



**SKRINING SENYAWA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA KLT BIOAUTOGRAFI**

**SCREENING of ANTIBACTERIAL COMPOUND FROM BELIMBING WULUH LEAF (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACT AGAINST *Staphylococcus aureus* BY BIOAUTOGRAPHY IN TLC**

**Dyah Aryantini<sup>1\*</sup>, Dewi Venda Erlina<sup>2</sup>, Nesti Ria<sup>3</sup>**

<sup>1,2</sup> Dosen Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri

<sup>3</sup> Alumni Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan tanaman kaya akan metabolit sekunder dengan aktivitas farmakologi seperti obat batuk, antidiabetes, antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri. Untuk menelusuri dan skrining senyawa antibakteri dalam ekstrak daun belimbing wuluh maka dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Bioautografi. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk skrining dan deteksi terhadap senyawa aktif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode KLT Bioautografi kontak yang diharapkan menjadi kandidat senyawa antibakteri baru. **Metode:** Eksperimental dengan metode ekstraksi maserasi dilanjutkan uji aktivitas senyawa antibakteri secara difusi (sumuran). Skrining senyawa antibakteri digunakan metode KLT bioautografi kontak. **Hasil:** Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri. Skrining senyawa antibakteri secara KLT bioautografi kontak menunjukkan adanya zona hambat oleh noda pada Rf 0,65. Analisis data secara statistik menggunakan One Way Anova dengan tingkat kepercayaan  $p < 0,05$  memperlihatkan adanya perbedaan bermakna antara tiap kelompok. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas menghambat *Staphylococcus aureus* dan pada KLT bioautografi menunjukkan bahwa noda yang sejajar dengan kuersetin pada Rf 0,65 memperlihatkan adanya zona hambat.

**Kata Kunci:** Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), KLT Bioautografi, *Staphylococcus aureus*

**ABSTRACT**

**Introduction:** Starfruit leaf (*Averrhoa bilimbi* L.) is one of the plants that is rich in secondary metabolite content with pharmacological activities such as cough medicine, antidiabetic, anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial properties. To trace and screen for antibacterial compounds in starfruit leaf extract, Bioautography Thin Layer Chromatography (TLC) was used. **Objective:** This study aims to screen and detect compounds that actively inhibit *Staphylococcus aureus* bacteria using the TLC contact bioautography method which are expected to be candidates for new antibacterial compounds. **Method:** Experimental method used was maceration followed by antibacterial compound activity test was carried out by diffusion (wells). Antibacterial compound screening was used by contact bioautography TLC method. **Results:** The results showed that belimbing wuluh leaf extract has antibacterial activity. Screening of antibacterial compounds by contact bioautography TLC showed a zone of inhibition by a spot which is Rf at 0.65. Statistical data analysis used One Way Anova with a confidence level of  $p < 0.05$ , indicating a significant difference between each group. **Conclusion:** The ethanol extract of starfruit leaves has inhibiting activity of *Staphylococcus aureus* and bioautographic TLC showed that the stain parallel to quercetin at Rf 0.65 showed an inhibition zone.

**Keywords:** Belimbing leaf extract, Bioautography, in TLC, Antibacterial Screening, Antibacterial *Staphylococcus aureus*

Alamat Korespondensi:

Dyah Aryantini: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Jl. KH Wahid Hasyim 65, Kediri, Hp. 081252788890. Email: [dyah.aryantini@iik.ac.id](mailto:dyah.aryantini@iik.ac.id)

## PENDAHULUAN

Peningkatan timbulnya penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri seiring bertambahnya populasi manusia. Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan penting yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri patogen (1). Pengobatan terhadap penyakit infeksi biasanya digunakan antibiotik yang telah banyak dikembangkan, akan tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi antibakteri terhadap antibiotik. Situasi ini mendukung para ilmuwan untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru yang berasal dari tumbuhan (1).

Penemuan senyawa antibiotik baru yang belum mengalami resistensi menjadi suatu alternatif untuk mengatasi permasalahan ini. Senyawa antibiotik dapat diperoleh dari tanaman, tanaman memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dengan mekanisme aksi yang relatif baru dan belum mengalami resistensi.

Tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri salah satunya adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*L.) (2). Ekstrak dari buah dan

daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antidiabetes, antimikroba, antiinflamasi, toksisitas, antioksidan, antifertilitas, dan antibakteri. Kandungan dari buah dan daun belimbing wuluh dapat berupa tanin, saponin, dan flavonoid (3). Flavonoid daun belimbing wuluh memiliki daya hambat terhadap bakteri gram positif maupun negatif. Jenis flavonoid dalam belimbing wuluh yang berkhasiat sebagai antibakteri berupa luteolin dan apigenin (4,5).

Menurut penelitian Wijayanti (2018) (6) ekstrak daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona bening pada sekeliling *disk* cakram yang merupakan daya hambat terhadap bakteri. Penelitian tentang skrining dan deteksi senyawa antibakteri secara KLT Bioautografi terhadap ekstrak daun belimbing wuluh dalam menghambat *Staphylococcus aureus* belum pernah dilakukan. Sehingga menarik bagi penulis untuk melakukan riset tersebut dalam rangka menemukan senyawa antibakteri baru.

## METODE

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Media Bakteriologi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Adapun waktu pelaksanaan penelitian ini adalah bulan November 2019.

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Mettler Toledo), peralatan gelas (Iwaki), *rotary evaporator* (IKA), mikropipet (Accumax), jangka sorong (Vernier Caliper), cawan petri (Iwaki), *plug* pembuat sumuran, *autoclave* (GEA), incubator (IKA), perangkat KLT dengan chamber (CAMAG)

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun belimbing wuluh sebagai sampel uji, etanol teknis dan p.a 96% (Bratachem), aquadest (Bratachem), asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH), FeCl<sub>3</sub> 1% (Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N (Bratachem), serbuk Magnesium (Merck), HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Mueller Hinton Agar* (Oxoid), *Nutrient Broth* (Oxoid), *Nutrient Agar* (Oxoid), BaCl<sub>2</sub>, larutan Mc Farland, dan

Tetrasiklin HCl (Dafeng Huasu Pharm. Co.), plat KLT GF254 (Merck).

### Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 80% dari daun belimbing wuluh yang diperoleh dari Kabupaten Jombang, Jawa Timur.

### Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Ekstrak kental daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 80% selama 3 hari dengan pengadukan berkala dan dilanjutkan dengan tahapan remaserasi (7).

### Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak kental daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dilakukan tahapan penapisan fitokimia terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

### Uji Aktivitas Ekstrak Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Sumuran

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Sampel ekstrak yang digunakan dibuat dengan beberapa konsentrasi yaitu 25%, 50%, dan 100% dengan berat masing-masing 0,25 g, 0,5 g, dan 1 g dilarutkan dalam 1 mL akuadest. Kontrol positif yang

digunakan adalah Tetrasiklin HCl (0,2 mg/ 2 mL), sedangkan kontrol negatif adalah akuades. Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dalam media Nutrient Broth yang dilanjutkan dengan inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (8). Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada media *Mueller-Hinton Agar* dengan cara inokulasi kultur bakteri pada media MHA dengan kawat ose steril dan diratakan pada permukaan agar dengan metode swab. Sumuran dibuat dengan melubangi media menggunakan *plug* diameter 6 mm. Masing-masing sumuran ditetesi 50 µm sampel uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Pengukuran dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi terhadap zona bening yang menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya.

#### **Uji Kualitatif Ekstrak Dengan Metode KLT**

Uji KLT dilakukan terhadap sampel ekstrak dengan konsentrasi paling efektif menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus*. Penolakan sampel pada fase diam diikuti dengan menolakan pembanding kuersetin dan fase gerak toluen : aseton

: asam format (6:6:1). Setelah proses eluasi noda yang tampak diamati di bawah lampu UV 366nm dan UV 254nm dihitung nilai Rf nya (9).

#### **Deteksi Senyawa Antibakteri Dengan KLT Bioautografi**

Cawan petri yang telah berisi medium MHA diinokulasikan suspensi bakteri dengan kawat ose steril dan diratakan pada permukaan agar dengan metode KLT Bioautografi secara swab. Setelah memadat, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan/ditempelkan sehingga posisi silica berada pada permukaan kultur bakteri dalam cawan petri. Setelah 30 menit, lempeng tersebut diangkat. Plat KLT yang sudah ditempelkan pada permukaan medium MHA dideteksi dengan penampak bercak uap amonia. Demikian juga dengan cawan petri yang terlebih dahulu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat yang terbentuk. Metode KLT bioautografi merupakan gabungan penggunaan teknik kromatografi lapis tipis dengan respon mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologi dari suatu analit yang dapat berupa antibakteri, antikapang, dan antiprotozoa (9).

#### **Analisa Data**

Data zona hambat yang diperoleh dianalisis dengan program SPSS menggunakan uji normalitas dan homogenitas. Data yang terdistribusi normal dan varian antar sampel homogen dinilai dengan nilai  $sig > 0,05$  perlu dilanjutkan dengan metode uji *One way ANOVA* (Analisa Varian Satu Arah) dan uji *post hoc LSD*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Ekstrak kental yang diperoleh dari proses maserasi dan remaserasi adalah ekstrak kental dengan organoleptis sebagai berikut: berbentuk kental dan pekat, warna hitam kehijauan, bau khas dan tidak berasa.

Tujuan dalam pemilihan metode maserasi karena cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak merusak senyawa yang tidak tahan panas (5). Rendemen yang diperoleh dari 250 gram serbuk simplisia daun belimbing wuluh adalah 8,718%b/b. Perhitungan rendemen berguna untuk mengetahui besarnya jumlah ekstrak yang dihasilkan proses ekstraksi melalui perbandingan ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (10).

### Hasil Skrining Fitokimia Kandungan Ekstrak

Hasil identifikasi terhadap metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun belimbing wuluh ditunjukkan pada tabel 1:

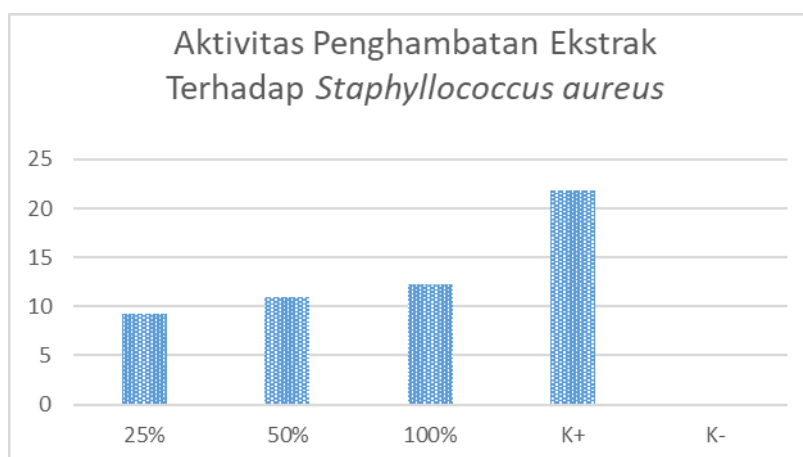
**Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Kandungan Ekstrak**

Kandungan Kimia	Pengujian	Hasil Pengujian	Ket.
<b>Alkaloid</b>	Sebanyak 1 mL ekstrak + kloroform + amoniak + 3 tetes pereaksi Wagner dan Dragendorff	Terbentuk endapan putih dan endapan merah	(+) positif
<b>Flavonoid</b>	Sebanyak 1 mL ekstrak + 2 tetes HCl pekat + serbuk Mg, dikocok kuat	Larutan berubah warna menjadi jingga	(+) Positif
<b>Saponin</b>	Sebanyak 1 mL ekstrak + aquadest, dipanaskan, dikocok kuat	Terbentuk buih sedikit dan konsisten	(+) Positif
<b>Tanin</b>	Sebanyak 1 mL ekstrak + 2-3 tetes FeCl 1%	Larutan mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman	(+) Positif
<b>Terpenoid dan steroid</b>	Ekstrak + asam asetat anhidrat + 3 tetes asam sulfat pekat	Terpen = Larutan berubah menjadi warna coklat	(+) Positif

### Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Sumuran

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri mulai pada konsentrasi 25%. Aktivitas tersebut semakin meningkat dengan adanya peningkatan konsentrasi. Rata-rata zona hambat ekstrak terhadap bakteri pada sampel uji disajikan dalam gambar 1. Adapun besarnya zona hambat pada sampel ekstrak konsentrasi 25% sebesar 9,23 mm; konsentrasi 50% sebesar 10,9 mm; dan konsentrasi 100% sebesar 12,25 mm. Hasil uji yang potensial diperoleh pada ekstrak dengan konsentrasi 100% (diameter zona hambat 12,25 mm) bila dibandingkan dengan kelompok lain karena zona

hambat yang dihasilkan paling mendekati kontrol positif. Konsentrasi ekstrak 25% masih termasuk dalam kategori sedang (5-10 mm) jika dibandingkan dengan kontrol positif yang bersifat kategori sangat kuat (>20 mm) (11). Sedangkan konsentrasi ekstrak 50% dan 100% termasuk dalam kategori kuat (10-20 mm). Kontrol negatif memiliki nilai 0 sebab pada kontrol ini tidak diberi perlakuan. Penelitian Mpila (2012) (12) juga menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi menunjukkan semakin besar zona hambat yang terbentuk, karena semakin meningkatnya senyawa-senyawa berkhasiat dalam ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

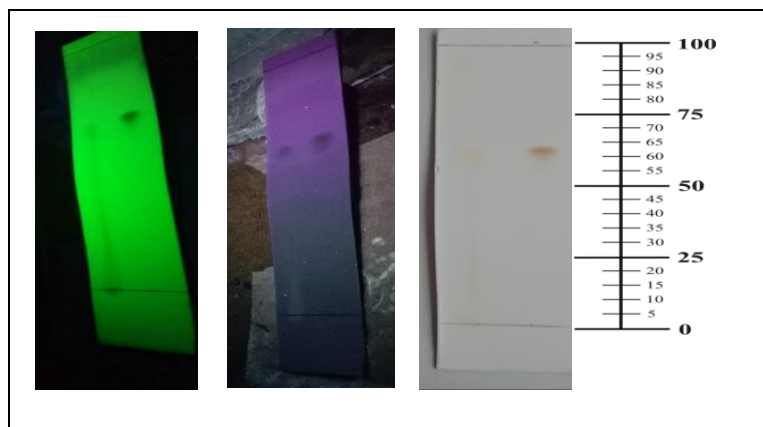


**Gambar 1.** Hasil Uji Aktivitas Ekstrak terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Sumuran

### Hasil Uji Kualitatif Ekstrak dengan Metode KLT terhadap Konsentrasi Ekstrak yang Memberikan Penghambatan Paling Efektif

Hasil analisis KLT terhadap ekstrak konsentrasi 100% menunjukkan bahwa nilai  $R_f$  ekstrak daun belimbing wuluh dan nilai  $R_f$  kuersetin pada nilai yang sama yaitu 0,65 (gambar 2). Pemakaian kuersetin sebagai

pembanding dikarenakan kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya dan 25% terdapat pada tumbuhan (13). Warna bercak ekstrak daun belimbing wuluh dengan kuersetin setelah direaksikan dengan uap amonia dan dideteksi pada lampu UV 254 nm hitam dan UV 366 nm adalah biru gelap menandakan adanya senyawa flavonoid golongan kuersetin (4,13).



**Gambar 2. Profil KLT ekstrak daun belimbing wuluh dengan fase diam silika gel GF<sup>254</sup> dengan menggunakan fase gerak toluen : aseton : asam format (6:6:1) dengan total  $R_f$  0,65 (kiri) plat KLT dibawah sinar UV 254 nm (b) plat KLT dibawah sinar UV 366 nm (c) plat KLT setelah diuap dengan amonia.**

### Hasil Deteksi Senyawa Antibakteri Dengan KLT Bioautografi

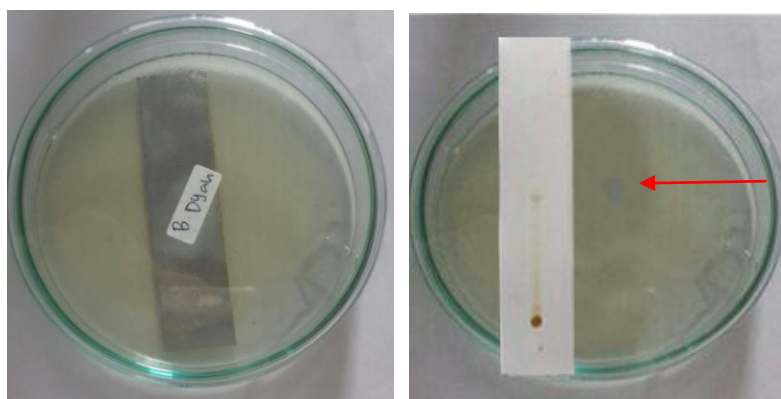
Hasil KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa noda hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji yang digunakan (14). Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai

antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di daerah noda pada plat yang telah ditanam dalam medium. Pengamatan dilakukan dengan mensejajarkan plat hasil elusi dengan zona bening yang terbentuk pada medium. Dengan demikian dapat diketahui kesesuaian antara noda pada plat dengan zona yang terbentuk (14). Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan pada metode difusi



agar, dimana senyawa antimikrobanya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka (15). Noda yang mampu menghambat bakteri melalui KLT bioautografi adalah senyawa  $R_f$  0,65 (gambar 3). Berdasarkan  $R_f$  dari bercak noda yang menghasilkan zona bening pada

medium, diduga senyawa dari ekstrak daun belimbing wuluh yang berperan kuat dalam menghambat bakteri adalah senyawa flavonoid. Hal ini memberikan peluang baru penelusuran lebih jauh tentang karakteristik senyawa tersebut sebagai kandidat senyawa antibakteri baru.



**Gambar 3. Hasil Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) Plat yang sudah dieluasi ditempelkan media berisi kultur bakteri dan dibiarkan kontak selama 30 menit (b) muncul zona bening penghambatan oleh noda dalam plat pada  $R_f$  0,65 seperti yang ditunjukkan tanda panah**

#### ANALISA DATA

Syarat uji *One Way ANOVA* yaitu data harus terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai  $sig > 0,05$ , tetapi tidak homogen dengan nilai  $< 0,05$ . Karena syarat ANOVA tidak terpenuhi maka dilanjutkan dengan uji

*Kruskall-Wallis*. Hal ini menunjukkan bahwa dalam kelompok perlakuan terdapat minimal satu perlakuan yang memberikan perbedaan secara bermakna. Uji dilanjutkan menggunakan *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan bermakna. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa pada



konsentrasi 25% dan 50% tidak memiliki perbedaan yang bermakna, tetapi memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok lain yaitu konsentrasi 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 25% ekstrak daun belimbing wuluh atau konsentrasi terkecil sudah memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas terbaik ditunjukkan oleh konsentrasi 100% karena memiliki daya hambat yang paling besar. Kontrol negatif memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok lain dikarenakan kontrol negatif tidak memberikan efektivitas antibakteri dibandingkan dengan kelompok lain

#### KESIMPULAN

Ekstrak daun belimbing wuluh dapat membentuk zona hambat disekitar sumuran dengan rata-rata zona hambat pada konsentrasi 25,50, dan 100% masing-masing adalah sebesar 9,2; 10,9; dan 12,25 mm. Sementara itu senyawa yang memiliki daya hambat secara KLT Bioautografi adalah noda pada nilai Rf 0,65 yang merupakan golongan flavonoid karena letaknya sejajar dengan pembanding kuersetin dalam analisa KLT.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata atas dukungan sarana dan prasarana.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Moningka KC. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm. F.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara In-Vitro. *Pharmacon*. 2015 Aug 6;4(3):193–202.
2. Kumar A. A Review on Phytochemical Constituents and Biological Assays of *Averrhoa bilimbi*. *Int J Pharm Pharm Sci Res*. 2013 Agustus;3(4):133–9.
3. Alhassan AM, Ahmed QU. *Averrhoa bilimbi* Linn.: A Review of its Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *J Pharm Bioallied Sci*. 2016;8(4):265–71.
4. Zakaria ZA, Zaiton H, Henie EFP, MatJais AM, Zainudin E. In vitro Antibacterial Activity of *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and Fruits Extracts. *Nternational J Trop Med*. 2007;2:96–100.

5. Yulianingtyas A, Kusmartono B. Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh. 2016;7.
6. Wijayanti TRA, Safitri R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Infeksi Nifas. Care J Ilm Ilmu Kesehat. 2018 Nov 4;6(3):277–85.
7. Komala O, Rosyanti R, Muhtabadihardja M. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Ber Biol. 2013;12(1):73–8.
8. Widiasanti A, Priantiwi AM. Aktivitas Antibakteri *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* Ekstrak Teh Putih dalam Variasi Jenis Pelarut. Jurnal Penelitian Teh dan Kina. 2015; 18(1); 55-60
9. Sari F, Aryantini D. Karakter Spesifik dan Pengaruh Pemberian Oral Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) terhadap Makroskopis Organ Hepar Tikus Wistar. J Wiyata Penelit Sains Dan Kesehat. 2018 Sep 22;5(1):1–9.
10. Pratiwi D, Prastiwi EA, Safitri M. Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Etil Asetat Herba Anting-Anting (*Alcalypha indica*. L) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. J Farmagazine. 2016 Oct 18;2(1):16–23.
11. Panjaitan R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. Indones Nat Res Pharm J. 2017;2(1).
12. Mpila D, Fatimawali F, Wiyono W. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus Atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aruginosa* Secara In-Vitro. Pharmacon. 2012;1(1).
13. Koirewoa YA, Fatimawali F, Wiyono W. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun

Beluntas (*Pluchea Indica* L.).  
Pharmacon. 2012 Aug 1

14. Ihwan I, Khaerati K. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan Analisis KLT Bioautografi. Jurnal Biocelbes. 2011; 5(1); 13-21
15. Djide MN, Kadir S. Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanudin; 2008.