):449-453. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/6013/4442>
 16. Suprianto. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Sebagai Anti *Streptococcus mutans*. Published online 2008.
 17. Meigaria KM, Mudianta IW, Martiningsih NW. SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ASETON DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*). 2016;10(1):1-11.
 18. Davis WW, Stout TR. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy. *Appl Microbiol*. 1971;22(4):666-670. doi:10.1128/aem.22.4.666-670.1971
 19. Clinical Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard ninth Edition*; 2012.