

# UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus epidermidis*

## LEGUNDI LEAF ETHANOL EXTRACT (*Vitex trifolia* L.) ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST AGAINST THE GROWTH OF *Staphylococcus epidermidis* BACTERIA

<sup>1\*</sup>Jon Kenedy Marpaung, <sup>2</sup>Panal Sitorus, <sup>2</sup>Pandapotan Nasution, <sup>2</sup>Roma Devina Yanti

<sup>1</sup>Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: jonkenedymp@gmail.com

**Abstrak.** Masyarakat banyak menggunakan tumbuhan tradisional untuk mengobati luka salah satunya yaitu daun legundi. Daun legundi (*Vitex trifolia* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin, tanin, steroid/triterpenoid yang berperan sebagai zat antiseptik dan membantu dalam proses penyembuhan luka. *Staphylococcus epidermidis* (Gram positif) merupakan bakteri penyebab infeksi kulit ringan yang disertai pembentukan abses. Adapun tujuan dari penelitian ini Untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% ekstrak daun legundi terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan mengetahui konsentrasi yang efektif ekstrak daun legundi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan ekstrak daun legundi dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% ekstrak etanol daun legundi memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat masing-masing 8 mm, 8,84 mm, 9,84 mm, 10,54 mm. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun legundi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, karena disekitar kertas cakram terdapat zona bening yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

**Kata kunci :** Antibakteri, (*Vitex trifolia* L.), *Staphylococcus epidermidis*

**Abstract.** Legundi leaves (*Vitex trifolia* L.) contain flavonoid compounds, alkaloids and saponins, tannins, steroids/triterpenoids that act as antiseptic substances and aid in the wound healing process. *Staphylococcus epidermidis* (Gram positive) is a mild skin infection-causing bacteria that accompanies the formation of abscesses. As for the purpose of this study To know the absence of antibacterial activity from concentrations of 10%, 15%, 20%, 25% legundi leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* bacteria and know the effective concentration of legundi leaf extract in inhibiting the growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria. This research method uses experimental methods and legundi leaf extract with concentrations of 10%, 15%, 20%, 25%. The results showed that concentrations of 10%, 15%, 20%, 25% of legundi leaf ethanol extract had antibacterial activity against the growth of *Staphylococcus epidermidis* indicated with a blockable zone diameter of 8 mm, 8.84 mm, 9.84 mm, 10.54 mm, respectively. Based on the results that have been done can be concluded that legundi leaf extract can inhibit the growth of bacteria *Staphylococcus epidermidis*, because around the disc there is a clear zone that indicates the absence of bacterial growth.

**Keywords :** Antibacterial, (*Vitex trifolia* L.), *Staphylococcus epidermidis*

## PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat alternatif dalam memelihara kesehatan pada saat ini mulai dikembangkan dan ditingkatkan. Pemanfaatan tumbuhan obat masih perlu terus digali dan dikembangkan berdasarkan penelitian dan pengkajian secara mendalam seiring dengan kemajuan teknologi. Dengan demikian kemajuan teknologi berperan mendukung keberadaan dan peranan tumbuhan obat dalam memenuhi kebutuhan dasar kesehatan masyarakat [1]. Masyarakat banyak menggunakan tumbuhan tradisional untuk mengobati luka salah satunya yaitu daun legundi. Terdapat banyak kegunaan tumbuhan daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dalam kehidupan sehari-hari diantaranya untuk mengobati luka baru dan bengkok dengan cara mengoleskan daun legundi pada luka baru. Daun legundi (*Vitex trifolia* L.) terbukti dapat mempercepat penyembuhan luka

dibandingkan povidoniodine 10% [2]. Tumbuhan daun legundi ini juga mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin, tanin, steroid/triterpenoid yang berperan sebagai zat antiseptik dan membantu dalam proses penyembuhan luka [3]. Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada kulit diantaranya adalah bakteri *Staphylococcusepidermidis*. *Staphylococcusepidermidis* (Gram positif) merupakan bakteri penyebab infeksi kulit ringan yang disertai pembentukan abses. Banyaknya penyakit yang disebabkan oleh infeksi dari berbagai macam patogen seperti bakteri, jamur, maupun virus dan seringnya terjadi resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi salah satu alasan peneliti untuk melakukan penelitian antibakteri menggunakan daun legundi. Selain itu penggunaan bahan obat alami tidak memiliki efek samping atau lebih kecil daripada penggunaan obat-obat kimia seperti antibiotik [4]. Pada penelitian sebelumnya sudah dilakukan penelitian daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonellatyphi*. Hasil uji antimikroba menunjukkan ekstrak daun legundi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonellatyphi*. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun legundi mengandung berbagai senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin. Zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 20%. Tetapi belum terdapat data ilmiah daun legundi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcusepidermidis*. Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk meneliti tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun legundi (*Vitex trifolia* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcusepidermidis*.

## METODE PENELITIAN

### 1. Metode Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel dilakukan dengan cara purposif sampling yaitu tanpa membandingkan tumbuhan yang sama dengan daerah lain. Bahan tumbuhan yang dipakai adalah daun legundi segar sebanyak 7 kg.

### 2. Pembuatan Simplisia

Sampel daun legundi yang telah di ambil dan masih segar dipisahkan dari rantingnya kemudian ditimbang, dicuci bersih dari pengotor dan ditiriskan, kemudian diiris tipis-tipis, lalu dikeringkan dilemari pengering dengan suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  hingga kering dan diperoleh simplisia, simplisia daun legundi yang telah kering selanjutnya diserbuk menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk simplisia dan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat [5].

### 3. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*)

Ekstrak daun legundi dilakukan pengenceran dengan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20%, 25%. Bahan pengenceran yang digunakan adalah DMSO 10%. Berikut pembuatan pengenceran dengan berbagai konsentrasi [6].

- Ekstrak daun legundi ditimbang sebanyak 0.5g kemudian dicukupkan dengan DMSO 10% hingga 5 ml [6].
- Ekstrak daun legundi ditimbang sebanyak 0,75g kemudian dicukupkan dengan DMSO 10% hingga 5 ml [6].
- Ekstrak daun legundi ditimbang sebanyak 1g kemudian dicukupkan dengan DMSO 10% hingga 5 ml [6].
- Ekstrak daun legundi ditimbang sebanyak 1,25g kemudian dicukupkan dengan DMSO 10% hingga 5 ml [6].

### 4. Penyiapan Konsentrasi Kontrol Positif dan Negatif

#### Pembuatan larutan kontrol positif

Kontrol positif dibuat dari sediaan obat kapsul Klindamisin 500 mg. satu tablet klindamisin ditimbang dan disetarakan dengan 500 mg dan digunakan cakram disklindamisin.

### Pembuatan larutan kontrol negatif

Sebagai kontrol negatif, digunakan kertas cakram yang direndam dalam DMSO 10% selama 15 menit.

### 5. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Cakram

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan Metode difusi yaitu menggunakan metode kertas cakram diameter 0,5 cm. Memipet 0,1 ml suspensi menggunakan mikropipet kedalam cawan petri steril yang berisi media MHA yang telah dicairkan sebanyak 14 ml dengan suhu 45-50 °C dihomogenkan dan dibiarkan sampai media memadat. Pada media yang telah padat diletakan kertas cakram dengan diameter 5 mm yang telah direndam selama 15 menit dalam ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) yang telah dibuat variasi konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% selama 15 menit. Kemudian meletakan kertas cakram yang telah direndam ekstrak diatas media MHA yang telah diberi suspensebakteri. Menginkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Mengamati pertumbuhan bakteri dengan mengukur area jernih sekitar kertas cakram dengan jangka sorong. Perlakuan yang sama dilakukan kontrol positif dan negatif [7]. Kontrol positif Klindamisin dan kontrol negatif DMSO 10%. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Selajutnya diukur diameter daerah hambat disekitar larutan bahan uji dengan menggunakan jangka sorong dan dilakukan sebanyak lima kali [7].

### 6. Pengukuran Zona Hambat

Aktivitas ekstrak daun legundi dapat dilihat dari zona hambat yang didapatkan. Zona hambat terlihat lebih bening daripada daerah sekitarnya dan tidak ditumbuhi bakteri. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong yang memiliki ketelitian 0,05 mm. Langkah pengukurannya sebagai berikut : zona hambat terbentuk disekitar kertas cakram diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong.

### 7. Pengolahan Data

Cara pengolahan data-data yaitu dilakukan dengan mengukur diameter (satuan mm) daya hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi perlakuan. Pada masing-masing pengulangan dirata-ratakan ukuran diameter untuk setiap perlakuannya dan dianalisa secara deskriptif [8].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia* L.)

**Tabel 1.** Hasil Karakteristik Simplisia Ekstrak Daun Legundi

| No | Parameter Standar Simplisia | Hasil (%) | Pustaka % |
|----|-----------------------------|-----------|-----------|
| 1  | Kadar Abu Total             | 3,46%     | <6%       |
| 2  | Kadar Abu Tidak Larut Asam  | 0,94%     | <1,5%     |
| 3  | Kadar Air                   | 19,3%     | <10%      |
| 4  | Kadar Sari Larut Air        | 65,60%    | >18%      |
| 5  | Kadar Sari Larut Etanol     | 72,04%    | >12,5%    |

Penetapan kadar sari larut air bertujuan untuk memenuhi kadar senyawa kimia bersifat polar yang terkandung di dalam simplisia, sedangkan penetapan kadar sari larut etanol dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa larut dalam etanol baik senyawa polar dan non polar. Hasil pengujian kadar sari yang larut air didapatkan nilai sebesar 65,60% dan pada pengujian kadar sari yang larut etanol didapatkan nilai sebesar 72,04%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa nonpolar yang terkandung dalam daun legundi lebih banyak daripada senyawa polar. Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia. Kadar abu total berkaitan dengan mineral baik senyawa organik maupun eksternal. Setelah kadar abu tidak larut dalam asam bertujuan untuk mengetahui jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal, bersumber dari pengotoran yang berasal dari pasir atau tanah silikat [9]. Hasil pengujian kadar abu total simplisia daun legundi diperoleh sebesar 3,46% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,94% dimana secara

umum maksimal kadar abu tidak larut asam adalah 0,94% sehingga memenuhi persyaratan standar dalam pustaka.

### Hasil Skrining Fitokimia

**Tabel 2.**Hasil pemeriksaan skrining fitokimia dari serbuk simplisia metabolit sekunder dan preaksi

| No | Golongan Senyawa     | Nama Pereaksi                                      | Warna yang terbentuk       | Hasil |
|----|----------------------|----------------------------------------------------|----------------------------|-------|
| 1. | Alkaloid             | Meyer                                              | Endapan berwarna kuning    | –     |
|    |                      | Dragendroff                                        | Endapan Merah              | +     |
|    |                      | Bouchart                                           | Coklat                     | +     |
| 2. | Flavonoid            | SerbukMg <sup>+</sup> AmilAlkohol+HCl <sub>p</sub> | Merah kekuningan           | +     |
| 3. | Glikosida            | Molish+H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>              | Cincin berwarna ungu       | +     |
| 4. | Saponin              | Air panas + HCL 2N                                 | Terbentuk busa yang stabil | +     |
| 5. | Tanin                | Air panas+FeCl <sub>3</sub> 10%                    | Hijau kehitaman            | +     |
| 6. | Triterpenoid/steroid | Lieberman-Bouchart                                 | Coklat                     | –     |

#### Keterangan:

(+) positif : mengandung golongan senyawa

(–) negatif : tidak mengandung golongan senyawa

Uji metabolit sekunder yang pertamayaitu alkaloid. Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa golongan alkaloid dengan menggunakan pereaksi warna Dragendorff. Hasil uji yang telah dilakukan menghasilkan terbentuknya endapan merah bata atau jingga. Uji alkaloid menggunakan pereaksi meyer menghasilkan endapan menggumpal warna putih/kuning. Pada pengujian alkaloid dengan bouchard menghasilkan warna coklat sampai hitam.

### Hasil Ekstraksi

Ekstraksi daun legundi yang diambil kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir hal ini berfungsi untuk menghilangkan kotoran-kotoran dari sampel. Ekstraksi daun legundi disegar sebanyak 7 kg kemudian dikeringkan. Maka didapatkan hasil 2200 gram kemudian dihaluskan, dan sebanyak 600 gram dilakukan proses ekstraksi, maka didapatkan ekstrak kental sebanyak 197,82 gram. Rendemen yang didapat yaitu 303, 30%. Dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{□□□□□□□□□□}}{\text{□□□□□□□}} \times$$

$$\equiv \frac{197 \text{ □□}}{300} \times 100\% \equiv 65,94\%$$

### Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Legundi (*Vitex trifolia* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

**Tablet 3.** Hasil pengukuran diameter daerah hambat ekstrak etanol Daun Legundi (*Vitex trifolia* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*

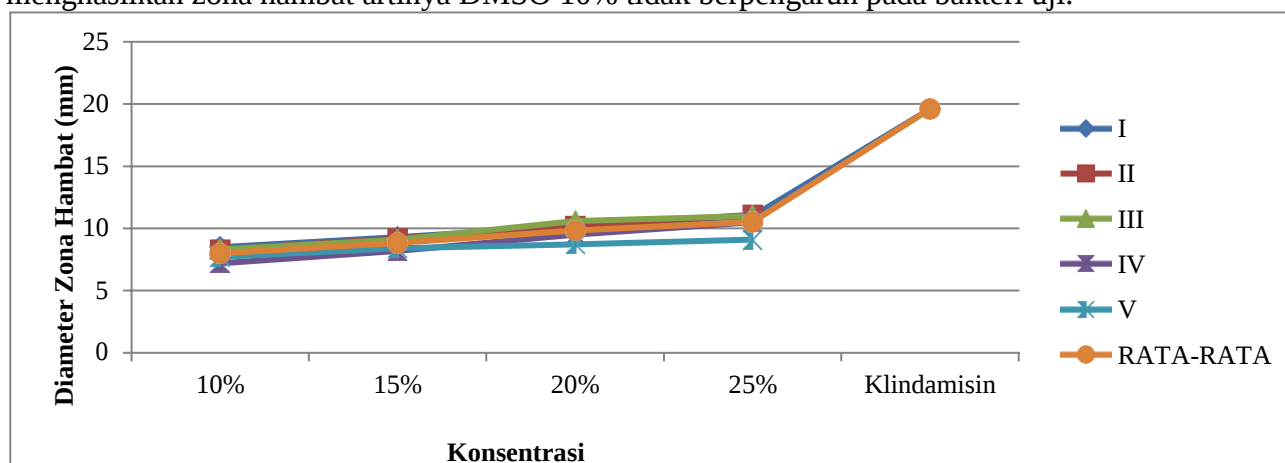
| Konsentrasi ekstrak daun legundi (%) | Rata-rata diameter (mm) |      |      |      |      | Hasil Rata-rata (mm) |
|--------------------------------------|-------------------------|------|------|------|------|----------------------|
|                                      | P(1)                    | P(2) | P(3) | P(4) | P(5) |                      |
| 10%                                  | 8,5                     | 8,3  | 8,3  | 7,2  | 7,7  | 8 mm± 0,14           |
| 15%                                  | 9,3                     | 9,2  | 9,1  | 8,2  | 8,4  | 8,84 mm± 0,20        |
| 20%                                  | 10,2                    | 10,2 | 10,6 | 9,5  | 8,7  | 9,84 mm± 0,18        |
| 25%                                  | 11,0                    | 11,1 | 11,0 | 10,5 | 9,1  | 10,54 mm± 0,32       |
| DMSO 10%                             | -                       |      |      |      |      | -                    |
| Klindamisin                          | 19,6                    |      |      |      |      | 19,6 mm± 0,24        |

**Keterangan :**

P : Pengulangan

- : Tidak memberikan hambatan

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun legundi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcusepidermidis*. Hal ini dapat dilihat dari adanya zona bening di sekitar paperdisk yang menunjukkan bahwa terdapat aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcusepidermidis* oleh ekstrak daun legundi. Kemampuan ekstrak daun legundi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcusepidermidis* disebabkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dalam tanaman ini. Berdasarkan penelitian sebelumnya [6] menyatakan bahwa golongan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin. Penentuan aktivitas antimikroba ekstrak daun legundi dan DMSO 10% dilakukan dengan metode difusi cakram yaitu penentuan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang memungkinkan memiliki aktivitas bakteri dengan menggunakan kertas cakram. Pengujian antibakteri diawali dengan melakukan pengujian dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% pada bakteri *Staphylococcusepidermidis*. Diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcusepidermidis* pada konsentrasi 10% adalah 8 mm, pada konsentrasi 15% adalah 8,84 mm, pada konsentrasi 20% adalah 9,84 mm, pada konsentrasi 25% adalah 10, 54 mm. Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembandingan dalam menentukan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun legundi. Pada uji aktivitas antibakteri ini digunakan klindamisin 500 mg/ml sebagai kontrol positif, dengan menunjukkan hasil daya hambat sebesar 19,6 mm terhadap bakteri *Staphylococcusepidermidis*. Klindamisin adalah antibiotik turunan linkomisin yang bekerja dengan menghambat sintesis protein [10]. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO 10%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat artinya DMSO 10% tidak berpengaruh pada bakteri uji.



**Gambar 4.1** Pengukuran Diameter Daerah Hambat

Zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) memiliki sifat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcusepidermidis*. Zona bening tersebut kemudian disebut sebagai zona hambat. Itu menandakan bahwa didalam ekstrak daun legundi terdapat senyawa antibakteri seperti flavonoid, tanin, alkaloid, glikosida, saponin [11]. Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membrane sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibatnya pertumbuhan terhambat atau bahkan mati. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membrane sel inaktivasi fungsi materi genetik. Senyawa alkaloid merupakan senyawa antibakteri dan memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel [12]. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri, sehingga dapat merusak membrane sitoplasma bakteri diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler dinding sel bakteri lisis dan senyawa akan berikatan dengan lipid DNA bakteri sehingga menghambat replikasi DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan menyebabkan senyawa intraseluler akan keluar[13]. Antibiotik digunakan sebagai pembanding adalah klindamisin. Klindamisin digunakan sebagai antibiotik bersifat bakteriostatik dan mempunyai spektrum luas. Senyawa ini juga efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh bakteri gram positif maupun negatif[14].

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, karena disekitar kertas cakram terdapat zona bening yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Konsentrasi ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) yang paling efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* mulai dari konsentrasi 10% dengan daya hambat 8 mm, konsentrasi 15% dengan daya hambat sebesar 8,84 mm, konsentrasi 20% dengan daya hambat sebesar 9,84 mm, konsentrasi 25% dengan daya hambat sebesar 10,54 mm.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Hariana, A. (2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya. Halaman 138-139.
- [2] Lubis, H. M. L., & Hariaji, I. (2017). Ekstrak buah legundi (*Vitex trifolia* L.) mampu menghambat pembelahan dan pertumbuhan sel tumor kulit tikus, 17(1), 1-6.
- [3] Herbie, T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226*. Cetakan Pe. Edited by Adhe. Depok Sleman Yogyakarta: OCTOPUS Publishing House.
- [4] Radji, Maksum (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Halaman: 125, 127, 130, 132, 137.
- [5] Depkes RI, 2010. *Pedoman Pemberantas Penyakit Diare*. Jakarta: dan PL Diakses pada tanggal 30 mei 2006
- [6] Iqlima, 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Legundi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Mencit. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Kimia (JIMPK)*. Vol 2. No 2 (99-106).
- [7] Depkes RI. (1995). *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 1-6, 323-325.
- [8] Dwidjoseputro, 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Jembatan: Jakarta.
- [9] Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta. Departemen Kesehatan RI. Halaman 1,9-10.
- [10] Jawetz, E., dkk. (2010). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Kedua puluh. Jakarta: Penerbit EGC. Halaman 239-240, 259.
- [11] Pelczar, M. (2012) *Dasar-Dasar Mikrobiologi* Jilid 2. Jakarta: UI.
- [12] Marjoni, Riza. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia*. Jakarta: Trans Info Media. Halaman: 8-13, 15-16, 23.
- [13] Nurrahmania, dkk (2014). Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Klorofom Daun Tembelean. Halaman 41-52.
- [14] Radji, Maksum (2014). *Mekanisme Aksi Molekuler Antibiotik dan Komoterapi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Halaman: 75-76.