

## **JURNAL SKRIPSI**

### **Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

Disusun oleh:

**Nerissa Alviana**

**NPM : 110801219**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2016**

# UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KRISAN (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

## Antibacterial Effectivity Test of Ethanol Extract of Chrysanthemum Leaves (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Nerissa Alviana\*, B. Boy Rahardjo Sidharta<sup>1</sup>, Tri Martini<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Program Studi Teknobiologi Industri, Fakultas Teknobiologi  
Universitas Atma Jaya Yogyakarta  
\*nerissa.alviana@yahoo.com

### Abstrack

Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) is one of the ornamental plants that attracted many people because it has a diverse types, shapes, and colors of flower. Chrysanthemum has the potential to be developed as an antibacterial. One of the natural compounds that show pharmacological effects are flavonoids. This study aims to determine the antibacterial activity, the effective concentration and minimum inhibitory concentration of ethanol extract of chrysanthemum leaves to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Extraction was done by maceration method using ethanol. The concentration of ethanol extract of chrysanthemum leaves used were 25, 50, 75, and 100 %. Chloramphenicol is used as a positive control. Antibacterial activity test is done using paper disk. The results of antibacterial activity test was analyzed using ANOVA with a confidence level of 95 %, followed by *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). The results showed that the extract concentration of 25, 50, 75, and 100 % have given the growth inhibitory activity of test bacteria. Concentration effective as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* extract was shown at a concentration of 100 %. Increasing concentrations of chrysanthemum leaf extract, the greater the diameter of the bacteria growth inhibition zone. Results MIC chrysanthemum leaf extract against *Staphylococcus aureus* by 6.25 % and against *Escherichia coli* by 12.5 %. The results showed that the antibacterial activity of extracts of chrysanthemum leaves better against *Staphylococcus aureus* than *Escherichia coli*, the possibility of Gram-positive bacteria are more susceptible to antibacterial compounds chrysanthemum leaf extracts than Gram-negative bacteria.

Key word: Chrysanthemum, Antibacterial activity, Minimum inhibitory concentration.

### Abstrak

Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) merupakan salah satu tanaman hias yang banyak diminati masyarakat karena memiliki jenis, bentuk, dan warna bunga yang beranekaragam. Krisan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Salah satu kandungan senyawa alaminya yang menunjukkan efek farmakologi adalah flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri, konsentrasi efektif dan konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun krisan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol. Konsentrasi ekstrak etanol daun krisan yang digunakan adalah 25, 50, 75, dan 100 %. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif. Pengujian aktivitas

antibakteri dilakukan menggunakan metode *paper disk*. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisis dengan menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan sebesar 95 %, dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 25, 50, 75, dan 100 % telah memberikan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji. Konsentrasi yang efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak 100 %. Peningkatan konsentrasi ekstrak daun krisan menunjukkan semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Hasil KHM dari ekstrak daun krisan terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 6,25 % dan terhadap *Escherichia coli* sebesar 12,5 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daya antibakteri ekstrak daun krisan lebih baik terhadap *Staphylococcus aureus* daripada *Escherichia coli*, kemungkinan bakteri Gram positif lebih rentan terhadap senyawa antibakteri ekstrak daun krisan daripada bakteri Gram negatif.

Kata kunci: Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*), Aktivitas antibakteri, Zona hambat, Konsentrasi hambat minimum.

## PENDAHULUAN

Alam tropis Indonesia menyimpan kekayaan alam yang beraneka ragam, baik flora, maupun faunanya. Keanekaragaman mikroorganismenya pun sangat melimpah (Handayani, 2004). Saat ini masyarakat dunia dan juga Indonesia mulai mengutamakan penggunaan obat secara alami (*back to nature*). Salah satu sumberdaya hayati tersebut adalah tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*). Krisan merupakan salah satu tanaman hias yang banyak diminati masyarakat karena memiliki jenis, bentuk, dan warna bunga yang beranekaragam. Krisan dikenal juga dengan sebutan aster atau seruni (Purwanto dan Martini, 2009). Selain itu krisan memiliki nilai ekonomi yang relatif tinggi di Indonesia serta mempunyai prospek pemasaran tinggi.

Tanaman krisan mengandung banyak kandungan kimia, seperti alkaloid, flavoloid, tanin, terpenoid, dan lain sebagainya. Jung (2009) mengemukakan besarnya kandungan minyak esensial dari tanaman krisan sebesar 96,65 %, yang terdiri dari berbagai jenis senyawa. Adapun kandungan kimia lain, yang terbesar adalah senyawa flavonoid, ditemukan delapan senyawa flavonoid dan 58 senyawa volatil yang teridentifikasi (Sun dkk., 2010). Selain menghasilkan bunga potong dan tanaman hias yang dimanfaatkan untuk memperindah ruangan dan menyegarkan suasana, beberapa varietas krisan juga ada yang berkhasiat sebagai obat, antara lain untuk mengobati sakit batuk, nyeri perut, dan sakit kepala akibat peradangan rongga sinus (*sinusitis*) dan sesak napas (Rukmana dan Mulyana, 1997). Selain itu, tanaman ini memiliki potensi besar, salah satunya adalah membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri.

Sementara itu dengan berkembangnya ilmu dan teknologi, maka semakin berkembang pula pengetahuan tentang penyakit dan pengendaliannya. Sampai saat ini penyakit infeksi pada manusia yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen merupakan permasalahan kesehatan yang cukup serius dan pengobatan dilakukan dengan pemberian antibiotik (Utami, 2012). Bukti ilmiah yang ada mengindikasikan bahwa kontaminasi mikrobial merupakan penyebab umum yang sering menyebabkan gangguan pada saluran pencernaan. Salah satu penyebab penyakit tersebut adalah bakteri.

Penelitian oleh Sun dkk. (2010), mengenai identifikasi senyawa flavonoid dan senyawa volatil dari bunga *Chrysanthemum morifolium* Ramat dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Gas Chromatography - Mass Spectrometer* (GC-MS). Pada penelitian ini ditemukan delapan senyawa flavonoid dan 58 senyawa volatil yang teridentifikasi.

Xie dkk. (2009) menganalisis flavonoid sebagai aktivitas sitotoksik dari ekstrak bunga *Chrysanthemum morifolium*. Bunga krisan sebanyak 3,7 kg diekstrak dengan etanol menggunakan metode reflux. Beberapa kandungan senyawa alami yang terhasil terisolasi adalah lima jenis flavonoid, seperti luteolin, diosmetin, diosmetin 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, diosmin, dan scolimoside, serta 4 jenis *caffeoylquinic acid derivatives* seperti macranthoin F, *3,5-dicaffeoylquinic acid*, *1,3-dicaffeoyl-epi-quinic acid*, dan *chlorogenic acid*. Senyawa-senyawa tersebut menunjukkan efek farmakologi yang sangat luas, diantaranya sebagai penghambat dari aktivitas enzim HIV-1 integrase dan aldose reductase, sebagai antioksidan, antiradang, anti-mutagenik dan anti aktivitas alergi.

Menurut Wijaya (2012), dalam penelitiannya mengetahui jenis eksplan (daun muda dan batang muda) yang paling baik dan konsentrasi 2,4-D (0, 1, 2, 3, dan 4 mg/L) yang optimal bagi induksi kalus krisan dan produksi flavonoidnya. Kandungan flavonoid pada kalus dari eksplan daun krisan cenderung lebih tinggi dibanding kalus dari eksplan batang krisan.

Penggunaan daun krisan sebagai antibakteri belum diteliti keefektifannya. Selama ini krisan lebih banyak digunakan bunganya dan dibudidayakan untuk bunga potong, dan efek farmakologi lainnya yang telah diteliti oleh Xie dkk (200). Penelitian ini bertujuan untuk: 1) Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, 2) Mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) yang optimum sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, 3) Mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*).

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk pengujian antibakteri daun krisan, yaitu tabung reaksi, *petridish*, erlenmeyer, *laminair air flow* ESCO, autoklaf STMN-Y222 OMRON, *microwave* Panasonic, inkubator Memmert, oven Venticell, *rotary evaporator* RV06-ML KIKA WERKE spektrofotometeri UV-1800 Shimadzu, mikroskop RRC L-301, timbangan elektrik AL204, *vortex* 37600Mixer Termolyne, trigalski, *waterbath*, blender Cosmos.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) sebanyak 1,5 kg, yang diperoleh dari Unit Pengelolaan Benih Sumber (UPBS) Krisan Kaliurang Sleman Yogyakarta, etanol 99%, isolat *Escherichia coli*, isolat *Staphylococcus aureus*, kloramfenikol 1%, aquadest steril, alkohol 70%, medium *Nutrient Agar*, medium *Nutrient Broth*, kloroform, amoniak, reagen Mayer, reagen Wagner, reagen Dragendorf, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, metanol 30%, FeCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, asetat anhidrat, larutan nigrosin, larutan eter, cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, cat Gram D, medium glukosa cair,

medium sukrosa cair, medium laktosa cair, larutan erlich, kertas saring, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, medium nitrat cair, asam sulfanilat,  $\alpha$ -naftalamin, dan medium triptofan cair.

## B. Tahapan Penelitian

### 1. Persiapan sampel

Daun krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) segar sebanyak 1 kg dicuci bersih, ditiriskan, dan dikeringkan dalam ruangan. Daun krisan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C, hingga diperoleh berat kering konstan. Daun yang sudah benar-benar kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender, diperoleh serbuk simplisia daun krisan sebanyak 225 gram.

### 2. Ekstraksi

Serbuk daun krisan dimaserasi dengan cara merendam simplisia ke dalam pelarut etanol 99% dengan perbandingan 1:5 (w/v) (serbuk daun krisan 100 g dalam 500 ml pelarut etanol) selama  $\pm$  48 jam pada suhu kamar di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 100 RPM. Sampel disaring dengan kertas saring, lalu ekstrak hasil maserasi diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 80°C dengan kecepatan rotasi 100 RPM selama 4-5 jam. Ekstrak kental dikeringkan di atas *waterbath* pada suhu 80 °C.

### 3. Identifikasi fitokimia ekstrak krisan (Harborne, 1987)

#### a. Uji Alkaloid

Ekstrak daun krisan sebanyak 0,2 g ditambahkan dengan 5 ml kloroform dan 3 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M. Fraksi asam dibagi menjadi 3 tabung yang masing-masing ditambahkan pereaksi Meyer, Dragendorf, dan Wagner. Alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

#### b. Uji flavonoid

Ekstrak daun krisan sebanyak 0,2 g ditambah dengan 5 ml metanol 30 %, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Filtrat ditambahkan dengan 1-2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Perubahan warna pada larutan ekstrak diamati apabila timbul warna merah setelah penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, maka ekstrak positif flavonoid.

#### c. Uji tanin

Uji kandungan senyawa tannin yaitu 0,5 g ekstrak daun krisan dari ditambah dengan 1-2 ml air dan 2 tetes FeCl 1 %. Larutan ekstrak diamati apabila menghasilkan warna hijau kebiruan, maka ekstrak positif mengandung tannin.

#### d. Uji terpenoid dan steroid

Ekstrak daun krisan sebanyak 0,2 g ditambahkan dengan 5 ml metanol 30 % kemudian dipanaskan selama 5 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat diuapkan, kemudian ditambahkan larutan eter. Lapisan eter diambil dan ditambahkan dengan pereaksi *Lieberman Burchard* (3 tetes asetat anhidrat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat). Apabila terbentuk warna merah atau ungu berarti positif terpenoid. Tetapi apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid.

### 4. Uji Total Flavonoid (Lumbessy, dkk., 2013)

#### a. Pembuatan Larutan Standar

*Quersetin* sebanyak 10 mg ditambah dengan natrium nitrit 5 % sebanyak 0,3 ml dan aluminium klorida 10 % sebanyak 0,6 ml, larutan didiamkan selama 5 menit. Larutan ini akan membentuk warna kuning. Natrium hidroksida 1 M ditambahkan sebanyak 2 ml dan ditambah akuades hingga total volume 10 ml. Campuran diinkubasi selama 1 jam. Larutan yang terbentuk adalah larutan induk dengan

konsentrasi 1000 mg/l. Larutan standar kuersetin diencerkan menjadi konsentrasi 0, 5, 10, 20, 40, 80, 120, 160, 240, mg/l dengan penambahan akuades. Pengenceran dapat dilihat pada Tabel 17. Setiap larutan standar dipindahkan ke dalam kuvet, total flavonoid diukur serapannya pada panjang gelombang 510 nm.

b. Uji Total Flavonoid

Penentuan kandungan total flavonoid dilakukan dengan mengambil ekstrak daun krisan sebanyak 0,25 g ditambahkan dengan 1 mL  $AlCl_3$  yang telah dilarutkan dengan etanol, kemudian divortex selama 20 detik dan dibaca pada panjang gelombang 510 nm. Penentuan flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/ml ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan kuersetin sebagai standar.

5. Uji antibakteri

a. Luas zona hambat dengan metode paper disk (Mpila dkk., 2012)

Kultur bakteri uji diambil sebanyak 100  $\mu$ l diinokulasikan pada medium NA dengan metode *spread plate*. *Paperdisk* ditetesi ekstrak etanol daun krisan kemudian diletakkan di atas medium sebanyak 5 *paper disk* secara simetri. Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun krisan dengan berbagai konsentrasi (25, 50, 75, dan 100 %) dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, zona hambat diamati, diukur, dan difoto. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat. Menurut Vandepitte (2005), luas zona hambat dapat di hitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Luas zona hambat} : 3,14 \times \left(\frac{d_2}{2}\right)^2 - \left(\frac{d_1}{2}\right)^2$$

Keterangan :

d1 : diameter kertas saring (mm)

d2 : rata-rata diameter zona hambat (mm)

b. Konsentrasi hambat minimum (KHM)

Tabung reaksi disiapkan sebanyak 6 buah untuk setiap pengenceran ekstrak, masing-masing diberi label nomor 1 hingga 6, kemudian ditambahkan *nutrient broth* sebanyak 5 ml pada tabung reaksi no 2 sampai 6, sedangkan tabung reaksi no 1 berisi *nutrient broth* sebanyak 10 ml. Ekstrak kental daun krisan yang telah diperoleh sebelumnya dianggap memiliki konsentrasi 100 %. Ekstrak daun krisan 100 % ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi nomor 1 yang berisis 10 ml *nutrient broth*, kemudian diambil dan ditambahkan 5 ml ke dalam tabung nomor 2 dan dihomogenkan dengan *vortex*, langkah ini diulang hingga tabung nomor 6. Pengenceran secara serial tabung nomor 1 hingga nomor 6 adalah 100, 50, 25, 12,5, 6,25, dan 3,13 %.

Kultur bakteri uji diambil sebanyak 1 ml diinokulasikan pada medium NB cair dalam masing-masing tabung reaksi (tabung reaksi nomor 1 hingga nomor 6), lalu di vortex. Selanjutnya inkubasi dilakukan selama 18 jam pada suhu 37°C. Terdapat antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif dan pelarut sebagai kontrol negatif. Variasi konsentrasi pada medium cair dilanjutkan dengan perhitungan *Total Plate Count* (TPC) untuk melihat jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Uji ini menggunakan metode *pour plate* dengan beberapa konsentrasi larutan yang dituang ke dalam cawan petri sebanyak 100  $\mu$ l kemudian ditambah dengan medium NA sebanyak 15-20 ml dan diratakan. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung, total bakteri

dinyatakan dalam koloni bakteri per 100  $\mu$ l. Konsentrasi terendah yang memberikan hasil negatif pada uji TPC dinyatakan sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) untuk ekstrak etanol daun krisan.

### C. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANAVA dengan tingkat kepercayaan sebesar 95 %. Apabila ANAVA menunjukkan adanya beda nyata, analisis dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui adanya beda nyata antar perlakuan (Gasperz, 1994). Analisis tersebut akan dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS versi 19).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Ekstraksi Daun Krisan

Daun krisan yang digunakan adalah daun krisan yang masih dalam keadaan segar, lalu daun disortasi secara manual. Daun krisan berwarna hijau tua, berbentuk lonjong dengan ujung meruncing, pangkal membulat, dan tepi daun bertoreh (Gambar 5). Panjang daun krisan berkisar antara 7-13 cm, dengan lebar 3-6 cm, tulang daun menyirip dan tebal, dengan permukaan yang kasar (Martini, 2014).

Hasil maserasi berupa filtrat berwarna hijau kehitaman sebanyak 870 ml. Kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 18,5 gram berwarna hijau kehitaman (Gambar 1). Ekstrak kental etanol yang diperoleh dari daun krisan sebanyak 18,5 gram dengan rendemen 8,25 % seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Krisan

Bahan	Berat Serbuk Kering (g)	Berat (g)	Rendemen (%)
Daun Krisan	225	18,5	8,25

Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi, keefektifan proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, ukuran partikel sampel, lamanya waktu ekstraksi, dan metode ekstraksi yang digunakan.



Gambar 1. Ekstrak Etanol Daun Krisan

### B. Fitokimia Ekstrak Daun Krisan

Pada penelitian ini dilakukan beberapa pengujian fitokimia secara kualitatif meliputi pengujian flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid, dan steroid. Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan (Sangi dkk., 2008). Berdasarkan pengujian fitokimia ekstrak etanol daun krisan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Krisan Secara Kualitatif

Senyawa aktif					
Flavonoid	Alkaloid			Tanin	Triterpenoid / Steroid
	Mayer	Dragendroff	Wagner		
+	+	+	+	+	Steroid

Keterangan:

+ = terdapat senyawa tersebut

- = tidak terdapat senyawa tersebut

Hasil analisis fitokimia di atas, menunjukkan terdapat senyawa flavonoid dalam ekstrak daun krisan yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi kuning jingga saat penambahan amil alkohol pada serbuk Mg. Pengujian alkaloid pada ekstrak daun krisan pun menunjukkan hasil positif, dengan menggunakan reagen Meyer ( $K_2[HgI_2]$ ) terdapat endapan putih, penambahan reagen Dragendroff ( $K[BiI_4]$ ) terbentuk endapan merah, serta penambahan reagen Wagner ( $KI+I_2$ ) terdapat endapan coklat (Farnsworth, 1966). Tujuan penambahan HCl adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harborne, 1987). Pada dasarnya metode analisis tersebut merupakan reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya pergantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi (Sangi, dkk., 2008). Menurut Sastrohamidjojo (1996) berbagai pereaksi tersebut menunjukkan perbedaan sensitivitas terhadap gugus alkaloid yang berbeda.

Pengujian tanin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hitam kehijauan. Tanin merupakan senyawa polifenol yang berarti termasuk dalam senyawa fenolik. Keberadaan senyawa tanin dapat diidentifikasi dengan reaksi menggunakan  $FeCl_3$ . Pengujian triterpenoid atau steroid ekstrak daun krisan menunjukkan terdapatnya senyawa steroid, hal ini terlihat dengan terbentuknya warna hijau ketika direaksikan dengan  $H_2SO_4$  pekat dalam asam asetat anhidrat (Harborne, 1987).

Pengujian kuantitatif senyawa metabolit dilakukan pada total flavonoid ekstrak daun krisan. Pengujian ini dilakukan menggunakan metode spektrofotometri diperoleh hasil seperti pada Tabel 3. Hasil pengujian dinyatakan dalam berat (mg) kesetaraan dengan standar per berat (g) ekstrak.

Tabel 3. Hasil Analisis Kuantitatif Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Krisan

Senyawa Aktif	Kadar (mg/g)
Flavonoid	258,359 QE

Keterangan: QE (*Quercetin Equivalent*)

Ekstrak etanol daun krisan pada penelitian ini memiliki kandungan total flavonoid sebesar 258,359 mg QE/g ekstrak. Hasil yang diperoleh ini lebih tinggi nilainya dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Sun dkk (2010) yang mengidentifikasi senyawa flavonoid dan senyawa volati dari bunga krisan (*C. morifolium* Ramat) yang diekstraksi menggunakan etanol 70% pada suhu  $80^\circ C$  selama 200 menit, dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan *Gas Chromatography - Mass Spectrometer* (GC-MS) menyatakan kandungan flavonoid pada ekstrak bunga krisan sebesar  $83,95 \pm 2,77$  mg/gr.

Kadar total flavonoid tinggi pada penelitian ini dimungkinkan terjadi karena pelarut yang digunakan memiliki konsentrasi lebih tinggi dibanding penelitian sebelumnya, semakin tinggi konsentrasi pelarut maka semakin tinggi keefektifan pelarut dalam mengikat senyawa metabolit sekunder. Selain itu, metode ekstraksi yang digunakan serta pengaruh suhu dan waktu selama proses ekstraksi juga mempengaruhi total flavonoid. Menurut Koirewoa dkk. (2012) dan Rompas dkk. (2012), senyawa flavonoid adalah senyawa yang tidak tahan panas, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu tinggi.

### C. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Krisan

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun krisan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dengan menggunakan kertas saring berdiameter 5 mm. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan melihat kemampuan ekstrak daun krisan dengan variasi konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* yang dilihat dari zona bening yang ditimbulkan. Hasil pengukuran luas zona hambat ekstrak etanol daun krisan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Rata-rata Luas Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Krisan dan Kontrol Positif terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Krisan	Rata-rata Luas Zona Hambat terhadap Pertumbuhan Bakteri (cm <sup>2</sup> )	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
25 %	0,281	0,171
50 %	0,335	0,163
75 %	0,339	0,453
100 %	0,744	0,560
Kloramfenikol	3,701	4,563

Pada penentuan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun krisan, digunakan sebagai pembanding adalah antibiotik standar yang biasa digunakan dalam pengobatan sebagai kontrol positif yaitu kloramfenikol. Respon yang diberikan oleh *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terhadap ekstrak dan kloramfenikol berbeda. Kedua bakteri tersebut lebih efektif dihambat oleh kloramfenikol dengan luas zona hambat yang dihasilkan pada *Escherichia coli* adalah 3,701 cm<sup>2</sup> dan *Staphylococcus aureus* sebesar 4,563 cm<sup>2</sup>, dibandingkan dengan ekstrak etanol daun krisan.

Dengan demikian hasil tersebut diuji lebih lanjut dengan menggunakan uji Dunnet. Uji Dunnet merupakan uji lanjut untuk melakukan perbandingan berbagai rata-rata dengan menggunakan salah satu variabel sebagai variabel kontrol. Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh suatu perlakuan terhadap suatu variabel dibandingkan dengan variabel sebelum adanya perlakuan (Susanto dan Ashari, 2005).

Hasil uji Dunnet pada kloramfenikol dengan variasi konsentrasi ekstrak daun krisan menyatakan adanya perbedaan nyata (sig < 0,05) pada setiap konsentrasi ekstrak etanol daun krisan (25, 50, 75, dan 100%) dengan kloramfenikol yang digunakan sebagai kontrol positif pada uji antibakteri ini. Hal itu berarti bahwa

kloramfenikol memiliki spektrum luas dengan kekuatan daya hambat yang tinggi dalam menghambat dan membunuh bakteri. Menurut Levinson (2004), kloramfenikol mampu mengikat subunit ribosom 50S sel mikroba target dan menghalangi aktivitas enzim *peptidyltransferase*, akibatnya terjadi hambatan pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein. Namun ekstrak etanol daun krisan berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Hasil analisis diketahui bahwa perlakuan pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* tidak memiliki perbedaan nyata, karena nilai sigma > 0,05. Sedangkan antarvariasi konsentrasi menunjukkan adanya beda nyata, terlihat dari nilai sigma sebesar 0,003 atau lebih kecil dari kesalahan yang boleh terjadi ( $\alpha$ ) 0,05. Analisis data dilanjutkan dengan uji DMRT untuk melihat variasi konsentrasi ekstrak etanol daun krisan yang memberikan pengaruh terbaik (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil DMRT Luas Zona Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Krisan dengan Variasi Konsentrasi Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri Uji	Konsentrasi Ekstrak Daun Krisan				Rata-rata
	25%	50%	75%	100%	
EC	0,301 <sup>a</sup>	0,349 <sup>a</sup>	0,339 <sup>a</sup>	0,744 <sup>b</sup>	0,43325 <sup>A</sup>
SA	0,171 <sup>a</sup>	0,163 <sup>a</sup>	0,453 <sup>a</sup>	0,560 <sup>b</sup>	0,3367 <sup>A</sup>
Rata-rata	0,2359 <sup>X</sup>	0,2563 <sup>X</sup>	0,3960 <sup>X</sup>	0,6521 <sup>Y</sup>	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan Tabel 5, dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji baik *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus* tidak ada perbedaan yang nyata. Hal ini berarti kemampuan menghambat ekstrak etanol daun krisan terhadap *Escherichia coli* sama efektifnya terhadap *Staphylococcus aureus*. Sementara variasi konsentrasi ekstrak etanol daun krisan yang menunjukkan adanya beda nyata adalah pada konsentrasi 100% ekstrak. Daya penghambatan ekstrak etanol daun krisan dengan konsentrasi 100% adalah yang terbaik dengan rata-rata luas zona hambat pada kedua bakteri adalah 0,6521 cm<sup>2</sup>. Daya penghambatan ekstrak etanol daun krisan dengan konsentrasi 75% memiliki rata-rata 0,3960 cm<sup>2</sup>. Pada ekstrak etanol daun krisan dengan konsentrasi 50%, rata-rata daya penghambatan sebesar 0,2563 cm<sup>2</sup>. Sedangkan pada ekstrak etanol daun krisan dengan konsentrasi 25%, rata-rata daya penghambatan sebesar 0,2359 cm<sup>2</sup>. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun krisan semakin besar penghambatan pertumbuhan bakterinya.

Hasil luas zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun krisan memiliki daya hambat sedang terhadap *Escherichia coli* (0,4247 cm<sup>2</sup>) dan *Staphylococcus aureus* (0,3367 cm<sup>2</sup>). Penentuan kriteria ini berdasarkan Suprianto (2008) yang melaporkan bahwa ketentuan kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: Daerah hambatan 3,14 cm<sup>2</sup> atau lebih termasuk sangat kuat, daerah hambatan 0,785-3,14 cm<sup>2</sup> kategori kuat, daerah hambatan 0,196-0,785 cm<sup>2</sup> kategori sedang, dan daerah hambatan kurang dari 0,196 cm<sup>2</sup> termasuk kategori lemah.

Aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun krisan terjadi akibat adanya senyawa-senyawa fitokimia pada daun krisan, seperti alkaloid, tanin, dan steroid. Hal ini dapat dilihat pada pengujian fitokimia ekstrak daun krisan yang memberikan hasil

positif keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Menurut Ajizah (2004) senyawa fitokimia tersebut memiliki aktivitas antibakteri.

Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responsnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme (Parubak, 2013). Senyawa flavonoid yang berperan langsung sebagai antibakteri bekerja dengan mendenaturasikan protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelczar dan Chan, 1988). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Rika, 2014). Tanin mampu menghambat kerja protein pada dinding sel, sehingga sel kehilangan aktivitas fisiologisnya dan lisis. Tanin terhidrolisis menghasilkan asam galat dan asam prokatekuat yang akan terurai menjadi pirogalol dan katekol. Pirogalol dan katekol berfungsi sebagai antibakteri dengan adanya gugus -OH yang bersifat polar dan mampu bereaksi dengan dinding sel bakteri dan mengganggu permeabilitas dinding sel (Tyler dkk., 1998).

Ada beberapa faktor yang memengaruhi aktivitas antibakteri suatu sampel. Ketebalan medium pada cawan petri juga dapat memengaruhi luas zona hambat. Semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan akan semakin kecil karena kecepatan difusinya semakin rendah. Selain itu nilai pH dari medium, beberapa antibakteri bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa pada kondisi basa (Greenwood, 1995).

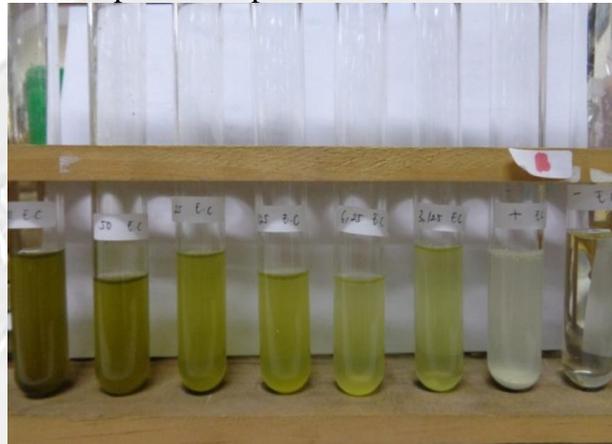
#### **D. Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Etanol Daun Krisan**

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan pada hasil ekstrak yang memiliki nilai luas zona hambat paling besar dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Prinsip penentuan KHM yaitu dilakukan pengenceran pada senyawa antibakteri hingga diperoleh berbagai konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri ke dalam medium cair. Ekstrak etanol daun krisan yang digunakan sebanyak 2 gram yang dilarutkan dalam 10 ml *nutrien broth*, lalu dilakukan pengenceran terlebih dahulu terhadap ekstrak tersebut dengan menambahkan *nutrient broth*. Ekstrak etanol daun krisan tersebut dianggap sebagai memiliki konsentrasi 100 % karena perbandingan ekstraksi serbuk daun krisan dengan pelarutnya adalah 1:5 (w/v) yang setara dengan 2 gram ekstrak dalam 10 ml pelarut.

Pengenceran yang dilakukan bertujuan membuat seri pengenceran ekstrak etanol daun krisan sehingga diperoleh hingga konsentrasi yang terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 100, 50, 25, 12,5, 6,25, dan 3,125 %. Adapun larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan pelarut yang digunakan sebagai kontrol negatif. Selanjutnya KHM ditentukan dengan menggunakan metode TPC. *Total Plate Count* (TPC) merupakan salah satu metode menghitung jumlah koloni bakteri sehingga dapat diketahui penyebaran bakteri yang ada pada bahan. Prinsip dari metode ini adalah bila sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium, maka mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung, dan kemudian dihitung tanpa menggunakan mikroskop (Anugrahini, 2014). Konsentrasi terendah yang

memberikan hasil negatif pada uji TPC dinyatakan sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak etanol daun krisan.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun krisan dilakukan dengan KHM medium cair pada tabung reaksi untuk dilakukan pengenceran. Hasil seri pengenceran KHM ekstrak etanol daun krisan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Seri pengenceran KHM ekstrak etanol daun krisan pada *Escherichia coli* (seri pengenceran dari kiri ke kanan: 100, 50, 25, 12,5, 6, 25, 3,125 %)



Gambar 3 . Seri pengenceran KHM ekstrak etanol daun krisan pada *S. aureus* (seri pengenceran dari kiri ke kanan: 100, 50, 25, 12,5, 6, 25, 3,125 %)

Tabel 6. Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Etanol Daun Krisan Terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Bakteri
100	-
50	-
25	-
12,5	-
6,25	+
3,125	+

Keterangan:

(-)→tidak terjadi pertumbuhan bakteri

(+)→terjadi pertumbuhan bakteri

Tabel 7. Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Etanol Daun Krisan Terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Bakteri
100	-
50	-
25	-
12,5	-
6,25	-
3,125	+

Keterangan:

(-)→tidak terjadi pertumbuhan bakteri

(+)→terjadi pertumbuhan bakteri

Berdasarkan Tabel 6, terlihat bahwa konsentrasi terendah adalah konsentrasi 12,5 % ekstrak etanol daun krisan yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Karena pada konsentrasi di bawahnya, yaitu 6,25 dan 3,125 % telah terjadi pertumbuhan bakteri. Dengan demikian dapat ditentukan KHM ekstrak etanol daun krisan terhadap *Escherichia coli* sebesar 12,5 %. Sedangkan pada Tabel 7, menunjukkan bahwa konsentrasi 6,25 % ekstrak etanol masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Tetapi pada konsentrasi 3,125 % telah terjadi pertumbuhan bakteri. Dengan demikian dapat ditentukan KHM ekstrak etanol daun krisan terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 6,25 %.

Hasil pengujian KHM menunjukkan bakteri Gram positif lebih rentan oleh senyawa antibakteri ekstrak etanol daun krisan daripada bakteri Gram negatif. Hal ini dipengaruhi perbedaan struktur dinding sel, membran plasma, dan endospora pada bakteri Gram positif dan Gram negatif, yang menentukan penetrasi, ikatan, dan aktivitas senyawa antibakteri (Jawetz, dkk., 2005). Bakteri Gram positif terdiri atas banyak lapisan peptidoglikan dan dinding sel yang mengandung polisakarida (asam teikoat). Menurut Zaenab dkk, (2004), bakteri Gram negatif memperlihatkan tiga lapis pembungkus sel yaitu membran bagian luar (OM/*outer membrane*), lapisan tengah yang merupakan dinding sel atau lapisan murein dan membran plasma dalam. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tipis, membran di bagian luar lapisan peptidoglikan (membran luar berupa *bilayer*), serta dikelilingi lipoprotein, lipopolisakarida, fosfolipid dan beberapa protein (Altas, 1984).

Dengan demikian, karena struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri Gram positif. Ketika senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun krisan ini bekerja pada Gram positif, senyawa antibakteri akan berikatan dengan peptidoglikan sehingga mampu merusak dinding sel dan pertumbuhan bakteri Gram positif dapat dihambat. Perbedaan ketahanan bakteri dapat disebabkan adanya perbedaan dinding sel antara kedua golongan bakteri. Menurut Gorman (2001), pada bakteri Gram negatif terdapat sisi hidrofilik yaitu gugus karboksil, amino, fosfat, dan hidroksil yang peka terhadap senyawa polar sedangkan kepekaan bakteri Gram positif disebabkan tidak terdapatnya molekul reseptor spesifik untuk penetrasi antimikrobia dan susunan matriknya yang lebih terbuka (Russell, 1991).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Syn. *Dendrathera grandiflora*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dapat disimpulkan:

1. Ekstrak etanol daun krisan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara efektif.
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun krisan yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah konsentrasi 100 % ekstrak murni daun krisan tanpa pengenceran.
3. Nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun krisan terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 6,25 % dan pada ekstrak etanol daun krisan terhadap *Escherichia coli* sebesar 12,5 %.

## SARAN

1) Diperlukan adanya variasi pelarut dalam uji aktivitas antibakteri daun krisan, seperti metanol, etanol, dan etil asetat, sehingga dapat diketahui adanya pengaruh perbedaan pelarut terhadap komposisi dan konsentrasi senyawa antimikrobia pada daun krisan. 2) Diperlukan penggunaan metode lain dalam mengekstrak daun krisan, misalnya dengan maserasi bertingkat sehingga dapat diketahui adanya pengaruh perbedaan komposisi dan konsentrasi senyawa antimikrobia. 3) Pengujian fitokimia sebaiknya menggunakan metode yang tidak banyak menggunakan panas seperti kromatografi, karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun krisan mudah rusak bila terkena suhu panas. 4) Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis aktivitas antibakteri dari daun krisan seperti jenis bakteristatik, bakteriosidal, atau bakteriolitik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada dosen pembimbing, Drs.B. Boy R. Sidharta, M. Sc., dan Dr. Tri Martini, SP. M. Si., serta teman-teman baik di FTB yang telah membantu dan mendukung saya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella thypimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *J. Bioscientiae*. 1(1):31-38.
- Anugrahini, A. E. 2014. Mengenal Analisa TPC (*Total Plate Count*). BBPPTP Surabaya. Surabaya. Halaman: 5.
- Atlas, R. M. 1984. *Microbiology Fundamentals and Applications*. Macmillan Publishing Company, New York. Halaman: 345-346.
- Capuccino, J. G., dan Sherman, N. 2011. *Microbiollogy : A Laboratory Manual*. Benjamin Cummings, San Fransisico. Halaman: 7-8, 23-24, 59-60, 139, 186.
- Farnsworth, N. R., 1966, *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. University of Pittsburgh, America. Halaman: 15.
- Gasperz, V. 1994. *Metode Perancangan Percobaan*. Penerbit Armico, Jakarta. Halaman: 227.

- Gorman, M. J. 2001. Serine Proteases as Mediators of Mosquito Immune Responses. *Insect Biochemical Molecular Biology*. 31:257-262.
- Greenwood. 1995. *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemoterapy*. Addison Westley Longman Inc. San Fransisco, USA. Halaman: 115.
- Handayani, K. 2004. Inventarisasi Jenis-Jenis Herba di Kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Cetakan II*. Penerbit ITB, Bandung. Halaman: 5, 234.
- Jawetz E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Brooks, G. F., Butel, J. S. dan Ornston, L. N. 1995. *Medical Microbiology*. University of California, San Francisco. Halaman: 37-40.
- Jung, E. K. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential Oil of *Chrysanthemum indicum* against oral bacteria. *J. Bacteriol*. 19: 61-90.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan Weny I. W. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *J. Pharmacon* 1 (1): 47-52.
- Levinson, W. 2004. *Medical Microbiology and Immunology*. 8th Edition. The McGraw-Hill Companies. New York. Halaman: 234.
- Lumbessy, M., Abidjulu, J., dan Paendong, J. J. E. 2013. Uji Total Flavonoid Pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Di Desa Waitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE*. 2(1):50-55.
- Martini, T. 2014. Kajian Pengendalian Penyakit Karat (*Puccinia horiana*) pada Tanaman Krisan Berdasarkan Prinsip Epidermis. *DISERTASI*. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Parubak, A. S. 2013. Senyawa flavonoid yang bersifat antibakteri dari akway (*Drimys beccariana* Gibbs). *Korespondensi*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Papua. 1(1):1-4.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. UI Press, Jakarta. Halaman: 138-140.
- Purwanto, A. W., dan Martini, T. 2009. *Krisan: Bunga Seribu Warna*. Kanisius, Yogyakarta. Halaman: 8.
- Rika, P. R. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Rompas, R.A., Hosea, J. E., dan Adithya, Y. 2012. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dalam Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *J. Pharmacon* 1 (2): 59-63.
- Rukmana, A.E., dan Mulyana, R. 1997. *Seri Bunga Potong Krisan*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. Halaman: 23, 25-27.
- Russel, A. D. 1991. Mechanism of Bacterial Resistance to Non Antibiotic: Food Additive and Pharmaceutical Preservati-ves. *Journal Application Bacteriol*. 71:191.
- Sangi, M., Max, R. J. R., Henry, E. I. S., dan Veronica, M. A. M. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *J. Progres in Chemistry*. 1 (1):47-53.

- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. UGM Press, Yogyakarta. Halaman: 36.
- Sun, Q. L., Hua, S., Ye, J. H., Zheng, X.Q., dan Liang, Y.R. 2010. Flavonoids and Volatiles in *Chrysanthemum morifolium* Ramat Flower from Tongxiang County in China. *African Journal of Biotechnology*. 9 (25):3817-3821.
- Suprianto. 2008. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Sebagai Anti *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Susanto, P. B., dan Ashari. 2005. *Analisis Statistik dengan Microsoft Excel & SPSS*. Penerbit Andi, Yogyakarta. Halaman: 4.
- Tyler, V. E., Brandy, L. R., Robbers, J. E., Lea dan Febiger. 1998. *Pharmacognosy 9th edition*. Philadelphia.
- Utami, E. R. 2012. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. *J. SAINTIS*. 1(1):124-138.
- Vandepitte. 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis. Edisi 2*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Halaman: 48.
- Wijaya, M. I. 2012. Penentuan Jenis Ekspan dan Konsentrasi Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat Pada Induksi Kalus Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) cv. Puspita Pelangi Sebagai Sumber Flavonoid. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi. UAJY, Yogyakarta.
- Xie, Y. Y., Yuan., Yang, J. Y., Wang, L. H., dan Wu, C. F. 2009. Cytotoxic Activity of Flavonoids from The Flowers of *Chrysanthemum morifolium* on Human Colon Cancer Colon 205 Cells. *Journal of Asian Natural Products Research*. 11 (9) : 771-778.
- Zaenab, Mardiasuti, H. W., Anny, V. P., dan Logawa, B. 2004. Uji Antibakteri Siwak (*Salvadora persica* Linn.) Terhadap *Streptococcus mutans* (ATC31987 dan *Bacteroides melaninogenicus*. *Makara Kesehatan*. 8(2):37-40.