

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN LALUMPA (*Melastoma malabathricum* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*

Mutmainnah*, Wahyu harso, Orryani Lambui

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

*Koresponding author :mutmainnahjuli1994@gmail.com

ABSTRACT

Vibrio cholera and *Staphylococcus aureus* are a gram negative and a gram positive bacteria respectively. Both of them can cause diseases in human. They have differences in their cell wall composition. Differences in both bacteria in the resistance to antibacterial compounds interesting to learn. The aim of this study was to observe inhibition of *Melastoma malabathricum* leave extract to the growth of *V. Cholera* and *S. aureus*. The study was conducted with Completely Randomized Design. The treatment was tested with 10%, 20%, 40%, 60%, 80% of leave extract concentration. Amoxicillin 2% and Na-CMC 1% were also treated as positif and negative control. Each treatments was repeated three times. Extract was obtained by maceration method. Extract was injected on bacterial growth medium by well diffusion method. The result showed that increasing extract concentration increased inhibition of growth to both bacteria. *V. cholera* tended to be more resistant than *S. aureus*.

Keywords: *Melastoma malabathricum* L., *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial

PENDAHULUAN

Melastoma malabathricum L. merupakan salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang banyak di manfaatkan masyarakat Asia. Masyarakat di Indonesia dan Malaysia, menggunakan daun dan akar dari tumbuhan ini untuk mengobati penyakit diare, mengatasi gangguan pencernaan

Valkenburg *et al.*,2002). Masyarakat di Desa Lero Kecamatan Sindue, Sulawesi Tengah memanfaatkan bagian daun tumbuhan *Melastoma malabathricum* L. ini secara tradisional untuk obat diare.

Melastoma malabathricum L.

merupakan salah satu tumbuhan obat yang memiliki berbagai kandungan kimia terutama pada bagian daunnya. Kandungan kimia yang dimiliki *M. malabathricum* L. antara lain saponin, flavonoid dan tannin (Funatogaw *et al*, 2004). Tumbuhan ini dapat mengobati penyakit diare, mengatasi

yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholerae* pada saluran pencernaan atau bagian dalam tubuh manusia yang telah terjadi infeksi. Selain itu, tumbuhan ini dapat pula mengobati bisul dan beberapa infeksi lainnya (radang

kelenjar dada, radang urat darah, saluran kencing) yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. (Howard & Daghlian, 2012). Berdasarkan hal tersebut tumbuhan *M. malabatricum* L. dapat digunakan sebagai anti bakteri pada bakteri gram positif dan gram negatif.

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram sehingga akan berwarna merah bila diamati dengan mikroskop, sedangkan gram positif akan akan berwarna ungu. Bakteri gram positif seperti *S. aureus* hanya mempunyai membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan sedangkan bakteri gram negatif memiliki sistem membran ganda dimana membran plasmanya diselimuti oleh membran luar permeabel. Bakteri ini mempunyai dinding sel tebal berupa peptidoglikan, yang terletak di antara membran dalam dan membran luar. Diantara kedua bakteri yang akan diteliti memiliki perbedaan komposisi dinding sel yang menyebabkan perbedaan kemampuannya dalam bertahan terhadap antibakteri (Syahrurachman dkk., 1993).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas ekstrak daun *M. malabathricum* L. terhadap pertumbuhan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* sehingga dapat dijadikan sebagai

acuan pengobatan herbal untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilakukan dari bulan Januari sampai Maret 2017 yang bertempat di Laboraturium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako dan Laboraturium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako.

Alat

Alat yang akan 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, hot plate, 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, alat tulis dan kamera.

Bahan

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu biakan bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, *Melastoma malabathricum* L, etanol 96%, aquades, HCl, media LB (*Luria Bertony*), media NA, FeCl₃, Na-CMC 1%, Amoxicillin, aluminium

foil, kertas saring, serbuk Mg, pereaksi Dragendorff, pereaksi mayer, dan NaCl fisiologis 0,9 %.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktorial. Faktor pertama adalah konsentrasi ekstrak daun *M. malabathricum* L. dan faktor kedua jenis bakteri. Kombinasi perlakuan yang akan diberikan dan Masing-masing unit perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan pada alat-alat yang akan digunakan sebelumnya dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan. Mulut tabung reaksi dan erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu dibungkus dengan aluminium foil, sedangkan untuk cawan petri dan pipet mikro dibungkus dengan kertas. Semua alat yang resisten kelembaban disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit

Pengambilan Sampel Daun *Melastoma malabathricum* L.

Pengambilan sampel daun tumbuhan *M. malabathricum* L. dilakukan di Desa Lero, Kecamatan Sindue, Kabupaten Donggala Provinsi Sulawesi Tengah. Pengambilan sampel di Desa Lero karena menurut masyarakat di Desa Lero daun *M. malabathricum* L. sering mereka gunakan sebagai obat anti diare pada daunnya.

Dalam pengambilan sampel daun yang dibutuhkan adalah daun yang tua.

Metode Ekstraksi Sampel Daun

***Melastoma malabathricum* L.**

Metode ekstraksi sampel daun *M. malabathricum* L. menggunakan metode meserasi, daun yang sudah diambil dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dicuci pada air yang mengalir sampai bersih, kemudian daun tersebut dirajang kecil-kecil. Selanjutnya hasil rajangan tersebut dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama \pm 8 jam. Menurut Katno dkk (2008) pengeringan dilakukan selama 8 jam pada suhu 40°C dengan jumlah kadar air kurang lebih 5%. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kandungan air dari simplisia, sehingga mencegah tumbuhnya jamur. Selanjutnya daun yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40, kemudian direndam menggunakan pelarut etanol 96%. Setelah itu hasil ekstraksi disaring dan langsung dipisahkan antara pelarut dengan ekstraknya dengan menggunakan rotary evaporator (Depkes RI, 2000).

Pembuatan suspensi Bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus*

Penelitian ini menggunakan biakan murni bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium

Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah. Bakteri yang akan digunakan, dilakukan peremajaan kembali sesuai dengan cara kerja Maija (2015) yaitu dengan cara membuat NA miring, dituang kedalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 9 ml. Kemudian memindahkan bakteri dari medium lama kemedium NA baru yang di ambil dengan menggunakan jarum ose dan disuspensikan kedalam medium LB sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri.

Penentuan Jumlah Populasi Bakteri (Pengenceran Bertingkat)

Pengenceran bertingkat bertujuan untuk mengurangi jumlah koloni bakteri yang tersuspensi dalam cairan, dengan cara menyiapkan 0,45 g dilarutkan kedalam aquades 50 ml, masing-masing tabung reaksi steril berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9 %. Suspensi yang mengandung bakteri diinokulasikan kedalam NaCl fisiologis dengan perbandingan 1 : 9 sehingga kandungan bakteri pada pengenceran pertama sebesar 10^{-1} kemudian dipindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis. Pemindahan dilakukan hingga tabung pengenceran terakhir yaitu 10^{-5} dengan cara yang sama (Tjahjadi, 2009). Menentukan jumlah populasi bakteri dengan menggunakan teknik *Pour Plate* (Agar tuang). Jumlah bakteri *V.cholerae* yang digunakan dalam perlakuan yaitu $1,5 \times 10^9$

CFU/ml dan *S.aureus* $1,05 \times 10^9$ CFU/ml (*colony forming unit/milimeter*).

Pembuatan Stok Ekstrak

Pembuatan stok konsentrasi ekstrak daun *M. malabathricum* L. mengacu pada kerja Galeb (2014) yaitu dengan cara pembuatan stock konsentrasi ekstrak menggunakan pelarut Na-CMC 1%, yang terdiri dari 5 konsentrasi yaitu 10%, 20%, 40 %, 60 % dan 80 %. Setiap seri konsentrasi dibuat dalam stok 10 mL dengan jumlah ekstrak secara berturut-turut sebesar 1 g, 2 g, 4 g, 6 g dan 8 g.

Pembuatan Media

Nutrient Agar (NA)

Menimbang bubuk NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 6 g kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 300 ml kemudian dididihkan menggunakan hotplate hingga larut, setelah itu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Nutrient Broth (NB)

Menimbang bubuk NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 0,26 g dan ditambahkan aquadest sebanyak 20 ml, media ini digunakan sebagai media pemupuk atau penyubur bakteri. Setelah itu dididihkan menggunakan hotplate, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

NaCl Fisiologis 0,9%

Menimbang NaCl fisiologis sebanyak 0,45 g kemudian dilarutkan

dengan aquadest sebanyak 50 ml sehingga diperoleh NaCl fisiologis 0,9%, kemudian dilakukan proses pengenceran bertingkat. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

Uji Daya Hambat

Dalam penelitian ini, pengujian daya hambat ekstrak daun *M. malabathricum* L. terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, kontrol positif dan kontrol negatif tiap masing-masing cawan petri. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Suspensi bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* pada larutan NaCl 0,9 % diambil sebanyak 1 ml dan dituangkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian medium NA padat di cairkan dengan cara dipanaskan di atas hot plate. Setelah itu 15 ml medium dituangkan ke cawan petri yang telah terisi dengan suspensi bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* dan dihomogenkan, kemudian dibiarkan hingga memadat. Setelah medium padat, pada medium yang telah bercampur dengan suspensi bakteri dibuat sumur dengan menggunakan pelubang steril dengan ukuran diameter 7 mm. Sumur tersebut diisi sebanyak 100 µl ekstrak daun tumbuhan *M. malabathricum* L., *Amoxicillin* 2% sebagai kontrol positif, serta kontrol negatif menggunakan larutan Na-CMC 1%.

Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

Pengamatan Zona hambat

Pengamatan zona hambat ekstrak daun *M. malabathricum* L. terhadap bakteri *V. cholerae* dan *S. aureus* pada masing-masing cawan petri dilakukan setelah masa inkubasi. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

Skrining Fitokimia



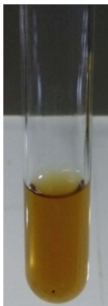

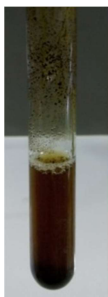
Uji Alkaloid

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

Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 0,5 g dicampur dengan aquades dan dilarutkan dengan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg, lalu ditambahkan HCl sampai berubah warna. Apabila terbentuk warna orange, merah, merah bata, atau kuning berarti menambahkan adanya Flavonoid (Depkes RI 2000).

Tabel. 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L.

Gambar	Uji	Warna	Hasil	Gambar	Uji	Warna	Hasil
	Alkaloid	Tidak terjadi perubahan warna	Negatif		Fenolik	Terjadi perubahan warna kehitaman	Positif
	Flavonoid	Terjadi perubahan warna kuning	Positif		Tanin	Terjadi perubahan warna kehitaman	Positif
	Saponin	Terbentuk buih	Positif				

Uji 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).

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak diaduk dengan 10 ml aquades, disaring dan ditambahkan reagen $FeCl_3$. Warna hijau/biru kehitaman

menunjukkan positif adanya tanin (Ramyashree *et al*, 2012)

Uji Fenolik

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan larutan $FeCl_3$ 1%, positif adanya fenolik jika terjadi perubahan warna hijau, merah ungu, biru/hitam (Resmi, 2011).

Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan Two Way Anove

menggunakan software SPSS pada taraf uji 5%. Apabila ada beda nyata diikuti oleh uji lanjut menggunakan DMRT.

HASIL

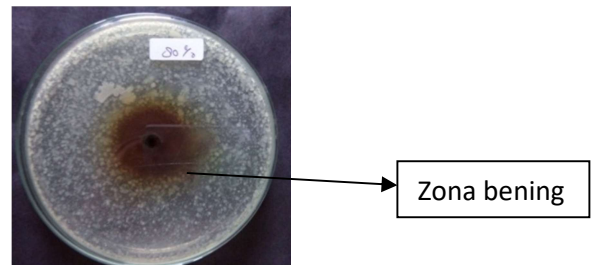
Skrining Fitokimia

Uji Zona Daya Hambat

Uji daya hambat ekstrak daun (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio Cholerae* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode sumur yang ditandai dengan adanya zona bening disekeliling sumur (Gambar 1 dan 2). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa semakin meningkatnya konsentrasi maka zona daya hambat akan semakin besar baik pada *V. cholera* maupun pada *S. aureus*. Tidak ada beda nyata besarnya zona hambat yang terbentuk antara *V. cholera* dan *S. aureus* meskipun secara rata-rata zona hambat yang terbentuk pada *S. aureus* lebih luas dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada (Gambar 3). Zona hambat yang diperoleh dari konsentrasi ekstrak yang diberikan masih lebih rendah dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk oleh pemberian Amoxicilin 2% sebagai kontrol positif.

Peningkatan konsentrasi suatu ekstrak dapat menyebabkan bertambahnya diameter zona daya hambat yang dihasilkan

Hasil uji fitokimia dai daun *Melastoma malabathricum* menunjukkan hasil positif terhadap flavonoid., saponon, tanin dan fenolik akan tetapi tidak mengandung Alkaloid (Tabel. 1).

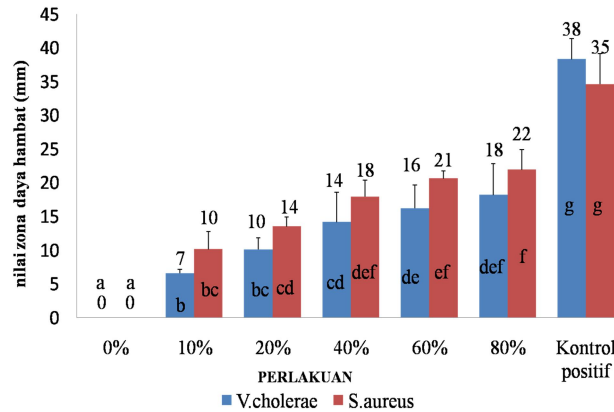


Gambar. 1 Zona hambat ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L. Konsentrasi 80% terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*



Gambar 2 Zona hambat ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L.. Konsentrasi 80% terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*

untuk mengetahui peningkatan rata-rata daerah zona daya hambat yang terbentuk dapat di lihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Zona hambat dari ekstrak daun *Melastoma malabathricum* yang terbentuk dari pertumbuhan bakteri *V. cholerae* (biru) dan *S.aureus* (merah). Nilai yang diberikan pada batang grafik adalah nilai rata-rata \pm SD. Batang grafik yang diikuti oleh huruf yang sama tidak menunjukkan beda nyata pada taraf uji 5%.

Pembahasan

Penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme merupakan salah satu ancaman utama terhadap kesehatan manusia. Meskipun sejumlah antimikroba alami telah diisolasi dan dikembangkan untuk membunuh mikroorganisme patogen secara efektif, namun resistensi patogen terhadap antimikroba menjadi permasalahan baru pada kesehatan masyarakat (Yamac and Bilgili, 2006).

Beberapa tanaman memiliki suatu senyawa yang bersifat antibiotik salah satunya adalah *M. Malabathricum* L. yang bermanfaat sebagai penggunaan obat dari tanaman tersebut digunakan pada manusia sebagai antibiotik. Antibiotik merupakan substansi yang bisa membunuh atau melemahkan mikroorganisme (Awoyinka *et al.*, 2007).

Hasil pengujian fitokimia yang terlihat pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L. memiliki aktivitas antibakteri yang disebabkan adanya kandungan senyawa antibakteri, karena pada ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L. terkandung beberapa kandungan senyawa yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik. Akan tetapi setelah dilakukan uji skrining fitokimia, kandungan senyawa kimia hanya mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, fenolik dan tidak mengandung senyawa alkaloid.

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri karena mampu membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler dan dapat mengganggu integritas membrane sel bakteri. Menurut Dwidjoseputro (1994) flavonoid merupakan

senyawa fenol yang bersifat sebagai koagulator protein.

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, pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati. Saponin bekerja dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan terjadinya lisis dan terjadinya kerusakan pada membran sel akibat keluarnya komponen-komponen penting dari dalam membran sel (Darsana dkk., 2012).

Senyawa fenolik yang terdapat pada ekstrak daun dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menginaktivasi protein pada membran sel (Singh, 2005). Daun *Melastoma malabathricum* L. juga mengandung senyawa tanin. Menurut Juliantina dkk. (2009), senyawa tannin dapat mengkoagulasi protoplasma bakteri dan menghambat pembentukan dinding sel.

Pada uraian diatas bahwa daun *M. malabathricum* L. dapat di gunakan sebagai bahan anti bakteri khususnya bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* karena mengandung senyawa bioaktif. Dalam hal ini komponen alamnya yang

dapat mempengaruhi pertumbuhan dari kedua bakteri.

Dari hasil pengamatan ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L. pada bakteri *V.cholerae* dan *S.aureus* membentuk zona daya hambat yang paling baik pada konsentrasi ekstrak tertinggi 80 % sedangkan yang terkecil yaitu pada konsentrasi 10 %. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi suatu ekstrak maka semakin baik pula dalam menghambat tumbuhnya bakteri dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *M. malabathricum* semakin besar zona daya hambat yang terbentuk. Semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi kandungan kimia yang diberikan pada media tumbuh kedua bakteri tersebut. (Santoso dan Harry, 2004)

S.aureus adalah bakteri gram positif dan *V.cholerae* adalah bakteri gram negatif, bakteri *V.cholerae* lebih tahan dibandingkan *S.aureus* karena kemungkinan adanya membran luar dari bakteri gram negatif yang membantu melindungi bakteri dari sistem pertahanan tubuh atau antibiotik. akan tetapi gram positif tertentu memiliki galur virulen yang resisten terhadap satu atau lebih antibiotik. Keefektifan antibiotik tertentu, misalnya penisilin, disebabkan dari penghambatan mereka terhadap pertautan silang peptidoglikan. Dinding sel yang dihasilkan mungkin tidak fungsional, terutama pada bakteri gram

positif. Obat-obatan semacam itu menghancurkan banyak spesies bakteri patogenik tanpa memberi pengaruh buruk pada sel-sel manusia, yang tidak mengandung peptidoglikan (Cambell & Recce, 2008).

SIMPULAN

Ekstrak Daun *Melastoma malabathricum* L. dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L. yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V.cholerae* dan *S.aureus* yaitu 80 %. ekstrak daun *Melastoma malabathricum* L. terkandung beberapa senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, saponin, tanin dan fenolik.

DAFTAR PUSTAKA

- Awoyinka, O.A., Balogun, I.O., Ogunnowo, A.A., 2007, Phytochemical Screening and In Vitro Bioactivity *Cnidioscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae), *J. Of Medicinal Plants Res.*
- Cambell, N. A & Recce., J. B. 2008. Biologi Edisi 8 jilid 1. Jakarta Penerbit : Erlangga.
- Dwidjoseptro, D., 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi, Djamban, Jakarta.
- Depkes RI. 2000. Parameter Standar Ekstrak Tumbuhan obat Direktorat Jendral pengawasan Obat dan

makanan. Jakarta: Direktorat pengawasan Obat Tradisional.

- Funatogaw, K., Hayashi, S., H., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H.and Hirai. Y, 2004. Antibacterial Activity of Hydrolizable Tannis from Medicinal Plants against *Helicobacter pylori*. *J.Microbiol immunol*, 48 (4) 251-261.
- Howard, L., and C., Daghlian. 2012. *Vibrio Cholerae* Acrylic Print.Fine Art America, [cited on 2013 Apr. 20] Available from, URL <http://fineartamerica.com/products/vibrio-cholerae-louisa-howard-and-charles-daghlian-and-photo-researchers-acrylic-print.html>
- Juliantina R.F., Citra M.D.A., Nirwani B., Nurmasitoh T., and Bowo E.T., 2009, Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bacterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, Jurnal kedokteran dan kesehatan Indonesia.
- Resmi, M. 2011. Metode Penelitian Tanaman Obat. Widya djajaran, Antapani, Bandung.
- Ramyasheer, M., Krishna, R. H., and Shivabasavaiah, 2012. *Ethnomedicinal value of opuntia elatior fruits and its effects in mice*, University of Mysore, Karnataka, India.
- Sing, I.,P., S.B. Bharate., 2005, Anti-HIV Natural Products, Journal Current Science, 89 (2), pp. 269-290.
- Santoso, Herry., 2004. Operasi Teknik Kimia Ekstraksi, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.

Syahrurachman, A., Chatim, A, and Asmono, N. 1993. Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: Binarupa Aksara.

Yamac,M., Bilgili, F., 2006. *Antimicrobial activities of fruit bodies and/or mycelial cultures of somemushroom isolates*, *Pharmaceut. Biol.*, 44 (9), 660-667.