

## UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Is Patuh Halianah<sup>\*</sup>), Orryani Lambui, Ramadanil.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako,  
Tondo, Palu, Sulawesi Tengah 94117

\*Koresponden Author : ispatuh\_halianah@yahoo.co.id

### ABSTRACT

Research about the inhibition test of leaf extract of *Piper aduncum* L. on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* have been conducted during period of July to December 2016. The aim of this research was to study the effectiveness of leaf extract *Piper aduncum* L. in inhibition of *S. aureus* and *E. coli*. The extraction method used in the study was method maceration, meanwhile bioassay of extract on the bacteria. by disc diffusion method. The research was design by *Completely Randomize Design* (CDR) with 5 treatments and 3 replications. The treatments were leaf extract concentration 10%, 30% and 60%. Positive control *Amoxicillin* 3% and negative control aquadest. The result showed that leaf extract of *Piper aduncum* L. had inhibition effect to the growth of bacterias. The extract concentrate 60% produced the biggest inhibition zone for both *S. aureus* and *E. coli* 14 mm. Phytochemical analyses has showed that leaf extract of *Piper aduncum* L. contained compounds flavonoids, tannins, saponins and alkaloids.

**Keywords** : Leaf extract of *Piper aduncum* L., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan dari waktu ke waktu dan merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia (Jawetz & Adelberg's, 2005). Penyakit infeksi salah satunya disebabkan oleh bakteri seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Gibson, 1996).

Pemberian antibakteri merupakan salah satu pilihan dalam menangani penyakit

infeksi. Namun penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol dapat mendorong terjadinya perkembangan resistensi terhadap antibakteri yang diberikan (Wardani, 2008). Resistensi dapat menimbulkan banyak masalah dalam pengobatan penyakit infeksi, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berbahan herbal yang dapat membunuh bakteri dan untuk menghindari terjadinya resistensi.. Salah satu keanekaragaman hayati yang memiliki potensi untuk dikembangkan

sebagai obat tradisional adalah *Piper aduncum* L.

*Piper aduncum* L. yang dikenal dengan Sirih hutan dalam bahasa lokal biasa disebut “kayu Una-una”, merupakan tanaman yang daunnya memiliki potensi sebagai sumber pestisida nabati. Tanaman ini tergolong kedalam famili Piperaceae. Daunnya tumbuhan ini mengandung senyawa antimikroba.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun *Piper aduncum* L. terhadap pertumbuhan dari bakteri *S. aureus* dan *E. coli* serta kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun *P. aduncum* L.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

#### 1. Alat yang digunakan

Autoklaf, oven, bunsen, rotari evaporator, neraca analitik, inkubator, cawan petri, *hotplate*, jarum ose, corong, pipet mikro, tip, *laminar air flow*, pinset, mortal, pisau, loyang, mesh 40, erlenmeyer 250 ml, tabung reaksi, rak tabung, gelas kimia 20 ml, batang pengaduk, toples, vortex, *colony counter*, spidol, jangka sorong, stopwatch, karung, kamera, alat tulis.

#### 2. Bahan yang digunakan

Biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah,

medium Nutrien Agar (NA), medium *Nutrient Broth* (NB), *Amoxicillin* 3 %, NaCl fisiologis 0,9 %, alkohol 70 %, aquadest, daun *P. aduncum* L. Na-CMC (*Natrium Carboxymethi Cellulose*) 1 %, kapas lidi steril, aluminium foil, kapas, kertas saring, masker dan sarung tangan.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dimana ekstrak daun *P. aduncum* L. yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan masing-masing konsentrasi ekstrak yang berbeda dan dilakukan uji daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan sebelumnya dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan. Cawan petri dibungkus dengan kertas, alat-alat gelas) ditutup dengan kapas lalu dibungkus dengan Aluminium foil. Kemudian Pinset, Jarum ose disterilkan dengan cara flambir/pemijaran, untuk media NA, NB, NaCl fisiologis dimasukkan dalam erlenmeyer. Semua alat dan bahan disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15-30 menit (Syahrurachman dkk, 1994).

**b. Pengambilan sampel daun tumbuhan**

***Piper aduncum* L.**

Sampel daun *P. aduncum* L. diperoleh dari Desa Toaya Vunta Kec.Sindue, Kab. Donggala Sulawesi Tengah. Metode yang digunakan untuk penelitian ini yaitu metode maserasi, karena bahan yang memiliki struktur yang sesuai dengan prinsip dari maserasi. Tumbuhan yang digunakan yaitu tumbuhan yang berumur tua dengan tinggi pohon 2- 4 meter.

**c. Metode ekstraksi daun *Piper aduncum* L.**

Metode ekstraksi sampel daun *P. aduncum* L. menggunakan metode maserasi sesuai cara kerja Maija (2015). Daun yang diambil dibersihkan terlebih dahulu (sortasi basah), kemudian dicuci dengan air mengalir dan dirajang hingga berukuran kecil dan ditimbang sebanyak yang diperlukan, selanjutnya sampel dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama  $\pm 8$  jam hingga jumlah kadar air berkisar 5 hingga 10%, hal tersebut bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri dan jamur pada tahap penyimpanan. Sampel yang sudah kering kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat sebanyak yang diperlukan. Sampel kemudian dihaluskan menggunakan diblender dan diayak menggunakan mesh 40 hingga diperoleh berat sampel 600 g. Kemudian simplisia tersebut direndam

menggunakan alkohol 70% sebanyak 2 liter selama 5 hari. Setelah itu, hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring dan dilakukan pemisahan antara pelarut senyawa aktif hasil ekstraksi menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh berat ekstrak 61,68 g. Rotary evaporator adalah alat yang berfungsi untuk memisahkan suatu larutan dari pelarutnya sehingga dihasilkan ekstrak dengan kandungan kimia tertentu sesuai yang diinginkan. Cairan yang ingin diuapkan biasanya ditempatkan dalam suatu labu yang kemudian dipanaskan dengan bantuan penangas, dan diputar. Uap cairan yang dihasilkan didinginkan oleh suatu pendingin (kondensor) dan ditampung pada suatu tempat (*receiver flask*). Kecepatan alat ini dalam melakukan evaporasi sangat cepat, terutama bila dibantu oleh vakum. Kelebihan lain dari rotari evaporator ialah diperolehnya kembali pelarut yang diuapkan.

**d. Pembuatan stok ekstrak**

Pembuatan stok ekstrak daun *Piper aduncum* L. mengacu pada kerja Galeb (2014) yaitu dengan cara pengenceran konsentrasi ekstrak menggunakan pelarut Na-CMC 1 % yang terdiri dari 3 konsentrasi yaitu 10 %, 30 %, 60 %. Pada setiap seri konsentrasi dibuat dalam 10 ml stok dengan jumlah ekstrak masing-

masing secara berturut-turut sebesar 1 g, 3 g, dan 6 g.

#### e. Uji daya hambat

Uji daya hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi 10%, 30%, 60%, kontrol positif *Amoxicillin* 3% dan kontrol negatif aquadest, menggunakan metode "disc diffusion" sesuai dengan kerja Midun (2012).

Media NA yang sudah dipanaskan dituang kedalam masing-masing cawan petri sebanyak 20 ml, kemudian dimasukkan 0,1 ml suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan menggunakan pipet mikro dan diratakan menggunakan kapas lidi steril, selanjutnya didiamkan beberapa menit agar suspensi menyerap dengan baik pada media. Selanjutnya Kertas saring whatman berdiameter 0,6 mm dicelupkan ke dalam setiap konsentrasi ekstrak daun *P. aduncum* L., kontrol positif *Amoxicillin* 3 % dan kontrol negatif aquadest selama 10 menit dan diletakkan pada medium NA dengan menggunakan pinset steril. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

#### e. Pengamatan Zona Hambat

Pengamatan zona hambat ekstrak daun tumbuhan *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada masing-masing cawan petri yang

sudah diinkubasi. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

#### Analisa Data

Data kuantitatif yang diperoleh dari pengukuran, kemudian akan dianalisis secara statistik menggunakan software statistik SPSS Two Way *Analysis of Variance* (Two Way ANOVA). Data yang diperoleh menunjukkan perbedaan yang Non signifikan dengan uji lanjut *Duncan's Range Test* (DMRT).

#### Skrining Fitokimia

Proses skrining fitokimia yaitu untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun *P. aduncum* L., dimana senyawa yang diujikan ialah flavonoida, saponin, tanin, dan alkaloid, sesuai kerja Galeb (2014) yaitu sebagai berikut :

##### a. Flavonoida

Ekstrak *P. aduncum* L. ditimbang sebanyak 0,5 g, ditambahkan aquadest dan dilarutkan dengan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg, lalu ditambahkan HCL. Apabila terbentuk warna orange, merah, merah bata, atau kuning berarti senyawa tersebut positif (Depkes RI, 2000).

##### b. Saponin

Ekstrak daun *P. aduncum* L. ditimbang sebanyak 0,5 g, kemudian

ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan dengan air dan dipanaskan di *waterbath*. Apabila terdapat buih, hal itu menunjukkan bahwa adanya senyawa saponin (Ramyashree *et al.*, 2012)

#### c. Tanin

Ekstrak daun *P. aduncum* L. ditimbang sebanyak 0,5 g, lalu ekstrak diaduk dan ditambahkan 10 ml aquades, kemudian disaring dan ditambahkan reagen  $FeCl_3$ . Adanya warna hijau/biru kehitaman menunjukkan bahwa senyawa tersebut positif (Ramyashree *et al.*, 2012)

#### d. Alkaloid

Ekstrak daun *P. aduncum* L. ditimbang sebanyak 0,5 g, kemudian ekstrak dimasukkan kedalam gelas piala, lalu ditambahkan dengan HCL 2 M dan dipanaskan sambil diaduk lalu didinginkan. Kemudian ditambahkan kembali serbuk NaCl dan diaduk lalu disaring, filtratnya ditambahkan HCL 2 M kemudian ditambahkan pereaksi wagner, warna coklat positif menunjukkan adanya alkaloid (Ramyashree *et al.*, 2012)

### HASIL

#### A. Ekstraksi

Sampel daun *P. aduncum* L. diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan larutkan dengan pelarut alkohol 70% sebanyak 2 liter selama 5 hari. Alkohol 70% merupakan pelarut

polar, sehingga dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik dimana telah diketahui bahwa daun *P. aduncum* L. juga mengandung beberapa senyawa fenolik berdasarkan dari hasil uji fitokimia (Noviansari, dkk, 2013). Setelah dilakukan perendaman, sampel dipisahkan antara pelarut dan senyawa aktif dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 61,68 g. Hasil ekstraksi sampel daun disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil ekstraksi sampel daun tumbuhan sirih hutan (*Piper aduncum* L.)

Perlakuan	Hasil Penimbangan (g)
Daun sirih hutan yang sudah diambil dibersihkan (sortasi basah), kemudian dicuci dengan air mengalir dan merajang hingga berukuran kecil.	2.000 g
Daun dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40° C selama ± 8 jam.	1.500 g
Daun dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40	600 g
Simplisia direndam dengan menggunakan alkohol 70% sebanyak 2 L selama 5 hari. Kemudian menyaring ekstrak dengan kertas saring dan melakukan pemisahan antara zat terlarut dan pelarut menggunakan <i>rotary evaporator</i>	61,68 g

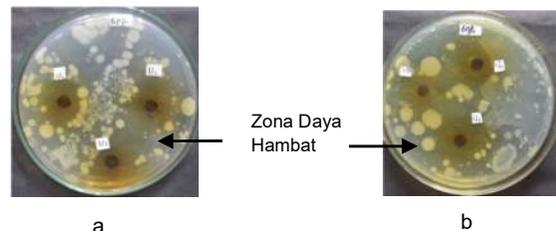
Berdasarkan hasil pengamatan uji skrining fitokimia terkandung beberapa senyawa antibakteri pada ekstrak daun *Piper aduncum* L. dapat dilihat pada Tabel.2

Tabel.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun *Piper aduncum* L.

No	Senyawa	Hasil	Gambar	Ket
1.	Flavonoida	+		Ditandai dengan terbentuknya warna merah.
2.	Saponin	+		Ditandai dengan adanya buih ketika dipanaskan.
3.	Tanin	+		Ditandai dengan terbentuknya warna biru kehitaman
4.	Alkaloid	+		Ditandai dengan terbentuknya warna coklat.

Pengujian daya hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan menggunakan metode “disc diffusion” yang ditandai dengan adanya daerah daya hambat yang terbentuk disekeliling kertas saring dengan diameter yang berbeda disetiap konsentrasi ekstrak.

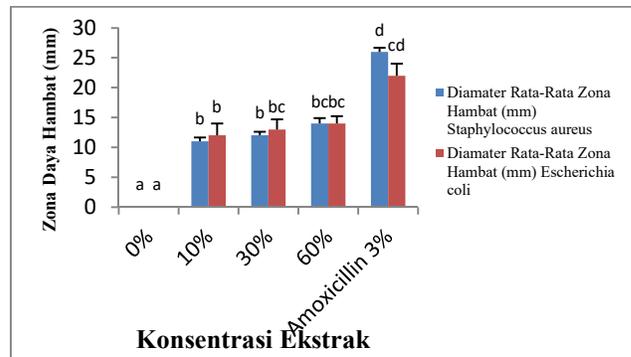
Gambar zona hambat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Zona hambat ekstrak daun *Piper aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* (a) dan *S. aureus* (b).

Pengamatan terhadap diameter zona daya hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak diukur menggunakan jangka sorong analitik.

Berdasarkan uji statistik dengan menggunakan two way anova maka diperoleh grafik dari hasil uji daya hambat ekstrak daun *Piper aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. Grafik zona hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Nilai grafik yang ditunjukkan adalah nilai rata-rata  $\pm$ SE. Batang grafik yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata pada tinggi uji 0,05.

## PEMBAHASAN

Uji daya hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode "disc diffusion" menggunakan kertas saring Whatman yang ditandai dengan adanya zona daya hambat yang terdapat pada sekeliling kertas saring. Pengamatan diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak yang diberikan diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Metode yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu metode maserasi dan hasil ekstraksi disajikan pada Tabel 1., sehingga diperoleh berat basah dan berat kering yang diperlukan, dan berat ekstrak kental yang dihasilkan yaitu sebanyak 61,68 g. Ekstrak daun *P. aduncum* L. bersifat antibakteri karena terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya sesuai dengan uji skrining fitokimia.

Hasil pengujian fitokimia yang terlihat pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun *P. aduncum* L. memiliki aktivitas antibakteri yang disebabkan adanya kandungan senyawa antibakteri, karena pada ekstrak daun *P. aduncum* L. terkandung beberapa kandungan senyawa yaitu flavonoida, saponin, tanin dan alkaloid. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat berefek sebagai antibakteri (Rahmawan, 2008). Selain itu flavonoid juga berperan langsung sebagai antibiotik

dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Subroto dan Saputro, 2006). Mekanisme penghambatan flavonoid terhadap pertumbuhan bakteri diduga karena kemampuan senyawa tersebut membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, mengaktifasi enzim, dan merusak membran sel. Pada umumnya senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Cowan, 1999). Senyawa ini merupakan antimikroba karena kemampuannya mampu membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Ekstrak daun *P. aduncum* L. juga mengandung senyawa tanin, yang mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Senyawa tanin juga dapat mengakogulasi protoplasma bakteri dan menghambat pembentukan dinding sel bakteri (Juliantina dkk., 2009). Mekanisme kerja senyawa tanin dalam menghambat sel bakteri, yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat fungsi selaput sel (transpor zat dari sel satu ke sel yang lain) dan menghambat sintesis asam nukleat sehingga pertumbuhan bakteri dapat terhambat (Purwanti, 2007). Senyawa saponin yang terkandung sebagai antibakteri dengan cara merusak porin yang merupakan pintu masuk keluarnya senyawa dan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel

bakteri mengalami kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati (Darsana dkk., 2012). Senyawa alkaloid mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut.

Pemberian ekstrak daun *P. aduncum* L. dengan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 30%, 60%, dan kontrol positif menggunakan *Amoxicillin* 3%, menunjukkan adanya zona daya hambat yang terbentuk disekeliling kertas saring. Sedangkan pada perlakuan kontrol negatif dengan menggunakan aquadest tidak menunjukkan adanya zona hambat, karena aquadest tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun *P. aduncum* L. memiliki rata-rata diameter zona hambat yang berbeda-beda. Perlakuan dengan pemberian konsentrasi ekstrak daun 60% menghasilkan diameter zona hambat rata-rata yang paling besar yaitu 14 mm, sedangkan untuk daya hambat paling kecil terjadi pada konsentrasi ekstrak paling rendah yaitu konsentrasi 10% dengan rata-rata 11,3 mm pada bakteri *S. aureus*, dan 12 mm pada bakteri *E. coli*. Akan tetapi, zona daya hambat pada konsentrasi 60% masih lebih kecil

dibandingkan dengan zona daya hambat yang terbentuk pada kontrol positif *Amoxicillin* 3% yaitu sebesar 26 mm untuk bakteri *S. aureus*. *Amoxicillin* merupakan antibiotik yang berspektrum luas dan biasanya efektif terhadap Gram positif dan Gram negatif terutama strain *S. aureus* dan enterokokus yang biasanya menimbulkan penyakit infeksi pencernaan (Parhusip, 2006).

Hasil pengujian yang telah dilakukan pada masing-masing bakteri terdapat perbedaan diameter zona hambat. Perbedaan tersebut mungkin disebabkan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ke medium agar. Perbedaan diameter zona hambat seiring dengan meningkatnya konsentrasi yang digunakan pada proses pengujian, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin baik pula dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Santoso dan Harry, 2004).

Diameter daya hambat dengan rata-rata yang diperoleh dari kedua bakteri terlihat bahwa zona daya hambat bakteri *E. coli* lebih besar dibandingkan dengan zona daya hambat bakteri *S. aureus*. Akan tetapi dari kedua bakteri tersebut menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata atau tidak signifikan. Hal ini disebabkan karena bakteri *S. aureus* merupakan bakteri gram positif dimana bakteri tersebut memiliki lapisan peptidoglikan pada dinding

sel yang lebih tebal sehingga ketahanan bakteri *S. aureus* terhadap senyawa antibakteri pada ekstrak daun *P. aduncum* L. lebih tinggi dibandingkan bakteri *E. coli*, karena bakteri *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif sehingga selnya akan lebih mudah terdenaturasi.

Pada uji lanjut Duncan (Gambar 2) menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun tumbuhan *Piper aduncum* L. dan kontrol positif dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun *Piper aduncum* L. tersebut memiliki sifat bakteristatik yaitu kemampuan suatu senyawa untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Akan tetapi dari beberapa konsentrasi ekstrak tersebut menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata atau tidak signifikan.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun *Piper aduncum* L. dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Konsentrasi ekstrak daun *Piper aduncum* L. yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu konsentrasi 60%.

3. Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun *Piper aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan nilai yang diperoleh tidak berbeda nyata.
4. Pada ekstrak daun *Piper aduncum* L. terkandung beberapa senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

### DAFTAR PUSTAKA

- Cowan, M.M. (1999). *Plant Product as Antimicrobial Agents*. J. Microbiology Reviews 12(4):564-582.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., dan Mahatmi, H. (2012). *Potensi daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan bakteri Escherichia coli secara In Vitro*. J. Indonesia Medicus Veterinus, 1 (3) ; 337-351
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Ekstrak Tumbuhan Obat Direktorat Jenderal pengawasan Obat dan makanan*, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta
- Galeb, A. A. (2014). *Uji Efektivitas Ekstrak Daun dan Akar Tumbuhan Harrisonia perforata Merr. Terhadap Bakteri Vibrio cholerae*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu.
- Gibson, J. M. (1996). *Mikrobiologi dan Patologi untuk Perawat*. Diterjemahkan oleh Prasada, S. Cetakan I. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Jawetz, M. & Adelberg's, (2005), *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 23*, diterjemahkan oleh Mudihargi, E., Kuntamah, Wasito, E. B., Mertaningsih, N. M., Huriwati, H..Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Juliantina R.F., citra M.D.A., Nirwani B., Nurmasitoh T., Bowo E.T. (2009). *Manfaat sirih merah (Piper crocatum) sebagai agen anti bacterial terhadap bakteri gram positif dan gram negative*. Jurnal kedokteran dan kesehatan Indonesia.
- Maija, F. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun *Harrisonia perforata* Merr Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu.
- Midun. (2012). *Uji Efektivitas Ekstrak Lengkuas Merah (Alpinia purpurata K.Schum) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Dengan Metode Disc Diffusion*, Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Noviansari, R., Sudarmin, dan Siadi, K. (2013). *Transformasi Metil Eugenol Menjadi 3-(3,4 dimetoksi Fenil)-1-Propanol Dan Uji Aktivitasnya sebagai Antibakteri*, Jurnal jurusan kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang, 2(2)
- Parhusip AJN. (2006). Kajian mekanisme antibakteri ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap bakteri patogen pangan [disertasi].Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Purwanti, E. (2007). *Senyawa Bioaktif Tanaman Sereh (Cymbopogon nardus) Ekstrak Kloroform dan Etanol serta Pengaruhnya terhadap Mikroorganisme Penyebab Diare*. Skripsi. Jurusan Pendidikan Biologi. Fakultas Pendidikan Biologi dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Rahmawan, L. (2008). *Isolasi dan Identifikasi Flavonoida dari Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.)*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Ramyashree, M., Krishna R, H., Shivabasavaiah.(2012). *Ethnomedicinal value of Opuntia elatior fruits and its effects in mice*, University of Mysore, Karnataka, India.
- Subroto, M.A. dan H. Saputro. (2006). *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Syahrurachman, A., Chatim, A. & Sardjito, R. (1994). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Jakarta: Bina Rupa Aksara
- Wardani, A.K. (2008). *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (Duchesnea indica (Andr. Facke.) terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis [Skripsi S-1]*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.