

**UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) TERHADAP  
PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli***

**PROCESSED TEST OF RED ELANOL LEAF (*Piper crocatum*  
*Ruiz & Pav.*) ETHANOL EXTRACT ON *Escherichia coli***

**Didi Rohadi, M.Yani Zamzam, Lani Sheha Rachmany**  
*Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Cirebon*  
*Jl. Cideng Indah, Kertawinangun, Cirebon, Jawa Barat 45153*  
*Email: [ipu97@yahoo.com](mailto:ipu97@yahoo.com) / 089618415598*

*Submitted : 04 December 2018 Reviewed : 13 December 2018 Accepted : 09 January 2019*

**ABSTRAK**

Diare yang disebabkan bakteri patogen menyebabkan kematian sekitar tiga juta penduduk setiap tahun. Di Negara berkembang penyebab terbanyak adalah *Vibrio cholerae*, *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, dan *Campylobacter jejuni*. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, polifenol, tanin, dan minyak asiri. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan aktivitas ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan cetak lubang dengan bakteri uji *Escherichia coli*. Bakteri uji diberi perlakuan dengan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan untuk kontrol positif (Amoksisilin injeksi 0,2% <sup>b</sup>/<sub>v</sub>) dan kontrol negatif menggunakan (etanol 70%). Parameter pengujian dilihat dari terbentuknya zona bening di sekitar sumuran. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% memiliki diameter daerah hambat terendah pada konsentrasi 20% dengan rata-rata 0,84 cm dan diameter daerah hambat terbesar pada konsentrasi 40% dengan rata-rata 1,95 cm. Uji regresi linier didapat nilai r sebesar 0,409. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tetapi memiliki nilai interpretasi yang rendah.

**Kata Kunci :** Antibakteri, daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), *Escherichia coli*, daya hambat

**ABSTRACT**

Diarrhea caused by pathogenic bacteria causes the death of around three million people every year. In developing countries the most common causes are *Vibrio cholerae*, *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, and *Campylobacter jejuni*. One of the plants that has antibacterial properties is red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) which contains secondary metabolites of flavonoids, alkaloids, polyphenols, tannins and essential oils. The purpose of this study was to prove the activity of ethanol extract of red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) as antibacterial. This research was carried out by the diffusion method to use a print hole with *Escherichia coli* test bacteria. Test bacteria were treated with red betel leaf extract (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and for positive control (Amoxicillin injection 0.2% w / v) and negative control using (ethanol 70%). The testing parameters are seen from the formation of clear zones around the wells.

The results obtained showed that the ethanol extract of red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) with a concentration of 20%, 40%, 60%, 80% had the lowest inhibitory diameter at a concentration of 20% with an average of 0.84 cm and regional diameter the biggest inhibition is at a concentration of 40% with an average of 1.95 cm. Linear regression test obtained r value of 0.409. The results of this study can be concluded that the ethanol extract of red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) can inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria but has a low interpretation value. Keywords: Avocado leaf (*Persea americana*), Phytochemical Screening, Dragendroff, Alkaloids, Fractionation, Thin Layer Chromatography.

**Keywords:** Antibacterial, red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), *Escherichia coli*, inhibition

---

**Penulis korespondensi:**

Didi Rohadi

Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Cirebon

Email:

**PENDAHULUAN**

Bakteri *Escherichia coli* akan menjadi patogen apabila jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada diluar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *Escherichia coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz dkk, 1995). Salah satu cara yang digunakan untuk mengobati penyakit diare dengan menggunakan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), daun sirih merah mengandung senyawa lain flavonoid, alkaloid, polifenol, tanin, dan minyak asiri (Sasmito, 2017). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Indriati (2016) menggunakan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan negatif. Pada konsentrasi 50% ekstrak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan diameter hambatan sebesar 12,70 mm, sedangkan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhid* dengan diameter hambatan sebesar 10,39 mm (Indriati, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada konsentrasi 20 %, 40%, 60% dan 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan apakah berpengaruh terhadap kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian yang dilakukan menggunakan metode eksperimen yaitu melakukan percobaan dan pengamatan pada objek yang sedang diteliti untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli*.

**Alat dan Bahan**

**Alat**

Oven (Yenaco); timbangan analitik (Radwag); bejana (wadah maserasi); gelas ukur 10 ml, 100 ml (Pyrex); beaker glass 100 ml, 150 ml (Pyrex); cawan uap; waterbath; Vacuum Rotary Evaporator (IKA®RV 10 Basic); labu ukur 10 ml (Pyrex); autoklaf (manual); erlenmeyer 250 ml (Pyrex); bunsen; jarum ose; cawan petri; tabung reaksi (Pyrex); inkubator (Mamer); tipcon; spuit injeksi (Terumo) 1 cc; jangka sorong; mikropipet 50µl.

## **Bahan**

Simplisia daun sirih merah; NaCl fisiologis 0,9%; Etanol 70%; Amoksisilin injeksi (PT.Sanbe Farma); Aqua Pro injeksi; Nutrient Agar (Oxoid); Aquadest; Bakteri *Escherichia coli*; bahan untuk desinfektan (wipol).

## **Metode Penelitian**

### **Pembuatan simplisia daun sirih merah**

Pemilihan daun sirih merah, daun yang dipilih adalah daun yang masih muda dan segar, kemudian daun sirih merah tersebut dicuci agar tidak ada kotoran yang menempel di daun sirih merah tersebut. Daun yang telah dicuci lalu dipotong-potong dengan ukuran panjang  $\pm$  2 cm, kemudian keringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C.

### **Pembuatan ekstrak dan fraksinasi**

Masukan 200 gram simplisia daun sirih merah yang sudah dirajang kedalam sebuah bejana. (cara maserasi) Tambahkan 75 bagian cairan penyari (etanol 70%) sebanyak 1500 ml, tutup dan biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil sesekali dilakukan pengadukan. Setelah 5 hari disaring, diperas, dicuci ampas dengan 25 bagian cairan penyari (etanol 70%) sebanyak 500 ml. Filtrat dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* pada temperatur 40°C dengan kecepatan 7 rpm hingga diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen ekstrak. Kemudian lakukan pengenceran dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%.

### **Sterilisasi Alat dan Bahan**

Setelah dicuci, alat-alat disumbat mulutnya dengan menggunakan kapas berlemak yang dibungkus dengan dengan kassa, kemudian dibungkus dengan kertas perkamen dan diikat dengan benang kasur. Sedangkan untuk *Beacker glass* mulutnya hanya ditutup dengan kertas perkamen dan diikat dengan benang kasur. Alat-alat tersebut kemudian di sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah suhu tercapai jaga agar konstan.

### **Pembuatan media agar miring**

Timbang nutrient agar seberat 0,196 gram. Larutkan dengan aquadest sebanyak 7 ml didalam Beacker glass aduk sampai larut. Panaskan larutan nutrient agar di atas api kecil sampai jernih dan homogen, kemudian tutup dengan kapas berlemak, bungkus dengan kertas perkamen dan ikat dengan benang kasur. Sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah steril tuangkan media kedalam tabung reaksi, kemudian miringkan dan biarkan memadat.

### **Pembuatan media cawan petri**

Timbang nutrient agar seberat 2,24 gram. Larutkan dengan aquadest sebanyak 80 ml didalam labu erlenmeyer aduk sampai larut. Panaskan larutan nutrient agar di atas api kecil sampai jernih dan homogen, kemudian tutup dengan kapas berlemak, bungkus dengan kertas perkamen dan ikat dengan benang kasur. Sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dituangkan kedalam cawan petri masing-masing 20 ml biarkan hingga memadat.

### **Peremajaan bakteri *Escherichia coli***

Ambil jarum ose, flambir sampai ujung menjadi pijar kemudian pemanasan diteruskan perlahan-lahan ke arah pegangan sampai batas kawat. Ambil tabung reaksi yang berisi biakan bakteri *Escherichia coli*, buka tutup tabung kemudian flambir mulut tabung.

Ambil 1 ose inokulasi bakteri *Escherichia coli* dengan jarum ose lurus, kemudian mulut tabung di flambir dan tutup kembali. Inokulasikan pada agar miring secara zig-zag, tutup, kemudian inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Pembuatan Mc Farland

Sebanyak 0,05 ml larutan barium klorida 0,048 M ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1%) dicampurkan dengan 9,95 ml larutan asam sulfat 0,18 M ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1%  $\text{b/v}$ ) dalam labu ukur dan dihomogenkan. Suspensi ini digunakan sebagai larutan standar kekeruhan suspensi bakteri (Acharya, 2016).

#### Pembuatan suspensi bakteri

Ambil NaCl 0,9% menggunakan jarum suntik sebanyak 1 ml, masukan ke dalam tabung reaksi. Ambil 1 ose inokula dari pembiakan bakteri yang sudah diinkubasikan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam, lalu masukan ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi oleh NaCl 0,9% lalu dikocok sampai keruh.

### Pembuatan larutan amoksan injeksi 0,2%

Serbuk amoksisilin dari sediaan injeksi ditimbang sebanyak 0,02gram, kemudian masukan pada labu ukur 10 ml. Setelah itu larutkan serbuk amoksisilin dengan aqua pro injeksi sedikit demi sedikit hingga 10 ml.

### Pengujian antibakteri daun sirih merah

Ambil sebanyak 1 ml suspensi bakteri dengan spuit, masukan kedalam masing-masing cawan petri. Tuangkan media nutrien agar ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml dalam keadaan hangat. Goyangkan secara perlahan cawan petri agar suspensi merata. Biarkan media memadat, pada suhu kamar selama 15-30 menit supaya permukaan bebas dari kondensor. Sebelum mencetak lubang pada cawan petri, terlebih dahulu cawan petri ditandai dengan label untuk menempatkan posisi lubang yang akan diisi dengan ekstrak etanol daun sirih merah. Setelah ditandai cetak lubang dengan alat pencetak lubang yang sudah di flambir. Ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 80%,60%, 40% dan 20% serta menggunakan amoksisilin injeksi 0,2% sebagai kontrol positif, etanol 70% sebagai kontrol negatif, kemudian masukan sebanyak 50  $\mu\text{l}$  masukan kedalam lubang pada media cawan petri. Setelah itu biarkan selama 2 jam untuk memberi kesempatan cairan berdifusi ke dalam media. Inkubasikan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam, dalam posisi cawan petri tidak terbalik.

### Pembacaan Hasil

Pembacaan hasil dilakukan dengan melihat daerah bening disekitar lubang. Kemudian diukur diameternya dengan menggunakan jangka sorong yang diambil beberapa posisi pengukuran pada tiap lubang.

## ANALISIS DATA

Pengolahan data menggunakan analisis regresi linier

**Tabel I. Daya hambat ekstrak etanol Daun Sirih Merah terhadap pertumbuhan bakteri Escherichia coli**

NO.	Konsentrasi (x)	D.Hambat (y)	$x^2$	$y^2$	x.y
1	20	2,53	400	6,40	50,6
2	40	5,86	1600	34,33	234,4
3	60	3,11	3600	9,67	186,6
4	80	5,13	6400	26,31	410,4
$\Sigma$	200	16,63	12000	76,71	881,8

## 1. Perhitungan korelasi konsentrasi dan daya hambat (n=4)

$$x = \frac{\sum x}{n} = \frac{200}{4} = 50$$

$$y = \frac{\sum y}{n} = \frac{16,63}{4} = 4,15$$

$$\begin{aligned} a &= \frac{(\sum y) \cdot (\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2} \\ &= \frac{(16,63)(12000) - (200)(881,8)}{4(12000) - (200)^2} \\ &= \frac{(199560) - (176360)}{(48000) - (40000)} \\ &= \frac{23200}{8000} = 2,9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} b &= \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2} \\ &= \frac{4(881,8) - (200)(16,63)}{4(12000) - (200)^2} \\ &= \frac{(3527,2) - (3326)}{48000 - 40000} \\ &= \frac{201,2}{8000} = 0,025 \end{aligned}$$

Persamaan regresi linier

$$y = a + bx$$

$$y = 2,9 + 0,025 x$$

a = titik potong

bx = kemiringan

## 2. Hitung r

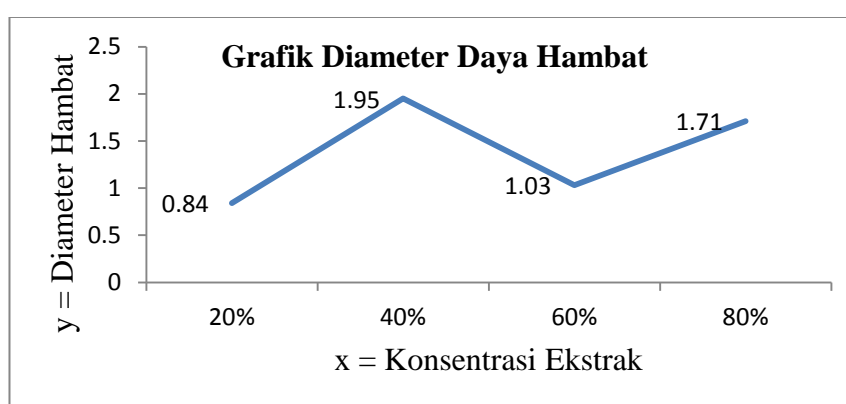
$$\begin{aligned} r &= \frac{n((\sum xy) - (\sum x)(\sum y))}{\sqrt{n(\sum x^2) - (\sum x)^2} \cdot \sqrt{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}} \\ &= \frac{4(881,8) - (200)(16,63)}{\sqrt{4(12000) - (200)^2} \cdot \sqrt{4(76,71) - (16,63)^2}} \\ &= \frac{3527,2 - 3326}{\sqrt{(48000 - 40000)} \cdot \sqrt{(306,84 - 276,55)}} \\ &= \frac{201,6}{\sqrt{(8000) \cdot (30,29)}} \\ &= \frac{201,6}{\sqrt{242320}} \\ &= \frac{201,6}{492,26} = 0, \end{aligned}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Tabel II. Diameter daerah hambat ekstrak etanol Daun Sirih Merah terhadap Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli***

Replikasi	Diameter Hambat (cm)					
	Kontrol (+) (Amoksan 0,2%)	Kontrol (-) (Etanol 70%)	Konsentrasi Ekstrak			
			20%	40%	60%	80%
1	2,28	0,6	0,92	2,25	0,83	1,47
2	2,19	0,6	0,71	1,46	1,29	1,95
3	2,08	0,6	0,90	1,85	0,99	1,71
Jumlah	6,55	1,8	2,53	5,86	3,11	5,13
± SD	2,18	0,6	0,84	1,95	1,03	1,71

Keterangan : Diameter lubang 0,6 cm



**Gambar 1 Grafik diameter daya hambat**

Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cetak lubang. Konsentrasi yang diuji yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dengan kontrol negatifnya etanol 70% dan kontrol positif menggunakan amoxicillin injeksi 0,2%. Kontrol negatif berfungsi untuk melihat pelarut pada ekstrak yang digunakan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau tidak. Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol prosedur yaitu untuk membuktikan bahwa cara kerja dalam penelitian sudah dilakukan sesuai dengan prosedur. Amoxicillin injeksi digunakan sebagai kontrol positif dikarenakan merupakan obat yang berspektrum luas dan digunakan untuk mengobati infeksi pada saluran nafas, lapisan mukosa dan kulit.

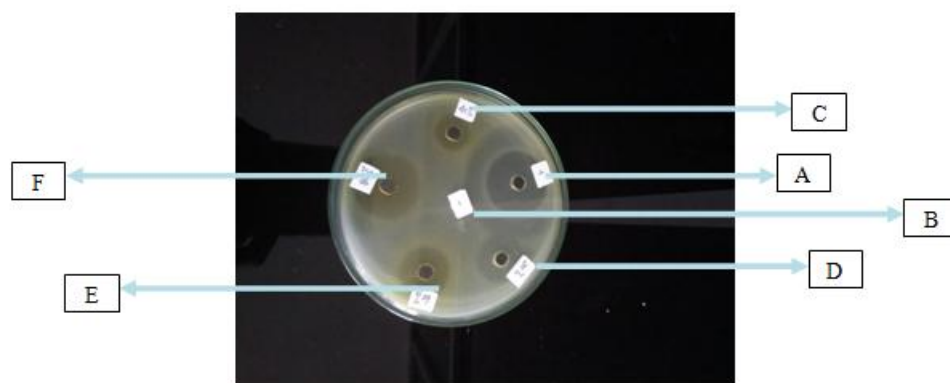
Metode pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menggunakan metode difusi cetak lubang. Metode difusi cetak lubang dilakukan dengan cara membuat lubang menggunakan alat perforator pada 20ml media agar yang sebelumnya telah dicampur dengan 0,1ml suspensi bakteri *Escherichia coli*. Masing-masing lubang tersebut di isi dengan 20 mikroliter ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%, kemudian dibiarkan selama 30 menit dengan tujuan semua larutan tersebut berdifusi maksimal ke media. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Pembacaan hasil penelitian dilakukan dengan cara melihat daerah bening disekitar lubang, kemudian diameter hambatan tersebut diukur dengan menggunakan jangka sorong sebanyak 3 kali pengukuran dengan arah yang berbeda.

. Hal ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan cairan penyari dan metode uji. Pengujian menggunakan cairan penyari etanol 70% dan menggunakan metode uji cetak lubang, sedangkan Katno dkk (2009) menggunakan cairan penyari etanol 80% dan metode uji cakram.

Diameter daerah hambat kontrol positif dalam penelitian ini yaitu sebesar 2,18 cm, hasil ini berbeda jauh dengan hasil diameter daerah hambat ekstrak. Kemungkinan disebabkan karena pada proses pengenceran ekstrak kurang larut sehingga menyebabkan kandungan senyawa dalam ekstrak tidak terlarut sempurna.

Data yang diperoleh diolah dengan metode regresi linier untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak terhadap diameter daerah hambat, dari hasil perhitungan diperoleh nilai koefisien determinan ( $r^2$ ) sebesar 0,17, dimana bila  $r$  mendekati 1 maka kolerasi akan semakin kuat, sedangkan jika  $r$  mendekati 0 maka kolerasi semakin lemah. Jika dilihat dari tabel interpretasi, nilai  $r^2$  sebesar 0,17 termasuk kategori rendah.

Gambar Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*



**Gambar 2** Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Keterangan :

- A : Kontrol positif Amoksisilin injeksi 0,2% <sup>b/v</sup>
- B : Kontrol negatif Etanol 70%
- C : Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) konsentrasi 20%
- D : Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) konsentrasi 40%
- E : Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) konsentrasi 60%
- F : Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) konsentrasi 80%

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat ditarik beberapa kesimpulan diantaranya :

1. Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
2. Peningkatan konsentrasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) berpengaruh sangat rendah terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tetapi memiliki nilai interpretasi yang rendah dan hasil analisis regresi linear diperoleh nilai koefisien korelasi (nilai  $r$ ) = 0,409.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Acharya, T. 2016. Preparation of Mc Farland Turbidity Standards.[Online].[http://Microbeonline.com/Preparation-Mc Farland-turbidity-Standards/](http://Microbeonline.com/Preparation-Mc-Farland-turbidity-Standards/). (diakses tanggal 21 Desember 2017).
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella thyphimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. Bioscientiae. 1(1) : 31-38. Dalam Jurnal Penelitian Ajizah A. Mpila, Fatmawati, dan Weny,I. Wiyono Dengan Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (Coleus Atropurpureus [L] Benth) Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia Coli, dan Pseudomonas Aeruginosa secara In-Vitro. Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT, Manado.
- Ariyanti, N. K., Gede, B.I., Darmayadan Sudirga. 2012. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (Aloe Barbadensis Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Atcc 25923 dan Escherichia Coli Atcc 25922.<http://ojs.unud.ac.id/index.php/BID/article/view/5301> (diakses tanggal 21 Desember 2017 20.23).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995.Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta :Departemen Kesehatan RI. 7
- Gunawan dan Mulyani, S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jakarta : Penebar Swadaya. 9
- Hanani, E. 2016. Analisis Fitokimia. Jakarta : Kedokteran EGC.
- Indriati, G., Agustina, A dan Rina W. 2016. Daya Hambat Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav.).<http://ecampus.iainbatusangkar.ac.id/ojs/index.php/sainstek/article/view/68> (diakses tanggal 8 Februari 2018).
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg., Brooks, G.F., Janet, S.B dan Stephen, A. M. 2004. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23. Jakarta : EGC. 225-226.
- Jawetz E., J. Melnick. E., Adelberg. 1995. Review of Medical Microbiology.Los Altos, California: Lange Medical Publication.
- Junaidi, I. 2009. Pedoman Praktis Obat Indonesia. Jakarta. Bhuana Ilmu Populer. 43-46
- Kairupan dan Priskila,C. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu (Hibiscus Rosa-Sinensis L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli. [http://perpus.fkik.uinjkt.ac.id/file\\_digital/Sri%20Widya%20Kurniawati.pdf](http://perpus.fkik.uinjkt.ac.id/file_digital/Sri%20Widya%20Kurniawati.pdf) (diakses tanggal 21 Desember 2017 Jam 22.48)
- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordofolia (ten) steensis) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Pseudomonas auruginosa. Jurnal Skripsi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. Jakarta Timur : Trans Info Media.39-40
- Ngaisah, S. 2010. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) Asal Magelang. <http://core.ac.uk/download/pdf/12351676.pdf> (diakses tanggal 27 Januari 2018 Jam 20.05)
- Pratiwi dan Sylvia, T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta : Erlangga. 154-160.
- Radji, M. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta : EGC
- Sahputra, A.2014. Uji Efektifitas Ekstrak Madu Karet Dalam Menghambat Pertumbuhan Staphylococcus Aureus. <http://repository.uinjkt.ac.id/space/bitstream/123456789/25515/1/ARDIN%20SAHPUTRA%20-%20FKIK.pdf>.(diakses tanggal 4 Januari 2018 Jam 15.35)
- Sasmito, E. 2017. Imonomodulator Bahan Alami. Yogyakarta : Rapha Publishing. 117
- Sudewo, B. 2008. Basmi Penyakit dengan Sirih Merah. Jakarta : Agro Media Pustaka.37
- Taufiq, S.,Yuniarni,U dan Hazar,S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (Carica papaya L.) terhadap Escherichia coli dan Salmonella thypi [Jurnal]: Unisba .654