

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Melsi Mengkido*, Orryani Lambui, Wahyu Harso

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

Koresponding author: melsimengkido.17a@gmail.com

ABSTRACT

Ageratum conyzoides L. is commonly known as weed species however leaf from this plant is used as traditional medicine for wound and skin infection. Furthermore it is important to test *A. conyzoides* L. leaves extract can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria which is causing infection disease. The content of this leaf which can inhibit bacterial growth is also observed. The study was conducted by growing *S. aureus* bacteria on nutrient agar (NA) and then a number of leaf extract from *A. conyzoides* leaves (7.5, 15.0, 35 and 50%) were injected to NA by well diffusion method. Amoxicillin 0,6% and DMSO 1% were also injected as positive control and negative control respectively. Inhibition zone was measured based on diameter formed. The results showed that increasing leaves extract increased inhibition of *S. aureus* growth however 50% leaf extract inhibited *S. aureus* growth less than Amoxicillin 0,6%. *A. conyzoides* leaf can inhibit *S. aureus* growth may be caused by terpenoid, fenol, saponin and alkaloid on its content.

Keywords : Extract Bandotan, *Ageratum conyzoides* L., *Staphylococcus aureus*. Inhibition zone.

PENDAHULUAN

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tumbuhan liar yang mudah didapat di Indonesia dan lebih dikenal sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di kebun dan ladang. Tumbuhan ini merupakan salah satu tumbuhan yang diketahui secara empiris mempunyai khasiat sebagai bahan obat dan telah digunakan di beberapa daerah (Dalimartha, 2007). Tanaman ini banyak dimanfaatkan sebagai obat luka baru, luka berdarah, bisul, radang telinga, radang tenggorokan, rematik, keseleo, pendarahan rahim, sariawan, tumor rahim, malaria, perut

kembung, mulas, muntah, diare dan mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Heyne, 1987; Depkes, 1989; Wijayakusuma dkk., 1994).

Infeksi merupakan salah satu masalah klasik dalam bidang kesehatan di Indonesia. Menurut Riset Kesehatan Dasar (2013), prevalensi rata-rata infeksi di Indonesia sebesar 3,5%. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan protozoa. Beberapa infeksi disebabkan oleh bakteri yang secara umum merupakan patogen bagi manusia, bersifat tidak tampak atau asimtomatik, seperti bakteri

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli*. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai macam infeksi seperti jerawat, bisul, pneumonia, epiema, endokarditis, atau bernanah pada bagian tubuh mana pun. Toksin dari bakteri *S. aureus* (leukosidin) dapat mematikan sel darah putih pada manusia. Infeksi bakteri *S. aureus* tersebut dapat disebabkan oleh kontaminasi langsung pada luka, misalnya pada infeksi luka pasca bedah (Andrian, 2009).

Tanaman *A. conyzoides* L. memiliki kandungan senyawa yang dapat digunakan sebagai anti bakteri, terutama bagian daun dan bunga yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Senyawa fenol secara umum telah dikenal sebagai desinfektan yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme patogen (Mutschler, 1991). Senyawa polifenol telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri (Rahman, 1997). Disamping itu, daunnya juga mengandung minyak atsiri dan terdapat pula kumarin (Heyne, 1987).

Waktu dan Tempat

Penelitian initelah dilakukan pada bulan Desember sampai dengan Maret 2017 yang bertempat di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi dan Laboratorium Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Tadulako

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, erlenmeyer 100 ml, gelas kimia 1000 ml, gelas ukur 500 ml, neraca analitik, *Rotary evaporator*, pipet tetes, tabung reaksi, pipet mikro 100-1000 µl, autoklaf, inkubator, oven, hotplate, batang pengaduk, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, bunsen, corong kaca, jangka sorong, pinset, rak tabung, wadah meserasi, loyang, labu ukur 25 ml dan 10 ml, cawan porselen, alat tulis dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biakan bakteri *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA UNTAD, daun *Ageratum conyzoides* L., etanol 96%, aquades, HCl 2 N, media LB (*Lactose Broth*), media NA (*Nutrient Agar*), FeCl₃, larutan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), aluminium foil, kertas saring, NaCl fisiologis 0,9%, Amoxicillin 0,6%, Pereaksi Wagner, kloroform dan H₂SO₄.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel Daun Tumbuhan

***Ageratum conyzoides* L.**

Sampel daun tumbuhan bandotan *A. conyzoides* L. diperoleh di Desa Tongoa, Kecamatan Palolo, Palu Sulawesi Tengah. Pengambilan sampel daun yang dibutuhkan adalah daun yang tua

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, yaitu cawan petri, tip pipet mikro dibungkus dengan kertas, untuk alat-alat ditutup mulutnya dengan menggunakan kapas steril lalu dibungkus dengan aluminium foil sedangkan pinset, jarum ose disterilkan dengan cara flambir/pemijaran (Syahrurachman dkk, 1994). Bahan yang akan digunakan yaitu media NA, LB, NaCl fisiologis dan aquades dimasukan didalam erlenmeyer dan disumbat dengan kapas dan ditutup dengan aluminium foil. Kemudian alat dan bahan tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Penyiapan Sampel

Bagian tanaman yang digunakan untuk penelitian ini yaitu daun bandotan *A. conyzoides* L. menurut Maija (2015) daunterlebih dahulu di sortasi basah untuk memisahkan kotoran seperti tanah atau bagian tanaman yang tidak digunakan dan terbawa pada saat pengumpulan daun. Selanjutnya daun di cuci pada air mengalir, kemudian dirajang kecil-kecil sehingga pelarut lebih mudah berpenetrasi kedalam sel dan penarikan senyawa kimia yang terkandung dalam sampel lebih maksimal setelah proses perajangan. Daun selanjutnya dikering-anginkan. Pengeringan dilakukan untuk

menghentikan reaksi enzim yang dapat menyebabkan penguraian atau perubahan kandungan kimia yang terdapat pada daun bandotan. Selain itu, pengeringan dilakukan di oven selama 8 jam. Menurut Katno dkk. (2008) pengeringan dilakukan selama 8 jam pada suhu 40°C dengan jumlah kadar air kurang lebih 5%. Kemudian daun tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender dan diperoleh serbuk simplisia (Rahmadani, 2015).

Ekstraksi Sampel Daun Tumbuhan *Ageratum conyzoides* L.

Ekstraksi sampel daun tumbuhan *A. conyzoides* L. menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam. Metode maserasi digunakan karena struktur sampel daun yang cukup kecil dan lunak. Kelebihan dari metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana. Selanjutnya ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring dan corong, kemudian dilakukan pemisahan antara zat pelarut dan senyawa aktif hasil ekstraksi dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 45°C (Mangindaan dkk., 2014).

Pembuatan Stok Ekstrak

Pembuatan stok ekstrak daun *A. conyzoides* L. serta kontrol menggunakan larutan DMSO mengacu

dari Hidayatullah (2011). Larutan induk adalah konsentrasi 75%, yaitu dengan perbandingan 7,5 g ekstrak daun dalam 10 ml DMSO (b/v). Selanjutnya, dibuat konsentrasi 7,5, 15, 35 dan 50%.

Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Biakan murni bakteri *S. aureus* diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bakteri yang akan digunakan, dilakukan peremajaan kembali sesuai dengan cara kerja Maija (2015), yaitu dengan cara memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru yaitu ke medium NA miring. Bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose kemudian disuspensikan kedalam medium LB sebagai media penyubur yang berguna untuk pertumbuhan bakteri. Setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat dengan menggunakan larutan NaCl fisiologi 0,9%. Dalam perlakuan jumlah bakteri *S. aureus* yang digunakan yaitu $1,30 \times 10^7$ CFU/ml. Prosedur pembuatan media NA dan LB disajikan pada.

Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan dengan menggunakan metode sumur dilakukan dengan menggunakan alat pelubang steril. Uji daya hambat menggunakan

ekstrak daun *A. conyzoides* L. dengan konsentrasi 7,5 %, 15 %, 35 %, 50 %, kontrol positif Amoxicillin 0,6% dan kontrol negatif DMSO 1% tanpa campuran ekstrak (Kurniawan, 2015). Pembuatan Amoxicillin 0,6% sebagai kontrol positif disajikan pada. Media *Nutrien Agar* dipanaskan dalam *hotplate* sampai mencair kemudian dibiarkan dioven sampai suhu sekitar 40° hingga 50°C. Setelah itu media NA tersebut dituang ke dalam masing-masing cawan petri sebanyak 15 ml yang telah terisi 1 ml suspensi bakteri. Selanjutnya dihomogenkan dan disimpan ditempat yang rata sampai media memadat. Pengujian kepekaan bakteri ini menggunakan metode difusi sumur. Sumur dibuat dengan menggunakan pelubang steril dengan ukuran diameter 7 mm. Sumur tersebut diisi sebanyak 100 µl ekstrak daun *A. conyzoides* L. dan Amoxicillin 0,6% sebagai kontrol positif serta 1 kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 1%. Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengamatan Zona Hambat

Pengamatan zona hambat ekstrak daun *A. conyzoides* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada masing-masing cawan petri dilakukan setelah masa inkubasi. Pengamatan

dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong (Maija, 2015).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan metode uji tabung menggunakan pereaksi-pereaksi yang sesuai untuk golongan senyawa yang akan diuji yaitu alkaloid, saponin, fenol dan terpenoid. Proses pengujiannya adalah sebagai berikut:

1. Uji Kandungan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,5 g dimasukkan ke dalam gelas piala, ditambah dengan HCl 2 M lalu dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk kemudian didinginkan sehingga suhu kamar. NaCl serbuk ditambahkan, diaduk dan disaring kemudian filtrate ditambah HCl 2 M setelah itu ditambahkan pereaksi Wagner. Jika terjadi perubahan warna coklat berarti positif Alkaloid (Resmi, 2011).

2. Uji Kandungan Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan air dan dipanaskan di *water bath*. Adanya buih menunjukkan adanya saponin (Ramyashree *et al*, 2012).

3. Uji Kandungan Terpenoid

Pada 0,5 g masing-masing ekstrak ditambahkan 2 mL kloroform. Sebanyak 3 mL konsentrasi H_2SO_4 hati-hati ditambahkan untuk membentuk

lapisan. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan menunjukkan adanya terpenoid (Ayoola, 2008).

4. Uji Kandungan Fenol

Ekstrak sebanyak 0,5 gram, ditetesi larutan $FeCl_3$ 1%, positif adanya fenolik jika terjadi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam (Resmi, 2011)

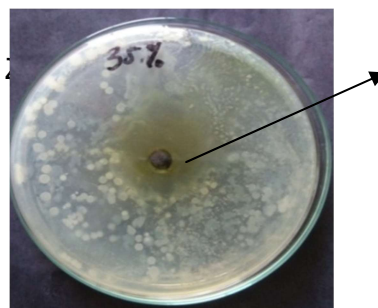
Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dari pengukuran, kemudian dianalisis dengan One Way Anove menggunakan software SPSS pada taraf uji 5%. Apabila ada beda nyata diikuti oleh uji lanjut menggunakan DMRT.

HASIL

Skrining Fitokimia

Hasil uji fitokimia terdapat beberapa kandungan senyawa antibakteri pada ekstrak daun *A. conyzoides*L. yang disajikan pada Tabel. 1.



Gambar. 1 Zona hambat yang terbentuk di sekeliling sumur pada konsentrasi 35% Terjadi peningkatan zona hambat seiring penambahan

Uji Daya Hambat

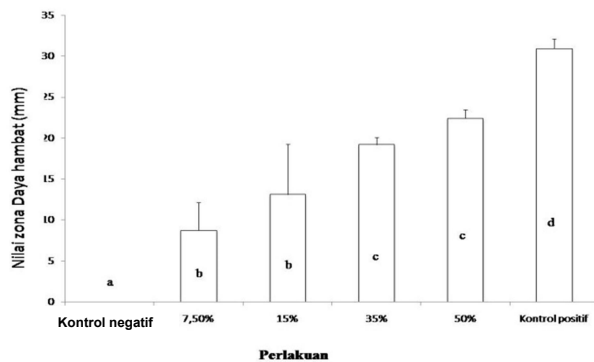
Uji daya hambat ekstrak daun *A. conyzoides* L. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode sumur, yang ditandai dengan terbentuknya zona daya hambat di sekitar sumur (Gambar. 1).

Konsentrasi ekstrak yang diberikan. Zona hambat terendah diperoleh pada

larutan akuades tanpa ekstrak (Kontrol negatif) dan zona hambat tertinggi diperoleh pada larutan 50% ekstrak daun *A. conyzoides* L. akan tetapi zona hambat tertinggi yang dihasilkan dari ekstrak 50% daun *A. conyzoides* L. masih lebih rendah dibandingkan dari Amoxicilin 0,6%.

Tabel. 1 Hasil skrining senyawa antibakteri

	Alkalod	Saponn	Terpenod	Fenol
Ekstrak daun <i>Ageratum conyzoides</i> L	Terdapat kandungan senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya warna coklat	Terdapat kandungan senyawa saponin dengan adanya busa ketika dipanaskan	Terdapat kandungan senyawa terpenoid dengan terbentuknya lapisan warna coklat kemerahan	Terdapat kandungan fenol ditandai dengan terbentuknya warna hitam



Gambar 2 Grafik zona daya hambat ekstrak daun *Ageratum conyzoides* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* nilai yang ditampilkan adalah nilai rata-rata ± standar deviasi. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%.

Pembahasan

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen dapat disembuhkan oleh beberapa obat antibakteri. Namun dalam perkembangannya penanganan terhadap beberapa penyakit ini menemui kesulitan (Awoyinka *et al*, 2007). Perkembangan penggunaan obat tradisional khususnya dari tumbuh-tumbuhan dapat membantu meningkatkan derajat kesehatan masyarakat secara meluas. Selama ini penyakit infeksi diatasi dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan bisa

membuat mikroba patogen menjadi resisten (Refdanita dkk., 2004). Oleh karena itu, diperlukan alternatif dalam mengatasi masalah ini dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antimikroba dari tanaman obat.

Menurut Ushimaru *et al.*, (2007), Pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional dapat berdasarkan verifikasi efek farmakologi dan anti infeksi dari senyawa yang dihasilkan tumbuhan tersebut terhadap aktifitas mikro organisme. Pemanfaatan daun *A. conyzoides* L. sebagai anti bakteri khususnya *S. Aureus* dapat diidentifikasi berdasarkan uji daya hambat ekstrak tumbuhan terhadap pertumbuhan bakteri tersebut.

Hasil uji fitokimia dari daun *A. conyzoides* L. menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif berupa terpenoid, fenol, saponin dan alkaloid (Tabel 4.1). Senyawa tersebut diatas mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Kamboj dan Saluja, 2010). Senyawa terpenoid bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Cara kerja fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel (Pelczar dan Chan, 1981). Saponin memiliki gugus aglikonyang berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja saponin dapat mengubah permeabilitas sel dan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Villa, 2014). Bakteri gram positif seperti *S. aureus* tidak memiliki membran luar seperti yang dimiliki kebanyakan bakteri gram negatif. Disamping itu *S. aureus* memiliki dinding sel yang bersifat hidrofobik pada bagian luarnya, sehingga konsentrasi rendah dari ekstrak akan dapat membunuh seluruh bakteri *S. aureus* (Madigan *et al.*, 2009). Uji alkaloid menunjukkan dengan terbentuknya warna coklat. 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 (Farnworth, 1966).

Bachir dan Benali, (2012) menyatakan bahwa bakteri gram positif seperti *S. aureus* memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal tanpa adanya membrane luar. Adanya aktivitas senyawa fenolik akan dengan mudah menyebabkan kerusakan pada dinding dan membrane sel sehingga akan mengganggu sistem

transport aktif. Selanjutnya senyawa tersebut akan mendenaturasi dan menginaktifkan protein seperti enzim sehingga mempengaruhi metabolisme sel.

Berdasarkan Gambar 4.1 perlakuan dengan pemberian konsentrasi ekstrak daun 50% menghasilkan diameter zona hambat yang rata-rata 22,0 mm, lebih besar dibandingkan dengan pemberian konsentrasi lainnya. Namun demikian zona hambat pada konsentrasi tersebut masih lebih kecil dibanding dengan zona hambat pada kontrol positif menggunakan Amoxicillin 0,6% yaitu 33,0 mm. Sedangkan uji daya hambat yang paling kecil terjadi pada pemberian konsentrasi ekstrak yang paling rendah 7,5% yaitu 9,0 mm. Kemampuan suatu bahan antibakteri dalam meniadakan kemampuan hidup mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antibakteri tersebut. (Santoso dan Harry, 2004). Semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang diberikan dalam hal ini adalah ekstrak daun *A. conyzoides* L. maka daya hambat semakin besar. Kamboj dan Saloja (2010) juga menyatakan bahwa selain konsentrasi mempengaruhi daya hambat terhadap bakteri, jenis dari senyawa yang dapat menghambat bakteri juga sangat penting.

Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi ekstrak *A. conyzoides* L. dapat digunakan sebagai bahan antibakteri

terhadap bakteri *S. aureus*. Mengacu pada standart umum yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan (1989) disebutkan bahwa mikroba dinyatakan peka terhadap antimikroba asal tanaman apabila mempunyai ukuran diameter daya hambatannya 12 - 24 mm.

Berdasarkan uraian di atas, membuktikan bahwa daun *A. conyzoides* L. mempunyai dasar kuat digunakan sebagai bahan obat karena mengandung senyawa antibiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

KESIMPULAN

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *A. conyzoides* L. semakin besar daya hambatnya. Pada ekstrak daun *A. conyzoides* L. terdapat beberapa kandungan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu terpenoid, fenol, saponin dan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrian. (2009). Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk keprok (*Citrus nobilis*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichi coli*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Awoyinka, O. A. Balogun, I. O., and Ogunnowo, A. A. (2007). Phytochemical screening and in vitro bioactivity *cnidoscolus aconitifolius* (*Euphorbiaceae*). *Journal Of*

- Medicinal Plants Resources*, 1(3), 064-065.
- Ayoola, D. S. (2008). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of some nigerian medicinal plants, *Journal Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 1019-1024.
- Cowan, M. (1999). Plant product as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-582
- Dalimartha, S. (2007). Atlas tumbuhan Indonesia jilid 2. Jakarta: Penerbit PuspaSwara.
- Depkes RI. (1989). Sediaan galenik. Jakarta: Di Rektorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Farnworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plant, *Journal Pharmacy Science*, 55(3), 225-276.
- Hidayatullah. (2011). Profil kandungan kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun bamban (*Donax canniformis* (G. Forst.) K. Schum) terhadap *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako. Palu.
- Heyne, K. (1987). Tumbuhan berguna Indonesia. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Kamboj, A and A. K. Saluja. (2010). *Ageratum conyzoides* L. A review on its phytochemical and pharmacological profile, *International Journal of Green Pharmacy*, 2(2), 59-68.
- Katno, Awal P. K., dan Sutjipto. (2008). Pengaruh waktu pengeringan terhadap kadartanin daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* L.). Jawa Tengah: Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional.
- Kurniawan. (2015). Uji aktivitas anti jamur ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) Terhadap *Candida albicans* secara In-vitro. Skripsi. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Madigan, MT., Martinko, JM., Dunlap, VP., Clark, PD. (2009). *Biology of Microorganism*. Southern Illinois University Carbondale.
- 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.
- Mangindaan, Y. P., I ketut, B. dan Niluh, E. S. (2014). Pemberian ekstrak kulit batang kelor terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus yang di induksi aloksan. Skripsi. Universitas Udayana. Denpasar.
- Mutschler, E. (1991). *Dinamika obat. Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi Edisi V*. diterjemahkan oleh Mathilda B, Widiyanto & Anna Setia Ranti, hal 608-609. 612-614. Bandung: Penerbit ITB.
- Pelczar, M. J., dan Can, E.C.S. (1981). *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Rahman, A. (1997). Isolasi dan identifikasi senyawa antimikroba dari daun anyang-anyang (*Elaeocarpus Grandiflorus*). J.E. Smith Tesis. Program Studi Ilmu Farmasi. Jurusan Ilmu Matematika dan Ilmu

- Pengetahuan Alam. Program Pasca Sarjana. UGM. Jogjakarta.
- Ramyasheer, M., Krishna, R. H., and Shivabasavaiah.(2012). *Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice*.University of Mysore, Karnataka, India.
- Refdanita, R. Maksum, A. Nurgani dan P. Endang. (2004). Pola kepekaan kuman terhadap antibiotik di ruang rawat intensif rumah sakit fatmawati Jakarta. *Makara Kesehatan*. 8(2): 41-48.
- Resmi, M.(2011). Metode Penelitian Obat. Widya Padjajaran. Antapani, Bandung.
- Riset Kesehatan Dasar. (2013). Badan Penelitian dan PengembanganKesehatan Kementerian RI tahun 2013.Diakses: 28 juli 2016, dari<http://www.depkes.go.id/resour>
[ces/download/general/Hasil%20Ris](http://www.depkes.go.id/resour)
[kesdas%20](http://www.depkes.go.id/resour) 2013.pdf.
- Santoso dan Herry. (2004). Operasi teknik kimia ekstraksi. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro.
- Syahrurachman, A., Chatim, A. Dan Sardjito, R. (1994). Buku ajar mikrobiologi kedokteran. Edisi revisi.Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea, J.R.(1991).*Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. edisi kedua.Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Villa, T. G. And Particia. (2014). Antimicrobial compound. Spiger. Berlin.
- Wijayakusuma, H.M.H., Dalimarata, S.danWirian, A.S.(1994). *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. jilid III (30-31). Jakarta: Pustaka Kartini.