

# Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*.

Dayu Nirwana Putri

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

## ABSTRAK

Kenikir merupakan tanaman obat yang daunnya sering dikonsumsi sebagai sayuran. Daun kenikir mengandung senyawa aktif fenol, flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, yaitu bakteri yang mengkontaminasi makanan serta menghasilkan racun penyebab demam tifoid, gastroenteritis, septicemia, dan infeksi sistemik fokal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa aktif yang terlarut dalam ekstrak metanol daun kenikir serta mengetahui efek ekstrak metanol daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 3 pengulangan yaitu pemberian kontrol negatif (campuran aquades steril dan DMSO), kontrol positif (kloramfenikol 30 mg/ml), dan ekstrak metanol daun kenikir konsentrasi 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, dan 30 mg/ml. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat, diuji normalitasnya menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, kemudian diuji homogenitasnya. Setelah itu dianalisis dengan ANOVA *one way test*, apabila terdapat perbedaan yang sangat nyata maka dilakukan uji lanjut UJD (Uji Jarak Duncan) pada taraf signifikansi 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kenikir pada semua konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan konsentrasi paling maksimal yaitu 30 mg/ml menghasilkan diameter zona hambat sebesar  $24,2 \pm 0,8$  mm. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun kenikir, maka daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* juga semakin besar.

**Kata Kunci:** *Salmonella typhi*, ekstrak metanol daun kenikir, zona hambat

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan ancaman yang besar untuk umat manusia. Infeksi ditimbulkan karena adanya agen infeksius yang menyerang tubuh manusia, baik secara langsung maupun melalui perantara. Agen infeksius dapat berupa bakteri, virus, jamur, dan parasit (Arias, 2003).

Agen infeksius yang sering menyebabkan terjadinya infeksi pada manusia adalah bakteri jenis

*Salmonella typhi*. Bakteri ini masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. *Salmonella typhi* mampu menyebabkan sejumlah besar infeksi pada manusia diantaranya yaitu demam tifoid (demam enterik), infeksi sistemik fokal, septicemia, dan gastroenteritis yang bervariasi secara klinis yaitu dari diare cair sampai disentri (Harrison, 2000). Di Indonesia, demam tifoid merupakan salah satu masalah kesehatan yang

penting, karena dapat menyebabkan kematian gastrointestinal kedua setelah gastroenteritis. Prevalensi demam tifoid diperkirakan 350-810 kasus per 100.000 penduduk per tahun atau kurang lebih sekitar 600.000-1,5 juta kasus setiap tahun. Delapan puluh sampai sembilan puluh persen dari angka di atas adalah anak berusia 2-19 tahun (Depkes RI, 2005).

Sejak tahun 1989, *Salmonella typhi* menjadi resisten terhadap tiga antibiotik sekaligus yakni kloramfenikol, kotrimoksazol, dan amoksisilin yang ditemukan secara luas di India, Pakistan dan Cina serta menyebar ke Timur Tengah dan Afrika Selatan (Cook, 2003). Saat ini banyak masyarakat mulai beralih pada pengobatan tradisional karena tidak memiliki efek samping dan dapat memperbaiki keseluruhan sistem tubuh, daripada obat-obatan kimia yang tujuannya hanya untuk mengobati gejala penyakit (menghilangkan rasa sakit), selain itu memiliki efek samping apabila digunakan dalam jangka waktu yang lama (Utami, 2013).

Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang berpotensi sebagai obat, salah satunya yaitu kenikir. Berdasarkan hasil penelitian-penelitian ilmiah, menunjukkan bahwa daun kenikir memiliki potensi antibakteri karena mengandung senyawa fenol, flavonoid, saponin dan tanin. Maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

#### **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2013. Bahan-bahan yang digunakan ialah kertas

saring wathman, akuades, alkohol 70 %, metanol p.a (untuk maserasi simplisia), DMSO (*Dimethyl sulfoxide*), *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, alkohol 90 %, kertas cakram, akuades steril, plastik tahan panas, plastik *wrap*, *aluminium foil* serta biakan bakteri *Salmonella typhi* (diperoleh dari laboratorium mikrobiologi UIN Maliki Malang). Pembuatan ekstrak metanol daun kenikir dilakukan di Laboratorium Kimia, sedangkan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kenikir terhadap bakteri *Salmonella typhi* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi UIN Maliki Malang. Prosedur kerja meliputi, persiapan sampel, pembuatan ekstrak metanol daun kenikir, uji fitokimia dan uji antibakteri.

Pembuatan ekstrak daun kenikir dilakukan dengan cara mencuci bersih daun kenikir segar sebanyak 1 kg lalu dikering anginkan dan dibolak-balik secara berkala. Daun kenikir kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk halus (simplisia). Simplisia dimaserasi dengan pelarut metanol p.a sampai 3 kali masing-masing selama 24 jam. Filtrat dan ampas dipisahkan. Filtrat dikumpulkan untuk dievaporasi menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* (RVE) dan dialiri gas N<sub>2</sub> untuk menghilangkan sisa pelarutnya. Uji fitokimia dilakukan dengan mengambil 1 gram ekstrak metanol daun kenikir, kemudian dilanjutkan uji fenol, flavonoid, saponin, dan tanin. Pembuatan larutan stok dilakukan dengan mengambil ekstrak sebanyak 30 mg dilarutkan dengan 1 ml DMSO dan ditambah akuades steril hingga volume akhir 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi 30

mg/ml. Ekstrak dengan konsentrasi 30 mg/ml diencerkan dengan akuades steril dan DMSO untuk mendapatkan konsentrasi 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, dan 25 mg/ml.

Biakan murni bakteri diremajakan pada media padat *Nutrien Agar* miring dengan cara menggosokkan jarum ose yang mengandung bakteri *Salmonella typhi* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggosokkan jarum ose. Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

Kultur bakteri uji yang telah diinkubasi selama 24 jam, diuji aktivitas antibakterinya dengan cara mengisi cawan petri dengan 0,1 ml bakteri uji dan 15 ml media NA steril (*pour plate*) secara aseptik, dihomogenkan kemudian dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram (diameter 5 mm) diresapkan dalam ekstrak dan kontrol. Proses peresapan dilakukan dengan cara meneteskan 20 µL kontrol positif (kloramfenikol 30 mg/ml) kontrol negatif (campuran DMSO dan akuades steril) dan ekstrak daun kenikir dengan konsentrasi 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, dan 30 mg/ml (Zakaria *et al.*, 2007). Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Media bakteri yang sudah dipasang bahan antibakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan penggaris untuk menentukan efektifitas antibakteri. Zona hambatan diukur dengan cara mengurangi diameter keseluruhan

(cakram + zona hambatan) dengan diameter cakram (Volk dan Wheeler, 1993).

### HASIL

Uji fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman. Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada daun kenikir.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Kenikir

Senyawa Aktif	Warna	Hasil
Fenol	Hitam pekat	+
Flavonoid	Kuning kehijauan	+
Saponin	Kuning dengan busa ketinggian 1 cm	+
Tanin	Hijau kehitaman	+

Keterangan:(+): menunjukkan positif

Uji daya antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode kertas cakram dengan tujuan untuk mengetahui besarnya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat adalah zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram pada media yang sudah diinokulasi *Salmonella typhi*, menunjukkan zona yang tidak terdapat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Konsentrasi bakteri *Salmonella typhi* yang digunakan pada penelitian ini adalah 10<sup>6</sup> CFU/ml.

Hasil penelitian yang didapatkan kemudian dilakukan analisis data statistik. Untuk menguji data menggunakan ANOVA *one way test*, maka syaratnya data harus normal yaitu dengan menguji normalitasnya menggunakan *Kolmogorov-Smirnov test*. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Setelah itu dilanjutkan dengan

ANOVA *one way test* untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan dari keseluruhan perlakuan. Bila terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan UJD/ *Duncan test* untuk melihat perbedaan setiap perlakuan. Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan nilai signifikansi  $0,996 > p (0,05)$  yang artinya data berdistribusi normal. Setelah diketahui data normal, maka dilanjutkan uji homogenitas dan diperoleh signifikansi  $0,241 > p (0,05)$  hal ini menunjukkan bahwa data homogen. Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA *one way test*. Berdasarkan analisis statistik dengan ANOVA *one way test* diperoleh nilai signifikansi  $0,000 < p (0,01)$ . Hal ini menunjukkan bahwa, terdapat pengaruh perlakuan konsentrasi ekstrak metanol daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, disajikan pada tabel 2

Tabel 2. Ringkasan ANOVA *One way Test* tentang Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kenikir terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

SK	db	JK	KT	F hit	F 1 %
Perlakuan	4	396,43	99,1075	37,76	5,99
Galat	10	26,25	2,625		
Total	14	422,68			

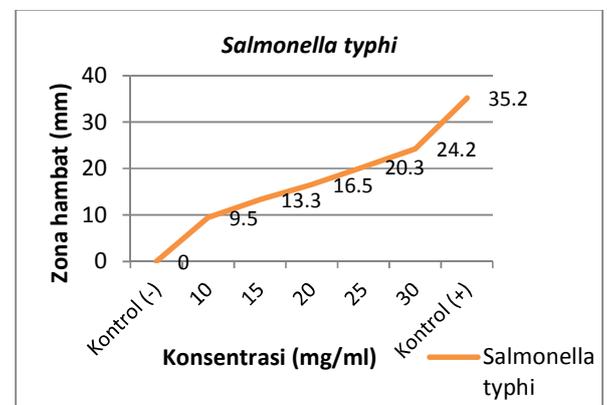
Keterangan:  $37,76 > 5,99 = H_0$  ditolak

Setelah diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada pertumbuhan bakteri, maka dilanjutkan dengan UJD/*Duncan test* 5 %. Hasil UJD/*Duncan test* 5 %, menunjukkan bahwa pada perlakuan konsentrasi ekstrak metanol daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil UJD/*Duncan Test* dan kekuatan

antibakteri disajikan pada tabel 3 dan gambar 1 (David Stout *dalam* Ambarwati, 2007):

Tabel 3 Ringkasan UJD/*Duncan Test* dan Kekuatan Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir

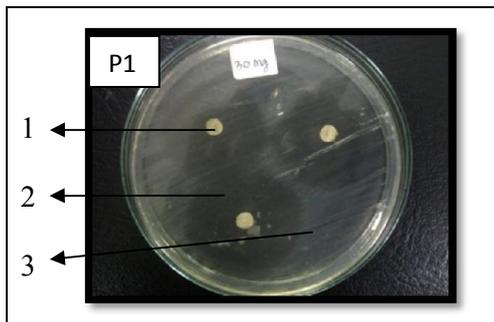
Perlakuan (mg/ml)	Rata-Rata (mm)	Notasi	Kekuatan Antibakteri
Kontrol (-)	0	a	Sangat lemah
10	$9,5 \pm 0,5$	b	Sedang
15	$13,3 \pm 1,5$	c	Kuat
20	$16,5 \pm 0,8$	d	Kuat
25	$20,3 \pm 1,04$	e	Sangat kuat
30	$24,2 \pm 0,8$	f	Sangat kuat
Kontrol (+)	$35,2 \pm 0,8$	g	Sangat kuat



Gambar 1. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir

Berdasarkan Tabel 3, zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol daun kenikir lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol. Diameter zona hambat kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* sangat kuat yaitu sebesar 35,2 mm. Kloramfenikol dipilih karena bersifat bakteriostatik. Kloramfenikol bekerja pada spektrum luas, efektif baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibakteri

yaitu melalui penghambatan terhadap pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, dengan cara mengikat subunit ribosom 50-S sel mikroba target (Ganiswara, 1995). Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu campuran aquades dan DMSO, hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambatan. Zona hambat ekstrak metanol daun kenikir disajikan pada gambar 2



Keterangan: P1= zona hambat pada konsentrasi 30 mg/ml, 1= kertas cakram, 2= zona bening, 3= koloni bakteri *Salmonella typhi*

Gambar 2 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 2 terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang berarti semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* juga semakin besar. Menurut Pelczar dan Chan (1988), semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh.

#### PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, kontrol positif digunakan untuk

membandingkan potensi ekstrak daun kenikir dengan kloramfenikol konsentrasi 30 mg/ml. Zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol daun kenikir lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pengencer aquades dan DMSO, hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambatan. Davis Stout dalam Ambarwati (2007) mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak metanol daun kenikir pada konsentrasi 10 mg/ml diameter zona hambatnya sebesar 9,5 mm termasuk kategori sedang, konsentrasi 15 mg/ml menunjukkan diameter zona hambat sebesar 13,3 mm kategori kuat, konsentrasi 20 mg/ml menunjukkan diameter zona hambat sebesar 16,5 mm kategori kuat, konsentrasi 25 mg/ml menunjukkan diameter zona hambat sebesar 20,3 mm kategori sangat kuat, dan konsentrasi 30 mg/ml diameter zona hambat juga terus mengalami kenaikan yaitu sebesar 24,2 mm kategori sangat kuat.

Berdasarkan Tabel 4.3 dan Gambar 1. terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang berarti semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* juga semakin besar. Menurut Pelczar dan Chan (1988), semakin tinggi

konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh.

Daun kinikir mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* karena mempunyai daya antibakteri. Daya antibakteri daun kinikir dikarenakan adanya senyawa aktif yaitu fenol, flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian Daulat dan Nikam (2013), bahwa ekstrak metanol daun kinikir mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin. Sedangkan menurut Hariana (2005), daun kinikir mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Uji antibakteri bertujuan untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Penghambatan pertumbuhan bakteri disebabkan oleh interaksi senyawa aktif melalui pelekatan ataupun difusi zat antimikroba dengan bakteri (Parhusip, 2006). Interaksi tersebut menyebabkan gangguan atau kerusakan metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri dan menghambat atau merusak sintesis nukleat sel bakteri (Amir, dkk. 1995).

Mekanisme kerja senyawa fenol dalam membunuh sel bakteri ada 3 cara, yaitu mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat sintesis dinding sel, dan merusak membran sel bakteri. Senyawa fenol mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hidrogen dengan protein bakteri. Hal ini mengakibatkan struktur protein bakteri menjadi rusak dan enzim menjadi inaktif. Akibat

terdenaturasinya protein sel bakteri, maka semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti, karena semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh enzim yang merupakan protein (Lawrence dan Block, 1968). Mekanisme fenol dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara meracuni protoplasma dan memutuskan ikatan peptidoglikan (Naidu, 2000). Mekanisme fenol dalam merusak membran sel bakteri, dengan cara ion  $H^+$  dari senyawa fenol akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) bakteri sehingga molekul fosfolipid terurai menjadi asam fosfat, gliserol dan asam karboksilat. Kondisi ini menyebabkan membran sel bakteri akan bocor (Volk dan Wheeler, 1993). Demikian halnya dengan senyawa flavonoid, senyawa flavonoid memiliki 2 cara dalam membunuh bakteri yaitu dengan merusak membran sel bakteri dan mendenaturasi protein sel bakteri.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid dalam merusak membran sel bakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga membran sel bakteri rusak dan diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan dan akhirnya membran sel bakteri pecah (Black dan Jacobs, 1993). Selain itu, senyawa flavonoid memiliki kemampuan mendenaturasi protein sel bakteri dengan cara membentuk ikatan hidrogen kompleks dengan protein sel bakteri. Sehingga, struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil dan kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis

yang berakibat pada kematian sel bakteri (Harborne, 1987).

Mekanisme antibakteri senyawa saponin sebagai antibakteri memiliki 3 cara, yaitu menghambat permeabilitas membran sel, menghambat sintesis dinding sel dan menghambat sintesis protein dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen (Cannell, 1998 dalam Rinawati, 2011).

Tanin dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan 4 cara yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menginaktifkan adhesin dan enzim sel mikroba, mengganggu transport protein serta merusak dinding sel bakteri. Penghambatan sintesis asam nukleat dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Selain itu, tanin memiliki kemampuan untuk menginaktifkan adhesin dan enzim sel mikroba, serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Menurut Sari (2011), tanin juga merusak dinding sel bakteri dengan cara meracuni polipeptida dinding sel, hal ini menyebabkan terjadinya tekanan osmotik maupun fisik sel bakteri sehingga sel bakteri akan mati. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi tanin bekerja dengan membentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri sehingga, protoplasma bakteri terkoagulasi (Wiryawan *et al.*, 2000).

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi 10 mg/ml pada ekstrak metanol daun kenikir sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yaitu sebesar 9,5

mm. Pelczar dan Chan (1988) juga menjelaskan bahwa antimikroba yang baik adalah dalam keadaan konsentrasi yang rendah sudah mampu menghambat mikroorganisme. Menurut Lay (1992), bahan antimikroba bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Dengan demikian, ekstrak metanol daun kenikir memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Hal ini ditunjukkan oleh masih adanya zona bening disekitar cakram yang berisi ekstrak dalam jangka waktu penyimpanan selama 3 hari. Sehingga untuk dapat diaplikasikan, perlu meningkatkan konsentrasi ekstrak metanol daun kenikir agar dapat menyamai kemampuan antibiotik kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif yang terlarut dalam ekstrak metanol daun kenikir adalah fenol, flavonoid, saponin, dan tanin. Selain itu, ekstrak metanol daun kenikir memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Daya antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak metanol daun kenikir pada konsentrasi 30 mg/ml sebesar 24,2 mm

## DAFTAR PUSTAKA

Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal*

- of Biodiversitas. Volume 8, No. 3.
- Amir, S., A. Setiawati, A. Muchtar, A. Arif, B. Bahry, D. Tirza, H. R. Dewoto dan L. Darmansjah. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru.
- Arias, Kathleen Meehan. 2003. *Investigasi dan Pengendalian Wabah di Fasilitas Pelayanan Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Black, J. M. and E. M. Jacobs. 1993. *Medical Surgical Nursing*. 4th edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Cook, G.C. 2003. *Problem Gastroenterologi Daerah Tropis*, Alih Bahasa: Anna P. Bani. Jakarta: EGC.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*.
- Daulat, Patil G. dan Nikam Shashikant V. 2013. In Vitro Antimicrobial, Antioxidant Activity, and Phytochemical Analysis of *Cosmos caudatus* (Wild Cosmos). *Universal Journal of Pharmacy*, 02 (06) Nov-Dec 2013.
- Depkes RI. 2005. Manajemen Laktasi: *Buku Panduan bagi Bidan dan Petugas Kesehatan di Puskesmas*. Dit. Gizi Masyarakat-Depkes RI. Jakarta.
- Ganiswarna, V.H.S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi ke-4, Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Hariana, Arief. 2005. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Harrison. 2000. *Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi 13, Volume 3. Jakarta: EGC.
- Lawrence, C. A. and S. S. Block. 1968. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Lay, B.W. dan Huston. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Naidu, A. S. dan R. A. Clemens. 2000. *Natural Food Antimicrobial Systems*. LCC: CRC Press.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 –37.
- Parhusip AJN, 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* D.C.) terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Disertasi*. Tidak Dipublikasikan. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Rinawati ND, 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November.
- Sari, R. dan Isadiartuti, D. 2011. Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(4).
- Utami Prapti dan Desti Ervira Puspaningtyas. 2013. *The Miracle of Herbs*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Volk, W.A, dan Wheeler, MF. 1993. *Mikrobiologi Dasar*, Jilid I, Alih bahasa: Markam, Jakarta: Erlangga.

- Wiryan, K.G., B. Tangendjaja & Suryahadi. 2000. Tannin degrading bacteria from Indonesian ruminants. In: J.D. Brooker (Ed.). Tannins in Livestock and Human Nutrition. ACIAR Proceedings.
- Zakaria, Z.A, E.N.H, dkk. 2007. In Vitro Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi L. Leaves and Fruits Extracts. *International Journal of Tropical Medicine*.



