

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***Charles Mengga^{1*}, Meytij J. Rampe², Frangky Sangande¹**¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon²Program Studi Kimia Fakultas MIPA, Universitas Negeri Manado

*Penulis Korespondensi; mc6767603@gmail.com

Diterima: 14 April 2022 ; Disetujui : 28 April 2022

ABSTRAK

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat infeksi. Metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman binahong khususnya daun adalah alkaloida, polifenol, triterpen, saponin dan flavonoid yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan perbedaan efektivitas antibakteri dari konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan desain penelitian rancangan acak lengkap, empat perlakuan tiga kali ulangan. Ekstrak didapatkan dengan cara maserasi daun binahong menggunakan etanol 96% selama empat hari. Pengambilan data menggunakan parameter angka lempeng total dan data yang diperoleh dianalisis ragam, dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil pada taraf signifikan 0,05 menggunakan perangkat lunak SPSS 22. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun binahong efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5, 10 dan 15%.

Kata kunci : binahong, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, angka lempeng total**ABSTRACT**

Binahong plant (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) is widely used by the community as an infectious medicine. Secondary metabolites contained in binahong plants, especially leaves, are alkaloids, polyphenols, triterpenes, saponins and flavonoids that have the ability to inhibit bacterial growth. The study aimed to obtain differences in antibacterial effectiveness from the concentration of binahong leaf extract (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) against *Staphylococcus aureus* growth with a complete random design research design, four treatments three times the repetition. The extract is obtained by maceration of binahong leaves using 96% ethanol for four days. Data retrieval using total plate number parameters and the data obtained was analyzed variety, followed by the smallest real difference test at a significant level of 0.05 using SPSS 22 software. The results showed binahong leaf extract was effective against *Staphylococcus aureus* bacteria at concentrations of 5, 10 and 15%.

Keywords : binahong, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, total plate number**1. PENDAHULUAN**

Infeksi pada dasarnya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang memproduksi hemolisin dan memiliki sifat pemicu berbagai derajat keracunan untuk leukosit dan sel-sel jaringan serta mematikan sel kulit dan letal. Sepanjang hidup manusia dikelilingi oleh bakteri ini. Ditaksir bahwa 15-30% populasi umum membawa bakteri ini dalam hidung dan tenggorokannya, yang bila menginfeksi luka maka akibatnya bisa fatal, dan orang yang paling rentan adalah anak baru lahir, anak-anak, pasien bedah dan luka bakar. Infeksi tulang misalnya paling sering terjadi pada anak di bawah umur 12 tahun yang bila tidak diobati akan membawa laju kematian 25% [1].

Dewasa ini infeksi luka oleh *Staphylococcus aureus* sudah tidak perlu dirisaukan lagi karena produk-produk antibakteri sudah bisa didapat dengan mudah di pasaran, kecuali masyarakat yang tinggal jauh dari akses teknologi dan informasi serta transportasi seperti daerah kepulauan karena sulit mendapatkan produk – produk obat modern tersebut. Hal ini memunculkan wacana untuk kembali ke alam (*back to nature*) [2]

Tanaman Binahong terlebih khusus daunnya banyak digunakan oleh masyarakat untuk berbagai macam pengobatan dengan cara tradisional di antaranya untuk mengobati luka [3]. Konon tanaman ini berasal dari Korea dan banyak dikonsumsi oleh orang-orang Vietnam pada

waktu perang melawan Amerika Serikat di tahun 1950 sampai tahun 1970-an untuk mengobati luka. Tanaman ini sudah lama ada di Indonesia, namun baru beberapa tahun terakhir menjadi pusat perhatian masyarakat karena khasiatnya sebagai obat [4].

Daun Binahong digunakan oleh masyarakat dengan cara dikunyah hingga halus atau dimasak dengan air dan diminum dengan ampasnya atau dibuat dalam bentuk jus daun Binahong. Saat ini binahong menjadi objek yang ramai dibicarakan oleh kalangan peneliti untuk membuktikan khasiat dan kegunaannya.

Hasil skrining fitokimia daun binahong dilaporkan mengandung alkaloida, polifenol, saponin, terpenoid dan flavonoid[5]. [6] melaporkan ekstrak daun binahong efektif terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10%. Penelitian terbaru medio Juli 2014 yang dilakukan oleh peneliti ITB melaporkan bahwa ekstrak daun binahong efektif terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi uji terkecil yang dibuat yaitu 20% [7].

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Gunting, neraca analitik, pompa vakum, whatman 0,45 µm, blender, oven, aluminium foil, cawan petri, erlenmeyer, gelas piala, pipet volum, tabung reaksi, *hot plate*, lampu spiritus, inkubator, *biological safety cabinet*, rotari evaporator, *waterbath*, ose, otoklaf, *colony counter*, *electronic shaker*, gelas ukur, APD, kamera.

Daun binahong yang diambil dari pekarangan rumah di Kelurahan Malalayang I Timur Manado, Strain murni *Staphylococcus aureus* dari laboratorium mikrobiologi BTKLPP Kelas I Manado, PCA, MSA, BHI, NaCl, dapar fosfat, etanol 96%, aqua destilata, alkohol 70%,

Prosedur penelitian

1. Pembuatan ekstrak daun binahong (sampel)

- Daun binahong yang baru dipetik, dicuci bersih dan ditiriskan
- Kering-anginkan selama 7 hari dan masukkan dalam oven pada suhu 40 °C hingga benar-benar kering.
- Haluskan dengan blender dan maserasi dengan etanol 96% hingga semua bahan yang larut, melarut.
- Saring dan uapkan etanol dengan rotari evaporator.
- Uapkan sampai kental di atas *waterbath*

- Buat konsentrasi masing-masing 0, 5, 10 dan 15% sebanyak tiga kali.

2. Pembuatan Media PCA

- Timbang 10,5 gram PCA
- Tambahkan NaCl 60 gram.
- Tambahkan aquadestilata sampai 600 ml.
- Panaskan di atas *hot plate* dan aduk hingga larut, sterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan tuang ke dalam tiga puluh enam (36) petridish steril masing-masing 15 ml. (Instruksi kerja Laboratorium Mikrobiologi BTKLPP Kelas I Manado).

3. Pembuatan suspensi bakteri

- Ambil satu (1) sediaan strain murni *Staphylococcus aureus* dan remajakan dalam media *Manitol Salt Agar* (MSA), suspensikan ke dalam media penyubur *Brain Heart Infus* (BHI).
- Ambil enam belas (16) tabung reaksi steril, tandai sesuai suspensi pengenceran.
- Isi masing-masing dengan sembilan (9) ml dapar fosfat steril.
- Ambil 1 ml larutan suspensi strain murni masukkan ke dalam empat (4) tabung yang bertanda $(10)^{-1}$
- Lakukan pengenceran hingga $(10)^{-4}$.

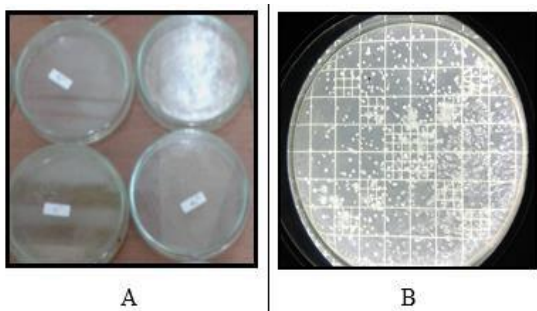
4. Penanaman bakteri dan perlakuan sampel

- Ambil masing-masing satu (1) ml dari semua pengenceran bakteri, sebar pada media PCA sesuai tanda yang ada pada tabung dan media PCA dimulai dari pengenceran $(10)^{-2}$
- Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.
- Hitung jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter*.
- Hitung total jumlah koloni dengan rumus yang - Didapat dua belas (12) data penelitian, tiga (3) data untuk konsentrasi 0%, tiga (3) data untuk konsentrasi 5%, tiga (3) data untuk konsentrasi 10%, tiga (3) data untuk konsentrasi 15%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian berdasarkan pengamatan secara visual pada media agar, didapatkan warna media *plate count agar* (PCA) yang bening dan tidak mengalami perubahan warna setelah media mendapatkan perlakuan inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan penambahan ekstrak daun binahong serta diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Perubahan pada media PCA sebelum dan sesudah inokulasi dan inkubasi

hanya pada hasil pertumbuhan bakteri seperti yang disajikan pada gambar 1.

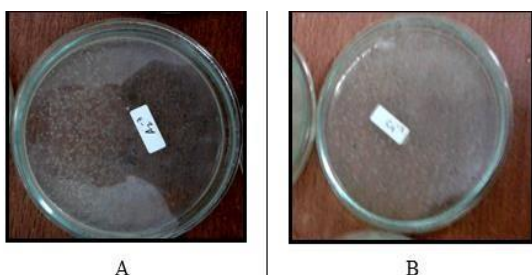


Gambar 1. A. Media PCA sebelum inokulasi bakteri *S. aureus* dan B. Media PCA sesudah inokulasi bakteri *S. aureus*

Gambar 1 menunjukkan warna media yang tidak berubah sebelum dan sesudah penambahan sampel, inokulasi dan inkubasi. Artinya bahwa tidak ada kontaminasi media sebelum dan sesudah penambahan sampel, inokulasi dan inkubasi dilakukan. [8] menegaskan bahwa pencemaran media pertumbuhan disebabkan oleh mikroorganisme pencemar di lingkungan sekitar yang mengakibatkan media menjadi keruh.

Hasil penelitian yang disajikan dalam gambar 1.B terlihat bahwa pada media PCA terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat dan bergerombol, tidak teratur, buram serta mengkilat. Bentuk koloni seperti ini adalah *Staphylococcus aureus*. Menurut Warsa (2010), ciri-ciri koloni *Staphylococcus aureus* pada lempeng agar adalah berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak.

Hasil penelitian memperlihatkan perbedaan pertumbuhan jumlah koloni pada konsentrasi ekstrak daun binahong yang berbeda seperti yang ditampilkan dalam gambar 2.



Gambar 2 . A. Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 0% dan B. Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 10%

Gambar 2 memperlihatkan perbedaan pertumbuhan koloni bakteri pada media dengan perlakuan konsentrasi sampel 0% dan 10% dimana terlihat pertumbuhan koloni pada media 0% lebih padat dibandingkan dengan pertumbuhan koloni pada media dengan konsentrasi 10%. Penghitungan koloni dengan menggunakan *colony counter* sebagaimana yang disajikan pada tabel 2 juga memperlihatkan bahwa jumlah koloni bakteri *S. aureus* tertinggi diperoleh pada konsentrasi ekstrak daun binahong 0%, pengenceran $(10)^{-2}$, ulangan ketiga yaitu 297 koloni/ml dan jumlah koloni terendah diperoleh pada konsentrasi ekstrak daun binahong 15%, pengenceran $(10)^{-4}$ ulangan kedua yaitu 24 koloni/ml.

[8] mengemukakan bahwa sebaiknya hanya lempengan agar yang mengandung 30 – 300 koloni saja yang digunakan dalam perhitungan. Lempengan agar dengan jumlah koloni yang lebih dari 300 sulit untuk dihitung sehingga kemungkinan kesalahan perhitungan sangat besar sedangkan jumlah koloni yang rendah di bawah 30 koloni tidak valid secara statistik untuk digunakan dalam penghitungan statistik sehingga data terendah pada tabel 1 di atas yaitu 24 koloni dibuang atau tidak digunakan dalam analisa data.

Koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA tersebut di atas (gambar 1.B) dihitung menggunakan metode penghitungan langsung dengan bantuan *colony counter* sehingga diperoleh data seperti pada tabel 1

Tabel 1. Data jumlah koloni/ml suspensi bakteri

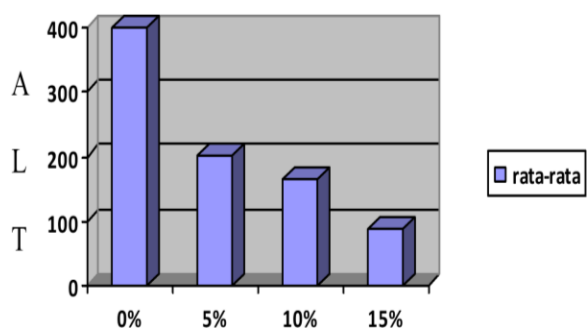
Pengenceran	Konsentrasi ekstrak binahong (%)											
	0			5			10			15		
	Ulangan											
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
10^{-2}	278	293	297	164	148	117	107	98	124	84	63	81
10^{-3}	196	228	178	104	66	83	61	54	60	51	40	48
10^{-4}	87	110	93	71	49	51	47	42	39	32	24	31

Data jumlah koloni pada tabel 1 kemudian dihitung menggunakan rumus angka lempeng total yaitu jumlah koloni bakteri dikalikan dengan faktor pengenceran dan dibagi dengan jumlah cawan terhitung untuk mendapatkan total koloni dalam satu (1) perlakuan didapatkan dua belas (12) data yang akan dianalisa seperti disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Data Angka Lempeng Total/ml suspensi bakteri

Ulangan	Angka Lempeng Total			
	0%	5%	10%	15%
1	364.600	278.800	180.567	126.467
2	452.433	190.276	161.267	23.150
3	379.233	201.567	154.133	122.034

Data yang ada pada tabel 2 selanjutnya dihitung nilai rata-rata angka lempeng total bakteri *Staphylococcus aureus* dengan penggunaan konsentrasi ekstrak binahong yang berbeda dan disajikan dalam bentuk grafik seperti dalam gambar berikut ini :



Gambar 3. Grafik rata-rata angka lempeng total pada masing – masing konsentrasi uji

Gambar 3 yang menampilkan nilai rata-rata angka lempeng total menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong yang digunakan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* maka akan semakin rendah angka lempeng total. Artinya bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun binahong berbanding terbalik dengan angka lempeng total. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong, maka semakin tinggi pula kadar kandungan ekstrak daun binahong sebagai antibakteri sehingga pengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri pun semakin tinggi dan menghasilkan jumlah koloni yang semakin rendah. [9] menjelaskan kematian mikroba berhubungan langsung dengan konsentrasi antimikroba. Artinya bahwa semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang digunakan maka akan mempercepat kematian mikroba. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi ekstrak daun binahong 0% tidak terdapat kandungan ekstrak daun binahong sebagai antibakteri sehingga jumlah koloni yang tumbuh adalah yang tertinggi.

[10] menegaskan bahwa kerja antibakteri sangat bergantung pada konsentrasi, temperatur dan waktu. Konsentrasi yang sangat rendah dapat merangsang pertumbuhan bakteri, konsentrasi

lebih tinggi dapat menghambat dan konsentrasi yang lebih tinggi lagi dapat membunuh organisme tertentu.

Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara statistik, maka data pada tabel 2 dianalisis menggunakan analisis ragam atau anova (*analisis of varian*). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ yaitu $25,769 > 0,000$. Artinya bahwa konsentrasi ekstrak daun binahong memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun binahong.

Menurut [11]metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun binahong terdiri dari alkaloida, flavonoid, polifenol, saponin dan triterpenoid yang semuanya memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. [12] melaporkan bahwa alkaloida yang terkandung dalam ekstrak daun binahong adalah senyawa betanidin dari golongan piperidin.

Alkaloida golongan piperidin memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif [13]. [14] mengemukakan bahwa *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif sehingga dapat dikatakan bahwa golongan piperidin memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. [15] melaporkan bahwa mekanisme antibakteri dari alkaloida golongan piperidin diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri.

Metabolit sekunder lainnya yaitu flavonoid dilaporkan memiliki efek antibakteri. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh [16] melaporkan bahwa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi uji 1,3,5,7 dan 9%. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menginaktivasi protein enzim pada membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak dan mengganggu berbagai hal termasuk penyusunan protein dari sel bakteri sehingga sel bakteri kehilangan bentuk dan mati [17].

Terpenoid dilaporkan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna [15].

[17] mengemukakan sifat antibakteri polifenol didapat dari senyawa tanin yang bekerja

dengan cara mempresipitasikan protein serta mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolat yaitu bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik bakteri.

Metabolit sekunder yang terakhir yaitu saponin juga dilaporkan memiliki kemampuan sebagai antibakteri [5]. Saponin bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida [15].

Melihat hasil analisis ragam yang menunjukkan adanya pengaruh ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, maka analisis data dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil untuk mengetahui perbedaan antara konsentrasi ekstrak daun binahong yang digunakan pada perlakuan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan 95%, disajikan pada tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Uji beda nyata terkecil

Konst Eks Binahong (%)	Konst Eks Binahong (%)	Beda nyata	Stdr kesalahan	Sig	Tingkat Kepercayaan 95%	
					Bts Terendah	Bts Tertinggi
0	5	175877,333*	36574,465	,001	91536,46	260218,20
	10	233433,000*	36574,465	,000	149092,13	317773,87
	15	308205,000*	36574,465	,000	223864,13	392545,87
5	0	-175877,333*	36574,465	,001	-260218,20	-91536,46
	10	57555,667	36574,465	,154	-26785,20	141896,54
	15	132327,667*	36574,465	,007	47986,80	216668,54
10	0	-233433,000*	36574,465	,000	-317773,87	-149092,13
	5	-57555,667	36574,465	,154	-141896,54	26785,20
	15	74772,000	36574,465	,075	-9568,87	159112,87
15	0	-308205,000*	36574,465	,000	-392545,87	-223864,13
	5	-132327,667*	36574,465	,007	-216668,54	-47986,80
	10	-74772,000	36574,465	,075	-159112,87	9568,87

*.Nilai beda nyata pada taraf signifikan 0,05

Hasil uji beda nyata terkecil pada tabel 3 menunjukkan bahwa, konsentrasi ekstrak daun binahong 5, 10 dan 15% berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak daun binahong 0%. Sedangkan konsentrasi ekstrak daun binahong 10% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak daun binahong 5% dan 15%. Selanjutnya konsentrasi ekstrak daun binahong 5% hanya berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak daun binahong 15% terhadap angka lempeng total bakteri *Staphylococcus aureus*. Artinya bahwa penggunaan konsentrasi ekstrak binahong 10% efektif digunakan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.

4. KESIMPULAN

Ekstrak daun binahong efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5, 10 dan 15%.

5. DAFTAR PUSTAKA

1. Volk dan Wheller. 1989. *Mikrobiologi Dasar Jilid I edisi kelima*. UI Press.Yogyakarta.
2. Peni D.K, Solichatun dan Anggarwulan E. 2003. *Pertumbuhan, Kadar Klorofil-Karotenoid, Saponin, Aktivitas Nitrat reduktase Anting-anting (Acalypha indica L.) pada Konsentrasi Asam Gibereilat (GA3) yang Berbeda*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hal 1
3. Raina M.H. 2011. *Ensiklopedia Tanaman Obat Untuk Kesehatan*. Absolut. Yogyakarta
4. Shabela R. 2012. *Terapi Daun Binahong*. Cable book. Klaten
5. Anasta P.Y, Basyuni M, dan Lesmana I, 2013. *Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder pada Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) untuk Uji In Vitro Daya Hambat Pertumbuhan Aeromonas hydrophila*. Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Hal 9
6. Saputra S.A, Fifendi M dan Fitriani V. 2013. *Pengaruh Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Pertumbuhan Salmonella typhi*. Program Studi Pendidikan Biologi STKIP PGRI Sumatera Barat. Hal 4
7. Sutrisno E, Adnyana I.K, Sukandar E.Y, Fidrianny I dan Lestari T. 2014. *Kajian Aktivitas Penyembuhan Luka Dan Antibakteri Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis, Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa Dari Pasien Luka Kaki Diabetes*. ITB. Bandung. Hal 80
8. Lay B. W, 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. RajaGrafindo Persada. Jakarta
9. Khunaifi, M. 2010. *Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa*. Universitas Islam Negeri Malang. Hal 31
10. Jawetz E, Melnick L, dan Adelberg A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran ed 23*. Kedokteran ECG. Jakarta

11. Yuziani, Harahap U dan Karsono. 2014. *Evaluation of Analgesic Activities of Ethanolic Extract of Anredera Cordifolia (Ten) Steenis*. Faculty of Pharmacy. University of Sumatera Utara, Indonesia. Hal 1610
12. Titis B M. 2013. *Isolasi, Identifikasi Dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis)*. Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FSM. Undip.Semarang. Hal 1- 6
13. Hasrayanti.2013. *Studi Pembuatan Bumbu Inti Cabai (Capsicum Sp.) Dalam Bentuk Bubuk*. Program Studi Ilmu Dan Teknologi Pangan. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal 29
14. Warsa U.C. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran UI*. Binarupa Aksara. Jakarta.
15. Darsana I G, Besung I N, Mahatmi H. 2012. *Potensi Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Secara In Vitro*. Laboratorium Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Denpasar. Hal 364 - 368
16. Silvikasari. 2011. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Flavonoid Daun Gambir (Uncaria gambir Roxb)*. IPB.Bogor
17. Adrianto K. 2012. *Efek Antibakteri Polifenol Biji Kakao Pada Streptococcus mutans*. Universitas Jember. Hal 34

