

## **HASIL PENELITIAN**

# **PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica less*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

Kajian in vitro

Alma Linggar Jonarta

Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

### **ABSTRAK**

*Streptococcus mutans* adalah bakteri kariogenik utama dalam rongga mulut. Penjagaan keseimbangan flora rongga mulut mampu mencegah terjadinya karies. Beluntas (*Pluchea indica Less*) mengandung beberapa zat dan aktif telah banyak digunakan di kalangan masyarakat sebagai tanaman obat tradisional. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan *in vitro* *S. mutans* terhadap pemberian ekstrak daun beluntas.

*Streptococcus mutans* yang dibiakkan pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) diberi paparan ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40%. Sebagai kontrol positif dan negatif, berturut turut digunakan klorheksidin glukonat 0,2% dan akuades steril. Zona hambatan pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi 24 jam kemudian diukur. Konsentrasi ekstrak terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri kemudian diuji lebih lanjut menggunakan uji dilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum. Seluruh penelitian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kemampuan pertumbuhan *in vitro* *S. mutans* terhambat dengan pemberian ekstrak daun beluntas lebih dari 10%. Pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 40%, kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri setara dengan pemberian klorheksidin glukonat 0,2% ( $p < 0,05$ ). Pada uji dilusi, pemberian ekstrak dengan konsentrasi kurang dari 10% masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. *Maj Ked Gi*; Juni 2009; 16(1): 1-6

**Kata kunci:** *Streptococcus mutans*, ekstrak etanol daun beluntas, pertumbuhan bakteri

### **ABSTRACT**

*Streptococcus mutans* is the most important cariogenic bacteria in oral cavity. Maintenance of microbial balance in oral cavity may play role in caries prevention. Beluntas leaf (*Pluchea indica Less*), that contains active ingredients, has some antibacterial effects and has been widely used as traditional medicines. The aim of this study is to examine *in vitro* growth capability of *S. mutans* with the application of beluntas leaves extract.

*S. mutans*, cultured on *Mueller-Hinton Agar* were exposed with ethanol extract of beluntas leaves which had been diluted in aquadest and gave final concentration of 5%, 10%, 20%, 30%, and 40%. Sterile aquadest and 0.2% of *Chlorhexidine gluconate* were used as negative and positive control, respectively. Clear zone on the agar plate, indicated as growth inhibition zone of overnight culture were then measured. The smallest concentration that was able to inhibit bacterial growing from the previous result, was then further analysed using dilution test method to decide Minimal Inhibition Concentration. All the experiments were done triplicate.

The result of this study showed that the *in vivo* growth of *S. mutans* is able to be inhibited by the application of more than 10% of beluntas leaves extract. The more concentration of the extract, the larger of bacterial inhibition zone. There is a similar inhibition potential towards bacterial growth between the beluntas leaves extract concentration of 40% and positive control groups ( $p < 0,05$ ). On dilution test method, extract concentrations of less than 10% still show bacterial growing. *Maj Ked Gi*; Juni 2009; 16(1): 1-6

**Key words:** *Streptococcus mutans*, beluntas leaves ethanolic extract, bacterial growth

### **PENDAHULUAN**

Di dalam mulut terdapat lebih dari 500 spesies mikroorganisme<sup>1</sup> Mikroorganisme tersebut pada dasarnya merupakan flora normal yang tidak mengganggu kesehatan pejamu jika berada dalam jumlah yang terkendali satu sama lain. Karena beberapa sebab, keseimbangan ekologi mulut dapat terganggu sehingga dapat menimbulkan berbagai masalah dalam mulut. *Streptococcus mutans* dan bakteri-bakteri

laktobasilus merupakan odontopatogen utama yang terlibat di dalam perkembangan penyakit karies pada manusia dan binatang.<sup>2</sup> *Streptococcus mutans* dapat tumbuh di lingkungan dengan suasana pH yang amat rendah. Bakteri ini mampu memproduksi asam, mempunyai sistem transport gula, dan mempunyai toleransi terhadap asam.<sup>3</sup>

*Streptococcus mutans* adalah bakteri  $\alpha$  - hemolitikus dari golongan viridan streptococci yang pada rongga mulut berpotensi untuk menimbul-

kan terjadinya karies. Virulensinya adalah dengan melakukan metabolisme karbohidrat yang dapat menimbulkan permukaan gigi rentan terhadap demineralisasi jaringannya.<sup>4</sup> *Streptococcus mutans* memiliki beberapa sifat-sifat khusus yang berperan pada patogenesis karies serta mempunyai kemampuan melekat pada permukaan gigi dengan bantuan adhesin serta polimer glukosa yang tidak larut air.<sup>3</sup> Sebagai konsekuensinya, *S. mutans* akan menempel pada komponen-komponen yang terdapat pada permukaan gigi, seperti substrat, glikoprotein saliva, matriks ekstraseluler, komponen serum, sel inang serta mikroorganisme lain.

Diperlukan upaya yang terus menerus untuk menjaga keseimbangan flora rongga mulut. Salah satu upaya tersebut adalah penggunaan bahan anti-septik rongga mulut dari bahan alam maupun sintetis yang banyak tersedia di lingkungan sekitar maupun yang telah dikemas secara komersial dalam berbagai macam bentuk sediaan. Salah satu bahan alam yang bermanfaat bagi kesehatan adalah tanaman beluntas (*Pluchea indica* Less). Di kalangan masyarakat, selain dipergunakan sebagai lalapan, beluntas dilaporkan dipergunakan untuk menurunkan demam, mengatasi bau mulut, serta menyembuhkan luka.<sup>5</sup> Beberapa bahan aktif di dalam minyak esensial dan ekstrak daun beluntas diketahui mempunyai khasiat sebagai antioksidan, antibakteri, anti-inflamasi, dan imunostimulasi.<sup>6-13</sup> Ekstrak etanol daun beluntas diketahui mampu menekan pertumbuhan *Escherichia coli in vitro*, dengan Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap *E. coli* pada konsentrasi 25%.<sup>14</sup> Lebih lanjut, ekstrak air daun beluntas diketahui mempunyai efek imunostimulasi terhadap mencit Swiss Webster betina. Ekstrak air daun beluntas dengan dosis 150mg/kg BB mempunyai efek imunostimulasi sedang. Ekstrak ini diketahui mampu menstimulasi respon imun humoral maupun selular.<sup>13</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan *Streptococcus mutans in vitro* terhadap pemberian ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less).

## METODE PENELITIAN

Daun beluntas diperoleh dari daerah Pakem, Sleman, DIY dan dilakukan determinasi tanaman oleh tenaga ahli dari bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta. Ekstraksi daun beluntas akan dilakukan di LPPT UGM, Yogyakarta, sedangkan uji mikrobiologi dilakukan di Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM.

Daun beluntas dicuci bersih lalu dikeringkan pada suhu 45°C selama 24 jam kemudian diserbuk dengan mesin penyerbuk dengan saringan diameter lubang 1mm. Serbuk daun beluntas ditambahkan etanol 96% dan diaduk selama 30 menit. Setelah

didiamkan 24 jam, larutan kemudian disaring. Penyaringan dilakukan sebanyak 3 kali pada filtrat. Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan dengan pengaput (*Rotary Vacuum Evaporator*) pada suhu 70°C. Ekstrak kental yang dihasilkan dituang dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan pemanas *water bath* sambil terus diaduk. Dari proses yang telah dilakukan diketahui bahwa rata-rata penyusutan berat basah menjadi berat kering adalah sekitar 13.57%.<sup>15</sup>

Ekstrak daun beluntas dilarutkan dengan cara diencerkan dengan akuades sehingga diperoleh konsentrasi 5%, 10%, 20%, 30%, 40% Kontrol negatif menggunakan akuades steril. Klorheksidin glukonat 0,2% digunakan sebagai kontrol positif.

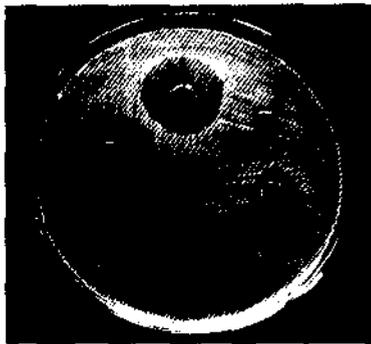
Stok bakteri *Streptococcus mutans* ditanam pada media agar *Brain Heart Infusion* (BHI) dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Di hari berikutnya, satu koloni kuman dari biakan dimasukkan di dalam 0,5 ml media cair BHI dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan. Suspensi bakteri diencerkan dengan media BHI cair sehingga kekeruhan setara dengan larutan standar Brown III 10<sup>6</sup> CFU/ml.

Suspensi bakteri 10<sup>6</sup> CFU/ml sebanyak 500µl dioleskan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan kapas lidi steril. Dalam satu cawan petri dibuat 7 sumuran dengan diameter 7 mm. Sumuran diisi berbagai konsentrasi ekstrak daun beluntas yang telah ditentukan (5%, 10%, 20%, 30% dan 40%), larutan kontrol positif (klorheksidin glukonat 0,2%) dan larutan kontrol negatif (akuades steril). Cawan petri diinkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona terang (*clear zone*) di sekeliling sumuran yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri diukur dengan cara: diameter luar zona hambatan dikurangi diameter sumuran kemudian dibagi dua. Pengukuran dilakukan pada 3 titik, yaitu 2 garis vertikal dan horizontal yang saling tegak lurus dan 1 titik dengan sudut 45° dari garis vertikal, kemudian diambil reratanya.<sup>16</sup>

Berdasar hasil uji difusi di atas, diketahui bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas terendah yang tidak menampakkan adanya pertumbuhan adalah kelompok konsentrasi 10%. Kadar Hambat Minimum (KHM) ditetapkan dengan mikroba uji pada media kaldu BHI. Biakan *S. mutans* sebanyak 10µl di paparkan pada 1 ml ekstrak daun beluntas dengan konsentrasi 6,5%, 7,5%, 8,5%, dan 9,5% selama 3 menit. Suspensi ekstrak-bakteri diambil sebanyak 10µl, ditanam pada kaldu BHI kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Larutan uji ekstrak pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Larutan KHM selanjutnya dikultur ulang pada media agar tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba

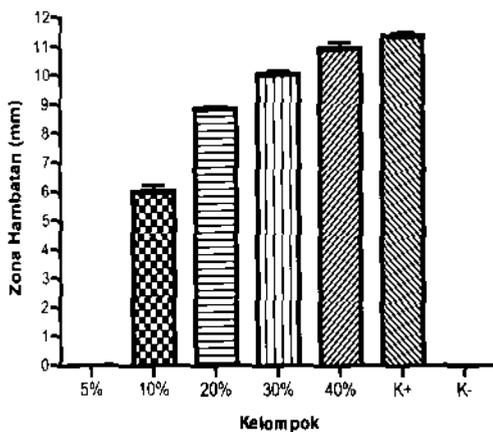
dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM).<sup>16</sup> Penelitian dilakukan ulangan tiga kali untuk setiap kelompok.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANAVA (analisis variansi) dengan  $\alpha = 0,05$ , selanjutnya dilakukan Uji *Bonferroni* antar masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas dan kelompok kontrol.

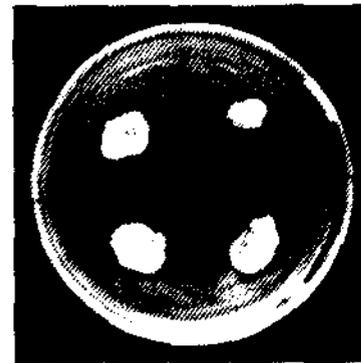


**Gambar 1.** Induksi Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas terhadap Pertumbuhan *S. mutans* pada Uji Difusi

Zona Hambatan Ekstrak Beluntas terhadap *Streptococcus mutans*



**Gambar 2.** Grafik rerata zona hambatan pertumbuhan *S. mutans* dengan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas



**Gambar 3.** Uji Difusi untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada Media BHI (a) dan MHA (b). Pertumbuhan bakteri yang berupa massa biofilm bakteri pada permukaan media cair dan menempel pada dinding tabung (tanda panah)

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pemberian ekstrak etanol daun beluntas dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, 30% dan 40% terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada uji difusi dapat dilihat pada Gambar 1.

Aplikasi ekstrak etanol daun beluntas ke dalam sumuran (diameter 7mm) pada media agar menyebabkan penekanan pertumbuhan bakteri yang terlihat dengan adanya zona hambatan berupa daerah transparan di sekeliling sumuran.

Gambar 1 di atas menampilkan rerata dan simpangan baku zona hambatan pertumbuhan *S. mutans* dari setiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Ditunjukkan pada gambar tersebut, bahwa ekstrak etanol daun beluntas 5% sama sekali belum mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Ekstrak baru terlihat mempunyai efek menekan pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 10%.

Peningkatan konsentrasi ekstrak memberikan efek peningkatan zona hambatan pertumbuhan bakteri.

Uji ANOVA 1 jalur dilakukan untuk melihat perbedaan pengaruh masing-masing konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri. Hasil uji (tabel 1) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) zona hambatan pertumbuhan bakteri akibat pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun beluntas.

**Tabel 1.** Rangkuman Hasil ANOVA 1 Jalur Zona Hambatan Pertumbuhan *S. mutans* terhadap Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Beluntas

ANOVA satu Jalur						
	df	SS	MS	F	P value	Sig. ( $p < 0.05$ )
Antar Kelom- pok	6	437.3	72.88	1338	$P < 0.0001$	**
Dalam Kelom- pok	14	0.7625	0.05447			
Total	20	438.0				

Uji *Bonferroni* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0.01$ ) antar kelompok perlakuan maupun kontrol. Bila dibandingkan kelompok kontrol positif, terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0.01$ ) pada hampir seluruh konsentrasi ekstrak yang diujikan, kecuali pada konsentrasi ekstrak 40%. Konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 20%, dan 30% diketahui mempunyai kemampuan lebih rendah dalam menghambat pertumbuhan bakteri bila dibandingkan dengan klorheksidin glukonat. Konsentrasi ekstrak daun beluntas 40% terlihat mempunyai kemampuan yang setara dengan kemampuan klorheksidin glukonat sebagai kelompok kontrol dalam menekan pertumbuhan bakteri.

Konsentrasi terendah ekstrak etanol daun beluntas yang mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* adalah 10%. Konsentrasi ini kemudian digunakan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode difusi. Konsentrasi yang digunakan pada uji dilusi adalah 6,5%, 7,5%, 8,5%, 9,5% dan 10%. Ternyata pada konsentrasi tersebut, masih didapatkan pertumbuhan bakteri (Gambar 3a), walaupun pada metode difusi,

konsentrasi 10% sudah menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan. Sebagai konfirmasi, dari media uji dilusi, kemudian ditumbuhkan kembali pada media agar, dan ternyata memang masih terdapat pertumbuhan *S. mutans* (Gambar 3b).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan bakteri *S. mutans* setelah diberi paparan ekstrak etanol daun beluntas pada berbagai variasi konsentrasi. Dari uji difusi diketahui bahwa hambatan pertumbuhan bakteri setelah terpapar ekstrak etanol daun beluntas 40% setara dengan hambatan bakteri yang terpapar klorheksidin glukonat 0,2% sebagai larutan kontrol positif. Klorheksidin glukonat sebagai kontrol positif adalah bahan antimikrobal, termasuk mikroba oral dan secara luas dipergunakan sebagai zat aktif obat kumur.

Daya anti bakteri maupun anti jamur dari minyak esensial daun beluntas banyak digunakan untuk menghambat pertumbuhan patogen-patogen yang merugikan tubuh, termasuk patogen oral.<sup>1,17</sup> Alkaloid, flavonoid, tanin, minyak esensial, serta saponin yang terkandung pada daun beluntas<sup>5,18</sup> diperkirakan mempunyai potensi sebagai zat antibakteri dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada media agar. Beberapa terpen, lignan glikosida dan terpenic glycosides telah berhasil diisolasi dari daun beluntas.<sup>9,20</sup> Terpen mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara merusak membran sel dan menyebabkan kebocoran ion  $K^+$  (<sup>21</sup>). Ekstrak daun beluntas diketahui mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, dan diketahui bahwa aktivitas antibakteri yang paling tinggi terdapat pada ekstrak n-Heksan.<sup>10</sup> Dinyatakan pula oleh Susanti, Rimayanti dan Sukmanadi<sup>14</sup> bahwa ekstrak etanol daun beluntas juga berpotensi menekan pertumbuhan *Escherichia coli in vitro*. Ditunjukkan dalam beberapa penelitian bahwa minyak esensial yang terkandung di dalamnya mempunyai kemampuan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus sp*.<sup>10,22,23</sup>

Konsentrasi ekstrak 40% ternyata menimbulkan zona hambatan pertumbuhan bakteri yang setara ( $p > 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kontrol positif. Pada pra-penelitian yang dilakukan sebelumnya, didapatkan bahwa dengan pemberian konsentrasi ekstrak 60%, zona hambatan pertumbuhan bakteri lebih besar daripada kontrol positif. Namun, sediaan ekstrak kental dengan

koncentrasi 60% mempunyai daya kelarutan yang rendah terhadap akuades sebagai bahan pelarutnya. Akuades diketahui tidak mempunyai daya kelarutan yang optimum terhadap ekstrak daun beluntas, terutama pada konsentrasi pekat di atas 40%. Dengan pelarut akuades, selalu terdapat sisa resin dari ekstrak yang tertinggal dan mengendap pada dasar tabung. Berdasarkan temuan tersebut, ditentukan konsentrasi terbesar adalah 40%, yang diperkirakan dapat terlarut secara maksimum pada akuades. Dengan demikian, diperkirakan bahwa dengan konsentrasi ekstrak daun beluntas 40% kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri tidak berbeda jauh dengan klorheksidin glukonat 0,2% yang banyak dipergunakan sebagai zat aktif pada sediaan obat kumur yang tersedia di pasaran. Konsentrasi ekstrak 10% adalah konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada uji difusi. Pada uji dilusi untuk mendapatkan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dengan konsentrasi menurun ekstrak daun beluntas sebesar 9,5%, 8,5%, 7,5% dan 6, 5% ternyata masih didapatkan pertumbuhan bakteri pada semua konsentrasi. Diduga ada dua kemungkinan pertumbuhan bakteri tersebut. Kemungkinan pertama adalah bahwa masih terdapat sedikit pertumbuhan koloni di zona hambatan yang tidak terlihat oleh mata telanjang. Bila hal tersebut benar, maka diperkirakan KHM adalah sedikit di atas konsentrasi 10%. Kemungkinan lain adalah paparan ekstrak daun beluntas terhadap bakteri yang dilakukan selama 3 menit sebelum inokulasi ke dalam media belum mampu mempengaruhi kondisi bakteri, dan memungkinkan terjadinya pertumbuhan bakteri ketika diinkubasi.

## KESIMPULAN

Pertumbuhan bakteri *S. mutans* terhambat dengan pemberian ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi di atas 10%. Daya hambat pertumbuhan *S. mutans* pada pemberian ekstrak daun beluntas konsentrasi 40% setara dengan klorheksidin glukonat 0,2%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Dana Bantuan Penelitian Dosen Madya Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, tahun 2008.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Takarada KR, Kimizuka N, Takahashi K, Honma K, Okuda, & T Kato: A comparison of the antimicrobial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol*, 2004; 19: 61-64.
2. van Houte J: Role of micro-organisms in caries. *J Dent Res*. 1994; 73: 672.
3. Burne R: Oral streptococci, product of their environment. *J Dent Res*. 1998; 77: 445.
4. Brooks GK, Carroll J, Butel, & S Morse: *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. The McGraw-Hill Companies, Inc., 2007.
5. Dalimartha S: *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trubus Agriwidya, Jakarta, 1999.
6. Katayama SK, Nishizawa, & M Hirano: Effect of pol-aprezinc on healing of acetic acid-induced stomatitis in hamsters. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 2000; 3: 114.
7. Sen T & A Chaudhuri: Antiinflammatory evaluation of a *Pluchea indica* root extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 1991; 33: 135.
8. Erawati A: Uji aktivitas anti bakteri dan identifikasi minyak atsiri daun *Pluchea indica* Less. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1992.
9. Sen TT, Ghosh, & A Chaudhuri: Studies on the mechanism of anti-inflammatory and antiulcer activity of *Pluchea indica* - probable involvement of 5-lipoxygenase pathway. *Life Sci.*, 1993; 52: 737-743.
10. Lestari M: Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Less) dan bunga Honje (*Nicolaia speciosa horan*) terhadap bakteri dari ketiak. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung, 1994.
11. Permana A: Aktivitas antioksidan senyawa aktif dari daun beluntas (*Pluchea indica* (L) Less. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung, 1998
12. Sen T, A Dhara, S Bhattacharjee, S Pal, & A Chaudhuri: Antioxidant activity of the methanol fraction of *Pluchea indica* root extract. *Phytotherapy Research*, 2002; 16: 331.
13. Fatmasari A & M Immaculata: Efek imunostimulasi ekstrak air herba pegagan (*Centella asiatica* Urb.) dan daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) pada mencit Swiss Webster betina. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. ITB, Bandung, 2007.
14. Susanti A, Rimayanti, & M Sukmanadi: Antibacterial activity of the ethanol extract *Pluchea Indica* Less leaves against *Escherichia coli* by in vitro. *Veterina Medika* 1, 2008.
15. Anonim: *Prosedur pembuatan ekstrak daun beluntas*. LPPM-UGM, Yogyakarta, 2008.
16. Pratiwi S: *Buku Ajar Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2007
17. Kalembe D & A Kunicka: Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*, 2003; 10: 813.
18. Fajiri: Pemeriksaan kandungan kimia daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) asal Kotamadya Ujung Pandang.

- Dalam Penelitian tanaman obat *di beberapa perguruan tinggi di Indonesia*. D. Sundari, ed. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1994.
19. Uchiyama T, T Miyase, A Ueno, & K Usmanghani: Terpenic glycosides from *Pluchea indica*. *Phytochem*. 1989; 28: 3369-3372.
  20. Uchiyama T, T Miyase, A Ueno, & K Usmanghani: Terpene and lignan glycosides from *Pluchea indica*. *Phytochem*, 1991; 30: 655.
  21. Inouea Y, A Shiraishia, T Hadaa, K Hirosea, H Hamashi-maa, & J Shimadaa: The antibacterial effects of terpene alcohols on *Staphylococcus aureus* and their mode of action. *FEMS Microbiol. Lett*. 2006; 237: 325.
  22. Ratnawati R: Pembuatan "stick deodorant" minyak atsiri daun beluntas (*Pluchea indica* Less) serta pengujian antibakterinya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung, 1995.
  23. Yuhilda: Formulasi krim antiakne dengan minyak atsiri daun beluntas (*Pluchea indica* Less). *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung, 2001.