

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella thypi*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF KECOMBRANG (*Etilingera elatior*) FLOWER EXTRACT ON BACTERIAL GROWTH *Salmonella typhi*

¹Pandapotan Nasution, ²Jon Kenedy Marpaung, ³Suharyanisa, ³Rolastris Sitanggang

¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sumatera Utara

²Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

³Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sumatera Utara

Alamat email: pandapotan@usu.ac.id

Abstrak. Kecombrang (*Etilingera elatior*) merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang sejak lama dikenal dan dimanfaatkan manusia sebagai obat-obatan. Bagian bunga kecombrang mengandung beberapa senyawa kimia yaitu: alkaloid, flavonoid dan saponin. Selain itu, bunga kecombrang juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Sempel penelitian adalah Bunga Kecombrang yang dibeli di pasar tradisional Tarutung. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental meliputi pengambilan sampel, pengeringan simplisia, maserasi menggunakan pelarut etanol 70% pembuatan ekstrak dibuat menggunakan *rotary evaporator*, pengujian aktivitas antibakteri bunga kecombrang menggunakan metode *disc diffusion*. Analisis data dilakukan untuk melihat pengaruh ekstrak etanol bunga kecombrang terhadap aktivitas bakteri *Salmonella typhi*. Hasil penelitian menemukan bahwa pada hasil skrining fitokimia menunjukkan simplisia dan ekstrak etanol daun bunga kecombrang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Sedangkan pada hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bunga kecombrang mempunyai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi ekstrak 45%, 50%, 55%, 60% dengan diameter zona hambat berturut turut 9,4 mm, 12,2 mm, 14,8 mm, 16,3 mm. Konsentrasi ekstrak etanol yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* yaitu pada konsentrasi 60% dengan diameter zona hambat yang lebih besar 16,3 mm.

Katra Kunci: Antibakteri, Bunga Kecombrang (*Etilingera elation*), *Salmonella typhi*

Abstract. Kecombrang (*Etilingera elatior*) is a type of spice that has long been known and used by humans as medicine. Kecombrang flower parts contain several chemical compounds, namely: alkaloids, flavonoids, and saponins. In addition, kecombrang flowers can also inhibit the growth of *Salmonella typhi* bacteria. This study aims to determine the concentration of ethanolic extract of kecombrang flower (*Etilingera elatior*) which is effective in inhibiting the growth of *Salmonella typhi* bacteria. The research sample was Kecombrang Flowers purchased at the Tarutung traditional market. This research was carried out experimentally including sampling, drying simplisia, maceration using 70% ethanol solvent, making extracts made using a rotary evaporator, and testing the antibacterial activity of kecombrang flowers using the disc diffusion method. Data analysis was conducted to see the effect of kecombrang flower ethanol extract on the activity of *Salmonella typhi* bacteria. The results of the study found that the results of phytochemical screening showed simplisia and ethanol extract of kecombrang flower leaves contained alkaloids, flavonoids, and saponins. While the results of the antibacterial activity test of the ethanolic extract of kecombrang flower leaves have antibacterial properties against *Salmonella typhi* at extract concentrations of 45%, 50%, 55%, and 60% with inhibition zone diameters of 9.4 mm, 12.2 mm, 14.8 mm, respectively. , 16.3mm. The most effective concentration of ethanol extract to inhibit the growth of *Salmonella typhi* was at a concentration of 60% with a larger inhibition zone diameter of 16.3 mm.

Keywords: Antibacterial, Kecombrang Flower (*Etilingera elation*), *Salmonella typhi*

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman berkhasiat obat yang dikomsusmsi masyarakat adalah bunga kecombrang. Kecombrang merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang sejak lama dikenal dan dimanfaatkan manusia sebagai obat-obatan berkaitan dengan khasiatnya, yaitu sebagai penghilang bau badan dan

bau mulut [9]. Bagian bunga kecombrang mengandung beberapa senyawa kimia yaitu: alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin, dan minyak atsiri. Kecombrang putih setelah diidentifikasi ternyata memiliki kandungan senyawa sekunder yang lebih bervariasi, lengkap dan jumlah yang sangat banyak dibandingkan dengan ketiga karakter warna lainnya [12]. Bakteri *Salmonella typhi* adalah strain bakteri yang menyebabkan terjadinya demam tifoid, yaitu suatu penyakit infeksi sistemik dengan gambaran demam yang berlangsung lama, adanya bakteremia disertai inflamasi yang dapat merusak usus dan organ-organ hati. Penularan bakteri *Salmonella typhi* sebagian besar jalur fekal oral, yaitu melalui makanan atau minuman yang tercemar oleh bakteri yang berasal dari penderita atau pembawa kuman, biasanya keluar bersama dengan feses [10]. Demam tifoid masih merupakan masalah kesehatan yang penting di berbagai negara sedang berkembang. Data WHO memperkirakan angka kejadian di seluruh dunia terdaftar sekitar 17 juta per tahun dengan 600.000 orang meninggal karena penyakit ini dan 70% kematiannya terjadi di Asia. Diperkirakan prevalensi angka kejadian dari 150/100.000 per tahun di Amerika Selatan dan 900/100.000 per tahun di Asia. Menurut WHO, penderita demam tifoid di Indonesia cenderung meningkat setiap tahun dengan rata-rata 800 per 100.000 penduduk [6]. Beberapa tahun terakhir ini, bunga kecombrang (*Etligeria elatior*) mendapat perhatian sangat besar karena adanya fakta empiris serta bukti penelitian ilmiah yang menyatakan bahwa bunga kecombrang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* serta dipakai untuk mengobati penyakit yang tergolong berat yaitu kanker dan tumor. Bunga dari tanaman ini bisa digunakan sebagai bahan kosmetik alami dimana bunganya dipakai untuk campuran cairan pencuci rambut dan daun serta rimpangnya dipakai untuk bahan campuran bedak oleh penduduk lokal [4]. Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Aktivitas antibakteri dapat ditingkatkan dengan metode ekstraksi. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. teknik ekstraksi yang mampu mengekstraksi bahan aktif yang diinginkan sebanyak mungkin, cepat, mudah dilakukan, murah, ramah lingkungan, dan hasil yang diperoleh selalu konsisten jika dilakukan berulang-ulang [10]. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, netral, absorbsinya baik, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya [9]. Uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien dengan melibatkan hasil metabolisme sekunder dari mikroorganisme. Dilakukan dengan berbagai cara. Salah satunya adalah metode disc diffusion (tes Kirby & Bauer). Metode Kirby & Bauer dapat digunakan untuk mengetahui zona hambat yang dapat dibentuk oleh suatu aktivitas antibakteri pada zat tertentu. Metode ini menggunakan *paper disc* atau kertas cakram yang telah disterilkan [3].

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, *Laminary Air Flow Cabinet* (LAC), tabung reaksi, cawan petri, beker gelas, erlenmeyer, gelas ukur, bunsen, neraca analitik, autoklaf, oven, inkubator, kertas perkamen, penjepit tabung, pipet ukur, jarum ose, hockey stick, korek api, kapas, pipet tetes, kain flanel, kamera digital, gunting, vortex mixer, kertas saring, paper disk, penangas air, lemari pendingin, krus porselin, jangka sorong, aluminium foil, *rotary evaporator*, mikroskop.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etligeria elatior*), *Nutrient Agar* (NA). Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Salmonella typhi*. Bahan kimia yang digunakan dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 96%, Akuades, kloroform.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan ekstrak etanol bunga kecombrang. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh ekstrak etanol bunga kecombrang terhadap aktivitas bakteri *Salmonella typhi*. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bunga kecombrang yang diperoleh dari pasar tradisional Tarutung, Kabupaten Tapanuli Utara. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga kecombrang yang diambil dari pasar tradisional kecamatan Tarutung, Kabupaten Tapanuli Utara. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif tanpa membandingkan dengan tanaman yang sama dari daerah lain. Prosedur kerja penelitian ini meliputi : sterilisasi alat, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak bunga kecombrang secara maserasi, pemeriksaan karakteristik simplisia, pembuatan larutan pereaksi, skrining fitokimia, pembuatan media, Pemiakan Bakteri, dan Pembuatan Konsentasi Ekstrak Bunga Kecombrang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di herbarium medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Hasil identifikasi Bunga Kecombrang adalah (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.)

2. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan Makroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan simplisia bunga kecombrang berwarna merah muda sampai merah, berbau khas, rasa sedikit asam, memiliki tangkai bunga berbentuk panjang dan keras, dasar bunga berbentuk bonggol, mahkota bunga berbentuk terompet, kepala putik berbentuk segitiga panjang, dan biji bunga berwarna merah sampai coklat dan diselubungi salut biji (arilus) berwarna putih bening atau merah muda. Dari hasil pengolahan, diperoleh serbuk simplisia 720 gram. Serbuk berwarna merah, barbau khas, dan memiliki rasa sedikit asam.

Pemeriksaan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan mikroskopik terhadap serbuk bunga kecombrang menunjukkan bahwa pada bunga kecombrang terdapat fragmen kelenjar minyak, rambut penutup, kolenkim dan epidermis.

Pemeriksaan Karakteristik Serbuk Simplisia

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Serbuk Simplisia Bunga Kecombrang

No	Pemeriksaan	Hasil	Standarisasi
1	Kadar air	3,39%	<10%
2	Kadar Sari larut dalam air	21,83%	>12%
3	Kadar sari larut dalam Etanol	12,27%	>8%
4	Kadar abu total	3,45%	3-5%
5	Kadar abu tidak larut asam	1,54%	<0,9 %

Penetapan kadar air pada simplisia dilakukan untuk mengetahui jumlah air yang terkandung dalam simplisia yang digunakan. Kadar air simplisia ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia karena kadar air berkaitan dengan kemungkinan pertumbuhan kapang/jamur. Hasil penelitian kadar air diperoleh lebih kecil dari <10% yaitu 3,39%. Kadar air yang melebihi 10% dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba, keberadaan jamur atau serangga, serta mendorong kerusakan untuk simplisia [17]. Penetapan kadar sari simplisia bunga kecombrang dilakukan menggunakan dua pelarut, yaitu air dan etanol. Penetapan kadar sari larut dalam air adalah untuk mengetahui jumlah yang bersifat polar yang dapat tersari dalam pelarut air. Sedangkan kadar sari larut dalam etanol untuk mengetahui jumlh senyawa yang bersifat polar dan non polar yang dapat tersari pelarut etanol. Hasil penetapan kadar sari larut air 21,83% menurut [5] syarat kadar sari larut dalam air adalah >12%, sedangkan penetapan kadar sari larut etanol adalah 12,27% menurut [5], syarat kadar sari yang larut dalam etanol yang baik adalah >8%. Penetapan kadar abu merupakan cara untuk mengetahui sisa yang tidak menguap dari suatu simplisia pada pembakaran. Pada penetapan kadar abu total, abu dapat

berasal dari bagian jaringan tanaman sendiri atau dari pengotoran lain misalnya pasir atau tanah [7]. Penetapan Kadar Abu yang tidak larut Asam ditujukan untuk mengetahui jumlah pengotoran yang berasal dari pasir atau tanah silikat [7]. Penetapan kadar abu total sebesar 3,45% syarat kadar abu total yang baik adalah 3-5%, dan kadar abu tidak larut dalam asam sebesar 1,54 syarat kadar abu tidak larut dalam asam yang baik adalah <0,9%.

Skrining Fitokimia Bunga Kecombrang

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan kelompok senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak secara kualitatif. Hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil positif (+) ditandai dengan perubahan warna atau terbentuknya endapan atau terbentuknya busa setelah penambahan reagen pada ekstrak uji. Sedangkan hasil negatif (-) ditandai dengan tidak adanya perubahan warna atau terbentuknya endapan atau terbentuknya busa setelah penambahan reagen pada ekstrak uji.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Bunga Kecombrang

Golongan Senyawa	Pereaksi	Warna yang Terbentuk	Hasil
Alkaloid	Meyer	Endapan Putih	+
	Dragendroff	Endapan Kuning jingga	+
	Bouchart	Endapan Coklat	+
Tanin	Air panas + FeCl ₃ 10 %	Kuning	-
Saponin	Air Panas + HCL 2N	Terbentuk busa yang stabil	+
Flavonoid	HCL pekat + serbuk Mg	Kuning	+

Keterangan :

- + : Mengandung golongan senyawa
- : Tidak mengandung golongan senyawa

Berdasarkan **Tabel 2** Tanaman kecombrang mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan (Hudaya, 2010). Ekstrak bunga kecombrang memiliki kandungan senyawa aktif yang cukup kompleks seperti flavonoid, terpenoid, saponin, tanin, alkaloid dan anthraquinone [2]. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga dinding traktus digestivus larva menjadi korosif, sedangkan senyawa flavonoid bersifat menghambat makan serangga dan juga bersifat toksis [7]. Polifenol merupakan senyawa yang bersifat sebagai inhibitor pencernaan. Apabila polifenol termakan oleh serangga, maka zat tersebut akan menurunkan kemampuan serangga dalam mencernakan makanan [13].

Ekstrak Simplisia Bunga Kecombrang

Sebanyak 600 g simplisia telah diserbukan dimasukkan kedalam wadah tertutup, direndam dengan 75 bagian (4,5) etanol 70% selama 5 hari, terhindar dari cahaya matahari setiap hari diaduk selama 5 menit, lalu disaring ampasnya, hasil saringannya direndam lagi dengan etanol 70% selama 2 hari, lalu disaring kembali dengan kain flannel dan kertas saring sampai diperoleh ekstrak kental dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* diperoleh ekstrak kental 100 g berwarna merah gelap.

Sampel Segar

Bunga kecombrang yang telah diambil dicuci dibawah air mengalir, hal ini dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran dari sampel. Bunga kecombrang segar sebanyak 10 kg setelah diangin-anginkan lalu dimasukkan kelemari pengering kurang lebih selama 7 hari dan didapatkan bunga kecombrang kering sampai bunga kecombrang mudah diremukkan.

3. Diameter Zona Hambat

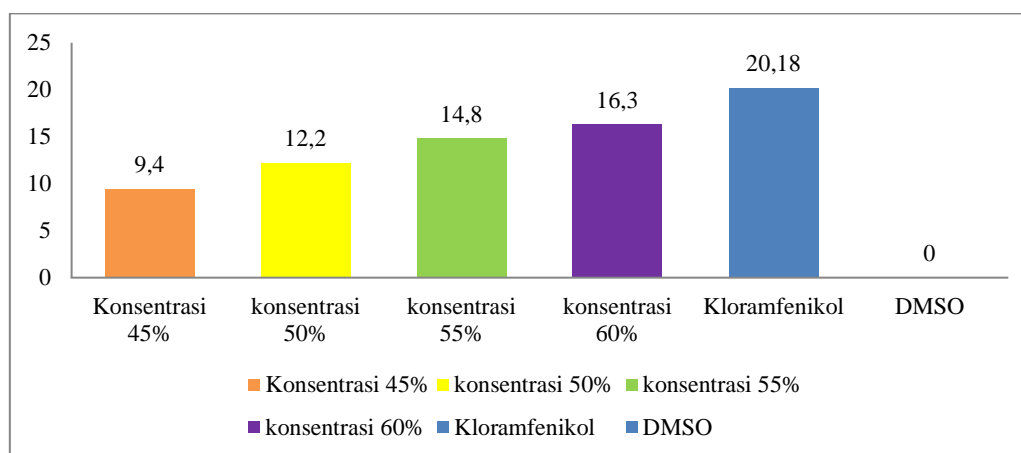
Penanaman bakteri *Salmonella typhi* kedalam media MHA yang telah padat. Media MHA yang telah padat ditambahkan dengan 0.1 ml bakteri *Salmonella typhi* didalam cawan petri dilakukan secara (triplo). Dari hasil pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat yang berupa zona hambat di sekitar kertas cakram menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang pada konsentrasi berbeda mempunyai tingkatan eektivitas antibakteri yang berbeda-beda terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

4. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

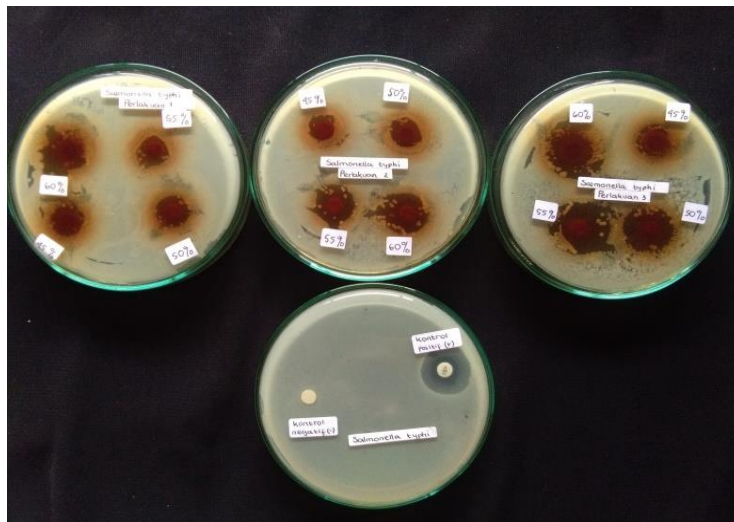
Pembuatan ekstrak etanol bunga kecombrang dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah etanol 70%, Yang bertujuan untuk menarik semua komponen kimia di dalam bunga kecombrang, karena pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar hingga polar dan memiliki indeks polaritas 5,2. Pada penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik bersifat komparatif dengan mengukur zona inhibisi yang terbentuk dari ekstrak etanol bunga kecombrang pada koloni bakteri *Salmonella typhi*. Hasil penelitian menunjukkan zona hambat pada bakteri memperlihatkan kondisi yang berbeda, hal ini dapat terlihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang Terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Sampel	Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Zona Hambat rata-rata (mm)
		1	2	3	
Bunga Kecombrang	45%	9,8	9,3	9,1	9,4
	50%	12,1	11,5	12,9	12,2
	55%	14,7	14,5	15,3	14,8
	60%	16,2	16,1	16,7	16,3
Kloramfenikol (+)		20,18			20,18
Aquadest steril (-)		0,0			0,0



Gambar 1. Histogram Diameter Daerah Hambat (DDH) Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang Terhadap *Salmonella typhi*



Gambar 2. Aktivitas Antibakteri Daun Kecombrang Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*

Hasil uji aktivitas dari ekstrak bunga kecombrang diperoleh konsentrasi hambat minimum (KHM) *Salmonella typhi* dengan perlakuan 45% dengan diameter 9,4 mm. Daya hambat ekstrak yang diuji ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram. Zona bening disekitar kertas cakram merupakan daerah difusi ekstrak yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Besar diameter dari zona hambat yang terbentuk dapat menunjukkan kekuatan antibakteri dari ekstrak yang digunakan. Penggolongan kekuatan anti bakteri mempermudah dalam menggolongkan kemampuan dari diameter yang diperoleh [14]. Ekstrak dengan diameter hambatan lebih dari 20 mm termasuk dalam kategori sangat kuat, diameter hambatan berkisar dari 10-20 mm termasuk dalam kategori kuat, diameter hambatan kurang dari 5 mm termasuk dalam kategori lemah. Berdasarkan **Tabel 3** bahwa pengujian aktivitas antibakteri pada konsentrasi 45% aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* 9,4 mm hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi hambat minimum dalam kategori lemah, pada konsentrasi hambat minimum dalam kategori sedang, pada konsentrasi 50% memiliki diameter zona hambat sebesar 12,2 mm maka dikategorikan kuat, pada konsentrasi 55% memiliki diameter zona hambat sebesar 14,8 mm maka dikategorikan kuat, pada konsentrasi 60 % memiliki diameter zona hambat sebesar 16,3 mm maka dikategorikan kuat. Kontrol positif dalam penelitian ini yaitu kloramfenikol. Mekanisme kerja kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan menghambat sintesis protein bakteri. Obat ini terikat pada ribosom subunit 50S dan menghambat enzim peptidil transferase sehingga ikatan peptida tidak terbentuk pada proses sintesis protein bakteri. Daya antimikroba ekstrak bunga kecombrang ini disebabkan oleh karena adanya bahan-bahan aktif yang terkandung di dalamnya yang berperan utama dalam menghambat pertumbuhan maupun membunuh bakteri *Salmonella typhi*. Bahan aktif tersebut diantaranya adalah saponin, flavonoid dan alkaloid. Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat menurunkan tegangan permukaan yang kuat yang menimbulkan busa bila dikocok dalam air. Sifat saponin seperti sabun (dalam bahasa latin *sapo*: sabun). Saponin berperan aktif sebagai antimikroba dengan cara mengganggu kestabilan membran sel bakteri dan akhirnya membuat sel bakteri menjadi lisis (pecah). Flavonoid memiliki efek antimikroba lewat kemampuannya membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein yang dapat larut serta dengan dinding sel bakteri [16]. Berdasarkan hasil skrining fitokimia golongan senyawa yang terkandung dalam bentuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang adalah alkaloid, flavanoid, saponin. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai sifat meningkatkan permeabilitas sel, dapat menghambat mikroorganisme karena kemampuannya membentuk senyawa kompleks dengan protein dengan rusaknya protein maka aktivitas metabolisme mikroba menjadi terganggu sehingga mengakibatkan kematian mikroba [1]. Saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar [15].

KESIMPULAN

1. Hasil skrining fitokimia menunjukkan simplisia dan ekstrak etanol daun bunga kecombrang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin.
2. Hasil uji aktivitas anti bakteri ekstrak etanol daun bunga kecombrang mempunyai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi ekstrak 45%, 50%, 55%, 60% dengan diameter zona hambat berturut turut 9,4 mm, 12,2 mm, 14,8 mm, 16,3 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Abdullatif, 2016. Daya Hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Vul) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro. Skripsi. Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang. Hal: 45-47
- [2] Atmowidi, T., Riyanti, P., & Sutrisna, A. 2014. Pollination effectiveness of *Apis cerana* Fabricus and *Apis mellifera* Linnaeus in *Jatropha curcas* L (Euphorbiaceae). *Biotropia* 15:29-134
- [3] Cappuccino, J. G. dan Sherman, N. 2013. Manual Laboratorium Mikrobiologi. Edisi VIII. Jakarta: EGC. Hal: 111-112, 117, 313, 329, 331-332.
- [4] Cronquist, A., 2011, An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Columbia University Press, New York. Hal: 8
- [5] Depkes RI. 2008. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal: 9
- [6] Depkes RI. 2013. Sistematika pedoman pengendalian penyakit demam tifoid. Jakarta: Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit & Penyehatan Lingkungan. Hal: 20-22
- [7] Dinata A dan Dhewantara P. W., 2012. Karakteristik Lingkungan Fisik, Biologi, dan Sosial di Daerah Endemis DBD Kota Banjar Tahun 2011. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. Vol 11. Hal: 315-326.
- [8] Handayani V, Roskiana AA, Sudir Mi. 2014. Uji Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res* ISSN 2407-2354 (Vol. 1 No.2). Hal: 9
- [9] Kasminah. 2016. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia Durvillae* dengan Pelarut Non Polar, Semi Polar dan Polar. Skripsi, Universitas Airlangga. Hal: 16
- [10] Kumoro, Andri Cahyono. 2015. Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat. Yogyakarta: Plantaxia. Hal: 17
- [11] Naufalin. 2013. Aktivitas antimikroba Formula Buah Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) sebagai Pengawet Alami Pangan. Proseeding. Seminar Nasional PATPI. Jember. Hal: 167-168
- [12] Naufalin, R dan S.R, Herastuti. 2012. Pengawet Alami pada Produk Pangan. UPT Percetakan dan Penerbitan Universitas Jendral Sudirman. Purwokerto. Hal: 131
- [13] Nursal, dkk. 2013. "Bioaktivitas Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale* Roxb.) Koloni Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*". *Jurnal Biogenesis*. Vol.2, No.2.
- [14] Rahayu, E.S. 2010. Lactic Acid Bacteria in Fermented Foods of Indonesian Origin. *Agritech* Vol. 23(2) : Hal: 75-84
- [15] Rahayu, M.; Sunarti, S.; Sulistiarini, D.; Prawiroatmodjo, S.: Pemanfaatan Tumbuhan Obat secara Tradisional oleh Masyarakat Lokal di Pulau Wawonii, Sulawesi Tenggara. Jurusan
- [16] Tampubolon, O.T., S. Suhatsyah, dan S. Sastrapradja. 2014. Penelitian Pendahuluan Kandungan Kimia Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Dalam Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hal: 14
- [17] WHO. 1998. The World Health Organization Quality of Life Assesment (WHOQOL): Development and General Psychometric Properties. *Soc. Sci. Med* Vol. 46, No 12, Hal: 1569-1585.