

PERBANDINGAN AKTIVITAS DAYA HAMBAT SEDIAAN TUNGGAL DENGAN KOMBINASI INFUS *Phyllanthus niruri* DAN *Peperomia pellucida* TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Lie Vanny Leono¹, Edyson², Lia Yulia Budiarti³,

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat.

²Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat.

³Departemen Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat.

Email korespondensi: vannyylie5@gmail.com

Abstract: *Phyllanthus niruri* and *Peperomia pellucida* traditionally used for treatment of a variety of diseases. Both of these plants are known to contain compounds that have antibacterial activity name flavonoids, alkaloids, tannins. Medicinal plant consumption can be used singly or in combination. The purpose of this study was to analyze the differences of optimum inhibitory activity between a single and the combination of infusion of *P. niruri* and *P. pellucida* on the growth of *S. aureus* in vitro. This study method was a true experimental with post test-only design with control group design, consisting of 26 single and combination treatments of *P. niruri* concentrations at 5%, 15, 25%, 35% and *P. pellucida* concentration at 10%, 20%, 30 %, 40%. The controls used were vancomycin 30µg and distilled water. The parameter measured is the diameter of the inhibition zone. The data was analyzed used One-way ANOVA test and Duncan's post-hoc test with $\alpha = 0.05$. The results showed there were significant differences from each treatment of single and combination infusion ($p < 0.05$). The combination of *P. niruri* and *P. pellucida* infusion that produces optimum inhibitory zone effect greater than the single preparation found at Meniran 25% + *P. pellucida* 40%. The conclusion from this study is that the combination infusion have optimum inhibition greater than the single infusion.

Keywords: single dose, combination dose, *Phyllanthus niruri*, *Peperomia pellucida*, *Staphylococcus aureus*, optimum inhibitory activity

Abstrak: Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan sirih cina (*Peperomia pellucida*) merupakan tanaman herbal yang digunakan masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Kedua tanaman ini diketahui mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, dan tanin. Sediaan tanaman obat dapat digunakan secara tunggal maupun kombinasi. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis perbedaan aktivitas daya hambat optimum dari sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara in vitro. Metode penelitian ini adalah true experimental dengan rancangan post test-only with control group design, terdiri dari 26 perlakuan sediaan tunggal dan kombinasi infus pada konsentrasi meniran 5%, 15, 25%, 35% dan sirih cina 10%, 20%, 30%, 40%. Kontrol yang digunakan yaitu Vankomisin 30µg dan akuades. Parameter yang diukur yaitu diameter zona hambat. Analisis data menggunakan uji One-way ANOVA dan uji post-hoc Duncan dengan $\alpha = 0,05$. Hasil penelitian didapatkan ada perbedaan bermakna dari masing-masing perlakuan sediaan tunggal dan kombinasi ($p < 0,05$). Sediaan kombinasi infus meniran dan sirih cina yang menghasilkan efek zona hambat optimum lebih besar daripada sediaan tunggalnya terdapat pada konsentrasi meniran 25% + sirih cina 40%. Simpulan dari penelitian ini adalah sediaan kombinasi memiliki daya hambat optimum lebih besar dibandingkan sediaan tunggalnya.

Kata-kata kunci: sediaan tunggal, sediaan kombinasi, *Phyllanthus niruri*, *Peperomia pellucida*, *Staphylococcus aureus*, Daya hambat optimum

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan patogen bagi manusia yang dapat menyebabkan berbagai penyakit dengan spektrum yang sangat luas. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang juga ditemukan pada kulit dan mukosa tubuh manusia sebagai flora normal.¹ Pengobatan yang digunakan untuk mengatasi infeksi *S. aureus* adalah dengan penggunaan antibiotik. Namun, seiring meningkatnya penggunaan yang tidak rasional dari antibiotik, tingkat resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik jenis tertentu juga semakin meningkat ditandai dengan tingginya angka kejadian MRSA baik di dunia maupun di Indonesia.

Penanganan infeksi bakteri selain menggunakan antibiotik juga dapat menggunakan tanaman herbal. Tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat-obatan herbal oleh masyarakat untuk mengatasi infeksi, diantaranya adalah tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) dan sirih cina (*Peperomia pellucida*). Kedua tanaman ini memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Senyawa ini memiliki daya kerja sebagai antimikroba.^{2,3,4} Penelitian Bhasha dkk (2014) mendapatkan hasil bahwa ekstrak metanol meniran 10-30% memiliki zona hambat terhadap *S. aureus* sebesar 10-14mm.⁵ Hasil penelitian Rahman dkk (2018) menunjukkan zona hambat dari ekstrak air meniran 10% sebesar 15mm terhadap *S. aureus*.⁶ Hasil penelitian Ganiyat dkk (2011) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sirih cina 20% memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan *S. aureus* sebesar 10mm dan ekstrak air meniran 5%-20% dapat menghasilkan zona hambat sebesar 10mm-14mm pada pertumbuhan *S. aureus*.⁷ Penelitian Nurbani dkk (2018) juga menyatakan bahwa infus daun sirih cina konsentrasi 10% dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 10,14mm.⁸

Konsumsi sediaan tanaman obat untuk dapat digunakan secara tunggal, atau kombinasi dari dua tanaman atau lebih dalam bentuk sediaan ekstrak maupun sediaan infus.⁹ Penggunaan sediaan kombinasi dari dua tanaman yang memiliki zat aktif dengan mekanisme kerja yang sama dapat memberikan efek terapeutik yang lebih besar, hal ini dikenal dengan efek sinergis.¹⁰ Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis perbedaan aktivitas daya hambat optimum sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina terhadap *S. aureus* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan ialah metode eksperimental murni dengan rancangan *posttest-only with control group design* dengan menggunakan 26 perlakuan yang terdiri dari sediaan tunggal dan kombinasi infus dengan 4 konsentrasi berbeda yakni meniran 5%, 15%, 25%, 35% dan sirih cina 10%, 20%, 30% dan 40%, vankomisin (kontrol positif), dan akuades (kontrol negatif). Jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan adalah tiga kali.

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah korek api, kompor, panci infus, kapas lidi steril, osse steril, pinset, pipet tetes, pipet ukur, kain flanel, spatula, sendok porselen, corong, tabung reaksi (Pyrex Brand®), meja laminary air flow (Holten Maxisafe®), cawan petri, aluminium foil, gelas Erlenmeyer (IWAKI®), gelas beker, lampu spiritus, caliper (Tricle Brand), pisau steril (stainless), neraca analitik, blender (National™), penangas air (waterbath), autoclave (All American®), dan inkubator aerob (Carbolite®). Bahan : tanaman meniran dan sirih cina yang diambil di sekitaran Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat (FK ULM) Banjarbaru, Isolat *S. aureus* ATCC 25923, *paper disk* steril, vankomisin 30 µg, kain flannel, media MHA, media *Brain Heart Infusion* (BHI),

media NA, akuades, larutan standar *Mc Farland* 1 (setara jumlah bakteri sebesar 3.108 CFU/ml), NaOH, Pb Asetat 10%, Reagen Dragendroff, Reagen Meyer, Gelatin 1%, FeCl₃ 3%, Benzena, Kloroform, Asam asetatanhidrat, dan H₂SO₄ pekat.

Persiapan awal ialah mensterilkan seluruh alat yang digunakan pada penelitian menggunakan autoklaf pada suhu 121° selama 1 jam setelah sebelumnya dibungkus menggunakan aluminium foil. Selanjutnya meniran dan sirih cina diambil dan dikumpulkan sebanyak 1 kg di FK ULM Banjarbaru. Identifikasi dan determinasi spesies meniran dan sirih cina akan dilakukan di Laboratorium Dasar FMIPA ULM Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

Pembuatan simplisia ialah tanaman meniran dan sirih cina segar yang telah disiapkan dicuci bersih dengan air mengalir sampai terpisah dari kotoran terutama tanah, lalu ditiriskan. Kemudian tanaman diiris kecil-kecil dan dikeringkan dengan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 60°C hingga didapatkan bobot tetap. Kemudian bahan dihaluskan dengan blender sampai halus dan serbuk halus yang didapat kemudian ditimbang.¹¹

Simplisia meniran dan sirih cina yang didapat ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dimasukkan masing-masing kedalam akuades 100 ml untuk dibuat infus. Campuran kedua bahan ini akan diperoleh konsentrasi 100% b/v. Kemudian, campuran tersebut dimasukkan ke dalam panci infus dan dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit sambil diaduk sesekali. Hasil rebusan yang diperoleh diserkai dengan menggunakan kain flanel.

Untuk menentukan konsentrasi sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina yang akan digunakan, dilakukan uji dengan metode dilusi untuk menentukan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dari infus tanaman.

Uji skirining fitokimia yang dilakukan ialah Uji flavonoid dengan menggunakan metode uji Reagen alkalin. 1 ml sampel infus meniran dan sirih cina dicampur dengan beberapa tetes larutan NaOH di dalam tabung reaksi. Jika warna kuning yang terbentuk pada larutan ketika ditambahkan dengan asam encer menjadi tidak berwarna, maka positif mengandung flavonoid. Selanjutnya dengan metode uji Timbal Asetat. 1 ml infus meniran dan sirih cina dicampur dengan larutan Pb Asetat 10% di dalam tabung reaksi kemudian dikocok. Apabila warna menjadi kuning kecokelatan, maka positif mengandung flavonoid.¹²

Uji tanin dilakukan dengan menggunakan metode uji Gelatin. 2 ml sampel infus meniran dan sirih cina dicampur dengan larutan gelatin 1% 2 ml yang mengandung NaCl. Apabila terbentuk endapan berwarna putih pada tabung reaksi, maka positif mengandung tanin.¹²

Uji alkaloid dengan metode uji Mayer. 1 ml sampel infus meniran dan sirih cina dicampur dengan 1 ml reagen Mayer. Apabila terbentuk endapan berwarna kuning pada tabung reaksi, maka positif mengandung alkaloid. Uji Dragendroff. 1 ml sampel infus meniran dan sirih cina dicampur dengan 1 ml reagen Dragendroff. Apabila terbentuk endapan merah pada tabung reaksi, maka positif mengandung alkaloid.¹²

Uji saponin dengan menggunakan metode uji Foam. 2 ml sampel infus meniran dan sirih cina dicampur dengan 2 ml air kemudian dikocok. Apabila busa yang terbentuk dapat bertahan hingga 10 menit, maka positif mengandung saponin.¹²

Uji steroid dengan menggunakan metode uji Libermann Burchards. 50 mg sampel meniran dan sirih cina dilarutkan menggunakan kloroform dan disaring. Hasil saringan kemudian dicampurkan dengan asetatanhidrat lalu dididihkan dan didinginkan. Setelahnya, larutan ditetesi dengan asam sulfat pekat secara perlahan

melalui dinding tabung. Apabila terbentuk cincin berwarna coklat, maka positif mengandung steroid.¹²

Uji terpenoid dengan metode uji Salkowski. 50 mg sampel meniran dan sirih cina dilarutkan menggunakan kloroform dan disaring. Hasil saringan ditetesi asam sulfat pekat dan dikocok. Apabila campuran berwarna kuning emas, maka positif mengandung terpens.¹²

Uji fenol dengan menggunakan uji Besi (III) Klorida. 1 ml sampel infus meniran dan sirih cina dicampurkan dengan 1 mL FeCl₃ 3%. Apabila terbentuk endapan berwarna hitam kehijauan pada tabung reaksi, maka positif mengandung tanin.¹³

Uji antrakuinon dengan menggunakan uji Brontrager. 2 ml sampel infus meniran dan sirih cina dilarutkan dengan 10 ml akuades kemudian disaring. Hasil saringan kemudian diekstrak dengan 5 ml benzena lalu hasilnya ditambahkan dengan ammonia dan dikocok. Apabila terdapat warna merah, maka hasil dinyatakan positif.¹⁴

Suspensi *S. aureus* yang telah distandarkan dengan Mc Farland I disiapkan kemudian di-swab pada media MHA. *Paper disk* yang sebelumnya masing-masing telah direndam dalam sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina dengan empat konsentrasi berbeda selama 1 jam diletakkan ke dalam media MHA menggunakan pinset. Selanjutnya, semua media uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.¹⁵ Hasil inkubasi akan memperlihatkan adanya besaran diameter zona hambat (zona bening) di sekitar *paper disk* yang kemudian diukur pada masing-masing media pertumbuhan bakteri uji.

Analisis data pada penelitian ini ialah dengan cara data ditabulasi dan dihitung rerata besaran zona hambatnya dari masing-masing perlakuan pada tiap pengulangan. Analisis data yaitu besaran diameter zona

hambat optimum pada penelitian ini dilakukan menggunakan uji statistik SPSS. Sebaran data normal dengan uji *Shapiro-Wilk* dan homogen menggunakan uji *Levene's*, selanjutnya dilakukan analisis parametrik menggunakan uji *One-way Anova* (tingkat kepercayaan 95%); dan dilakukan uji lanjut menggunakan uji *Post-hoc Duncan*.

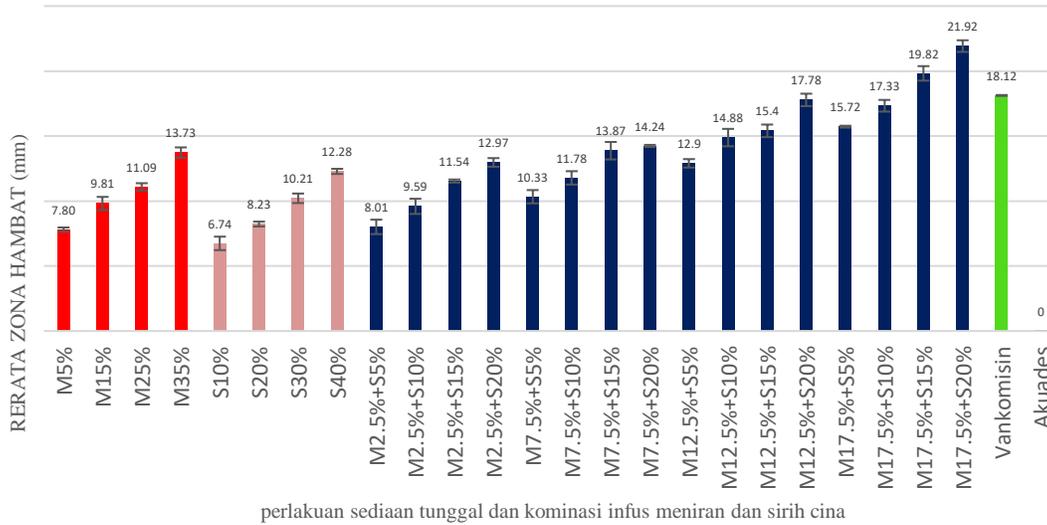
HASIL DAN PEMBAHASAN

Variasi konsentrasi yang digunakan diperoleh berdasarkan uji KHM dengan metode dilusi. Pada uji dilusi didapatkan KHM dari infus meniran ialah 4% dan infus sirih cina 8%.

Hasil rerata pengukuran diameter zona hambat terhadap *S. aureus* dari masing-masing perlakuan terdapat pada gambar 1. Hasil penelitian pada gambar 1 menunjukkan bahwa seluruh perlakuan konsentrasi infus meniran dan sirih cina memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Besaran zona hambat yang terbentuk disekitar pertumbuhan bakteri uji tersebut menunjukkan bahwa tanaman meniran dan sirih cina memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri yang dibuktikan dengan hasil skrining fitokimia yang dilakukan (tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Senyawa	Meniran	Sirih Cina
Flavonoid		
- Uji reagen alkalin	+	+
- Uji timbal asetat	+	+
Tanin	+	-
Alkaloid		
- Uji Dragendroff	+	+
- Uji Mayer	+	+
Saponin	-	-
Steroid	+	+
Antrakuinon	+	+
Terpenoid	+	+
Fenol	+	+



Gambar 1. Rerata Diameter Zona Hambat dari Sediaan Tunggal dan Kombinasi Infus Meniran dan Sirih Cina terhadap *Staphylococcus aureus*.

Gambar 1 juga menunjukkan terdapat peningkatan dari rerata diameter zona hambat setiap perlakuan baik sediaan infus tunggal maupun kombinasi seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diuji. Hal ini juga dibuktikan dari hasil penelitian Widyaningtias dkk (2014) mengenai uji antibakteri (*Piper betle*) yang menyatakan bahwa diameter zona hambat akan semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi.¹⁶ Bila terdapat dua agen antimikroba yang bekerja bersamaan pada populasi bakteri yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, hal tersebut terbukti dari penelitian ini yang menunjukkan perlakuan kombinasi pada kedua tanaman ini menunjukkan efek daya hambat yang lebih besar daripada sediaan tunggalnya.¹⁰

Penentuan daya hambat optimum sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina terhadap *S. aureus* pada penelitian ini mengacu pada hasil uji statistik *post hoc* Duncan. Daya hambat optimum ialah besaran zona hambat dari perlakuan sediaan infus meniran dan sirih cina pada konsentrasi terkecil yang besarnya setara atau tidak berbeda bermakna dengan kontrol

positifnya, dalam hal ini vankomisin berdasarkan uji statistik. Pada hasil penelitian ini tidak didapatkan adanya daya hambat optimum bagi sediaan tunggal infus meniran maupun sirih cina. Daya hambat optimum pada sediaan kombinasi didapat pada kombinasi infus meniran 12,5% + sirih cina 20% (17.78 mm) dengan hasil tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif berdasarkan uji statistik. Kombinasi yang memiliki daya hambat terbesar dari semua perlakuan dan memiliki zona hambat yang lebih besar dari kontrol positif ialah perlakuan kombinasi infus meniran 17,5%+ sirih cina 15% (19.82 mm) dan kombinasi meniran 17,5%+ sirih cina 20% (21.92 mm). Efek perlakuan kontrol positif yaitu vankomisin (30 µg) yang digunakan pada penelitian ini memberikan besaran zona hambat sebesar 18,12 mm. Efek perlakuan dari kontrol negatif (akuades) tidak memberikan besaran zona hambat pada bakteri uji. Berdasarkan standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) tahun 2018, bila besaran zona hambat vankomisin ≥ 17 mm maka zona hambat vankomisin terhadap *S. aureus* pada penelitian ini tergolong bersifat sensitif.¹⁷

Adanya perlakuan yang tidak berbeda bermakna antara infus tanaman dan kontrol positif tersebut dikarenakan meniran dan sirih cina memiliki senyawa metabolit yang memiliki mekanisme kerja yang setara dengan kontrol positifnya (vankomisin). Mekanisme kerja flavonoid yang terdapat pada meniran dan sirih cina adalah dengan cara meracuni protoplasma mikroba, menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri, merusak dinding sel, serta mendenaturasi protein dinding sel bakteri sehingga merubah susunan dan permeabilitas dari sel tersebut.³ Mekanisme kerja alkaloid pada meniran dan sirih cina adalah dengan merusak komponen peptidoglikan yang ada pada sel bakteri sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut.² Tanin pada meniran merupakan senyawa polifenol yang memiliki mekanisme antimikroba dengan menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein dan polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel kurang sempurna dan sel menjadi mudah lisis.¹⁸ Senyawa fenol pada kedua tanaman juga memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu fungsi membrane sitoplasma. Steroid sebagai antibakteri pada kedua tanaman berhubungan dengan membrane lipid yang menyebabkan lisis pada liposom bakteri.¹⁹ Mekanisme kerja vankomisin ialah dengan cara berinteraksi dengan d-alanin rantai pentapeptida dan menghambat sintesis fosfolipid dinding sel bakteri sehingga peptidoglikan menjadi lemah dan sel bakteri mudah hancur.^{20,21} Mekanisme kerja tersebut sama dengan mekanisme kerja flavonoid, alkaloid, dan tanin yang terdapat pada meniran dan sirih cina. *S. aureus* adalah bakteri gram positif dimana struktur dinding sel nya sedikit mengandung lipid dan bersifat lebih polar²², sehingga senyawa- senyawa yang bersifat polar pada kedua tanaman akan lebih mudah menembus peptidoglikan pada dinding sel bakteri.

PENUTUP

Dari penelitian ini, didapatkan kesimpulan yaitu tidak didapatkan daya hambat optimum pada sediaan tunggal infus meniran dan sirih cina yang dapat menyamai vankomisin, pada sediaan kombinasi, didapatkan konsentrasi optimum yaitu pada infus meniran 17,5% + sirih cina 20% (17.78 mm). Perlakuan kombinasi infus yang memiliki daya hambat lebih besar dibanding kontrol positif (vankomisin) ialah meniran 17,5%+ sirih cina 15% (19.82 mm) dan kombinasi meniran 17,5%+ sirih cina 20% (21.92 mm) terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

DAFTAR PUSTAKA

1. Benneth JE, Dolin R, Blaser MJ. Principles and practice of infectious diseases. 8th edition. Philadelphia: Elsevier; 2015.
2. Munfaati PN, Ratnasari E, Trimulyono G. Aktivitas senyawa antibakteri ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Lenterabio. 2015;4(1):64-7.
3. Fitriani A. Aktivitas alkaloid *Ageratum conyzoides* L. Terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. PERHIPBA. 2014:67-73.
4. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh antibakteri ekstrak batang matoa (*Pomelia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. JMUO. 2013; 2(2): 128-132.
5. Shanmugam B, Shanmugam KR, Ravi S, Subbaiah GV, Mallikarjuna K, Reddy KS. Antibacterial activity and phytochemical screening of *Phyllanthus niruri* in ethanolic, methanolic, and aqueous Extracts. IJPSSR. 2014; 27(2): 85-89.
6. Rahman MA, Marzan M, Parvez MAK. Synergism of *Phyllanthus niruri* effect with gentamycin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. European J Med Plants. 2018;25(3):1.

7. Oloyede GK, Onocha PA, Olaniran BB. Phytochemical, toxicity, antimicrobial and antioxidant screening of leaf extract of *Peperomia pellucida* from Nigeria. AEB. 2011; 5(12): 3700-3709.
8. Fatmalia N, Dewi ES. Uji efektivitas rebusan daun suruhan (*Peperomia pellucida*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Akademi Analis Gresik. 2018;8(15):8-13.
9. Yanti YN. Infusa daun randu (*Ceibapetandra gaertn*) untuk formulasi obat kumur. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 2017; 2(2): 225-231.
10. Carroll KC, Hobden JA, Miller S, Morse SA, Mietzner TA, Detrick B, et al. Jawetz, Melnick, 7 Adelberg's medical microbiology. Ed 27th. United States; McGrawHill:2016.
11. Widaryanto E, Azizah N, Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat : Peluang, Budidaya, Pengolahan Hasil dan Pemanfaatan. Malang: UB press; 2018.
12. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction : a review. Int Pharm Sci. 2011;1(1):103-4.
13. Solihah MA, Wan Rosli WI, Nurhanan AR. Phytochemical screening and total phenolic content of Malaysian *Zea Mays* hair extract. Inf Food Res J. 2012;19(4):1534
14. Marlina SD, Suryanti V, Suyono. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) dalam ekstrak etanol. Biofarmasi. 2005;3(1):27.
15. Willey JM., Sherwood LM., Woolverton CJ., and Prescott LM. Prescott, Harley, and Klein's Microbiology. Edisi 7. New York: McGraw-Hill Higher Education; 2008.
16. Widyaningtyas NMSR, Yustiantara PS, Paramita NLPV. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasi Udayana. 2014.
17. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
18. Astuti W, Prasetyagiarti A. Konsentrasi efektif ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tunas Medika Jurnal. 2016;3(4).
19. Marina E, Manurung H, Nugroho RA. Uji fitokimia dan antibakteri ekstrak etanol daun balangla (*Litsea cubeba* Pers.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Prosiding FMIPA UNMUL. 2015;1(1).
20. Jazmin UH, Agustina D, Prasetyo R. Efektivitas kombinasi vankomisin dan vitamin c terhadap pertumbuhan MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*). Jurnal Pustaka Kesehatan. 2018:107-12.
21. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Kemenkes RI Nomor 761/MENKES/SK/IX/1992 tentang pedoman fitofarmaka menteri kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Menteri Kesehatan RI; 1992. h. 3-8.
22. Dewi MK, Raatnasari E, Trimulyono G. Aktivitas antibakteri ekstrak daun majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. LenteraBio. 2014;3(1):51-7.

