

AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUS KAYU LABAN (*Vitex pubescens* Vahl.) TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Salsabella Firqah Najiyah¹, Edyson², Husnul Khatimah³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

²Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

³Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Email korespondensi: salsabellafrq@gmail.com

Abstract: *Laban (Vitex pubescens Vahl.) is a plant often used as herbal medicine by Dayak community. It has antibacterial properties as it contains active compounds such as flavonoids, alkaloids, phenols, steroids and terpenoids. This study was aimed to assess the antibacterial activity of laban wood infusions against Escherichia coli (E.coli) and Pseudomonas aeruginosa (P.aeruginosa). This study used true experimental methods with posttest-only design with control group design, the concentration of laban wood infusion were 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%, with ciprofloxacin and sterile aquadest as positive and negative control. The data were analyzed using One-Way ANOVA and Post-hoc Duncan ($\alpha=0,05$), with substantial differences ($p<0.05$) in all treatments. The highest inhibitory zone of laban wood infusion is at concentration of 100% against E.coli (18.67 mm), and P.aeruginosa (17.07 mm). It was concluded that laban wood infusion had antibacterial activity against E.coli and P.aeruginosa.*

Keywords: *Laban wood infusion, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, antibacterial.*

Abstrak: *Laban (Vitex pubescens Vahl) adalah contoh tumbuhan yang umumnya dimanfaatkan masyarakat dayak sebagai obat herbal. Laban diketahui mempunyai antibakteri karena mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, fenol, steroid, dan terpenoid. Studi ini memiliki tujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari infus kayu laban terhadap Escherichia coli (E.coli) dan Pseudomonas aeruginosa (P.aeruginosa). Studi ini memanfaatkan metode true eksperimental dengan rancangan posttest-only with control group design, perlakuan yang digunakan yakni infus kayu laban konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, dengan siprofloksasin sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif. Analisis data memanfaatkan uji One-Way ANOVA dan Post-hoc Duncan ($\alpha=0,05$) ditemukan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$) pada seluruh perlakuan. Rerata zona hambat tertinggi dari perlakuan infus kayu laban yaitu pada konsentrasi 100% terhadap E.coli (18,67 mm) dan P.aeruginosa (17,07 mm). Disimpulkan bahwa infus kayu laban mempunyai aktivitas antibakteri bagi E.coli serta P.aeruginosa.*

Kata-kata kunci: *Infus kayu laban, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, antibakteri.*

PENDAHULUAN

Salah satu permasalahan di bidang kesehatan yang kasusnya terus mengalami peningkatan adalah penyakit infeksi. Bakteri patogen penyebab penyakit infeksi di antaranya adalah *Escherichia coli* (*E.coli*) dan *Pseudomonas Aeruginosa* (*P.aeruginosa*). *Escherichia coli* sering menyebabkan infeksi di saluran cerna sedangkan *P.aeruginosa* sering menyebabkan infeksi nosokomial.¹ Pada tahun 2015 ditemukan 12.531 kasus diare di Banjarmasin yang menjadikan Banjarmasin sebagai kota dengan penderita diare tertinggi di Kalimantan Selatan.² Sementara kasus infeksi nosokomial yang umumnya dijumpai yakni infeksi saluran kemih (ISK) dengan angka kejadian 40% dari penyakit infeksi yang terjadi di rumah sakit.³ Penatalaksanaan infeksi yang disebabkan oleh *E.coli* dan *P.aeruginosa* ialah dengan penggunaan antibiotika, namun berdasarkan beberapa hasil penelitian mengenai uji sensitivitas antibiotika ditemukan bahwa *P.aeruginosa* dan *E.coli* memiliki angka resistensi yang cukup tinggi. Menurut penelitian Normaliska tahun 2019 tingkat resistensi isolat *E.coli* paling tinggi adalah terhadap amoksisilin (100%), penisilin (100%), diikuti streptomisin (70%), sulfametoksazol (60%), serta tetrasiklin (30%).⁴ Sedangkan menurut penelitian Rukmono tahun 2013 ditemukan resistensi *P.aeruginosa* paling tinggi adalah terhadap ampisilin (86,4%), dan gentamisin 71,2%.⁵

Sejak dahulu tanaman obat di Indonesia sudah banyak dimanfaatkan. Tanaman laban (*Vitex pubescens* Vahl) adalah contoh tanaman yang sering digunakan sebagai bahan obat. Masyarakat Dayak Tunjung biasa menggunakan daun dan kulit kayu laban untuk mengobati diare dan disentri serta untuk membantu menyembuhkan luka. Diketahui kulit kayu laban mengandung tanin, saponin, dan flavonoid yang memiliki sifat antibakteri.⁶

Berdasarkan beberapa penelitian, diketahui bahwa bagian dari tanaman laban memiliki aktivitas antibakteri yang

dimanfaatkan sebagai sediaan herbal. Hasil penelitian Sirait dkk (2014), menyatakan bahwa terdapat sifat antibakteri ekstrak metanol buah laban dengan konsentrasi 100% berbeda-beda terhadap proliferasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* berdasarkan tiga tingkat kematangan buah yang dihubungkan dengan kenaikan diameter zona hambat.⁷ Berdasarkan penelitian Nikham (2006) tentang kepekaan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *P.aeruginosa* terhadap ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* Linn) iradiasi, diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun legundi tanpa proses iradiasi maupun dengan proses iradiasi terhadap bakteri *P.aeruginosa* sekitar 6%.⁸ Hasil penelitian Hasanah dkk (2015) ekstrak daun laban positif mengandung golongan senyawa saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid.⁹ Menurut hasil penelitian F Rinaldi dkk (2016) ekstrak metanol kulit kayu laban memiliki aktivitas sebagai antimikroba.⁶ Hasil penelitian Mastura dkk (2017) tentang kadar senyawa serta aktivitas biologi dari genus *Vitex* menyatakan bahwa senyawa metabolit sekunder triterpenoid, saponin, flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam daun laban cenderung tinggi.¹⁰

Berdasarkan hasil studi tersebut diketahui bahwa ekstrak kulit kayu, ranting, buah, dan daun genus *Vitex* memiliki kandungan antibakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai sediaan herbal. Namun belum banyak informasi mengenai aktivitas antibakteri dari infus kayu laban khususnya terhadap *E.coli* dan *P.aeruginosa*. Maka dari itu dilakukanlah studi ini guna menguji aktivitas antibakteri infus kayu laban terhadap *E.coli American Type Culture Collection* (ATCC) 25922 dan *P.aeruginosa* ATCC 10662 secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Metode yang dimanfaatkan pada penelitian ini merupakan metode eksperimental (*true experimental*) dengan

rancangan *posttest-only with control group design*, menggunakan 7 perlakuan yaitu infus kayu laban dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% (b/v), dengan siprofloksasin sebagai kontrol positif dan *aquadest* steril sebagai kontrol negatif. Jumlah repetisi untuk setiap perlakuan yakni 4 kali menurut perhitungan rumus Federer.¹¹

Bahan-bahan yang digunakan pada studi ini adalah 1 kg kayu laban yang diperoleh dari Kota Tanjung, Kabupaten Tabalong, isolat *E.coli* ATCC 25922 dan *P.aeruginosa* ATCC 10662 yang didapatkan dari laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *MacConkey Agar*, *aquadest* steril, *paper disk* steril, *disk* siprofloksasin 5µg, dan larutan standar *McFarland I* (setara bakteri 3×10^8 CFU/mL).¹²⁻¹⁴

Alat-alat penelitian yang dimanfaatkan dalam studi ini adalah gelas beker, lampu spiritus, lidi steril, kapas, korek api, osse steril, pinset, pipet tetes, spatula, panci infus, kompor, pisau steril, penjepit tabung, kain flannel, kertas saring, corong, oven, blender, kaliper mistar skala milimeter (*Tricle Brand*), neraca analitik, *aluminium foil*, cawan petri, tabung reaksi (*Pyrex Brand*®), gelas *erlenmeyer* (*IWAKI*®), inkubator aerob (*Carbolite*®), *autoclave* (*All American*®), meja *laminary air flow* (*Holten Maxisafe*®), penangas air (*waterbath*).^{12,14}

Pengambilan tanaman pada penelitian ini adalah bagian dahan yaitu cabang batang pohon yang tumbuh mencuat ke samping.¹⁵ Bagian tanaman yang diambil adalah bagian yang utuh dan tidak rusak. Tanaman diperoleh di Tanjung, Kabupaten Tabalong, Provinsi Kalimantan Selatan.

Kayu laban yang telah disiapkan dipotong-potong, dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung, kemudian dihaluskan dengan blender dan ditimbang serbuk halus yang

didapat. Simplisia kayu laban kemudian dimasukkan ke dalam *aquadest*. Konsentrasi 100% dibuat dengan 100 g kayu laban dilarutkan dengan 100 ml *aquadest*. Selanjutnya campuran simplisia dan akuades dimasukkan ke dalam panci infus, kemudian dipanaskan sambil diaduk sesekali selama 15 menit di atas tangas air terhitung sejak suhu mencapai 90°C. Cairan infus disaring melalui kain *flannel* selagi panas. Apabila volume yang diinginkan belum tercapai, dapat ditambahkan air panas melalui ampasnya. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan variasi konsentrasi perlakuan.

Skrining fitokimia dilaksanakan guna mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang ada pada kayu laban. Skrining fitokimia dilakukan di laboratorium farmakologi FK ULM.

Isolat *E. coli* dan *P.aeruginosa* yang akan dimanfaatkan sebagai bakteri uji pada penelitian ini merupakan isolat murni yang ini ditumbuhkan dalam media *MacConkey agar* yang sudah diinkubasi selama 24 jam di suhu 37°C. Setelah isolat murni bakteri uji disiapkan, selanjutnya diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasi ke dalam media *BHI* untuk dibuat suspensi biakan bakteri uji. Kemudian bakteri diinkubasi selama 8 jam di suhu 37°C lalu dilakukan penambahan akuades pada suspensi bakteri dalam media *BHI* sehingga didapatkan kekeruhan yang sama dengan larutan standar *McFarland I* atau setara dengan jumlah bakteri 3×10^8 CFU/ml.¹⁶ Prosedur ini dilakukan di dalam *laminary air flow*. Setiap isolat bakteri yang sudah distandardisasi dengan *McFarland I* atau setara dengan jumlah bakteri 3×10^8 CFU/ml dioleskan (*swab*) pada media MHA dengan kapas lidi steril. Kemudian letakkan *paper disk* yang telah direndam selama 1 jam masing-masing dalam larutan perlakuan diletakkan ke dalam media *MHA* menggunakan pinset. Selanjutnya, semua media pengujian dilakukan inkubasi di suhu 37°C. selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat (zona bening) pada setiap media pertumbuhan

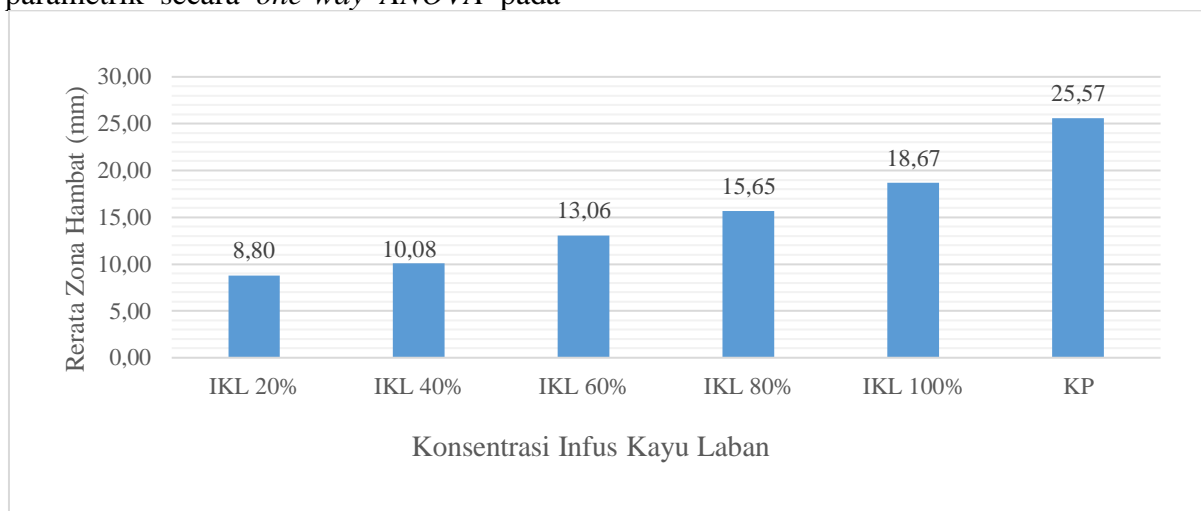
bakteri uji, menggunakan penggaris *calliper* dalam satuan milimeter (mm).¹⁷

Data yang didapat selanjutnya dibuat tabulasi dan dihitung rerata besaran zona hambat pada tiap perlakuan dari tiap pengulangan. Analisis data dilakukan menggunakan uji statistik. Data yang diperoleh diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-wilk*, kemudian dilakukan uji homogenitas varian menggunakan uji *Levene's test*. Jika data penelitian terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisis parametrik secara *one-way ANOVA* pada

tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil uji *one-way ANOVA* bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *post-hoc Duncan* untuk mengetahui salah satu perlakuan yang berbeda makna dibandingkan dengan perlakuan lainnya.¹⁸

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran rerata diameter zona hambat untuk berbagai perlakuan dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Rerata Diameter Zona Hambat Berbagai Perlakuan Konsentrasi Infus Kayu Laban (*Vitex pubescens* Vahl) terhadap *E.coli In Vitro*

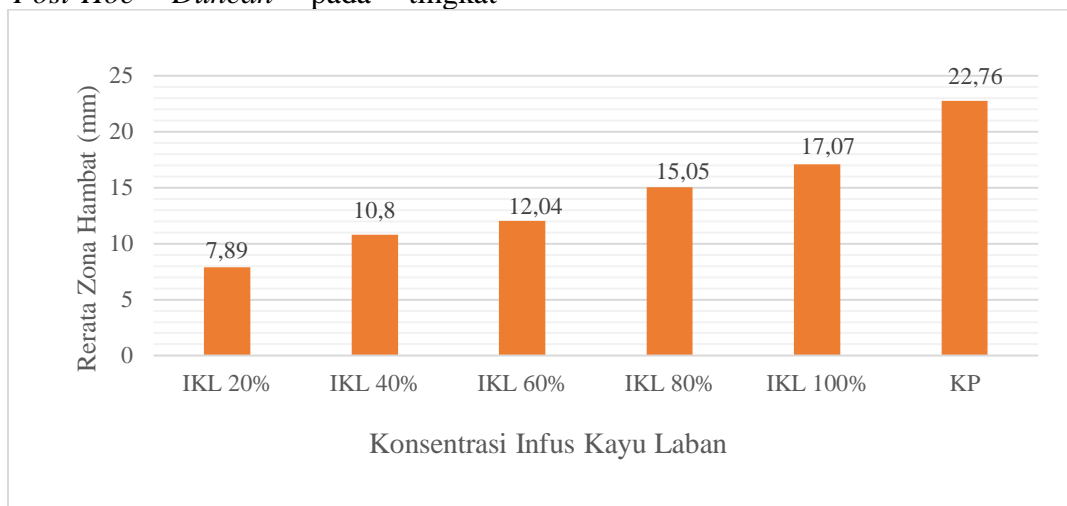
Hasil pengukuran zona besaran zona hambat dari masing-masing perlakuan infus kayu laban terhadap *E.coli* dan *P.aeruginosa* dapat dilihat pada gambar. Berdasarkan hasil penelitian pada gambar dapat dilihat bahwa terdapat peningkatan rerata diameter zona hambat sebagai efek dari peningkatan konsentrasi perlakuan. Seluruh perlakuan konsentrasi infus kayu laban memiliki aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *P.aeruginosa*. Rerata zona hambat tertinggi dari perlakuan infus kayu laban terhadap *E.coli* yaitu pada konsentrasi 100% dengan diameter 18,67 mm, zona hambat terendah didapat pada konsentrasi 20% yaitu 8,80 mm. Rerata zona hambat tertinggi dari perlakuan infus kayu laban terhadap *P.aeruginosa* yaitu pada konsentrasi 100%

dengan diameter 17,07 mm dan zona hambat terendah pada konsentrasi 20% sebesar 7,89 mm. Perlakuan kontrol positif (siprofloksasin) memberikan efek besaran zona hambat terhadap kedua bakteri uji dan efek penghambatannya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan infu kayu laban 100% yaitu sebesar 25,57 mm terhadap *E.coli* dan 22,76 mm terhadap *P.aeruginosa*. Kontrol negatif yaitu *aquadest* tidak membentuk zona hambat terhadap kedua bakteri uji.

Guna memahami persebaran data pada studi ini, analisis uji normalitas data dilakukan menggunakan uji *Shapiro-wilk* serta uji homogenitas data menggunakan uji *Levene's test*. Hasil uji normalitas diperoleh nilai $p > 0,05$, yang berarti distribusi data penelitian ini normal. Hasil

uji homogenitas data penelitian ini diperoleh nilai $p > 0,05$ pada *E.coli* dan *P.aeruginosa* yang berarti sebaran data dari penelitian ini adalah homogen atau dapat dikatakan bahwa tidak ada perbedaan varians pada data. Untuk memahami perbedaan antara perlakuan yang diuji maka dilakukan uji *one-way ANOVA*. Hasil uji parametrik *one-way ANOVA* didapatkan nilai $p = 0,000$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna di antara perlakuan yang diuji. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Duncan* pada tingkat

kepercayaan 95% guna mengetahui kelompok mana yang menunjukkan hasil berbeda bermakna. Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc Duncan*, disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna dari masing-masing perlakuan infus kayu laban terhadap bakteri *E.coli* dan *P.aeruginosa*. Seluruh perlakuan infus kayu laban memberikan efek berbeda bermakna terhadap perlakuan infus kayu laban lainnya.



Gambar 2. Rerata Diameter Zona Hambat Berbagai Perlakuan Konsentrasi Infus Kayu Laban (*Vitex pubescens* Vahl) terhadap *P.aeruginosa* *In Vitro*. Keterangan:

IKL : Infus Kayu Laban.

KP : Perlakuan Kontrol Positif terhadap *E.coli* dan *P.aeruginosa*.

Pembentukan zona hambat di sekitar pertumbuhan bakteri uji menunjukkan adanya senyawa aktif dari infus kayu laban bersifat antibakteri yang menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *P.aeruginosa*. Berdasarkan hasil uji fitokimia diketahui bahwa bagian kayu laban memiliki kandungan zat aktif yaitu flavonoid, alkaloid, fenol, steroid, dan terpenoid. Sistem kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri dan protein ekstraseluler, selain itu flavonoid dapat merusak membran mikroba karena sifat lipofilik yang dimilikinya.¹⁹ Berdasarkan penelitian Hafsari disebutkan bahwa alkaloid dapat merusak unsur yang menyusun peptidoglikan pada sel bakteri

yang menjadi penyebab lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga mengakibatkan kematian sel tersebut. Mekanisme ini dimanfaatkan alkaloid guna menghambat proliferasi bakteri.²⁰ Menurut penelitian Dwicahyani, senyawa fenol sebagai antibakteri memiliki mekanisme kerja dapat mendenaturasi protein, menginaktifkan enzim, serta merusak membran sel yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel dan berakibat pada terhambatnya pertumbuhan bahkan kerusakan sel.²¹ Zat aktif steroid sebagai antibakteri diketahui dapat bereaksi dengan membran fosfolipid sel yang memiliki sifat permeabel atas senyawa-senyawa lipofilik yang mengakibatkan integritas membran melemah serta morfologi membran sel

berubah dan mengakibatkan kerapuhan serta lisis pada sel.²² Sedangkan untuk mekanisme kerja terpenoid dapat berinteraksi dengan karbohidrat serta lemak yang akan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri.²²

Rata-rata diameter zona hambat yang terdapat pada studi ini sebanding dengan konsentrasi dari setiap kategori. Hal ini bisa disebabkan oleh konsentrasi infus tanaman yang tinggi akan seiring dengan kenaikan pada kandungan senyawa metabolit sekunder, sehingga menaikkan efektivitas antibakteri. Hasil ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang menyimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi infus menyebabkan peningkatan pada kandungan zat aktif sehingga memperkuat daya hambatnya.²³

Pada penelitian ini, besaran zona hambat yang didapat sebagai efek dari perlakuan kontrol positif yaitu siprofloksasin (5 µg) terhadap *E.coli* adalah sebesar 25,57 mm dan zona hambat dari perlakuan kontrol positif yaitu siprofloksasin (5 µg) terhadap *P.aeruginosa* adalah 22,76 mm. Berdasarkan kriteria *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) tahun 2018, siprofloksasin tergolong sensitif terhadap *E.coli* dan *P.aeruginosa* jika diameter zona hambat yang terbentuk besarnya lebih dari atau sama dengan 21 mm (≥ 21 mm) dan siprofloksasin tergolong resisten terhadap *E.coli* dan *P.aeruginosa* jika diameter zona hambat yang terbentuk besarnya kurang dari atau sama dengan 15 mm (≤ 15 mm). Hasil ini menunjukkan bahwa sensitifitas bakteri uji terhadap siprofloksasin bersifat sensitif.²⁴

Menurut hasil percobaan tersebut maka, hipotesis penelitian ini diterima yakni terdapat aktivitas antibakteri dari infus kayu laban terhadap *E.coli* dan *P.aeruginosa* secara *in vitro*. Hasil dari uji *Post-Hoc Duncan* menunjukkan bahwa perlakuan infus kayu laban 100% memberikan efek paling besar dalam memperlambat proliferasi *E.coli* dan *P.aeruginosa*, namun masih di bawah

kontrol positif. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Hasyim dkk (2018) yang menyimpulkan bahwa infusa daun sawo manila (*Manilkara zapota* L.) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *E.coli*, namun belum ada perlakuan yang bisa menyamai atau lebih dari kontrol positif (siprofloksasin).²⁵ Hal serupa juga sejalan dengan studi Yunita dkk (2020) yang menyebutkan bahwa ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa*, namun belum ada perlakuan yang bisa menyamai atau lebih dari kontrol positif (siprofloksasin).²⁶

Pada penelitian ini tidak dilakukan uji kuantitatif metabolit sekunder sehingga belum diketahui kadar total senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam infus kayu laban dan senyawa metabolit mana yang paling dominan. Pada penelitian ini juga belum didapatkan konsentrasi yang daya hambatnya melebihi kontrol positif, sehingga dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan sediaan kombinasi untuk mencapai konsentrasi yang daya hambatnya optimum. Kombinasi infus dari dua tanaman obat yang memiliki kandungan senyawa fitokimia yang sama seperti kombinasi infus kayu laban dengan tanaman meniran (*Phyllanthus niruri*) atau dengan sirih cina (*Peperomia pellucida*)²³ sehingga diharapkan dapat menghasilkan suatu efek sinergis. Adanya efek sinergis pada sediaan kombinasi tanaman obat akan meningkatkan aktivitas daya hambat masing-masing tanaman tersebut, sehingga menghasilkan aktivitas daya hambat yang lebih kuat dibandingkan sediaan tunggalnya.²⁷ Pelarut serta metode yang dilakukan pada proses ekstraksi mempengaruhi daya hambat yang dihasilkan oleh bahan alam. Metode pada penelitian ini adalah ekstraksi panas dengan menggunakan infus. Kekurangan metode ini yakni kurang sesuai bagi senyawa aktif yang termolabil karena menggunakan suhu yang tinggi. Sebagai pelarut pada studi ini, air akan mempengaruhi jumlah zat aktif

yang ditemukan di sediaan infus. Kadar zat aktif yang dapat ditarik dari infus kayu laban dapat berbeda jika dilakukan dengan metode dan pelarut yang berbeda.²⁸ Infus kayu laban pada penelitian ini belum melalui tahap uji toksisitas, sehingga untuk penelitian selanjutnya dapat memanfaatkan uji toksisitas guna mengetahui dosis penggunaan yang aman.

PENUTUP

Kesimpulan pada studi ini yakni rata-rata diameter zona hambat terkecil dan terbesar dari sediaan infus kayu laban terhadap *E.coli* ATCC 25922 berturut-turut adalah 8,80 mm dan 18,67 mm.. Sedangkan, rerata diameter zona hambat terkecil dan terbesar dari sediaan infus kayu laban terhadap *P.aeruginosa* ATCC 10662 berturut-turut adalah 7,89 mm dan 17,07 mm. Rerata diameter zona hambat berbeda bermakna pada perlakuan infus kayu laban terhadap *E.coli* ATCC 25922 serta *P.aeruginosa* ATCC 10662 berdasarkan uji *One-Way ANOVA* ($p < 0,05$).

Penelitian lanjutan dapat dilakukan uji kuantitatif metabolit sekunder, membuat sediaan kombinasi infus dengan tanaman obat yang memiliki kandungan senyawa fitokimia yang sama, serta menggunakan pelarut dan metode ekstraksi yang berbeda sehingga diharapkan dapat menghasilkan daya hambat optimum terhadap *E.coli* ATCC 25922 dan *P.aeruginosa* ATCC 10662. Selain itu juga dapat dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui dosis yang aman dari infus kayu laban.

DAFTAR PUSTAKA

1. Carroll K, Hobden J, Miller S, Morse S, Mietzner T, Detrick B. Jawetz, vMelnick, & Adelberg's medical microbiology. 27th ed. New York: McGraw Hill Education; 2016.
2. Kasman K, Ishak NI. Faktor risiko kejadian diare pada balita di kota Banjarmasin. *Promot J. Kesehat Masy.* 2019;8(2):123–30.
3. Musdalipah M. Identifikasi drug related problem (Drp) pada pasien infeksi saluran kemih di Rumah Sakit Bhayangkara Kendari. *J Kesehat.* 2018;11(1):39–50.
4. Normaliska R, Sudarwanto MB, Latif H. Pola resistensi antibiotik pada *Escherichia coli* penghasil ESBL dari sampel lingkungan di RPH-R kota Bogor. *Acta Vet Indones.* 2019;7(2):42–8.
5. Rukmono P, Zuraida R. Uji kepekaan antibiotik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* penyebab sepsis neonatorum. *Sari Pediatr.* 2016;14(5):332.
6. Rinaldi F F, Ibrahim A, Fadraersada J, Rijai L. Identifikasi metabolit sekunder dan pengujian toksisitas ekstrak metanol kulit kayu laban (*Vitex pinnata* L.) dengan metode *brine shrimp lethality test (BSLT)*. *Porsiding Semin Nas Kefarmasian.* 2016;(November):133–9.
7. Sirait EU, Khotimah S, Turnip M. Ekstrak buah laban (*Vitex pubescens* Vahl) sebagai penghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont.* 2014;3(3):40–5.
8. Nikham. Kepekaan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* Linn.) iradiasi. *Risal Semin Ilm Apl Isot dan Radiasi.* 2006;153–9.
9. Hasanah S, Wibowo M, Idiawati N. Toksisitas *Lygodium microphyllum*, *Premna serratifolia* L. dan *Vitex pinnata* asal desa Kuala Mandor B. J. Kim Khatulistiwa. 2015;4(4):101–5.
10. Mastura M, Barus T, Marpaung L, Simanjuntak P. Aktivitas antioksidan dan toksisitas fraksi etil asetat dari daun halban (*Vitex pinnata* Linn) asal Aceh. *Talent Conf Ser Sci Technol.* 2019;2(1):45–51.

11. Federer W. Statistics and society: data collection and interpretation. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1991.
12. Hayatun N, Biworo A, Budiarti LY. Aktivitas antiakteri ekstrak akar binjai (*Mangifera caesia* Jack.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes*. *in vitro*. Homeostasis. 2019;2(1).
13. Nufus H, Biworo A, Budiarti LY. Aktivitas antiakteri ekstrak akar binjai (*Mangifera caesia* Jack.) terhadap *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella typhi*. *in vitro*. Homeostasis. 2020;2(1):131–8.
14. Salasa AM, Sapitri DN, Lestari TR, Asyirah AN. Aktivitas antiakteri rebusan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. Media Farm. 2018;XIV:Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.
15. Bahasa BP dan P. Kamus Besar Bahasa Indonesia [Internet]. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. 2016 [cited 2020 Aug 5]. Available from: <https://kbbi.kemdikbud.go.id>
16. Oktovia D. Uji aktivitas bakteri menggunakan metode cakram disk (*Kirby-Bauer*). Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan; 2017.
17. Lutfia Papita Derizky Rahmayanti. Sediaan tunggal dengan kombinasi infus *Phyllanthus niruri* dan *Peperomia pellucida* terhadap *Escherichia coli*. [Banjarmasin]: Universitas Lambung Mangkurat; 2019.
18. Dahlan M. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. 6th ed. Jakarta: Epidemiologi Indonesia; 2014.
19. Kurniawati E. Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. J.Wiyata. 2015;2(2):1–7.
20. Anggita Rahmi Hafsari, Tri Cahyanto, Toni Sujarwo RIL. Uji aktivitas antibakteri daun beluntas. journal Istek. 2015;IX(1):142–61.
21. World Economic Forum (WEF), Mnif S, Feki C, Abdelkafi I, Terziyan V, Gryshko S, et al. Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Russ J Econ. 2018;48(2):123–54.
22. Bontjura S, Waworuntu OA, Siagian KV. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Pharmacon. 2015;4(4).
23. Rahmayanti LPD. Perbandingan aktivitas daya hambat sediaan tunggal dengan kombinasi infus *Phyllanthus niruri* dan *Peperomia pellucidav* terhadap *Escherichia coli*. 2019;67–74.
24. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th, editor. Clinical and Laboratory Standards Institutes; 2018.
25. Hasyim MF, Patandung G, Irfiana. Uji aktivitas antibakteri infusa daun sawo manila (*Manilkara zapota* vL.) terhadap *Escherichia coli*. J Farm Sandi Karsa. 2018;4(7):16–9.
26. Yunita E. Antibacterial Activity of Moringa Leaves Extract Against *Pseudomonas aeruginosa*. J Ilm Farm Bahari. 2020;189–95.
27. Rahmayanti LPD. Perbandingan aktivitas daya hambat sediaan tunggal dengan kombinasi infus *Phyllanthus niruri* dan *Peperomia pellucida* terhadap *Escherichia coli*. 2019;117–24.
28. Permata P, Kawuri R, Darmadi A. Uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis (*Gracinia mangostana* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. J Chem Inf Model. 2018;6(1):7–11.