AKTIVITAS ANTIBAKTERI SEDIAAN MOUTHWASH EKSTRAK DAUN KENIKIR (Cosmos caudatus Kunth) TERHADAP BAKTERI PENYEBAB GANGGUAN RONGGA MULUT

Anissa Utami[1], Gandes Winarni[2], Putri Khoirunisa[3], Rahma Maulida Anggraeni[4]
[1,2,3,4]Institut Kesehatan Widya Dharma Husada Tangerang, Indonesia
Email: anissautami@wdh.ac.id

Abstrak

Kesehatan gigi dan mulut dapat terganggu oleh pertumbuhan bakteri, di antaranya Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans. Daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth) diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid yang berpotensi sebagai antibakteri.Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir serta membandingkan diameter zona hambat antarformula terhadap Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans. Metode penelitian dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan metode difusi cakram. Sediaan mouthwash dibuat dalam tiga formula, yaitu FI, FII, dan FIII dengan konsentrasi ekstrak daun kenikir masing-masing 10%, 15%, dan 20%, serta kontrol negatif (F0) dan kontrol positif berupa chlorhexidine gluconate 0,2%. Pengujian dilakukan terhadap Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans dengan tiga kali pengulangan. Data dianalisis secara deskriptif dan statistik menggunakan SPSS versi 27 melalui uji Shapiro-Wilk, Lavene, uji parametrik atau nonparametrik, serta uji lanjut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa FIII menghasilkan rata-rata diameter zona hambat terbesar, yaitu 17 mm terhadap Staphylococcus aureus dan 15,3 mm terhadap Streptococcus mutans, sedangkan FI menghasilkan diameter terkecil, yaitu 9 mm dan 5,83 mm. Hasil uji statistik menunjukkan FIII tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif terhadap Staphylococcus aureus (p=0,473) dan Streptococcus mutans (p=0,050). Kesimpulan berdasarkan hasil penelitian ini, sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas antibakteri, dengan FIII sebagai formula yang memberikan aktivitas antibakteri terbaik terhadap kedua bakteri uji.

Kata Kunci: *Cosmos caudatus Kunth*, Mouthwash, Antibakteri, *Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans.*

Abstract

Dental and oral health can be affected by bacterial growth, including Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans. Kenikir leaves (Cosmos caudatus Kunth) are known to contain alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids, which have potential antibacterial activity. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of mouthwash containing kenikir leaf extract and to compare the inhibition zone diameters among formulations against Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans. The research method used in this study was an experimental method with the disc diffusion method. The mouthwash was prepared in three formulations, namely FI, FII, and FIII, containing 10%, 15%, and 20% kenikir leaf extract, respectively, along with a negative control (F0) and a positive control containing 0.2% chlorhexidine gluconate. The antibacterial activity test was conducted against Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans with three replications. The data were analyzed descriptively and statistically using SPSS version 27 through the Shapiro-Wilk test, Levene's test, parametric or non-parametric tests, and post-hoc tests. The research result showed that FIII produced the largest mean inhibition zone diameter, measuring 17 mm

against Staphylococcus aureus and 15.3 mm against Streptococcus mutans, while FI produced the smallest diameters, measuring 9 mm and 5.83 mm, respectively. Statistical analysis showed that FIII was not significantly differentfrom the positive control against Staphylococcus aureus (p=0.473) and Streptococcus mutans (p=0.050). The conclusion based on the results of this study is that mouthwash containing kenikir leaf extract has antibacterial activity, with FIII being the formulation that provides the best antibacterial activity against both test bacteria.

***Keywords**: Cosmos caudatus Kunth, Mouthwash, Antibacterial, Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans.*

A. PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari kesehatan tubuh secara keseluruhan, karena kondisi rongga mulut dapat memengaruhi status kesehatan umum seseorang. Rongga mulut berperan sebagai jalur awal masuknya berbagai zat yang dibutuhkan untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan individu secara optimal. Mulut merupakan lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme karena memiliki tingkat kelembaban yang sesuai, ketersediaan oksigen yang cukup, serta adanya sisa makanan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi mikroorganisme untuk berkembang biak (Agustina & Sihotang, 2023).

Berdasarkan Laporan WHO mengenai Status Kesehatan Gigi dan Mulut tahun 2022, diperkirakan sekitar 3,5 miliar penduduk dunia atau hampir setengah dari total populasi global mengalami berbagai penyakit gigi dan mulut. Indonesia menempati peringkat kedua di Asia Tenggara dalam total pengeluaran perawatan kesehatan gigi setelah Singapura dengan nilai sekitar US$ 1.160. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menunjukkan bahwa prevalensi karies gigi di Indonesia mencapai 88,80%. Sementara itu, hasil Survei Kesehatan Indonesia (SKI) tahun 2023 menunjukkan adanya 12 penurunan indeks DMF-T (Decay, Missing, Filled Teeth) pada seluruh kelompok usia dibandingkan dengan hasil Riskesdas 2018. Meskipun demikian, kondisi kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih memerlukan perhatian yang lebih serius, karena pada kelompok usia 3–4 tahun, usia 5 tahun, serta usia di atas 35 tahun, indeks DMF-T masih tergolong tinggi hingga sangat tinggi (BKPK, 2023).

Flora normal dalam rongga mulut meliputi Streptococcus mutans, S. sanguinis, Staphylococcus aureus, Lactobacillus sp., dan Pseudomonas aeruginosa. Meskipun merupakan flora normal, bakteri-bakteri tersebut dapat berubah menjadi patogen pada kondisi tertentu akibat faktor predisposisi, seperti kebersihan rongga mulut yang buruk (Busman et al., 2019).

Staphylococcus aureus merupakan patogen yang dapat menyebabkan berbagai infeksi sekunder, termasuk infeksi pada jaringan lunak di rongga mulut (Nanggita et al., 2023). Bakteri ini dapat menimbulkan infeksi piogenik yang ditandai dengan akumulasi nanah secara lokal akibat kerusakan jaringan (Poernomo et al., 2022). Selain itu, Streptococcus mutans berkontribusi dalam proses terjadinya karies gigi dengan kemampuannya yang dapat melekat pada permukaan gigi. Bakteri ini menghasilkan senyawa asam dari metabolisme sukrosa sehingga menyebabkan kondisi rongga mulut menjadi asam (Chismirina et al., 2021).

Terdapat beberapa sediaan mouthwash yang beredar di pasaran. Namun, penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan efek samping (Sakinah, 2020). Oleh karena itu, diperlukan alternatif mouthwash berbahan dasar tanaman obat yang memiliki aktivitas antimikroba dengan efek samping yang lebih minimal. Tanaman obat merupakan salah satu sumber alternatif yang berpotensi dalam pengembangan agen antibakteri berbasis bahan alam. Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pengobatan tradisional (Susanti et al., 2024). Daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth) diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid, yang memiliki aktivitas antibakteri

(Yuliana et al., 2025). Senyawa-senyawa aktif tersebut bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel, menyebabkan denaturasi protein, serta menginaktivasi enzim sel mikroorganisme (Sakinah, 2020).

Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir sebesar 10%, 15% dan 20%. Konsentrasi ekstrak daun kenikir yang akan digunakan mengacu pada penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa ekstrak kenikir 10% dan 15% memberikan efektivitas yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 20,10 mm dan 21,67 mm(Kholishoh, 2021).

Selain bahan aktif, bahan tambahan yang tidak kalah penting dalam komposisi obat kumur adalah humektan. Humektan berfungsi membantu mempertahankan kelembapan sediaan sehingga dapat mendukung kestabilan formula serta mempertahankan keberadaan bahan aktif dalam sediaan selama penyimpanan dan penggunaan (Eryani et al., 2022). Humektan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gliserin dan propilen glikol. Gliserin merupakan salah satu humektan yang banyak digunakan dalam formulasi sediaan farmasi karena memiliki berbagai keunggulan, antara lain bersifat ekonomis, dapat berfungsi sebagai pelarut, serta mampu mengatur dan meningkatkan viskositas sediaan sehingga dapat mendukung stabilitas dan kenyamanan penggunaan (Litaay et al., 2023).

Berdasarkan Handbook of Pharmaceutical Excipients Edisi VI, gliserin merupakan humektan yang umum digunakan karena memiliki karakteristik yang aman, tidak mengiritasi, dan mampu mempertahankan kelembapan sediaan. Selain gliserin, propilen glikol merupakan bahan tambahan yang dapat berfungsi sebagai humektan dan memiliki fungsi lain, seperti pengawet antimikroba, kosolven, disinfektan, plasticizer, pelarut, dan agen penstabil (HOPE Edisi VI, 2009). Menurut Wijaya dan Linggar (2018), propilen glikol lebih sering digunakan sebagai humektan pada sediaan topikal karena kemampuannya mempertahankan kandungan air dalam sediaan sehingga karakteristik fisik dan stabilitas sediaan selama penyimpanan dapat dipertahankan. Penggunaan propilen glikol dalam sediaan oral khususnya mouthwash, masih perlu dikaji lebih lanjut, sehingga penggunaannya sebagai salah satu komponen humektan dapat menjadi alternatif dalam pengembangan formulasi mouthwash.

Kombinasi gliserin dan propilen glikol sebagai humektan dalam sediaan mouthwash dipilih karena keduanya memiliki karakteristik dan fungsi yang dapat saling melengkapi dalam mempertahankan kelembapan serta mendukung karakteristik fisik dan stabilitas sediaan. Penggunaan kombinasi kedua bahan tersebut diharapkan dapat menghasilkan sediaan mouthwash dengan karakteristik fisik yang baik, stabil, dan nyaman digunakan. Pemilihan kombinasi ini juga didukung oleh penelitian terdahulu yang menggunakan kombinasi gliserin dan sorbitol sebagai humektan dalam sediaan mouthwash (Yardha et al.,2024). Oleh karena itu, kombinasi gliserin dan propilen glikol perlu dikaji lebih lanjut dengan mempertahankan konsentrasi gliserin dan memvariasikan konsentrasi propilen glikol untuk mengetahui pengaruhnya terhadap karakteristik fisik dan aktivitas antibakteri sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth.).

Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram, yang dapat menguji sensitivitas bakteri terhadap agen antibakteri berdasarkan kemampuan senyawa dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri pada media Mueller-Hinton Agar (MHA). Metode ini banyak digunakan karena biaya relatif rendah, mudah dilakukan, serta dapat diterapkan pada berbagai spesies bakteri dan jenis antibiotik. Selain itu, interpretasi hasil yang sederhana memudahkan identifikasi fenotipe bakteri atipikal dan deteksi kontaminasi (Octifani et al., 2024).

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan potensi ekstrak daun kenikir (Cosmos caudatus kunth) sebagai agen antibakteri, sebagian besar penelitian sebelumnya masih terbatas pada pengujian terhadap satu jenis bakteri atau menggunakan spesies yang berbeda dari bakteri

yang digunakan dalam penelitian ini, sehingga efektivitasnya terhadap bakteri penyebab gangguan rongga mulut belum tergambarkan secara komprehensif. Selain itu, pemanfaatan ekstrak daun kenikir dalam bentuk sediaan farmasi mouthwash terhadap aktivitas antibakterinya masih jarang diteliti. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang mengkaji aktivitas antibakteri sediaan mouthwashekstrak daun kenikir dengan kombinasi gliserin dan propilen glikol sebagai humektan terhadap Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans secara bersamaan menggunakan metode difusi cakram, guna mengisi kesenjangan pengetahuan dan mendukung pengembangan alternatif mouthwash berbahan alami.

B. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth) dengan kombinasi gliserin dan propilen glikol sebagai humektan terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans dengan menggunakan metode difusi cakram. Bahan yang digunakan dalam penelitia ini yaitu sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth), Staphylococcus aureus (Agavi laboratorium), Streptococcus mutans (Agavi laboratorium), Mueller Hinton Agar (MHA), Nacl 0,9%, Aquadest, H_2SO_4 1%, BaCl 1%, Minosep (Chlorhexidine gluconate 0,2%).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas beker, gelas ukur,paper disk, bunsen, jarum ose, pipet tetes, cawan petri, autoklaf, aluminium foil, batang pengaduk kaca, inkubator, batang L, pinset, erlenmeyer, jangka sorong. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut dengan perbandingan 1:10. Serbuk daun kenikir 3000 gr direndam dalam etanol 96% sebanyak 30000 mL. Diamkan selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, terlindung dari sinar matahari sambil di aduk sesekali. Maserat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dikumpulkan untuk dievoporasi menggunakan Rotary Vacum Evoporator (RVE) pada suhu 50°C serta dilakukan pemanasan menggunakan waterbath pada suhu 60°C hingga memperoleh ekstrak kental. Lalu dilakukan perhitungan rendemen ekstrak dengan rumus sebagai berikut: Rendemen ekstrak = berat ekstrak yang diperoleh $berat\ simplisia\ kering \times 100\%$ (Astuti & Ediati, 2024).

Cawan porselin dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator selama 20 menit untuk mencegah pengaruh kelembapan udara. Setelah itu, cawan porselin ditimbang untuk memperoleh bobot awal. Sampel sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam cawan porselin, kemudian ditimbang kembali untuk mengetahui bobot awal botol dan sampel. Selanjutnya, cawan berisi sampel dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam untuk menguapkan air dalam sampel. Setelah pengovenan, cawan dan sampel didinginkan kembali dalam desikator, kemudian ditimbang. Proses pengovenan, pendinginan, dan penimbangan diulangi hingga diperoleh bobot konstan dengan selisih penimbangan 0,2 mg (Aini et al., 2025). Penetapan kadar air dihitung dalam (%) dengan rumus:

$$Kadar\ Air = \frac{Berat\ Sebelum\ Dioven - Berat\ Setelah\ Dioven}{Berat\ Simplisia}\ x\ 100\%$$

Uji Kadar Abu

Pengujian kadar abu total dilakukan menggunakan kurs porselen kosong yang telah ditimbang terlebih dahulu untuk memperoleh bobot awal. Selanjutnya, sebanyak 3 gram ekstrak kental dimasukkan ke dalam kurs porselen dan dilakukan penimbangan. Sampel kemudian dipanaskan menggunakan tanur pada suhu 550°C selama 3 jam hingga proses pengabuan selesai. Setelah pemanasan, kurs porselen dikeluarkan dari tanur dan didinginkan dalam desikator hingga mencapai suhu ruang. Tahap akhir dilakukan penimbangan kembali

untuk memperoleh bobot akhir yang digunakan dalam penentuan kadar abu total (Saraswati et at., 2025). Penetapan kadar abu dihitung dalam (%) dengan rumus:

$$Kadar\ Abu = \frac{Berat\ Abu\ Total - Berat\ Kurs\ Kosong}{Berat\ Simplisia} x\ 100\%$$

Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia merupakan metode analisis yang bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel, baik yang berasal dari tumbuhan maupun hewan, secara keseluruhan maupun pada bagian tertentu dari sampel (Jonathan et al., 2024).

a. Flavonoid
   Sebanyak 1 gr ekstrak kental ditambahkan 10 mL air lalu panaskan di atas bunsen selama 5 menit, dinginkan lalu saring. Selanjutnya sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 0,2 gr serbuk magnesium, tambahkan 1 mL HCl dan 2 mL amil alkohol, kocok hingga terbentuk 2 lapisan. Reaksi akan dinyatakan positif mengadung flavonoid apabila terjadi perubahan warna cairan menjadi kemerahan atau jingga dilapisan bawah (Kausar et al., 2023).
b. Saponin
   Sebanyak 0,5 gr ekstrak ditambahkan 10 mL aquadest panas lalu dimasukkan dalam tabung reaksi, dinginkan dan kocok kuat selama 10 detik lalu didiamkan selama 10 detik. Adanya busa setinggi 1 - 10 cm yang stabil selama minimal 10 menit, menyatakan terdapat senyawa saponin. Setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, busa tetap tidak hilang menunjukkan positif saponin (Kausar et al., 2023).
c. Alkaloid
   Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu ditambahkan 1 ml HCI 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas bunsen selama 2 menit, didinginkan dan disaring, filtrat dipakai untuk uji alkaloid. 2 tabung reaksi diambil, lalu pada masing-masing tabung reaksi dimasukkan 2,5 mL filtrat. Pada tabung pertama ditambahkan 5 tetes pereaksi dragendorff hasil positif akan terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan. Pada tabung kedua ditambahkan 5 tetes pereaksi bourchardat hasil positif akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman (Tridesianti et al., 2025).
d. Tanin
   Sebanyak 1 gr ekstrak kental ditambahkan 10 mL air lalu panaskan di atas bunsen selama 5 menit, dinginkan lalu saring. Selanjutnya sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 tetes larutan FeCl3 1%, hasil positif terdapat senyawa tanin menunjukkan terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman(Tridesianti et al., 2025).
e. Steroid
   Sebanyak 1 gr ekstrak di tambah 1 mL kloroform kemudian ditambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 1 mL dan $H2SO4$ pekat sebanyak 0,4 mL pada dinding tabung reaksi. Hasil positif steroid ditunjukan dengan warna hijau kebiruan (Tridesianti et al., 2025).

Formulasi Sediaan Mouthwash yang Mengandung Ekstrak Daun Kenikir

Penelitian ini menerapkan desain eksperimen dengan menggunakan sediaan mouthwash yang memiliki variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir dan propilen glikol untuk mengetahui formulasi yang efektif terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans setelah dilakukan evaluasi.

Tabel 1. Komposisi Bahan dan Variasi Formula Sediaan Ekstrak Daun Kenikir

Bahan	Formulasi %			Fungsi	Range HOPE %
	FI	FII	FIII		
Ekstrak daun kenikir	10	15	20	Zat aktif	-
Gliserin	15	15	15	Humektan	<30
Propilen glikol	5	10	15	Humektan	5 - 15
Natrium benzoate	0,5	0,5	0,5	Pengawet	0,02 - 0,5
Peppermint oil	0,4	0,4	0,4	Pewangi	-
Stevia	0,6	0,6	0,6	Perasa	-
Aquadest ad	100	100	100	Pelarut	-

Sumber: HOPE Ed VI; Kholishoh (2021); Wiyanto (2024); Hattu et al (2025); Maharani et al (2021)

Pembuatan Formulasi Sediaan Mouthwash

a. Menimbang seluruh bahan sesuai dengan formula dan mengkalibrasi botol 100 mL.
b. Larutkan natrium benzoat dalam 10 mL aquadest yang telah dipanaskan, kemudian diaduk hingga homogen (M1).
c. Mencampurkan gliserin dan propilen glikol, kemudian diaduk hingga homogen (M2).
d. Pada formula FI, FII, dan FIII, ekstrak daun kenikir ditambahkan ke dalam sebagian campuran humektan (M2) dan dihomogenkan.
e. Mencampurkan peppermint oil dan stevia ke dalam sisa campuran humektan, kemudian diaduk hingga homogen (M3).
f. Mencampurkan M2 dan M3, kemudian diaduk hingga homogen.
g. Mencampurkan campuran M2 dan M3 secara bertahap ke dalam M1, kemudian diaduk hingga homogen.
h. Menyaring sediaan menggunakan kertas saring, kemudian menambahkan aquadest hingga volume 100 mL.
i. Melakukan penyaringan akhir menggunakan microfilter hingga diperoleh sediaan yang jernih.
j. Memasukkan sediaan ke dalam botol, kemudian ditutup rapat. (Nurhakiki, 2025)

Pengujian Fisik Sediaan Mouthwash

a. Uji organoleptik
   Uji organoleptik atau uji sensori merupakan pengujian menggunakan indera manusia, meliputi penglihatan, penciuman, pengecap, dan peraba. Pada sediaan mouthwash, parameter yang diamati meliputi warna, rasa, aroma, dan bentuk. Pengujian dilakukan secara visual, dengan mencium aroma sediaan menggunakan kertas saring, serta mengevaluasi rasanya (Desrianti, 2024; Sabtaulina, 2021).
b. Uji pH
   pH merupakan parameter penting pada sediaan mouthwash karena dapat memengaruhi pertumbuhan bakteri. Pengukuran dilakukan menggunakan pH meter, dengan rentang pH mouthwash yang baik sebesar 5–7, sesuai dengan pH saliva manusia 5,6–7,6 (Voen-Na et al., 2025).
c. Uji viskositas
   Viskositas menunjukkan tingkat kekentalan suatu cairan dan dapat diukur berdasarkan laju alirnya. Pengukuran viskositas mouthwash dilakukan menggunakan viskometer Brookfield dengan spindle No. 1 pada kecepatan 60 rpm (Voen-Na et al., 2025). Viskositas yang baik mendekati viskositas air, yaitu sekitar 1 cP, sedangkan standar viskositas mouthwash di pasaran berkisar <7,25 cP (Irwani et al., 2023; Ahmad et al., 2022).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat
   Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara membungkus semua peralatan dengan aluminium foil kemudian dimasukan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat yang tidak tahan panas di sterilisasi dengan pembakar Bunsen.
b. Peremajaan Bakteri
   Masing-masing bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans diambil satu ose biakan murni bakteri. Tanam menggunakan jarum ose steril dengan metode gores pada media MHA secara aseptik, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Putri, 2022).
c. Pembuatan Media Miring
   Media Mueller Hinton Agar (MHA) ditimbang sebanyak 0,38 g dan dilarutkan dalam 10 mL aquades (setara dengan 38 g/1000 mL) menggunakan labu Erlenmeyer. Larutan kemudian dihomogenkan dengan bantuan hot plate hingga mendidih. Selanjutnya, sebanyak 5 mL media dituangkan ke dalam dua tabung reaksi steril dan ditutup menggunakan aluminium foil. Media tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama kurang lebih 30 menit hingga media memadat dengan kemiringan sekitar ±30°. Media agar miring yang telah memadat selanjutnya digunakan untuk proses inokulasi bakteri (Gerung et al., 2021).
d. Pembuatan Biakan Bakteri
   Bakteri uji diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian diinokulasikan pada media agar miring dengan metode gores. Selanjutnya, media diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Prosedur yang sama diterapkan pada setiap jenis bakteri uji (Gerung et al., 2021).
e. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)
   Media Mueller Hinton Agar (MHA) ditimbang sebanyak 7,6 g dalam 200 ml aquadest (38 g / 1 L aquadest). Selanjutnya dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit. Media selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 mL dan digunakan sebagai media dalam pengujian aktivitas antibakteri (Primadiamanti et al., 2022).
f. Pembuatan Standar McFarland
   Ambil larutan BaCl2 1 % sebanyak 0,05 ml menggunakan mikropipet, masukan ke dalam labu erlenmeyer. Kemudian tambahkan larutan H2SO4 1 % sebanyak 9,95 ml dan kocok campuran tersebut hingga terbentuk larutan keruh (Rosmania & Yanti, 2020). Tingkat kekeruhan yang dihasilkan digunakan sebagai standar kekeruhan untuk suspensi bakteri uji (Sangkoy et al., 2023).
g. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji
   Bakteri biakan yang yang telah diinkubasi, diambil kembali sebanyak satu ose dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan NaCl, kemudian dihomogenkan dan dibandingkan dengan McFarland. Suspensi bakteri yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai bahan uji dalam pengujian aktivitas antibakteri (Yani et al., 2024).
h. Penyiapan Sampel Uji
   Penyiapan sampel uji dilakukan dengan menyiapkan sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir dalam tiga variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir dan propilen glikol, yaitu Formula I (FI), Formula II (FII), dan Formula III (FIII). Selain itu, disiapkan kontrol

positif berupa Minosep (chlorhexidine gluconate 0,2%) sebagai pembanding aktivitas antibakteri, serta kontrol negatif berupa plasebo yang tidak mengandung zat aktif.

i. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan cara memakai paper disk (kertas cakram), proses ini dilakukan dengan mengoleskan suspensi bakteri pada permukaan media Mueller Hinton Agar (MHA) menggunakan batang L sampai memenuhi semua permukaan media. Dibiarkan 10 menit agar suspensi masuk kedalam media. Selanjutnya, menempelkan paper disk yang telah direndam dalam kontrol positif (Minosep/Chlorhexidine gluconate 0,2%), kontrol negatif (Plasebo), dan kelompok sediaan mouthwash yang memiliki variasi konsentrasi ekstrak daun kenikir dan propilen glikol (F1, F2, F3) pada permukaan media yang telah memadat secara aseptis dengan menggunakan pinset steril, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 kali 24 jam. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling paper disk. Kemudian daerah bening diukurmenggunakan jangka sorong (Yani et al., 2024).

j. Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Pada pengujian menggunakan metode difusi cakram, pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk.

Diameter zona hambat tersebut digunakan sebagai indikator tingkat sensitivitas bakteri terhadap formulasi sediaan mouthwash yang mengandung ekstrak daun kenikir sebagai bahan uji. Hasil pengujian dinyatakan dalam bentuk lebar diameter zona hambat. Zona hambat yang terbentuk ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar kertas cakram. Zona bening tersebut menunjukkan tingkat kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dalam satuan milimeter (Hafizah et al., 2024). Semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan, maka semakin tinggi kemampuan senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Goetie et al., 2022).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak daun kenikir dilakukan dengan metode maserasi yang bertujuan untuk memperoleh senyawa aktif tanpa mengubah struktur kimianya (Arifin dkk., 2025). Metode maserasi dipilih karena sederhana, efisien, tidak memerlukan peralatan khusus, serta sesuai untuk mengekstraksi senyawa yang sensitif terhadap suhu tinggi, seperti flavonoid, fenolik, dan minyak atsiri. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu kamar selama waktu tertentu tanpa pemanasan (Arifin dkk., 2025).

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena bersifat lebih selektif, mudah menguap, dan dapat menghasilkan ekstrak pekat lebih cepat dibandingkan etanol 70% (Kausar et al., 2023). Berdasarkan proses ekstraksi tersebut, diperoleh ekstrak kental sebanyak 524,5 g dengan rendemen sebesar 17,48%. Rendemen menunjukkan efisiensi proses ekstraksi dalam menghasilkan ekstrak dari bahan awal, sehingga semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak ekstrak yang diperoleh (Selviana dkk., 2024). Rendemen ekstrak daun kenikir sebesar 17,48% dapat dikatakan baik karena telah memenuhi kriteria yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu lebih dari 10% (Kemenkes RI, 2017).

Hasil pengujian organoleptik dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisik ekstrak melalui pengamatan bentuk, warna, bau, dan rasa (Asmania et al., 2022). Berdasarkan hasil pengujian ekstrak daun kenikir memiliki warna hitam pekat, bau khas aromatik, rasa pahit sedikit kesat, serta konsistensi berupa pasta yang kental dan sedikit lengket.

Hasil pengujian kadar air, kadar abu, dan skrining fitokimia untuk mengetahui mutu dan kandungan senyawanya. Berdasarkan hasil pengujian didapatkan kadar air sebesar 9,47%, hasil pengukuran tersebut belum dapat sepenuhnya mewakili hasil penelitian secara keseluruhan karena proses pengeringan ekstrak hanya dilakukan satu kali. Meskipun angka

yang diperoleh memenuhi batas persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (2017) yaitu tidak lebih dari 10%, keterbatasan frekuensi pengeringan ini membuat stabilitas dan daya simpan ekstrak masih memerlukan pengujian replikasi lebih lanjut untuk memastikan validitasnya. Selanjutnya, kadar abu diperoleh sebesar 4,627%. Nilai tersebut juga telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (2017), yaitu tidak lebih dari 5,8%. Kadar abu menggambarkan kandungan mineral dan residu anorganik dalam ekstrak (Najib et al., 2017), sehingga hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar mineral dan residu anorganik ekstrak masih berada dalam batas yang dipersyaratkan. Ekstrak kental selanjutnya dilakukan skrining fitokimia yang bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel, baik yang berasal dari tumbuhan maupun hewan, secara keseluruhan maupun pada bagian tertentu dari sampel (Jonathan et al., 2024). Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang disajikan pada ekstrak daun kenikir teridentifikasi mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan steroid. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Sakinah (2020), yang menyatakan bahwa daun kenikir yang diekstraksi menggunakan etanol dan pelarut lainnya menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif berupa flavonoid, saponin, steroid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri.

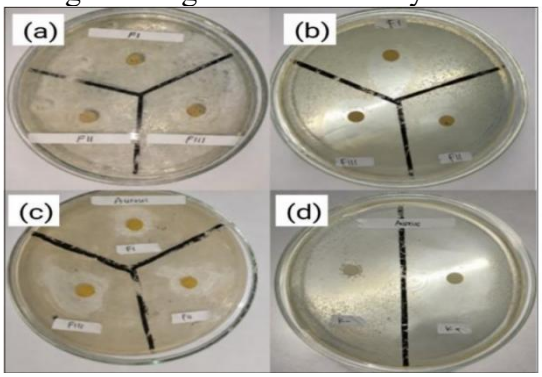
Tabel 1. Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir

Pengujian		**Hasil**
Alkaloid		
	Pereaksi Dragendorf	+
Saponin		+
Tanin		+
Flavonoid		+
Steroid		+

Keterangan: (+): Positif, (-): Tidak ada/Negatif

Hasil pengujian fisik sediaan mouthwash menunjukkan bahwa FI, FII, dan FIII memiliki karakteristik organoleptik yang relatif serupa, yaitu berbentuk cair, berwarna coklat kehitaman, berbau khas mint, dan memiliki rasa manis dengan sedikit rasa pahit. Nilai rata-rata yang didapatkan dari pengujian pada hari ke 0 pH FI, FII, dan FIII berturut-turut sebesar 5,57; 5,41; dan 5,32. Viskositas berturut-turut sebesar 1,90 cP; 2,27cP; dan 2,93 cP.

Berdasarkan hasil pengujian, nilai pH dari setiap formula sediaan mouthwash telah memenuhi persyaratan standar menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, yaitu berada dalam rentang 5–7.Sementara itu, untuk hasil pengujian viskositas seluruh formula (FI, FII, dan FIII) juga dinyatakan memenuhi syarat. Nilai viskositas yang dihasilkan dari seluruh sediaan tersebut berada di bawah 7,25 cP, yang merupakan batas maksimal persyaratan mouthwash menurut Handbook of Pharmaceutical Excipients. Berdasarkan hasil evaluasi fisik tersebut, Formula I (FI) dengan kombinasi gliserin 15% dan propilen glikol 5% menunjukkan stabilitas fisik yang paling baik dibandingkan dengan formula lainnya.

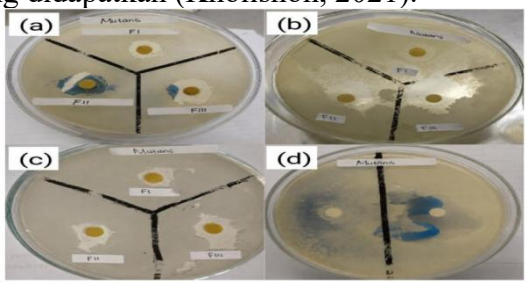


Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus.

Keterangan :

a. Cawan pengulangan 1
b. Cawan pengulangan 2
c. Cawan pengulangan 3
d. Cawan F0 dan Kontrol positif

Hasil pengukuran zona hambat sediaan mouthwash terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans yang telah dihitung menggunakan jangka sorong pada sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans secara berturut-urut pada FI didapatkan hasil pengujian diameter zona hambat dengan nilai rata-rata yaitu 9 mm dan 5.83 mm dengan kategori resistant atau lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri, pada FII didapatkan hasil pengujian diameter zona hambat dengan nilai rata-rata yaitu 10.6 mm dan 9.16 mm dengan kategori resistant atau lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dan pada FIII didapatkan hasil pengujian diameter zona hambat dengan nilai rata-rata yaitu 17 mm dan 15.3 mm dengan kategori intermediate atau dapat menghambat pertumbuha bakteri dengan kekuatan sedang. Hasil yang didapatkan sejalan dengan penelitian terdahulu, dimana makin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin luas pula zona hambat yang didapatkan (Kholishoh, 2021).



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans

Keterangan:

a. Cawan pengulangan 1
b. Cawan pengulangan 2
c. Cawan pengulangan 3
d. Cawan F0 dan Kontrol positif

Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif (F0) dan kontrol positif(K+) sebagai pembanding. Kontrol negatif berupa Formula 0 (F0) yang tidak mengadung ekstrak daun kenikir. Tidak adanya zona hambat pada kontrol negatif menunjukkan bahwa kombinasi humektan propilen glikol dan gliserin yang digunakan dalam sediaan mouthwash tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri yang terukur terhadap bakteri uji pada konsentrasi yang digunakan. Hal ini dapat dipengaruhi oleh konnsentrasi humektan dalam formula, karena aktivitas antimikroba propilen glikol diketahui bersifat bergantung pada konsentrasi. Nalawade et al. (2015) melaporkan bahwa propilen glikol menunjukkan aktivitas bakterisidal terhadap Streptococcus mutans pada konsentrasi 50%, sedangkan gliserin menunjukkan aktivitas yang lebih rendah dan terutama terlihat pada konsentrasi tinggi (100%).

Dengan demikian, zona hambat yang terbentuk pada formula I, II dan III murni berasal dari ekstrak daun kenikir. Kontrol positif berupa Minosep® yang mengandung chlorhexidine gluconate 0,2% menghasilkan zona hambat pada kedua bakteri uji, yang menandakan adanya aktivitas antibakteri. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans masing-masing sebesar 21,3 mm dan 20,5 mm. Berdasarkan kriteria Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), kedua nilai tersebut termasuk dalam kategori susceptible (kuat), yang menunjukkan bahwa Minosep® (chlorhexidine gluconate 0,2%) memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik dalam menghambat pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans. Chlorhexidine merupakan gold standard dalam sediaan obat kumur antiseptik yang memiliki spektrum aktivitas

antimikroba luas serta efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyusun plak, dan membantu mencegah terjadinya penyakit periodontal (Syahrul et al., 2023).

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap kedua bakteri uji, FIII menunjukkan diameter zona hambat terbesar dibandingkan dengan FI dan FII pada Staphylococcus aureus maupun Streptococcus mutans. Hasil tersebut menunjukkan adanya kecenderungan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun kenikir dalam sediaan mouthwash diikuti dengan peningkatan diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini sejalan dengan Agung et al. (2021) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin besar pula jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sediaan, sehingga memungkinkan terjadinya interaksi yang lebih besar antara senyawa antibakteri dengan sel bakteri. Sarmira et al. (2021) juga menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak merupakan salah satu faktor yang dapat memengaruhi besarnya diameter zona hambat, karena semakin tinggi konsentrasi bahan uji, semakin besar jumlah senyawa aktif yang tersedia untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Meskipun demikian, diameter zona hambat yang dihasilkan FIII masih lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri sediaan ekstrak daun kenikir pada konsentrasi yang digunakan belum mencapai aktivitas antibakteri yang setara dengan kontrol positif. Hasil pengujian statistik turut memperkuat adanya perbedaan aktivitas antibakteri pada beberapa kelompok yang dibandingkan. Pada Staphylococcus aureus, hasil uji lanjut Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara FI dengan FIII dan kontrol positif, serta FII dengan FIII dan kontrol positif ($p < 0,05$). Sementara itu, FIII dengan kontrol positif tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$). Pada Streptococcus mutans, hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa hampir seluruh pasangan kelompok memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Perbedaan signifikan ditemukan pada kelompok FI dengan FII, FIII, dan kontrol positif, maupun antara FII dengan FIII dan kontrol positif. Sementara itu, perbandingan antara FIII dan kontrol positif tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,050$). Dengan demikian, terdapat perbedaan aktivitas antibakteri pada beberapa kelompok yang diuji terhadap Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans, sehingga H0 ditolak dan H1 diterima.

Zona hambat yang terbentuk menunjukan adanya aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir (Cosmos caudatus Kunth) yang diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak, seperti flavonoid, saponin, steroid, alkaloid, dan tanin yang berpotensi sebagai agen antimikroba. Menurut Sakinah (2020), senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroba melalui berbagai mekanisme, antara lain dengan mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel, mendenaturasi protein, dan menginaktivasi enzim sel mikroba. Aktivitas tersebut menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun kenikir dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Mekanisme antibakteri tersebut terjadi melalui aktivitas masing-masing senyawa. Flavonoid menghambat metabolisme energi dan merusak membran sel melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga menyebabkan keluarnya komponen intraseluler bakteri (Saptowo & Supriningrum, 2021). Tanin membentuk kompleks dengan protein, menginaktivasi enzim dan protein transport, serta mengganggu permeabilitas dinding sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Rahmawatiani et al., 2020). Alkaloid dapat mengganggu pembentukan peptidoglikan sehingga struktur dinding sel bakteri mengalami kerusakan (Khumairoh et al., 2020). Saponin merusak porin pada membran luar bakteri sehingga permeabilitas membran terganggu dan menyebabkan kekurangan nutrisi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rahmawatiani et al., 2020). Sementara itu, steroid berikatan dengan komponen membran sel, seperti protein, karbohidrat, dan lipid, sehingga mengganggu permeabilitas membran dan dapat menyebabkan lisis sel bakteri (Fitriani & Nashihah, 2021).

Berdasarkan penelitian terdahulu Kholishoh, (2021) yang menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun kenikir 10% dan 15% memberikan efektivitas yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 20,10 mm dan 21,67 mm, sedangkan pada penelitian ini diameter zona hambat pada bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutanssecara berturut-urut pada FI (9 mm dan 5.83 mm), FII (10.6 mm dan 9.16 mm), dan FIII (17 mm dan 15.3 mm) dengan formulasi terbaik pada FIII dengan diameter 17 mm dan 15.3 mm mampu menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans.

Berdasarkan hasil dari penelitian ini disimpulkan bahwa sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir menggunakan metode difusi cakram memiliki aktivitas antibakteri pada FIII dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dan Streptococcus mutans karena memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 17 mm dan 15.3 mm dengan kategori intermediate. Sedangkan diameter zona hambat terkecil yaitu pada FI dengan rata-rata diameter zona hambat yaitu sebesar 9 mm dan 5.83 mm sehingga dikategorikan lemah atau resistant.

D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sediaan mouthwash ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth*) formula III (FIII) menunjukkan aktivitas antibakteri paling optimal dibandingkan formula lainnya, dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 17 mm terhadap Staphylococcus aureus dan 15,3 mm terhadap *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil pengujian, aktivitas antibakteri FIII terhadap kedua bakteri menunjukkan kategori intermediate (sedang). perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan pada beberapa kelompok perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

Abidin, A. Z., & Patala, R. (2022). Formulasi Pasta Gigi Ekstrak Etanol Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Streptococcus mutans. *Farmakologika Jurnal Farmasi, 19*(2).

Agustina, N., & Sihotang, R. R. (2023). Perbandingan Jumlah Bakteri Pada Rongga Mulut Sebelum Dan Sesudah Sikat Gigi. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education, 3*(3), 557–566. https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i3.24315

Ahmad, F. F., Junita, N., & Yusuf, S. N. A. (2022). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Obat Kumur Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans. *Paps Journals, 1*(2).

Ajaegbu, E. E., Ezeh, C. U., Dieke, A. J., Onuora, A. L., & Ugochukwu, J. I. (2020). Antimicrobial Efficacy of Toothpastes Containing Fluoride Against Clinically Isolated Streptococci Mutans. *Advances in Research, 21*(10), 19–24. https://doi.org/10.9734/air/2020/v21i1030247

Andani, M., & Sumiwi, S. A. (2022). Review Artikel: Beberapa Tanaman Berkhasiat Untuk Mengatasi Halitosis (Bau Mulut). *Farmaka, 20*(3), 56–62.

Andiani, T. M., Ratnasari, D., & Saula, L. S. (2022). Pengaruh Kadar Propilen Glikol Sebagai Humektan Terhadap Sediaan Lip Balm Ekstrak Bunga Mawar Merah (Rosa damascena P. Mill.) Sebagai Pelembab Bibir. *Jurnal Pendidikan dan Konseling, 4*(6), 1835–1842.

Anto, J. E., & Prasetiani, L. D. (2022). *Khasiat Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Untuk Hati (Liver)*. Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta.

Astuti, S. W., & Ediati, S. (2024). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 50% dan 70% Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth) Dengan Metode Dpph (2,2 Diphenyl-1 Picrylhydrazyl). *Journal of Comprehensive Science, 3*(9), 4321–4338.

Azzahra, W., Umi, N., Yuli, P., Putriyani, D., Nanda, W. N., Adinda, R., & Nurhaswinda. (2026). Analisis Varians Satu Arah (ANOVA) Untuk Membandingkan Metode Pembelajaran di Sekolah Dasar. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Dasar, 11*(1), 2548-6950.

Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial Susceptibility Testing: Currently Used Methods And Devices And The Near Future In Clinical Practice. *Journal of Applied Microbiology, 129*(4), 0–3. https://doi.org/10.1111/jam.14704

BKPK, K. (2023). *Kesehatan Gigi Dan Mulut di Indonesia*. 2–3.

Bubonja-Šonje, M., Knežević, S., & Abram, M. (2020). Challenges To Antimicrobial Susceptibility Testing of Plant- Derived Polyphenolic Compounds. *Arh Hig Rada Toksikol*, 300–311. https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3396

Busman, E., & Wirahmi, S. D. (2019). Daya Hambat Ekstrak Rimpang Temu Putih (Curcuma Zedoaria) Terhadap Streptococcus Mutans dan Staphylococcus Aureus. *Menara Ilmu, 8*(6), 19–28.

Chen, M., & Chang, P. (2022). Sciencedirect The Effectiveness Of Mouthwash Against Sars-Cov-2 Infection : A Review Of Scientific And Clinical Evidence. *Journal of the Formosan Medical Association, 121*(5), 879–885. https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.10.001

Chismirina, S., Sungkar, S., Andayani, R., & Rezeki, S. (2021). Existence of Streptococcus Mutans and Streptococcus Sobrinus in Oral Cavity as Main Cariogenc Bacteria of Dental Caries. *Advances In Health Sciences Research, 32*(Aidem 2019), 90–92.

CLSI. (2024). Clsi M100 Tm Performance Standards For Antimicrobial (C. A. L. S. Institute).

Desrianti, D. (2024). *Formulasi Mouthwash Minyak Atsiri Daun Sirih (Piper Betle L.) dan Daun Kemangi (Ocimum basilicium L.) dengan Menggunakan Tween Sebagai Surfaktan* (Universitas Aufa Royhan Kota Padang).

Diana, H., Titi, I. P., dan Pieter, H. (2025). Formulasi Mouthwash Ekstrak Herba Putri Malu (Mimosa pudica) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Streptococcus mutans. *Jurnal Keperawatan dan Kebidanan, 17*(1), 74-78.

Erawati, S. (2023). *Buku Saku Hidup Sehat Tanpa Bau Mulut (Halitosis)*. Unpri Press.

Eryani, M. C., Aditama, P. R. A., & Indawati, P. I. (2022). Pengaruh Variasi Konsentrasi Gliserin Sebagai Humektan Terhadap Sifat Fisik Sediaan Obat Kumur Daun Asam Jawa (Tamarindus Indica L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Akfar, 5*(2), 1–6.

Fitriani, T., & Nashihah, S. (2021). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Rambai (Sonneratia Caseolaris (L) Engl) terhadap bakteri Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis. *JFIOnline, 13*(1), 40–53.

Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Culafic, D. M., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing : A Comprehensive Review Of Currently Used Methods. *Antibiotics*, 1–26.

Gerung, W. H. P., Runtuwene, J. E. K., & Lolo, A. M. (2021). Antibacterial activity test of bottle-gourd leaf extract (Averrhoa bilimbi L.) against the growth of Propionibacterium acnes. *Pharmacon: Jurnal Ilmiah Farmasi–Universitas Sam Ratulangi*, *10*(4), 1087-1093.

Goetie, I. H., Sundu, R., & Supriningrum, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (Embelia Borneensis Scheff) Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Menggunakan Metode Disc Diffusion Antibacterial Activity Of The Extract Of The Bark Extracts Of The Sekilang. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia, 4*(2).

Hafizah, Q., Permatasari, L., & Izzatul, M. N. R. (2024). Faktor - Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal Kesehatan Tambusai, 5*, 3829–3836.

Hattu, E. B., Longe, S. S., Dinge, F., & Santoso, D. R. (2025). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Obat Kumur Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.). *Jurnal Farmasi Ikifa, 4*(2), 20–35.

Jonathan, Hairani, R., & Ruga, R. (2024). Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Diklorometana Rimpang Temu Kunci (Boesenbergia rotunda) Phytochemical Screening And Toxicity Assay of Dichloromethane Extract of Finger Root (Boesenbergia Rotunda) Rhizome. *Jurnal Atomik, 9*(2), 62–68.

Junita, N., Auliah, N., & Diasny, W. (2020). Formulasi Sediaan Mouthwash Ekstrak Etanol Bunga Mawar Merah (Rosa Damascena Mill) Sebagai Antibakteri Terhadap Streptococcus Mutans. *Borneo Journal of Pharmascientech, 4*(2), 28–36.

Kausar, R. Al, Abnurama, L. O. A., & Wulandari, S. (2023). Skrinning Fitokima Dan Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos Caudatus Kunth) Terhadap Bakteri Staphylococcusaureus Dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Analis Farmasi, 8*(1).

Kholishoh, I. N. L. (2021). *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kenikir (Cosmos Caudatus Kunth.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. Stikes Karya Putra Bangsa* (Doctoral dissertation, Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung).

Khumairoh, L., Susilo, J., & Laila Vifta, R. (2020). *Perbedaan pelarut etanol 96% dan etil asetat pada uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang (Clitoria ternatea L) terhadap Propionibacterium acnes* (Doctoral dissertation, Universitas Ngudi Waluyo).

Klau, M. H. C., & Hesturini, R. J. (2021). Jurnal Farmasi & Sains Indonesia Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (Clinacanthus Nutans (Burm F Lindau) Terhadap Daya Analgesik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi dan Sains Indonesia, 4*(1), 6–12. https://doi.org/10.52216/jfsi.v4i1.59

Kristiani, A., Rusmiati, Febrianti, S., Karamoy, Y., & Foine, V. R. (2025). *Penyakit Gigi dan Mulut*. Jawa Tengah: Media Pustaka Indo.

Kriswandini, I. L., Amiati, D. R., Puspitasari, Y., & Riza, M. (2024). Komunikasi Molekuler Pada Pembentukan Biofilm Streptococcus Mutans: Article Review. *Bhakta Dental Journal, 02*(02), 13–21.

Litaay, G. W., Serpara, F. J. A., & Longe, S. S. (2023). Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Obat Kumur Ekstrak Etanol Biji Pinang (Areca Catechu L.) Sebagai Antiseptik. *Jurnal Dinamis, 20*(1), 1–7.

Maharani, N., Aisiyah, S., & Purwaningsih, D. (2021). Formulasi Mouthwash Ekstrak Kulit Buah Nanas (Ananas Comosus (L.) Merr) Dengan Variasi Konsentrasi Gliserin Sebagai Antibakteri Terhadap Streptococcus Mutans Atcc 25175. *Journal of Pharmacy, 10*(2), 8–19.

Mulyati, E., Arsyad, M. R., Suryaningsih, Maryati, S., Gustina, L., Junianto, P., Helencia, K., Widayanti, L. P., Hwihanus, Arsyad, L. O. M. N., & L, S. H. (2024). *Pengantar SPSS.* Gita Lentera.

Nalawade, T., Pradhan, S., Pal, S., & Kale, S. (2015). Evaluation of the antimicrobial activity of propylene glycol and glycerine against selected microorganisms. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry, 5*(3), 160–164. https://doi.org/10.4103/2231-0762.159951

Nanggita, P. P., Mu, B., Imasari, T., & Santoso, K. (2023). Deteksi Bakteri Staphylococcus Sp . Pada Swab Rongga Mulut Mahasiswa D3 Tlm Iik Bhakti Wiyata Kediri Yang Memakai Kawat Gigi Detection Of Staphylococcus Sp. in Oral Cavity Swabs For D3 Tlm Students Iik Bhakti Wiyata Kediri Who Wears Tooth Braces. *Jurnal Sintesis, 4*(1), 9–15.

Noval, Melviani, Novia, & Syahrina, D. (2020). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Obat Kumur (Mouthwash) Dari Antiseptik Mulut Mouthwash Formulation and Evaluation of

Bundung Plants (Actinoscirpus Grossus) Ethanol Extract As A Mouth Antiseptic. *Jurnal Surya Medika (JSM), 4*(1).

Nurhaswinda, Zulkifli, A., Gusniati, J., Zulefni, M. S., Afendi, R. A., Asni, W., & Fitriani, Y. (2025). Tutorial Uji Normalitas Dan Menggunakan Aplikasi Spss Uji Homogenitas. *Jurnal Cahaya Nusantara, 1*(2), 55–68.

Octifani, A., Mahtuti, E. Y., Abadi, M. F., Rachma, D., Hadiatun, N., Hijriani, B. I., Juariah, S., Zafrida, S., & Kurniawan, E. (2024). *Pengantar Bakteriologi*. Sulawesi Selatan: Karsa Cendekia.

Oktanauli, P., Taher, P., & Prakasa, A. D. (2017). Efek Obat Kumur Beralkohol Terhadap Jaringan Rongga Mulut (Kajian Pustaka). *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi, 13*(1), 4–7.

Palgunadi, I. N. P. T., & Aritonang, N. K. S. (2024). Kasus Abses Rongga Mulut Pada Kunjungan Pasien Di Uptd Puskesmas Tabanan Ii Periode Desember 2023 - Februari 2024. *Bali Dental Science & Exhibition, 4*(1), 1250–1259.

Poernomo, H., Ma'ruf, M. T., & Dewi, L. N. (2022). The Comparison Of Maceration And Soxhacleatation Methods Effectiveness On Garlic Extract To Inhibit Staphylococcus Aureus Growth. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi, 18*(2), 86–92. https://doi.org/10.46862/interdental.v18i2.5414

Primadiamanti, A., Elsyana, V., & Savita, C. R. (2022). Aktivitas Antibakteri Pelepah Pisang Mas (Musa Acuminata Colla), Pisang Kepok (Musa X Paradisiaca L) Dan Pisang Kluthuk (Musa Balbisiana Colla) Terhadap Staphylococcus Aureus dan Staphylococcus Epidermidis. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, 9*(1), 539–548.

Putri, A. H. (2022). *Gambaran Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Rongga Mulut Mahasiswa Perokok Aktif Program Studi D3 Tlm Itskes Icme Jombang*. Institut Teknologi Sains Dan Kesehatan Insan Cedekia Medika Jombang.

Putri, B. T., Dewi , C., & Novita. (2022). Perbandingan Aktivitas Ekstrak Etanol Dan Aseton Umbi Wortel (Daucus Carota L.) Terhadap Streptococcus Mutans Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan, 9*(4).

Rahim, A. (2023). *Efek Pemberian Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos Caudatus Kunth) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Mencit (Mus Musculus)* (Universitas Muhammadiyah Makassar).

Rahmah, A. F., Murni, M., Hurriah., Fhany, M., Asmaul, H., dan Andi, N. (2024). Formulasi Sediaan Mouthwash Antibakteri Infusa Daun Mengkudu (Morinda citrifolia) dan Daun Serai (Cymbopogon citrates) Terhadap Streptococcus mutans. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia, 10*(2), 432-438.

Rahmawatiani, A., Mayasari, D., & Narsa, A. C. (2020). Kajian literatur: aktivitas antibakteri ekstrak herba suruhan (Peperomia pellucida L.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 117–124.

Rosalia, V. V., & Rahmawati, J. (2023). Formulasi Mouthwash Dari Daun Kelor (Moringa Oleifera L.) Sebagai Antibakteri Staphylococcus Aureus Penyebab Plak Gigi Moringa Leaves (Moringa Oleifera L.) Mouthwash Formulation For Antibacterial Againts Staphylococcus Aureus As A Cause of Dental. *Journal of Pharmacy, 2*(4), 459–473.

Rosmania, & Yanti, F. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri Di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains, 22*(2), 76–86.

Sabtaulina, H. G. (2021). *Uji formulasi dan efektivitas antibakteri sediaan mouthwash ekstrak daun dan buah pacing tawar Costus speciosus (Koenig) JE Smith terhadap bakteri Staphylococcus aureus* (Doctoral Dissertation, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun).

Sakinah, S. (2020). Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Terhadao Mikroba Mulut. *Jurnal Pedago Biologi, 9*(1), 13–20.

Sangkoy, W. J., Simbala, H. E. I., & Rumondor, E. M. (2023). Anti Bacterial Activity Of Ethanol Extract Of Areca Vestiaria Leaves (Areca Vestiaria) Against Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli , And Pseudomonas Aeruginosa Bacteria (Areca Vestiaria) Terha. *Pharmacon, 12*, 133–139.

Sapitri, A., Marbun, E. D., Arisetya, D., & Lubis, R. E. (2025). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bulbil Porang (Amophophallus Muelleri Blume.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus dan Streptococcus Mutans. *Herbal Medicine Journal, 8*(2), 110–118.

Saptowo, A., & Supriningrum, R. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang sekilang (Embeliaborneensis Scheff) terhadap bakteri Propionibacterium acnes dan Staphylococcus epidermidis. *Al Ulum: Jurnal Sains dan Teknologi*, *7*(2), 93-97.

Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas Snedds Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (Melasthoma Malabathricum) Antibiotik Terhadap Bakteri Hasil Isolat Dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia, 7*(2), 105–113.

Sarmira, M., Sri, P., dan Faridah, N. Y. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Oregano terhadap Bakteri Eschericia coli dan Staphylococcus aureus sebagai alternatif Feed additive Unggas. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjajaran, 21*(1).

Sholekhah, N. K. (2021). Efektivitas Berkumur Larutan Garam Terhadap Jumlah Koloni Streptococcus Mutans Dalam Saliva. J*urnal Kesehatan Gigi, 1*(2020), 16–21.

Sihombing, M., & Mantiri, F. (2022). *Staphylococcus Aureus*. Researchgate.

Suryani, N., Adini, S., Stiani, S. N., & Indriatmoko, D. D. (2019). Obat Kumur Herbal Yang Mengandung Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Bintaro (Cerberra Odolliam Gaertn) Sebagai Antibakteri Streptococcus Mutans Penyebab Plak Gigi. *Farmaka, 17*, 48–56.

Susanti, N. L., Lestari, D. E., & Anwar, R. (2024). Ekstraksi Dan Deteksi Fitokimia Kenikir (Cosmos Caudatus Kunth.) Asal Panjang Utara, Lampung Extraction And Phytochemical Detection Of Kenikir (Cosmos Caudatus Kunth.). *Jurnal Agroradix, 8*(1).

Syaflida, R., Riza, A., Rusdy, H., & Hasibuan, S. P. (2023). Daya Antibakteri Streptococcus Mutans Menggunakan Ekstrak Daun Pegagan (Centella Asiatica (L) Urban). *Malahayati Health Student Journall, 3*(12), 4117–4126.

Tridesianti, S., Kusumorini, A., & Putri, A. M. (2025). Kandungan senyawa ekstrak daun jarak merah (Jatropha gossypifolia L.) dan potensinya sebagai antibakteri. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis, 10*(2), 46–53.

Voen-Na, C. D., Tatiana, S. W., dan Septian, M. W. (2025). Formulasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Sediaan Mouthwash dari Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum x africanum L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda, 8*(2), 162-171.

Widana, I. P. E., Inggraini, M., & Nurfajriah, S. (2020). Perbedaan Jumlah Pertumbuhan Koloni Bakteri Pada Rongga Mulut Sebelum Dan Sesudah Memakai Obat Kumur Yang Mengandung Alkohol dan Non Alkohol. *Jurnal Mitra Kesehatan (JMK), 02*(02), 123–127. https://doi.org/10.47522/jmk.v2i2.41

Winastri, N. L. A. P., Muliasari, H., & Hidayati, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Air Perasan Dan Rebusan Daun Calincing (Oxalis Corniculata L.) Terhadap Streptococcus Mutans. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati, 19*(2).

Wiyanto, F. (2024). *Formulasi dan Evaluasi Sediaan Mouthwash Ekstrak Etanol Endokarp Buah Lontar (Borassus Flabellifer L.)* (Universitas Muhammadiyah).

Yani, R. D., Hasanuddin, S., Saafi, L. O., Syafrie, F. A., Alani, F. W., Wijayanti, M. P., & Putri, T. Z. A. D. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Akar Enau (Arenga Pinnata Merr.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya, 3*(6)

Yardha, Muhammad., Ernie, H., dan Agnes, Y. (2024). Formulasi dan Uji Aktivitas Atibakteri Streptococcus mutans pada Sediaan Obat Kumur Kombinasi Ekstrak Daun Seledri (Apium Graveolens) dan Daun Jambu Biji (Psidium Guajava). *Jurnal Iliah Biologi, 12*(2).

Yughnia, U. (2022). *Formulasi Dan Aktivitas Antibakteri (Streptococcus Mutans) Dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Duku (Lansium Domesticum Corr.)*. (Universitas Mathla'ul Anwar).

Yuliana, S., Hidayat, R., & Listyani, T. A. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Kenikir (Cosmos Caudatus K) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat Propionibacterium Acnes Atcc 6919. *Jurnal Kesehatan Tambusai, 6,* 80–85.

Zendrato, R. S., Elfiyani, R., & Nursal, F. K. (2025). Kajian Literatur: Fungsi Propilen Glikol Sebagai Humektan Terhadap Sifat Fisik Sediaan Semisolid. *Majalah Farmasetika, 10*(1), 17–32.

Zurairah, M. (2024). Uji Sifat Gliserin Dengan Standarisasi. *Jurnal Cakrawala Ilmiah, 4*(4), 453–458.