

UJI SENSITIVITAS EKSTRAK DAUN COCOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Astri Pinilih¹, Hidayat²

ABSTRAK

Staphylococcus aureus adalah salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada manusia. Sekarang ini telah banyak ditemukan obat-obat antibiotik yang sudah resisten terhadap *Staphylococcus aureus*. Cocor bebek diketahui sebagai tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengobati penyakit infeksi, salah satunya penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun cocor bebek terhadap *staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi 0% (kontrol), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun cocor bebek terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bersifat *Eksperimen Laboratory* (penelitian laboratorium) dengan menggunakan metode difusi agar. Penelitian ini menunjukkan bahwa Ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 30% sampai 100%. Pada uji statistik one way ANOVA ($p < 0,05$) didapatkan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi. Dan ekstrak daun cocor bebek memiliki daya hambat minimal pada konsentrasi 30%. Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun cocor bebek memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan memiliki konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi 30%

Kata Kunci : Daya Hambat, Daun cocor bebek, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus yang tersusun berkelompok seperti buah anggur dengan diameter 0,8-1,0 mikron, non motil dan tidak berspora. *Staphylococcus aureus* juga merupakan flora normal dalam kulit dan hidung. *Staphylococcus aureus* juga dapat bersifat patogen dan dapat menyebabkan infeksi seperti osteomielitis, meningitis, endokarditis.¹

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia. Pada kasus infeksi *Staphylococcus sp*, bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi adalah strain *Staphylococcus aureus*, dimana bakteri ini mampu menginfeksi manusia dan hewan. *Staphylococcus aureus* termasuk flora normal kulit tetapi pada kondisi tertentu dapat menimbulkan infeksi, bervariasi dalam beratnya mulai dari keracunan makanan atau infeksi berat

yang mengancam jiwa.^{1,25} Sekarang ini telah banyak ditemukan obat-obat antibiotik yang sudah resisten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* salah satunya penicillin.¹ Penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik.^(1,3)

Dengan ditemukannya obat-obat antibiotik yang sudah resisten maka penggunaan obat tradisional merupakan jalan alternatif untuk mengatasi berbagai penyakit infeksi, salah satunya penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.⁽⁴⁾ Menurut UU No. 23 tahun 1992 tentang kesehatan, obat tradisional adalah bahan atau ramuan berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman.

-
1. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati
 2. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati

3. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati

Sediaan obat tradisional yang digunakan masyarakat yang saat ini disebut sebagai Herbal Medicine atau Fitofarmaka yang perlu diteliti dan dikembangkan. Menurut Keputusan Menkes RI No. 761 tahun 1992, Fitofarmaka adalah sediaan obat yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya, bahan bakunya terdiri dari simplisia atau sediaan galenik yang memenuhi persyaratan yang berlaku. Pemilihan ini berdasarkan atas bahan bakunya relatif mudah diperoleh, didasarkan pada pola penyakit di Indonesia, perkiraan manfaatnya terhadap penyakit tertentu cukup besar, memiliki rasio resiko dan kegunaan yang menguntungkan penderita, dan merupakan satu-satunya alternatif pengobatan.(8)

Cocor bebek merupakan salah satu tanaman hias yang sangat mudah dibudidayakan dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena memiliki khasiat antipiretik, antiinflamasi dan antimikroba.4 Cocor bebek mengandung *kaemferol 3-glukosida*, *asam kafeoat*, *briofilin*, *bufadienolida* dan *senyawa fenol* sebagai metabolit sekunder yang beraktivitas sebagai antimikroba.4,5 Ekstrak daun cocor bebek ini akan dibuat secara maserasi menggunakan pelarut etanol, dimana etanol lebih baik di tinjau dari segi keamanan dan harga dibandingkan dengan metanol yang lebih toksik dan mahal.6 Berdasarkan penelitian sebelumnya (Ratih Pramuningtyas, 2009), ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) memiliki aktifitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*.23 Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik untuk mengadakan penelitian tentang Uji Sensitifitas Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *Eksperimen Laboratory* (penelitian laboratorium) dengan metode *post test only control group design*. Dalam desain ini intervensi dilakukan terlebih dahulu, lalu dibandingkan dengan kelompok

kontrol, selanjutnya dilakukan observasi dan analisa. Intervensi dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan ekstrak daun cocor bebek dengan konsentrasi tertentu.21

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan *postest only control group design*. Rancangan ini juga merupakan eksperimen sungguhan, pada rancangan ini tidak diadakan pretest. Dengan rancangan ini, memungkinkan peneliti mengukur pada kelompok yang diberi perlakuan dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap(RAL) karena kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol dianggap homogen. 21

Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah ekstrak daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*). Ekstrak daun cocor bebek dibuat dengan konsentrasi 0% (kontrol), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.

Populasi Penelitian

Populasi penelitian yang diteliti adalah biakan murni *Staphylococcus aureus*, yang diambil dari stok kultur murni yang telah disediakan oleh Laboratorium mikrobiologi, UPTD Balai Kesehatan Provinsi Lampung

Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah biakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah ditanam dalam *Media Muller Hinton Agar*

Teknik Sampling

Pengambilan sampel dilakukan secara purposive sampling. Sampling diambil dengan menggunakan rumus Federer22, sebagai berikut:

$$T(r - 1) \geq 15$$

Keterangan:

T: Jumlah perlakuan

r : Jumlah pengulangan

Cara perhitungannya :

$$T(r - 1) \geq 15$$

$$10(r - 1) \geq 15$$

$$10r - 10 \geq 15$$

$r \geq 3$

Dengan ini peneliti memilih untuk menggunakan minimal 3 kali pengulangan

Variabel Penelitian

Variabel mengandung pengertian ukuran atau ciri yang dimiliki oleh anggota-anggota suatu kelompok yang berbeda dengan kelompok lain. Variabel penelitian ini adalah: 21 Variabel independen : ekstrak daun cocor bebek
Variabel dependen : zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*

Definisi Operasional

Definisi operasional adalah suatu definisi yang diberikan kepada suatu variabel dengan cara memberikan suatu operasional yang diberikan untuk mengukur variabel tersebut. Definisi operasional sangat diperlukan untuk membatasi ruang lingkup atau pengertian variabel-variabel yang diamati atau diteliti.²¹

Tabel 3
Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Ekstrak daun cocor bebek	Ekstrak daun cocor bebek yang sudah dilarutkan dengan menggunakan pelarut Etanol 96% dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%	Pipet tetes	Jumlah larutan sesuai konsentrasi pada setiap tabung	Rasio
2	Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i>	Daerah disekeliling kertas cakram yang telah diberi ekstrak daun cocor bebek menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri uji	Jangka sorong	Luas diameter Zona Hambat (mm)	Nominal

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat yang biasa di pakai di laboratorium mikrobiologi, seperti lemari pengeram (inkubator), autoklaf, rak dan tabung reaksi, lidi kapas steril, ose bulat atau ose lancip, erlenmeyer, kasa steril, pipet ukur, plat diameter 15 cm, lampu spirtus, penggaris atau jangka sorong

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun segar cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*), bakteri uji yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari Laboratorium Daerah Provinsi Lampung, media muller hinton yang digunakan untuk menguji daya antibakteri daun cocor bebek, NaCl

fisiologis 0,9 %, Etanol 96%, aquadest steril

HASIL Hasil Penelitian

Hasil pengamatan uji Sensitivitas ekstrak daun cocor bebek terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar pada media MHA dapat dilihat pada tabel 2.

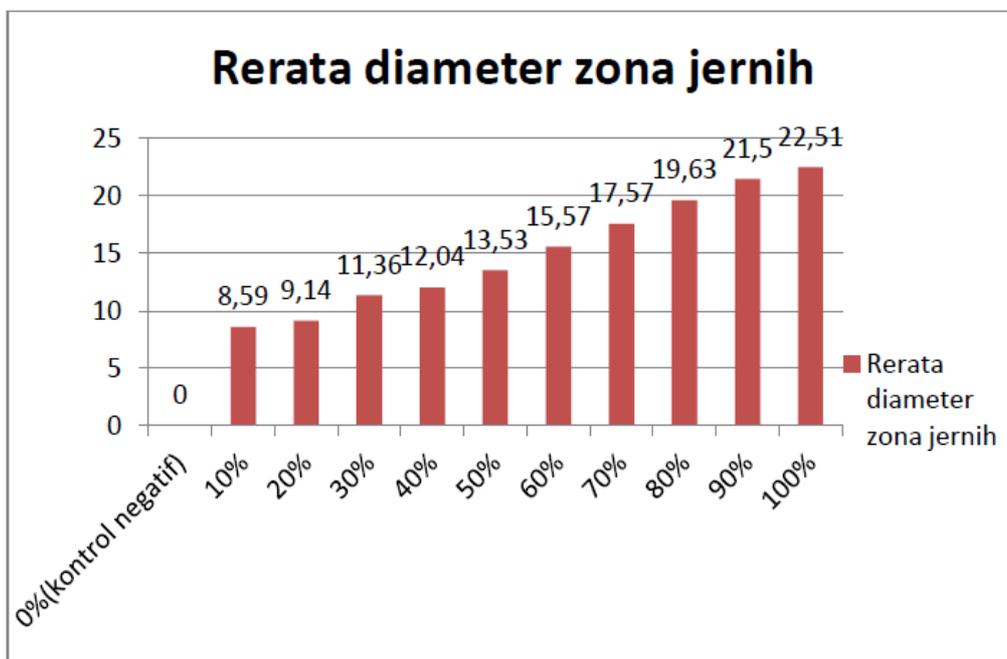
Pada tabel 2 diatas menunjukkan gambaran diameter zona jernih yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun cocor bebek. Rerat diameter zona hambat pada konsentrasi 100% sebesar 22,51 mm, pada konsentrasi 90% sebesar 21,50 mm, pada konsentrasi 80% sebesar 19,63 mm, pada konsentrasi 70% sebesar 17,57 mm, pada konsentrasi 60% sebesar

15,57 mm , pada konsentrasi 50% sebesar 13,53 mm , pada konsentrasi 40% sebesar 12,04 mm, pada konsentrasi 30% sebesar 11,36 mm, pada konsentrasi 20% sebesar 9,14 mm, pada konsentrasi 10% sebesar 8,59 mm, dan

pada konsentrasi 0%(kontrol) tidak terdapat zona jernih. Dapat dilihat juga histogram nilai rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada gambar 1.

Tabel 2
Diameter zona jernih ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi %	Diameter Zona Jernih (mm)				
	P1	P2	P3	Rata-rata	SD
100	22,65	22,84	22,04	22,51	0,418
90	21,15	21,79	21,56	21,50	0,324
80	19,48	19,28	20,15	19,63	0,456
70	17,14	17,69	17,88	17,57	0,384
60	15,72	15,20	15,79	15,57	0,322
50	13,25	13,89	13,20	13,53	0,385
40	11,20	12,14	12,78	12,04	0,795
30	11,58	10,96	11,55	11,36	0,35
20	9,68	9,02	8,72	9,14	0,491
10	9,25	8,12	8,42	8,59	0,585
0(kontrol)	0	0	0	0	0



Grafik 1. Histogram nilai rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Hasil respon daya hambat menurut greenwood dapat dilihat pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* tabel berikut:

Tabel 3
Klasifikasi respon daya hambat ekstrak daun cocor bebek terhadap *Staphylococcus aureus* menurut Greenwood(26)

Konsentrasi	Diameter Zona Jernih Rata-rata	Respon Daya Hambat
10%	8,59, mm	Tidak ada
20%	9,14 mm	Tidak ada
30%	11,36 mm	Lemah
40%	12,04 mm	Lemah
50%	13,53 mm	Lemah
60%	15,57 mm	Lemah
70%	17,57 mm	Sedang
80%	19,63 mm	Sedang
90%	21,50 mm	Kuat
100%	22,51 mm	Kuat

Pada tabel 3 Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan mikroba menurut Greenwood, dapat disimpulkan bahwa zona hambat ekstrak daun cocor bebek pada konsentrasi 10%, dan 20% diklasifikasikan tidak ada respon hambat pertumbuhan, pada konsentrasi 30%, 40%, 50% dan 60% diklasifikasikan ke dalam respon hambat pertumbuhan lemah, pada konsentrasi 70% dan 80% diklasifikasikan ke dalam respon hambat pertumbuhan sedang, dan konsentrasi 90% dan 100% diklasifikasikan ke dalam respon hambat pertumbuhan kuat.

Hal ini sesuai dengan pendapat Greenwood, bahwa diameter zona hambat 10-15 diklasifikasikan respon lemah, sedangkan diameter zona hambat 16-20 mm diklasifikasikan menjadi respon sedang, dan diameter zona hambat >20 mm diklasifikasikan menjadi respon kuat.(26)

Analisis Data

Uji one Way ANOVA dapat dilakukan apabila data memenuhi dua syarat, yaitu data terdistribusi normal dan varian data harus sama. Pada uji normalitas digunakan uji *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji varian data menggunakan uji homogenitas.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun cocor bebek dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat berdasarkan ukuran diameter zona

hambat yang terbentuk dan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri menurut Greenwood. Saat pengamatan hasil penelitian, terlihat zona hambat pada *Muler hinton* agar berupa daerah lingkaran jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* di sekitar cakram.

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa kadar hambat minimum terdapat pada konsentrasi 30%. Untuk dapat membunuh bakteri, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel bakteri. Etanol bersifat polar sehingga senyawa yang tersari relatif bersifat polar. Kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri.³⁴ Unsur kimia utama yang mempunyai aktivitas antimikroba dalam daun cocor bebek adalah senyawa *Flavonoid*, *tanin*, *asam sinamat* dan *bufadienolid*.^{15,16} Senyawa flavonoid dan tanin termasuk ke dalam senyawa fenol yang memiliki sifat sebagai antibakteri dengan cara menghambat metabolisme sel bakteri dan dapat menyebabkan denaturasi protein bakteri, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel, sehingga senyawa ini akan mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler dan akhirnya menyebabkan lisisnya sel bakteri. ¹⁷ Selain itu, senyawa asam sinamat memiliki aktivitas antibakteri sebagai antimikroba dengan cara menghambat sintesis protein

mikroba, penghambatan sintesis protein ini terjadi dengan berbagai cara. Salah satu diantaranya, antibakteri berikatan dengan komponen ribosom 30S yang menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri yang bersangkutan.³² Sedangkan bufadienolid menghambat sintesis asam nukleat bakteri, sel bakteri umumnya memerlukan

Para Amino Benzoat Acid (PABA) untuk sintesis asam folat yang diperlukan dalam sintesis protein dan asam nukleat, PABA memiliki struktur seperti sulfur, apabila penggunaan senyawa-senyawa yang mengandung sulfur menang bersaing dengan PABA maka akan menghasilkan asam folat yang tidak berfungsi dalam proses sintesis protein dan asam nukleat.^{1,15} Pada penelitian sebelumnya (Ratih Pramuningtyas, 2009) ekstrak daun cocor bebek terbukti memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dimulai pada konsentrasi 40% sampai 100%. Hal ini membuktikan bahwa penelitian ini sesuai dengan yang dilakukan sebelumnya bahwa ekstrak daun cocor bebek memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*.²³

Dari hasil penelitian juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna berdasarkan uji *One Way ANOVA*. Dari konsentrasi 10% sampai 100% , terbentuk zona hambat dengan ukuran yang berbeda-beda. Dengan demikian penggunaan ekstrak daun cocor bebek dapat digunakan sebagai bahan obat karena senyawa yang terdapat pada daun cocor bebek efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian uji sensitivitas ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dapat diambil simpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak daun cocor bebek terhadap

Staphylococcus aureus adalah pada konsentrasi 30%

SARAN

1. Disarankan pada penelitian selanjutnya, menggunakan perbandingan dengan daun lain selain daun cocor bebek untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*
2. Disarankan pada penelitian selanjutnya menggunakan metode ekstraksi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jawetz M. Elnick, Adelberg's. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23. Rina saidah, penerjemah: Jakarta: buku kedokteran EGC. 2008
2. Sujudi H. *Mikrobiologi Kedokteran FKUI*. Jakarta: Bina Rupa Aksara. 2012
3. Todar, K.U. *Staphylococcus aureus I Todar's online Textbook of Bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. 2005. <http://www.textbookofbacteriology.net> (diunduh 27-11-2012)
4. Kistanti H. *Obat-obatan Herbal Ramuan Herbal Pusaka Penyembuh 101 Penyakit*. Cetakan 1, Yogyakarta: Salam media. 2012
5. Departemen Kesehatan Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. *Investaris Tanaman Obat Indonesia*, Jakarta. 1999
6. Harborne JB. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinata K, penerjemah: Bandung: ITB. 1987
7. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Tanaman Obat Indonesia*. Jilid II, Jakarta. 1999
8. Zein, U. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat Dalam Upaya Pemeliharaan Kesehatan*. E-USU Repository. 2005. (<http://library.usu.ac.id/download/fk/penydalam-umar7.pdf>, diunduh 20-10-2012)
9. Irianto, K. *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme*. Jilid II, Bandung: CV Irama Widya. 2007
10. Pelczar. M.J dan E.C.S.chan. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. UI press. Jakarta. 1998

11. Warsa, U.C. *Staphylococcus aureus dalam buku ajar mikrobiologi kedokteran*. edisi revisi. Jakarta: binarupa aksara. 1994
12. Sianipar, Martua suhunan, Drs,MS, dkk. 2. *Keefektifan Ekstrak Kasar Daun Cocor Bebek Terhadap Ulat Daun Tembakau*. Sripsi Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran. Bandung.2004
13. Arisandi, Y. dan A. Yovita. *Tanaman Obat Plus Pengobatan Alternatif*. Setia kawan. Jakarta. 2010
14. Redaksi Agromedia. *Memfaatkan Pekarangan Untuk Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: agromedia.2010
15. Kumar ,S. *Literature Review On Pharmacological Potentials Of Kalanchoe pinnata (Crassulaceae)*.Academicjournals.2011 [file:///C:/Users/USER/Download/Literature on review Pharmacological potentials of Kalanchoe pinnata_Crassulaceae.htm](file:///C:/Users/USER/Download/Literature%20on%20review%20Pharmacological%20potentials%20of%20Kalanchoe%20pinnata%20Crassulaceae.htm) (diunduh 10-11-2012)
16. Hembing wijayakusuma. *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*. Jakarta: kartini. 2004
17. Lisia margaret. *Isolasi Dan Karakterisasi Salah Satu Senyawa Antiseptik Dari ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek*. Skripsi fakultas farmasi universitas pancasila. 2007
18. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. 2000
19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. 2000
20. Arbianti R, dkk. *Ekstraksi Daun Sambilo Dengan Metode Sonikasi dan Pengaruhnya Pada Kenaikan Indeks Bias dan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Stapylococcus aureus*. Skripsi Universitas Indonesia Fakultas Teknik Kimia. Jakarta. 2005
21. Notoatmodjo S. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta. 2010
22. Federer, W.T. *Experiment Design : Theory And Applications*. Oxford and LBH Publising Co. New Delhi. 1974
23. Pamuningtyas R. *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (Kalanchoe pinnata) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Secara In Vitro*. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta . Surakarta. 2009
24. Hasdianah. H.R. *Mikrobiologi Untuk Mahasiswa Kebidanan, Keperawatan Dan kesehatan Masyarakat*. Yogyakarta: Nuha Medika. 2012
25. Kelly H,dkk. *Pengenalan Dan Penyembuhan Penyakit-Penyakit Yang disebabkan Oleh Bakteri Dan Virus*. Yogyakarta: Pal Mall. 2009
26. Greenwood, D, dalam rimi novalia. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Rimpang Temu Lawak (Curcuma xanthorrhiza) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. 2008
27. Ditjen POM. *Farmakope indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. Hal: 896
28. IPTEKnet. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta.2005. file:///C:/Users/USER/Downloads/litbang_sosor_bebek.htm. diunduh (10-11-2012)
29. Sari R, isadiartuti D. *Studi Efektifitas Sediaan gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (Piper betle linn)*. Majalah Farmasi Indonesia. 2006; 17 (4) : 163
30. Soemarno, H.B. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. Yogyakarta: Akademi analisis Kesehatan. 2004. Hal: 38-39
31. Waluyo, L. *Teknik Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: UPT penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang. 2008
32. Duke, J.A. DR. *Duke's Phytochemical and Ethobotanical Databases*. 2004. <http://www.ars-grin.gov/duke>. (diunduh 20-02-2013)
33. Hastono, Susanto Priyo. *Modul Analisis Data*. Depok. FKM UI. 2010. Hal 56-111
34. Hugo,W.B, and Russell,A.D. 1998. *Pharmaceutical Microbiology*, sixth edition. Blackwell Science. Oxford. Page 124

