

Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*

Nunung Safriana^{*)}, Orryani Lambui, Ramadanil

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

^{*)}Koresponden Author : safriana_nunung@yahoo.co.id

ABSTRACT

The research about inhibition test of leaf extract of *Piper aduncum* L. to the growth of bacteria *Streptococcus mutans* have been conducted during periods of July to December 2016, on aim of this research was to study the inhibition test from leaf extract of *P. aduncum* L. the growth of the bacteria *S. mutans* and the amount of compound contained in the leaf of *P. aduncum* L. The extraction method was used is maseration method and testing of the inhibition of the extract to the bacteria *S. mutans* by disc diffusion method. This research is compiled in a completely randomized designed (CRD) with 6 treatments and 3 replications. The treatments were leaf extract concentration 30%, 45%, 60%, 75%, antibiotic *Tetracycline hydrochloride* 5% as the positive control and negatif control aquades. The results showed that the concentrations of leaf extract 75% produced the greatest inhibition zone is 13,1 mm. this indicates tha the leaf extract of *P. aduncum* L. have inhibitory better. Phytochemical screening results showed that there were compound flavonoid, tannin, saponin and alkaloid that can inhibit the growth of bacteria.

Key word : Leaf extract of *Piper aduncum* L., *Streptococcus mutans*.

PENDAHULUAN

Permasalahan utama dalam penyakit gigi yang dapat mengganggu aktivitas sehari-hari ialah karies gigi. Penyakit karies gigi merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yang diawali akibat pertumbuhan koloni mikroorganisme pada permukaan rongga mulut (Pratiwi, 2008). Penyakit karies gigi menyebabkan kerusakan bahan organik serta dapat menimbulkan rasa ngilu, yang ditandai dengan terjadinya demineralisasi pada jaringan keras gigi. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri

penyebab awal proses karies gigi yang banyak ditemukan di rongga mulut (Angela, 2005).

Berbagai cara yang dilakukan untuk mencegah karies gigi, salah satunya dengan penggunaan obat kumur antiseptik (Sumono dan Wulan, 2009). Dalam bidang pengobatan antibiotik, saat ini sudah banyak bakteri yang resisten terhadap obat antibiotik. Sebagai alternatif dari penggunaan antibiotik tersebut, bisa digunakan antibakteri yang berasal dari alam (Salleh, 1997). Salah satu tanaman

obat yang banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal adalah *Piper aduncum* L. atau dalam bahasa lokal (Kulawi) biasa disebut “Kayu Una-una” atau “Kayu Colo” termasuk dalam family Piperaceae.

Daun *P. aduncum* L. berkhasiat sebagai obat sakit bisul dan obat luka baru. Ekstrak sirih hutan (*P. aduncum* L.) juga memperlihatkan aktivitas yang signifikan sebagai antibakteri melawan *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* dan *Escherichia coli* (Orjala, et al., 1993). Daun *P. aduncum* L. ini masih kurang dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Tengah, sehingga untuk memberikan nilai tambah dan manfaat pada tumbuhan tersebut dilakukan penelitian khususnya mengenai kemampuan tumbuhan ini sebagai antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak daun sirih hutan terhadap pertumbuhan dari bakteri *S. mutans* erta 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, *lamina 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. mutans* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah, medium Nutrien Agar (NA), medium *Nutrient Broth* (NB), *Tetrasiklin HCl* 5 %, 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. mutans* dengan masing-masing konsentrasi ekstrak yang berbeda dan dilakukan uji daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan sebelumnya dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan. Cawan petri dibungkus dengan kertas, untuk alat-alat gelas (tabung reaksi, gelas ukur, gelas kimia, dan erlenmeyer) ditutup mulutnya dengan kapas steril lalu dibungkus

dengan aluminium foil. Kemudian pinset, jarum ose disterilkan dengan cara flambir/pemijaran, untuk media NA, NB, NaCl fisiologis dimasukkan dalam erlenmeyer dan disumbat dengan kapas dan ditutup dengan aluminium foil. Semua alat dan bahan disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit (Meliawaty, 2012).

b. Pengambilan sampel daun tumbuhan *Piper aduncum* L.

Pengambilan 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 tumbuhan *P. aduncum* L. menggunakan metode maserasi mengacu dari cara kerja Maija (2015), sebab struktur sampel daun yang cukup lunak. Membersihkan daun terlebih dahulu (sortasi basah), kemudian mencucinya dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya merajang daun tersebut sampai berukuran kecil dan kemudian menimbanginya sehingga diperoleh berat

basah yang diperlukan. Mengeringkan hasil rajangan daun dengan menggunakan oven padasuhu 40° C selama ± 8 jam. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kandungan air dari simplisia, sehingga mencegah tumbuhnya jamur. Setelah proses pengeringan, daun kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering yang diperlukan.

Menghaluskan sampel daun menggunakan blender dan mengayaknya menggunakan mesh 40 sehingga diperoleh berat simplisia yang diperlukan. Merendam simplisia daun tersebut menggunakan pelarut alkohol 70 % sebanyak 2 L selama 5 hari. Selanjutnya menyaring ekstrak dengan menggunakan kertas saring dan melakukan pemisahan antara zat pelarut dan senyawa aktif hasil ekstraksi dengan menggunakan alat rotari evaporator (Depkes RI, 2000).

d. Pembuatan stok ekstrak

Pembuatan stok ekstrak daun *Piper aduncum* L. mengacu pada kerja Permatasari (2014) yaitu dengancarapengencerankonsentrasiektst rak menggunakan pelarut Na-CMC 1 % yang terdiri dari 3 konsentrasi yaitu 30 %, 45%, 60 % dan 75%. Pada setiap seri konsentrasi dibuat dalam 10 ml stok dengan jumlah ekstrak masing-masing secara berturut-turut sebesar 3 g, 4,5 g, 6 g dan 7,5 g.

e. Pembuatan Suspensi Bakteri *Streptococcus mutans*

Biakan murni bakteri *S. mutans* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah. Bakteri yang akan digunakan, dilakukan peremajaan kembali (kulturisasi), yaitu dengan cara memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru yakni dari medium NA miring yang diambil 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam medium NB sebagai media pemupuk/penyubur yang berguna untuk pertumbuhan bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam, setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat dengan menggunakan larutan NaCl fisiologi 0,9%.

f. Penentuan Jumlah Populasi Bakteri dengan Pengenceran Bertingkat

Pengenceran bertingkat ini dilakukan dengan cara sampel yang mengandung bakteri dimasukkan ke dalam tabung pengenceran pertama (1/10 atau 10^1) secara aseptis. Perbandingan sampel dengan volume tabung pertama adalah 1 : 9. Setelah sampel masuk lalu dihomogenkan. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama. Pengenceran bertingkat bertujuan untuk mengurangi jumlah koloni bakteri yang tersuspensi dalam cairan. yang dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi steril

yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9%. Menginokulasikan suspensi yang mengandung bakteri ke dalam NaCl fisiologis dengan perbandingan 1 : 9 sehingga kandungan bakteri pada pengenceran pertama sebesar 10^{-1} kemudian memindahkannya ke seri pengenceran 10^{-2} secara aseptis. Pemindahan dilanjutkan hingga seri pengenceran terakhir yaitu 10^{-5} dengancara yang sama. Kemudian mengambil sebanyak 1 ml suspense bakteri yang sudah diencerkan pada seri pengenceran 10^{-5} yang selanjutnya dipindahkan ke cawan petri dan menuangkan media NA sebanyak 20 ml (metode *pour plate*) setelah itu diinkubasi selama 24 jam. Kemudian dilakukan perhitungan populasi bakteri pada tiap cawan petri dengan menggunakan *Colony counter*. Maka diperoleh hasil perhitungan berdasarkan rumus metode *Plate count* pada tabung pengenceran terakhir yaitu sebesar $1,9 \times 10^7$ CFU/ml

g. Uji daya hambat

Uji daya hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S.mutans* dengan konsentrasi 30%, 45%, 60%, 75%, kontrol positif *Tetrasiklin HCl* 5% dan kontrol negatif aquadest, menggunakan metode *difusi disc* 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. mutans* menggunakan pipet mikro dan diratakan menggunakan kapas lidi steril (Teknik *Spread Plate*), 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 *Tetrasiklin HCl* 5% 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.

h. Pengamatan Zona Hambat

Pengamatan zona hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada masing-masing cawan petri dilakukan setelah masa inkubasi. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zonahambat yang terbentuk di sekitar kertas *whatman* dengan menggunakan jangka sorong.

i. Analisa Data

Data kuantitatif yang diperoleh dari pengukuran kemudian akan dianalisis secara statistik menggunakan software statistik SPSS dengan program One Way Anova. Data yang diperoleh menunjukkan perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Skrining Fitokimia

Proses skrining fitokimia mengacu pada cara kerja Galeb *et al* (2014), yaitu untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun *P. aduncum* L. dimana senyawa yang diujikan ialah flavonoida, saponin, tanin dan alkaloid dengan cara 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, 2008).

b. Saponin

Ekstrak daun *P. aduncum* L. ditimbang sebanyak 0,5 g, kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan air dan dipanaskan di *water bath*. 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 (Resmi, 2011)

HASIL

A. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes RI, 2000). Hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

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

No	Perlakuan	Hasil Timbangan
1	Membersihkan daun (sortasi basah), mencucinya dengan air mengalir. Merajang daun tersebut sampai berukuran kecil	Daun segar yang ditimbang sebesar 2.000 g (berat basah)
2	Mengeringkan menggunakan oven pada suhu 40° C selama ± 8 jam	Daun kering yang ditimbang sebesar 1.500 g (berat kering)
3	Menghaluskan daun menggunakan blender dan mengayak menggunakan mesh 40	Serbuk simplisia sebesar 600 g
4	Merendam simplisia dengan alkohol 70% sebanyak 2 L selama 5 hari. Menyaring ekstrak dengan kertas saring dan melakukan pemisahan antara zat terlarut dan pelarut menggunakan rotary evaporator	Ekstrak kental sebesar 61,68 g

Dari hasil uji skrining fitokimia terkandung beberapa senyawa antibakteri pada ekstrak daun *P. aduncum* L. dapat dilihat pada Tabel 2.

B. Uji Zona Daya Hambat

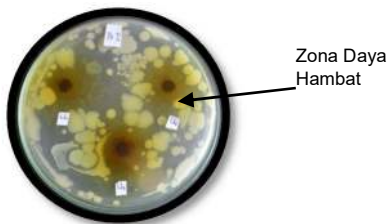
Pengujian daya hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan

bakteri *S. mutans* dengan menggunakan metode *difusi disc* 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.

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

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

ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* yang disajikan pada Gambar 2.

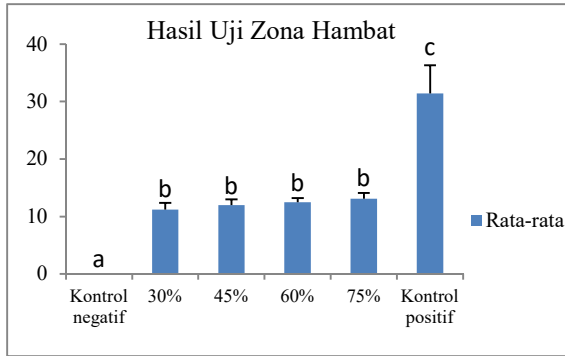


Gambar 1. Zona Daya Hambat yang Terbentuk pada konsentrasi ekstrak 75% terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Berdasarkan uji statistik dengan menggunakan one way anova maka diperoleh grafik dari hasil uji daya hambat

PEMBAHASAN

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk membunuh bakteri adalah *P. aduncum* L., dimana ekstrak daun *P. aduncum* L. dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* penyebab karies gigi. Ekstrak daun *P. aduncum* L. merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung minyak atsiri serta memiliki aktivitas antibakteri dan anti jamur yang kuat.



Gambar 2 Grafik zona hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Batang grafik yang diikuti oleh huruf yang sama menyatakan tidak ada perbedaan yang nyata. Nilai grafik yang ditunjukkan adalah nilai rata-rata \pm standar deviasi.

Daun *P. aduncum* L. diekstraksi menggunakan metode maserasi melalui proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan dan pengadukan pada temperatur ruangan/suhu kamar (Depkes, 2000). Hasil ekstraksi seperti yang terlihat pada Tabel 1. menunjukkan ekstrak kental yang diperlukan sebesar 61,68 g.

Pada uji daya hambat ekstrak daun *P. aduncum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* menggunakan 4 konsentrasi ekstrak yaitu 30%, 45%, 60% dan 75%. Kontrol positif yakni *Tetrasiklin hidroklorida* 5% dan kontrol negatif menggunakan aquades. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *P. aduncum* L. mampu menghambat

pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada konsentrasi 30%, 45%, 60%, 75% dan kontrol positif (*Tetrasiklin hidroklorida* 5%) yang ditandai dengan terbentuknya zona daya hambat disekitar kertas saring seperti yang terlihat pada Gambar 1 Berdasarkan hasil pengamatan, zona hambat yang paling kecil terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi 30% yaitu 11,2 mm sedangkan zona hambat yang paling besar terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi 75% yaitu 13,1 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *P. aduncum* L. memiliki aktivitas antibakteri disebabkan adanya beberapa kandungan senyawa antibakteri didalamnya. Namun demikian zona hambat tersebut masih lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat yang terdapat pada kontrol positif (*Tetrasiklin hidroklorida* 5%) yaitu 31,4 mm. Sedangkan untuk perlakuan kontrol negatif dengan menggunakan aquades, tidak menunjukkan adanya zona daya hambat. Hal tersebut dikarenakan aquades tidak memiliki aktivitas antibakteri. Menurut penelitian sebelumnya (Wahyuni dan Harlis, 2008) bahwa ekstrak dari daun sirih ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridians*.

Hasil pengamatan tersebut memperlihatkan bahwa setiap konsentrasi ekstrak daun *P. aduncum* L. memiliki ukuran diameter zona hambat yang berbeda-beda pada tiap ulangnya. Terjadinya perbedaan diameter zona hambat seiring dengan

meningkatnya konsentrasi yang digunakan pada proses pengujian, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin luas pula zona daya hambat yang terbentuk. Menurut Permatasari *et al* (2013), salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba yaitu konsentrasi bahan antimikroba. Semakin tinggi bahan antimikroba, maka semakin tinggi pula daya hambat yang terbentuk. Selain itu kemungkinan juga disebabkan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ataupun konsentrasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak (Prescott, 2005).

Uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan. Uji Duncan digunakan untuk melihat perlakuan mana yang memiliki efek yang sama atau berbeda dan efek yang terkecil sampai efek yang terbesar antara satu dengan lainnya (Simanjuntak, 2008). Berdasarkan uji lanjut Duncan seperti yang terlihat pada Gambar.2 diameter zona hambat bakteri *S. mutans* dari beberapa konsentrasi ekstrak menunjukkan tidak ada perbedaan nilai yang signifikan antara konsentrasi 30%, 45%, 60% dan 75%. Secara statistik hal ini berarti konsentrasi ekstrak tersebut telah menunjukkan efek yang tidak berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan, efek antibakteri yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.*

mutans terlihat pada konsentrasi 75%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *P. aduncum* L. yang diberikan, maka semakin tinggi pula kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*. sehingga rata-rata diameter zona daya hambat akan mengalami peningkatan. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar and Chan (2005) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat pula.

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa metabolit sekunder. Hasil pengujian fitokimia yang terlihat pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun *P. aduncum* L. mengandung beberapa golongan senyawa aktif yang bersifat antibakteri antara lain flavonoida, tanin, saponin dan alkaloid. Perubahan warna dari hasil pengujian ini dapat dilihat pada pada Tabel 2. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat berefek sebagai antibakteri (Rahmawan, 2008). Secara umum flavonoida dan tanin merupakan senyawa polifenol. Senyawa fenol bersifat dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar and Chan, 1988). Adanya kandungan senyawa fenol yang terdapat pada ekstrak daun *P. aduncum* L. dipercaya dapat menghambat

pertumbuhan dari bakteri *S. mutans*, dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri *S. mutans* atau merusak membran sel bakteri *S. mutans*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun *Piper aduncum* L. dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
2. Konsentrasi ekstrak daun *Piper aduncum* L. yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah konsentrasi 75%.
3. Hasil analisis ekstrak daun *Piper aduncum* L. mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

Angela, A. (2005). Pencegahan primer pada anak yang beresiko karies tinggi. *Dental Jurnal*. Vol 38 (3), 130-4.

[Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.

Galeb, A, A., Ivan., Anam, S., dan Ramadanil. (2014), Uji fektivita sektrak daun dan akar tumbuhan *Harrisonia perforate* Merr. terhadap bakteri *Vibrio cholera*. *Jurnal of natural Science*. Vol 3 (3). Hal 331-340.

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.

Meliawaty, F. (2012). Efisiensi sterilisasi alat bedah mulut melalui inovasi oven dengan ozon dan infrared. *Jurnal Kristen Maranatha* (11) 2 : 146-147.

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.

Orjala, J., Erdelmeier, C.A.J., Wright, A.D., Rali, T. and Sticher, O. (1993). Five new prenylated-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. *Planta Med.*, 59(6) : 546-551.

Pelczar, Jr. M. J. dan Chan, E. C. S., (1988). Dasar-dasar mikrobiologi jilid 2, Alih Bahasa: Ratna Sri Hadioetomo dkk, UI Press, Jakarta.

Pelczar, Jr. M.J. dan Chan, E.C.S., (2005). Dasar-dasar mikrobiologi, Alih Bahasa: Ratna Sri Hadioetomo dkk, UI Press, Jakarta.

Permatasari, D. (2014). Uji daya hambat ekstrak batang tumbuhan *Harrisonia perforata* Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysentriae*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu.

Permatasari, G.A.A., Besung, I.N.K, dan Mahatmi, H. (2013). Daya hambat

- perasan daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli*. *J. Indonesia MedicusVeterinus*, Vol 2 (2). Hal 162-169.
- Pratiwi, T., S. (2008) Mikrobiologi farmasi. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Prescott, L. M. (2005). Microbiology. Mc. Graw-Hill, New York.
- 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 *Opuntiaelator* fruits and its effects in mice. University of Mysore, Karnataka. India.
- Resmi, M. (2011). Metode penelitian tanaman obat. WidyaPadjajaran, Antapani, Bandung.
- Salleh. (1997). Ethno botany, ethno pharmacognosy and documentation of malaysia medicinal and aromatic plants. Malaysia. Universiti Kerajaan Malaysia.
- Simanjuntak, M., R. (2008) Ekstraksi dan fraksinasi komponen ekstrak daun tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) serta pengujian efek sediaan krim terhadap penyembuhan luka bakar. Fakultas Farmasi USU. Medan.
- Sumono, A., dan Wulan, A. (2009). Kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha* W) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus* sp., Majalah Farmasi, Indonesia, 20(3), 112-113. Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Wahyuni, I., dan Harlis. (2008). Pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper bettle* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridians*. *Biospecies*. Vol 1 (1), 11-14.