

POTENSI DAUN TANAMAN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERI TERHADAP *Streptococcus mutans*

POTENCY OF *Syzygium myrtifolium* Walp. LEAVES AS AN ANTIBACTERIAL AGENT AGAINST *Streptococcus mutans*

Vilya Syafriana^{1*}, Yayu Wiranti²

¹Laboratorium Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta

²Laboratorium Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta

Submitted: 3 Maret 2022

Reviewed: 20 Juni 2022

Accepted: 20 September 2022

ABSTRACT

Pucuk merah are plants with two leaf colors, the shoot is red and the other part is green. The leaves of this plant have been shown to have antibacterial activity in previous studies, but its activity against Streptococcus mutans has not been reported. This study aimed to determine the antibacterial activity of red and green leaf extract of pucuk merah plant against S. mutans. The maceration method was used to extract the leaves using 70% ethanol as the solvent. The antibacterial activity test was conducted using the disc diffusion method to determine the value of the Inhibition Zone (IZ), followed by a solid dilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The results showed that the green leaf extract had IZ values at concentrations of 10%, 20%, 40%, 80%, respectively, of 8.51±0.26 mm; 10.30±0.08 mm; 11.21±0.06 mm; and 12.57±0.15 mm; while the red leaf showed 9.04±0.45 mm; 10.79±0.63 mm; 11.87±0.39 mm; and 13.35±0.93 mm IZ values at the same concentrations respectively. Based on statistical analysis data, the difference in IZ values was not significantly different. The MIC test revealed that both green and red leaf extracts inhibited the growth of S. mutans at a concentration of 2%. According to these findings, the MIC value of pucuk merah leaf extract has yet to be determined. However, these findings suggest that the pucuk merah leaves may have antibacterial properties against S. mutans.

Keywords: antibacterial, ethanol, green leaf, maceration, red leaf

ABSTRAK

Pucuk merah merupakan tanaman yang memiliki dua warna daun, yaitu bagian pucuk berwarna merah dan bagian lainnya berwarna hijau. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun dari tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri, namun aktivitasnya terhadap *Streptococcus mutans* belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak daun merah dan daun hijau tanaman pucuk merah terhadap bakteri *S. mutans*. Ekstraksi daun dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram untuk menentukan nilai Diameter Daya Hambat (DDH) dan dilanjutkan dengan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode dilusi padat. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun hijau memiliki nilai DDH pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% secara berurutan sebesar 8,51±0,26 mm; 10,30±0,08 mm; 11,21±0,06 mm; dan 12,57±0,15 mm; sedangkan daun merah dengan konsentrasi yang sama memiliki DDH sebesar 9,04±0,45 mm; 10,79±0,63 mm; 11,87±0,39 mm; dan 13,35±0,93 mm. Berdasarkan data analisis statistik perbedaan nilai DDH tersebut tidak berbeda nyata. Hasil uji KHM menunjukkan bahwa ekstrak daun hijau dan daun merah memiliki hasil yang sama, yaitu pada konsentrasi 2% masih mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai KHM ekstrak daun pucuk merah belum dapat ditentukan. Akan tetapi, data ini mengindikasikan bahwa daun tanaman pucuk merah berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap *S. mutans*.

Kata Kunci: antibakteri, daun hijau, daun merah, etanol, maserasi

PENDAHULUAN

Pucuk merah (*Syzygium myrtifolium*

Alamat korespondensi :

v.syafriana@istn.ac.id

Walp.) merupakan tanaman hias yang banyak dimanfaatkan untuk mempercantik pekarangan rumah atau sebagai pembatas di jalan-jalan raya. Tanaman ini memiliki morfologi yang spesifik,

yaitu bagian pucuk daun (daun muda) berwarna merah, dan bagian bawahnya (daun dewasa) berwarna hijau (Haryati et al., 2015; Putri, 2019). Perbedaan warna ini menunjukkan kandungan senyawa kimia yang dominan pada daun tersebut. Warna merah pada bagian pucuk menunjukkan bahwa daun tersebut tinggi akan antosianin. Antosianin adalah pigmen yang berperan memberi warna merah, ungu, atau biru pada tumbuhan. Warna daun hijau menunjukkan kadar klorofil yang tinggi pada daun tersebut. Klorofil adalah pigmen hijau yang berperan dalam fotosintesis. Umumnya, semakin tua umur daun, maka warna hijau akan semakin tua. Hal ini menunjukkan kadar klorofil yang semakin tinggi (Martín et al., 2017; Putri, 2019).

Tanaman pucuk merah diketahui mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, steroid, saponin, dan senyawa-senyawa fenolik (Haryati et al., 2015; Wati et al., 2017; Syafriana et al., 2019a). Senyawa-senyawa ini diketahui dapat berperan sebagai antimikroba alami bagi tanaman. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa ekstrak daun dari tanaman ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi* (Haryati et al., 2015; Syafriana et al., 2019a; Salsabila, 2020). Akan tetapi, aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* belum pernah dilaporkan.

S. mutans merupakan bakteri patogen Gram-positif penyebab utama karies gigi. Bakteri ini akan menguraikan karbohidrat yang dikonsumsi menjadi sukrosa yang merupakan media terbaik bagi pertumbuhannya (Forssten et al., 2010; Zhao et al., 2014). Berdasarkan *The Global Burden of Disease Study* (2016), karies gigi ternyata merupakan salah satu masalah serius dalam bidang kesehatan karena lebih dari setengah populasi penduduk dunia menderita penyakit ini. Selain konsumsi gula berlebih, faktor penyebab penyakit ini dikarenakan perawatan gigi yang tidak serius, sulitnya masyarakat mengakses fasilitas pelayanan kesehatan yang sesuai standar, serta mahalnya biaya perawatan gigi (Abral & Husna, 2014; Kementerian Kesehatan RI, 2019). Oleh sebab itu, bagi negara berkembang dengan geografis kepulauan seperti Indonesia, pemanfaatan bahan alam yang mudah didapat dan diaplikasikan menjadi salah satu solusi untuk perawatan gigi dan mulut yang memadai.

Pucuk merah merupakan tanaman yang mudah ditumbuhkan dan ditemukan di Indonesia. Dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dimiliki, tanaman ini berpotensi sebagai

agen antibakteri baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak daun merah dan daun hijau tanaman pucuk merah sebagai sumber alternatif agen antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi dan menjadi acuan untuk pengembangan potensi daun pucuk merah sebagai bahan alami perawatan dan penanganan kesehatan mulut dan gigi, khususnya karies gigi.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *blender* (Philips), *vacuum rotary evaporator*, *waterbath*, oven (Memmert), autoklaf (Hirayama), inkubator (Memmert), *Laminar Air Flow* (LAF), timbangan analitik (Excellent), mikroskop (Olympus), *hot plate stirrer* (B-One), *vortex* (Barnstead).

Alat gelas dan penunjang lainnya dalam penelitian ini antara lain: *aluminium foil* (Klin Pak), cawan Petri, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung, *Beaker glass* (Iwaki), Erlenmeyer (Iwaki), labu ukur (Iwaki), pipet mikro (VWR dan Pequette), pinset (GOOI), jarum ose, jangka sorong (Kenmaster), batang pengaduk, cawan penguap, kain kasa, kapas, kertas perkamen, pipet tetes, vial, pembakar spiritus, gelas ukur (Pyrex).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah media *Mueller Hinton Agar* (Oxoid), *blank disc* (Oxoid), cakram antibiotik siprofloksasin 5 µg (Oxoid), etanol 70% (Brataco), aquadest (Brataco), pereaksi Bouchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, kloroform (Merck), amoniak (Merck), HCl (Merck), FeCl₃ (Merck), NaNO₂ (Merck), eter, H₂SO₄ (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), larutan NaCl fisiologis 0,9%. Sampel daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor, Jawa Barat. Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 31987 yang diperoleh dari Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

Metode

1. Pengolahan sampel daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Sampel daun merah dan daun hijau tanaman pucuk merah masing-masing sebanyak 1 kg disortasi dari kotoran dan dicuci bersih di bawah air mengalir. Daun kemudian dikeringkan dengan metode kering-angin selama tujuh hari.

Persentase rendemen simplisia dihitung dengan rumus yang tercantum pada persamaan (1).

$$\text{Rendemen simplisia} = \frac{\text{bobot simplisia kering (g)}}{\text{bobot simplisia segar (g)}} \times 100\%$$

Daun yang telah kering kemudian diblender hingga halus dan diayak dengan mesh 60 untuk mendapatkan ukuran partikel yang homogen agar proses ekstraksi berjalan lebih efektif (Syafriana et al., 2021a).

2. Ekstraksi sampel daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium* Walp.)

Proses pembuatan ekstrak etanol daun hijau dan daun merah dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun hijau dan daun merah dimaserasi dengan perbandingan antara simplisia dan pelarut sebesar 1:10. Serbuk daun tanaman pucuk merah masing-masing sebanyak 100 g dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam dengan pengadukan 6 jam sekali dan maserat yang diperoleh disaring. Setelah penyaringan, dilakukan proses remaserasi dengan cara merendam sisa penyaringan dengan pelarut yang baru sebanyak dua kali pengulangan hingga maserat yang diperoleh pada hasil penyaringan jernih sebagai penanda bahwa semua sari telah terekstrak di dalam pelarut. Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, kemudian diuapkan di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental (Syafriana et al., 2020). Persentase rendemen ekstrak dihitung dengan rumus yang tercantum pada persamaan (2).

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{bobot simplisia yang diekstraksi (g)}} \times 100\%$$

3. Pemeriksaan bebas etanol pada ekstrak daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Sebanyak 0,5 g ekstrak di dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL larutan NaOH 1 N dan didiamkan selama 3 menit, lalu ditambahkan 2 mL larutan iodium 1 N secara perlahan. Apabila hasil yang terbentuk menunjukkan adanya endapan berwarna kuning dan berbau iodoform, hal tersebut menandakan ekstrak masih mengandung pelarut etanol (Sumiati, 2014).

4. Penapisan fitokimia daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Penapisan fitokimia dilakukan berdasarkan Materia Medika Indonesia (Depkes RI, 1995) dan Satrana (2017). Penapisan fitokimia meliputi uji identifikasi alkaloid,

flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid

a) Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2 g ekstrak dilembapkan dengan 5 mL larutan NH_4OH 25% di dalam Erlenmeyer lalu ditambahkan 20 mL kloroform (CHCl_3) hingga massa terendam, selanjutnya diaduk dan dipanaskan di atas *waterbath* lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai setengahnya. Hasil penguapan dituangkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes asam klorida (HCl) 2 N, kemudian dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan yang jernih diambil dan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi (tabung I, II, III) dengan jumlah yang sama, kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer pada tabung I, 3 tetes pereaksi Dragendorff pada tabung II, dan 3 tetes pereaksi Bouchardat pada tabung III. Hasil positif alkaloid jika terbentuk endapan putih untuk pereaksi Mayer, endapan merah untuk pereaksi Dragendorff, dan endapan cokelat untuk pereaksi Bouchardat.

b) Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan air panas 100 mL, lalu disaring menggunakan kertas saring. Filtrat sebanyak 5 mL larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi setelah itu ditambahkan 1 mL larutan natrium nitrit (NaNO_2) 5% dan 1 mL aluminium klorida (AlCl_3) 10% dikocok, kemudian ditambahkan 2 mL natrium hidroksida (NaOH) 1 M melalui dinding tabung secara perlahan dibiarkan hingga memisahkannya warna kuning dan merah bata atau jingga dalam lapisan larutan. Jika hasil positif mengandung flavonoid maka warna berubah menjadi merah atau jingga.

c) Identifikasi Saponin

Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan air panas 100 mL, lalu disaring menggunakan kertas saring. Filtrat sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Apabila terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit, dan setinggi 1-10 cm, dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang, maka positif mengandung saponin.

d) Identifikasi Tanin

Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan air panas 100 mL, lalu disaring dengan kertas saring. Filtrat sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif tanin ditandai dengan terjadinya perubahan warna biru tua atau hijau violet.

e) Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 2 g ekstrak dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam (di dalam gelas piala ditutup dengan kertas *aluminium foil*), lalu disaring dan diuapkan dalam cawan penguap hingga memperoleh residu. Residu tersebut ditambahkan 2 tetes anhidrat asetat dan 2 mL

kloroform, lalu dipindahkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 1 mL asam sulfat (H_2SO_4) pekat melalui dinding tabung secara perlahan. Lapisan cincin yang terbentuk diamati, jika cincin berwarna merah agak ungu menunjukkan adanya kandungan triterpenoid, sedangkan bila terbentuk warna hijau menunjukkan adanya senyawa steroid.

5. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebelum dilakukan pengujian, bakteri uji harus dibuat dalam bentuk suspensi dan ekstrak diencerkan sesuai dengan konsentrasi uji yang diinginkan. Suspensi bakteri dilakukan dengan melarutkan sebanyak satu ose bakteri uji ke dalam 5 mL larutan NaCl fisiologis steril 0,9%. Kekeruhan suspensi ini disetarakan dengan larutan standar Mc. Farland 3 (9×10^8 CFU/mL). Sebanyak 1 mL suspensi bakteri 9×10^8 CFU/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL NaCl fisiologis steril 0,9%, sehingga dihasilkan bakteri sejumlah 9×10^7 CFU/mL. Suspensi tersebut kemudian dihomogenkan dengan *vortex*. Selanjutnya dilakukan proses yang sama hingga diperoleh bakteri sejumlah 9×10^6 CFU/mL. Suspensi yang telah sesuai digunakan sebagai inokulum uji (Pratiwi, 2008; Hudzicki, 2016; Hamida et al., 2021).

Suspensi bakteri *S. mutans* sebanyak 0,1 mL dipipet lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi Mueller Hinton Agar (MHA) dan disebar dengan batang L agar suspensi bakteri tersebar merata. Setelah media dan suspensi bakteri mengering, kertas cakram steril dimasukkan ke dalam cawan petri dan ditetesi larutan uji sebanyak 20 μ L, masing-masing percobaan dengan konsentrasi larutan uji 10%, 20%, 40%, dan 80%. Konsentrasi ini dipilih sebagai skrining awal aktivitas dari daun ini dengan nilai konsentrasi terendah 10% dan dilakukan kelipatannya. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin dan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Hasil inokulasi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37,

lalu diamati zona bening yang terbentuk di sekitar cakram. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan ditentukan sebagai nilai Diameter Daya Hambat (DDH). Pengujian dilakukan dengan tiga kali ulangan secara duplo.

6. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Pengujian KHM dilakukan dengan metode dilusi padat, yaitu dengan mengamati pertumbuhan bakteri uji dari konsentrasi ekstrak terendah hasil uji DDH lalu konsentrasi diturunkan secara bertahap. Konsentrasi yang diuji adalah 10%, 8%, 6%, 4%, dan 2%.

Media MHA yang masih cair sebanyak 15 mL dicampur dengan 1 mL suspensi bakteri uji 9×10^6 CFU/mL dan 1 mL ekstrak dengan konsentrasi uji di dalam cawan petri steril. Campuran ketiga bahan tersebut diputar-putar dengan membentuk angka 8 agar homogen. Setelah homogen, cawan petri dibiarkan hingga media memadat. Media yang telah memadat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media. Media yang menunjukkan pertumbuhan bakteri menandakan konsentrasi ekstrak tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*, sedangkan media yang tidak ada pertumbuhan bakteri menandakan konsentrasi tersebut mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* (Pratiwi, 2008; Hudzicki, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengolahan sampel daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Proses pengeringan daun tanaman pucuk merah menggunakan metode kering-angin untuk menghindari kontak langsung dengan matahari. Hal ini bertujuan untuk menghindari kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam daun tanaman pucuk merah karena sinar matahari dapat mendegradasi senyawa fitokimia dalam suatu simplisia (Widarta & Wiadnyani, 2019). Hasil pengeringan



Gambar 1. Hasil pengeringan daun tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.); a. daun hijau; b. daun merah

Tabel 1. Persentase rendemen simplisia daun tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)

Sampel	Berat Daun Segar (g)	Berat Daun Kering (g)	Rendemen (%)
Daun Hijau	1.000	290	29
Daun Merah	1.000	270	27

Tabel 2. Persentase rendemen ekstrak etanol daun tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)

Simplisia	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun Hijau	100	59,3	59,3
Daun Merah	100	81,1	81,1

daun dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengeringan daun hijau dan daun merah yang diperoleh masing-masing sebanyak 290 g untuk daun hijau dan 270 g untuk daun merah (Tabel 1). Data tersebut menunjukkan bahwa rendemen simplisia pada daun hijau lebih tinggi (29%) dibandingkan pada daun merah (27%). Hal ini kemungkinan dikarenakan daun merah merupakan daun muda yang memiliki kadar air lebih tinggi dibandingkan daun hijau yang merupakan daun lebih tua. Bagian tumbuhan yang masih muda memiliki banyak sel yang aktif, sehingga kadar air lebih banyak terdapat pada daun masih muda (Supriningrum et al., 2017).

Ekstraksi daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Ekstraksi bertujuan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena merupakan metode pemisahan yang sederhana dan penguapannya menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C sehingga kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan tanin yang ada pada sampel tidak rusak atau terurai (Wahyuni et al., 2018). Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol merupakan salah satu pelarut ideal bersifat polar yang sering digunakan untuk mengekstraksi hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid. Selain itu, etanol 70% juga bersifat non toksik (Artaningsih et al., 2018; Hamida et al., 2021).

Hasil ekstraksi pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak daun merah lebih besar dibandingkan ekstrak daun hijau. Penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui jumlah metabolit sekunder yang tersari oleh pelarut, akan tetapi komponen

senyawa-senyawa yang terkandung tidak dapat diketahui (Supartini & Cahyono, 2020). Semakin tinggi nilai rendemen, maka semakin banyak senyawa kimia yang tertarik (Syafriana et al., 2021b).

Warna daun merah pada tanaman pucuk merah menunjukkan kadar antosianin yang tinggi, sedangkan daun hijau menunjukkan kadar korofil yang tinggi. Antosianin merupakan pigmen yang berperan memberi warna merah, ungu, atau biru pada tumbuhan, sedangkan klorofil ialah pigmen hijau daun yang berperan dalam fotosintesis (Martín et al., 2017; Putri, 2019). Tingkat rendemen yang tinggi pada daun merah menunjukkan bahwa senyawa-senyawa metabolit yang terdapat dalam daun merah lebih banyak tersari dibandingkan daun hijau. Hal ini kemungkinan dikarenakan antosianin yang terkandung dalam daun merah termasuk senyawa golongan polifenol yang akan efisien tersari pada pelarut etanol.

Berdasarkan literatur, ekstraksi senyawa-senyawa polifenol efektif dilakukan menggunakan pelarut campuran air dan alkohol dengan metode maserasi (Jovanović et al., 2017). Nilai rendemen akan semakin meningkat ketika tingkat kepolaran pelarut juga meningkat. Pelarut campuran air dan alkohol lebih efektif menarik senyawa polifenol dibandingkan pelarut alkohol murni (Do et al., 2014). Sebaliknya, berdasarkan Putri et al. (2012) dan Sekali et al. (2020) diketahui bahwa ekstraksi klorofil lebih menghasilkan rendemen tertinggi menggunakan pelarut aseton dibandingkan pelarut air dan etanol 85%.

Pemeriksaan bebas etanol pada ekstrak etanol daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Hasil pengujian bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun tanaman pucuk merah negatif terhadap kandungan etanol yang ditandai dengan tidak adanya bau

Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)

Senyawa Kimia	Hasil penapisan fitokimia				
	Ekstrak daun hijau	Keterangan	Ekstrak daun merah	Keterangan	
Alkaloid	Mayer	(-)	Tidak terbentuk endapan putih	(-)	Tidak terbentuk endapan putih
	Dragendorff	(-)	Tidak terbentuk endapan merah	(-)	Tidak terbentuk endapan merah
	Bouchardat	(-)	Tidak terbentuk endapan cokelat hitam	(-)	Tidak terbentuk endapan cokelat hitam
Flavonoid		(+)	Terdapat perubahan warna menjadi merah atau jingga	(+)	Terdapat perubahan warna menjadi merah atau jingga
		(+)	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+)	Terbentuk warna hijau kehitaman
Saponin		(+)	Terbentuk busa yang stabil lebih dari 1 cm	(+)	Terbentuk busa yang stabil lebih dari 1 cm
Steroid/ Triterpenoid		(+)	Terbentuk warna hijau	(+)	Terbentuk warna hijau

Keterangan:

(+): Mengandung senyawa yang diidentifikasi; (-): Tidak mengandung senyawa yang diidentifikasi

khas iodoform dan tidak terbentuknya endapan kuning (Sumiati, 2014). Hasil negatif pada pengujian bebas etanol menunjukkan tidak adanya etanol di dalam ekstrak daun hijau ataupun daun merah tanaman pucuk merah, sehingga pengujian antibakteri dapat dilakukan tanpa khawatir terjadinya keracunan aktivitas dari sisa pelarut (Syafriana et al., 2020).

Penapisan fitokimia daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman pucuk merah. Penapisan fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan mengamati terjadinya perubahan warna pada ekstrak daun merah. Penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

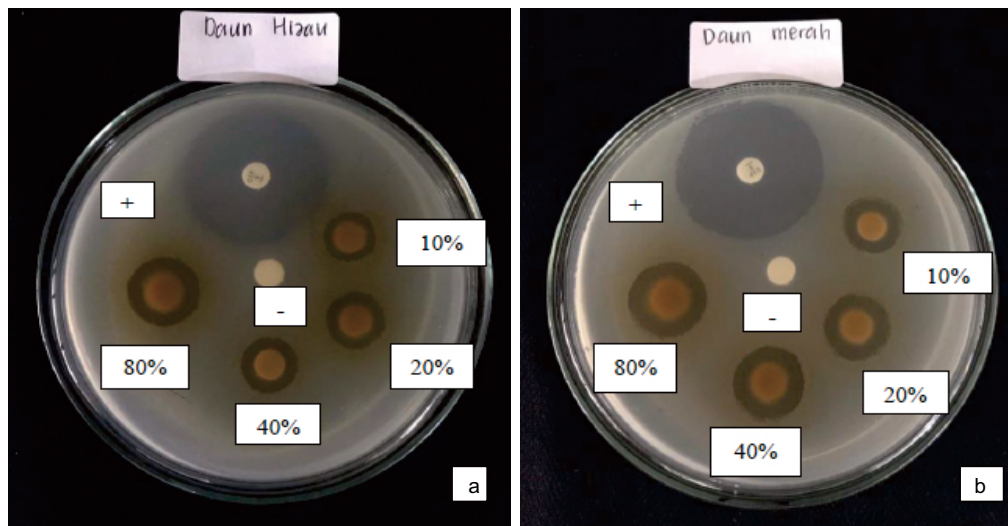
Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun hijau dan daun merah mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil ini sedikit berbeda dengan literatur yang menggunakan pelarut metanol dan alkohol 96%. Ekstrak daun merah dengan pelarut alkohol 96% menunjukkan ekstrak mengandung alkaloid,

flavonoid, saponin, steroid, dan triterpenoid (Haryati et al., 2015). Hasil lain pada ekstrak daun hijau dengan pelarut metanol menunjukkan ekstrak mengandung flavonoid, tanin, dan saponin (Syafriana et al., 2019a). Dari ketiga pelarut, etanol 70% merupakan pelarut yang paling polar diikuti dengan alkohol 96% dan metanol. Berdasarkan literatur, seharusnya etanol 70% sebagai pelarut yang paling polar mampu menarik senyawa fitokimia lebih banyak (Do et al., 2014). Akan tetapi, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak dari peneliti lain dengan pelarut alkohol 96% lebih banyak menarik senyawa kimia dibandingkan etanol 70%.

Perbedaan hasil ini kemungkinan juga dipengaruhi oleh kondisi abiotik sampel karena keberadaan metabolit sekunder suatu tanaman sangat dipengaruhi oleh tekanan lingkungannya. Kondisi abiotik lingkungan, seperti kelembapan, intensitas cahaya matahari, pH, atau kadar salinitas tanah sangat memengaruhi keberadaan metabolit sekunder pada tanaman (Ramakrishna & Ravishankar, 2011; Verma & Shukla, 2015).

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan difusi cakram karena metode ini cepat,



Gambar 2. Hasil Uji Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

mudah diaplikasikan, sederhana, serta pengerjaan dan hasil yang didapatkan mudah diamati (Hamida et al., 2021). Uji dilakukan dengan konsentrasi ekstrak sebesar 10%, 20%, 40% dan 80%, kontrol positif siprofloksasin, dan kontrol negatif akuades. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin, yaitu suatu antibiotik golongan fluoroquinon dengan kerja spektrum luas. Antibiotik golongan fluoroquinon memiliki peran dalam menghambat kerja enzim DNA girase pada bakteri dan bersifat bakterisidal, sehingga menyebabkan kematian pada bakteri. Kontrol negatif yang digunakan akuades karena akuades merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan ekstrak. Kontrol negatif bertujuan untuk membuktikan bahwa pelarut yang digunakan tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri uji, sedangkan kontrol positif bertujuan untuk memberikan gambaran zona hambat yang terbentuk ketika pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik (Syafriana et al., 2019a). Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tanaman pucuk merah terhadap *S. mutans* dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 4.

Data pada Gambar 2 dan Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah memiliki

aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* pada semua konsentrasi uji. Data menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi uji, maka daya hambat yang terbentuk juga semakin besar. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi uji yang lebih tinggi senyawa aktif yang dimiliki juga semakin banyak, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri lebih cepat (Lingga et al., 2016; Syafriana et al., 2020).

Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh kedua ekstrak dipengaruhi oleh adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak yang berperan sebagai antibakteri, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Tabel 3). Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang disintesis oleh tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi mikroba. Flavonoid diketahui mampu mengganggu metabolisme protein dan permeabilitas dinding sel bakteri (Haryati et al., 2015; Hamida et al., 2021). Salah satu kandungan flavonoid yang banyak ditemukan pada tanaman pucuk merah adalah *dimethyl cardamomin* (DMC), yaitu suatu golongan kalkon yang memiliki sifat sitotoksik (Haryati et al., 2015). Tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri. Selain itu, tanin diduga

Tabel 4. Nilai Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

	Sampel	Nilai Diameter Daya Hambat (DDH) (mm)	
		Ekstrak daun hijau	Ekstrak daun merah
Ekstrak	10%	8,51±0,26	9,04±0,45
	20%	10,30±0,08	10,79±0,63
	40%	11,21±0,06	11,87±0,39
	80%	12,57±0,15	13,35±0,93
Kontrol positif	Siprofloksasin 5 µg	29,51±0,49	30,90±0,59
Kontrol negatif	Akuades	-	-

Tabel 5. Analisis statistik uji signifikansi nilai Diameter Daya Hambat (DDH) antara ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Konsentrasi	<i>p-value</i>
10%	0,08
20%	0,24
40%	0,10
80%	0,16

Keterangan: *p-value* <0,05 menunjukkan nilai DDH berbeda nyata

mengganggu kerja DNA girase, yaitu enzim yang berperan dalam replikasi DNA (Ibrahim & Kuncoro, 2012; Khameneh et al., 2019; Hamida et al., 2021).

Saponin diduga memiliki aktivitas antibakteri karena zat aktif pada saponin mirip detergen, sehingga saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Cowan, 1999). Steroid dapat berperan sebagai antibakteri, yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran pada liposom (penyusun dinding sel bakteri) (Syafriana et al., 2019b).

Aktivitas daya hambat ekstrak daun merah pada setiap konsentrasi tampak lebih tinggi dibandingkan daya hambat oleh ekstrak daun hijau (Tabel 4). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Lestari et al. (2018), bahwa aktivitas antioksidan daun muda lebih tinggi dibandingkan aktivitas daun tua pada tanaman pala. Aktivitas ekstrak daun merah yang lebih tinggi kemungkinan dikarenakan pengaruh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun merah. Daun merah pada tanaman pucuk merah memiliki kandungan antosianin yang tinggi (Putri, 2019). Antosianin diketahui

berperan dalam menghancurkan dinding sel, membran sel, serta matriks intraseluler dari mikroorganisme. Antosianin juga dapat memengaruhi metabolisme mikroorganisme dengan menghilangkan substrat yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya (Alappat & Alappat, 2020).

Untuk mengetahui tingkat signifikansi perbedaan daya hambat antara ekstrak daun hijau dan daun merah, maka dilakukan analisis statistik menggunakan Program Microsoft Excel 2016. Angka *p-value* <0,05 menunjukkan perbedaan penghambatan pertumbuhan *S. mutans* oleh ekstrak daun hijau dan daun merah berbeda nyata. Hasil analisis statistik ditunjukkan pada Tabel 5. Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa *p-value* kedua ekstrak dari konsentrasi 10-80% lebih dari 0,05. Hal ini menandakan bahwa perbedaan nilai DDH dari ekstrak daun hijau dan daun merah pada setiap konsentrasi tidak berbeda nyata.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun tanaman pucuk merah (*S. myrtifolium*)

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun pucuk merah dilakukan dengan metode dilusi padat. Penentuan nilai KHM pada ekstrak etanol daun pucuk merah diperoleh dari hasil pengujian DDH dengan konsentrasi terkecil yang menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Konsentrasi yang digunakan untuk uji KHM adalah 10%, 8%, 6%, 4%, dan 2%. Hasil uji KHM dapat dilihat pada Tabel 6.

Hasil uji KHM pada Tabel 6 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah pada konsentrasi terkecil, yaitu 2%, masih menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Berdasarkan hasil tersebut, nilai KHM sebenarnya masih belum dapat ditentukan. Harus dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan konsentrasi di bawah 2% hingga 0%.

Akan tetapi, kemampuan penghambatan ekstrak etanol daun pucuk merah pada konsentrasi rendah ini menunjukkan bahwa

Tabel 6. Hasil uji Kosentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Konsentrasi ekstrak (%)	Pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i>	
	Ekstrak daun hijau	Ekstrak daun merah
10 %	-	-
8 %	-	-
6%	-	-
4 %	-	-
2 %	-	-

Keterangan: - = tidak ada pertumbuhan bakteri

kedua ekstrak berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. mutans*. Hasil ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun hijau tanaman pucuk merah pada konsentrasi 2% masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri Gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa nilai KHM terhadap bakteri Gram-positif terdapat pada konsentrasi 0,5%, sedangkan terhadap bakteri Gram-negatif pada konsentrasi 1% (Syafriana *et al.*, 2019a).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun hijau dan daun merah tanaman pucuk merah berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap *S. mutans*. Kedua ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 80%. Nilai penghambatan kedua ekstrak terhadap *S. mutans* pada setiap konsentrasi tidak berbeda nyata dan belum dapat diperoleh KHM nya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. apt. Tiah Rachmatiah, M.Si. dan Ibu Munawarohthus Sholikha, M.Si. atas masukan dan arahnya dalam pengujian penapisan fitokimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Alappat, B., Alappat, J. 2020. Anthocyanin pigments: Beyond aesthetics. *Molecules* 25(23), 5500. doi: 10.3390/molecules25235500.
- Artaningsih, N., Habibah, N.M. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gamal (*Gliricidia sepium*) pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara In-Vitro. *Jurnal Kesehatan* 9(3), 336-345.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4), 564-582.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huyn, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y-S. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis* 22(3), 296-302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.
- Forssten, S.D., Björklund, M., Ouwehand, A.C. 2010. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients* 2(3), 292-298. doi: 10.3390/nu2030290.
- Hamida, F., Syafriana, V., Nanda, E.V., Febriayu, C. 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 31987. *JFE ETAM* 1(1), 50-58.
- Haryati, N., Saleh, C., Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman* 13(1), 35-40.
- Hudzicki, J. 2016. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*. <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>.
- Ibrahim, A., Kuncoro, H. 2012. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry* 2(1), 8-18. doi: 10.25026/jtpc.v2i1.43.
- Jovanović, A., P., P., G., Savikin, K., Branko, B. 2017. Polyphenols Extraction From Plant Sources Traditional and new products of cultivated and wild growing fruits and grape vines, and by-products during processing, with special emphasis on indigenous varieties: chemical characterization and biological profile. *Lekovite Sirovine* 37, 37-42. doi: 10.5937/lekir1737037J.
- Kementerian Kesehatan RI. 2019. InfoDATIN Kesehatan Gigi Nasional September 2019. *Pusdatin Kemenkes RI*, 16.
- Khameneh, B., Iransahy, M., Soheili, V., Bazzaz, B.S.F. 2019. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 8, 1-28. doi: 10.1186/s13756-019-0559-6.
- Lestari, M., Saleh, E.R.M., Rasulu, H. 2018. Sifat Kimia dan Organoleptik Teh Herbal Daun Pala. *Techno : Jurnal Penelitian* 07, 177-190.
- Lingga, A.R., Pato, U., Rossi, E. 2016. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta* 3.
- Martín, J., Navas, M.J., Jiménez-Moreno, A.M., Asuero, A.G. 2017. Anthocyanin Pigments: Importance, Sample Preparation and Extraction. *Phenolic*

- Compounds-Natural Sources, Importance and Applications*. doi: 10.5772/66892.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Putri, O.N.E. 2019. Analisis Kandungan Klorofil dan Senyawa Antosianin Daun Pucuk Merah (*Syzygium oleana*) Berdasarkan Tingkat Perkembangan Daun Yang Berbeda. *Skripsi*, UIN Raden Intan, Lampung.
- Putri, W. D. R., Zubaidah, E., Sholahudin, N. 2012. Ekstraksi pewarna alami daun suji, kajian pengaruh blanching dan jenis bahan pengekstrak. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 4(1), 13-24.
- Ramakrishna, A., Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6(11), 1720-1731. doi: 10.4161/psb.6.11.17613.
- Salsabila, F.S. 2020. Efektivitas ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) sebagai antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *Skripsi*, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Satrana, D. K. (2017). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol 70% Daun Tegeningganang (*Cassia planisiliqua* Burm.f.) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) Dengan Metode *Writhing Reflex*. *Skripsi*, Institut Sains dan Teknologi Nasional., Jakarta.
- Sekali, E.E.K., Wartini, N.M., Suhendra, L. 2020. Karakteristik Ekstrak Aseton Pewarna Alami Daun Singkong (*Manihot esculenta* C.) pada Perlakuan Ukuran Partikel Bahan dan Lama Maserasi. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, 5(2), 49-58.
- Sumiati, E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* B1) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella typhi*. *Jurnal ilmiah biologi*, 2(1), 1-10.
- Supartini, S., Cahyono, D.D.N. 2020. Rendemen Akar, Batang dan Daun Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Sebagai Bahan Baku Obat Herbal. *Jurnal Riset Teknologi Industri* 14(2), 142. doi: 10.26578/jrti.v14i2.5788.
- Supriningrum, R., Handayani, F., Liya. 2017. Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Daun Singkil (*Premna corymbosa* Rottl & Willd). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sinamiah Ibnu Sina* 2(2), 232-244.
- Syafriana, V., Hamida, F., Damayanti, R., Verananda, E. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes*. *Sainstech Farma* 13(1), 40-44.
- Syafriana, V., Ningsih, W., Wahidin. 2019a. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* dalam *Prosiding Seminar Nasional "Pemanfaatan Bahan Alam Sebagai Obat, Kosmetik dan Pangan Fungsional*, Jakarta, Penyelenggara Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Bekerjasama Dengan Perhimpunan Peneliti Bahan Obat Alami. Hal. 84-88.
- Syafriana, V., Natasha N, Wahidin. 2019b. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Paprika Merah (*Capsicum annum* L.) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. 12(1), 44-47.
- Syafriana, V., Febriani A., Suyatno, Nurfitri, Hamida, F. 2021a. Antimicrobial Activity of Ethanolic Extract of Sempur (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) Leaves against Pathogenic Microorganisms. *Borneo Journal of Pharmacy* 4(2), 135-144.
- Syafriana, V., Purba, R.N., Djuhariah, Y.S. 2021b. Antibacterial Activity of Kecombrang Flower (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Sm) Extract against *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology* 06(01), 111. doi: 10.22146/jtbb.58528.
- Verma, N., Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. Elsevier GmbH, 105-113. doi: 10.1016/j.jarmap.2015.09.002.
- Wahyuni, S., Vifta, R.L., Erwiyani, A.R. 2018. Kajian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia* 3(1), 25-30. doi: 10.31942/inteka.v3i1.2122.
- Wati, M., Erwin., Tarigan, D. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Fraksi Etil Asetat Pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). *Jurnal Kimia Mulawarman* 14(2), 240-245.
- Widarta, I. W. R., Wiadnyani, A.A.I.S. 2019. Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Alpukat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 80-85.
- Zhao, W., Xie, Q., Bedran-Russo, A.K., Pan, S., Ling, J., Wu, C.D. 2014. The preventive

effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. *Journal of Dentistry* 42(8), 1010-1018. doi: 10.1016/j.jdent.2014.05.006.