

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA DAN BIJI TANAMAN PACAR AIR (*Impatiens balsamina* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* DAN *Escherichia coli* SECARA *IN-VITRO*.

Sang Made Adi Budiana¹⁾, Novel S. Kojong¹⁾, Defny Silvia Wewengkang¹⁾

¹⁾Prodi Farmasi, FMIPA, UNSRAT, Manado

ABSTRACT

Indonesia is a country which is rich with biodiversity, and one of them can be used as anti infection drugs. This research aims to test the antibacterial activity of pacar air flowers and seeds ethanol extract with difference concentration against the growth inhibition of *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. The results analyzed with one way anova method and continue with duncan test. The anova data showed that the ethanol extract of pacar air flowers and seeds 10, 20, 40 and 80% concentration has given the activity to inhibit the growth of the bacterias. The flower extract 20, 40 and 80% concentration was effective to inhibit the growth of the three species bacterias while the seeds extract with same concentrations was not effective to inhibit the growth of the three species bacterias. The difference of the pacar air flowers and seeds ethanol extract concentration influence the growth inhibition of the three species bacterias, if the extract concentration was high so the growth inhibition was too.

keywords : pacar air, antibacterial activity, pathogen bacterial, agar diffusion method

ABSTRAK

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, salah satunya bisa digunakan sebagai obat penyakit infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dan pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol bunga dan biji tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisa dengan metode analisa varians satu arah dilanjutkan dengan uji Duncan. Data anova menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol bunga dan biji tanaman pacar air 10, 20, 40 dan 80% telah memberikan aktivitas yang menghambat pertumbuhan bakteri uji. Untuk ekstrak bunga, pada konsentrasi 20, 40 dan 80% efektif menghambat pertumbuhan ketiga bakteri uji, sedangkan untuk ekstrak biji, pada semua konsentrasi tidak efektif untuk menghambat pertumbuhan ketiga bakteri uji. Perbedaan konsentrasi ekstrak etanol dari bunga dan biji tanaman pacar air mempengaruhi penghambatan pertumbuhan ketiga bakteri uji, dimana jika semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin tinggi pula aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri.

Kata kunci : tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.), aktivitas antibakteri, bakteri pathogen, metode difusi agar.

PENDAHULUAN

Pengobatan secara tradisional sebagian besar berasal dari tumbuhan, baik berupa akar, kulit batang, kayu, daun, bunga atau bijinya. Ada pula yang berasal dari organ binatang dan bahan-bahan mineral. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggung jawabkan maka diperlukan penelitian-penelitian ilmiah seperti penelitian-penelitian dibidang farmakologi, toksikologi, identifikasi dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan. Dibidang farmakologi penelitian untuk mencari antibiotik dari tumbuhan tingkat tinggi sedang digalakkan karena umumnya antibiotik yang ada sekarang ini adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan ada pula yang semi sintetik. Penggunaan antibiotik secara terus menerus yang tidak sesuai dengan ketentuan dapat menyebabkan munculnya sifat resisten pada bakteri patogen. Sebab itu diperlukan penemuan senyawa antibiotik baru yang lebih aman dan mempunyai spektrum yang lebih luas (Dharma, 2001).

Dewasa ini, penggunaan antibiotik sangat banyak terutama dalam pengobatan yang berhubungan dengan infeksi, namun kenyataannya masalah infeksi terus berlanjut (Depkes, 2008). Infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, kemudian berkembangbiak dan menimbulkan penyakit.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati. Beberapa tanaman dapat dijadikan obat alternatif untuk mengobati penyakit, salah satu jenis tanamannya ialah pacar

air (*Impatiens balsamina* L.). Penduduk Indonesia biasanya menggunakan tanaman ini untuk tanaman hias (Adfa dan Kasrina, 2001). Menurut Adfa (2007), pada bunga pacar air mengandung antosianin, dan kamperol sedangkan pada biji mengandung saponin dan fixel oil. Menurut Wrolstad (2001) antosianin selain sebagai antioksidan yang baik juga dapat berperan sebagai antiviral dan anti mikroba, sedangkan menurut Almira (2008) saponin berfungsi sebagai antibakteri. .

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dan pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak etanol bunga dan biji tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2014 – September 2015 di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi F-MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.

Alat-alat dan bahan yang digunakan antara lain : Erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, penangas air, blender, ayakan *mesh* 200, kaca arloji, timbangan analitik, labu ekstraksi, batang pengaduk, *stirrer*, cawan petri, rotary evaporator, jarum ose, pinset, incubator, laminar air flow, termometer, pencadangan, autoklaf, mikropipet, mistar berskala Kertas Saring no. 1, kertas

label, *aluminium foil* dan alat fotografi, bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.), bakteri uji (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia*) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar POM Manado, aquades steril, etanol 96% , tablet Ciprofloxacin 500 mg, *Nutrient Agar (Oxoid)*, H₂SO₄ 0,36 N, BaCl₂ . 2H₂O 1,175%, NaCl 0,9%.

Persiapan Sampel

Sampel berupa bunga dan biji pacar air masing-masing dikumpulkan dan dibersihkan dari sisa kotoran (pengotor), selanjutnya dicuci dibawah air mengalir sampai bersih. Setelah bersih dari pengotor, bunga dan biji pacar air masing-masing ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak bunga dan biji pacar air dibuat dengan cara maserasi. Dimana sebanyak 100 g serbuk simplisia bunga dan biji pacar air masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian direndam dengan larutan etanol 96% sebanyak 500 mL. Ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama lima hari sambil sesekali diaduk. Setelah lima hari, sampel yang direndam tersebut disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan satu filtrat dan satu ampas. Ampas yang ada kemudian ditambah dengan larutan etanol 96% sebanyak 250 mL, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama dua hari sambil sesekali diaduk. Setelah

dua hari, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring, sehingga menghasilkan filtrat dua dan ampas dua. Filtrat satu dan dua dicampur menjadi satu, lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental bunga dan biji pacar air. Ekstrak kental yang dihasilkan dibiarkan pada suhu ruangan hingga seluruh pelarut etanol menguap. Setelah itu ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk pengujian (Depkes RI, 1986).

Sterilisasi Alat

Alat-alat dan media yang digunakan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15-20 menit sedangkan untuk jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar dengan pembakaran di atas api langsung (Lay dan Hastowo, 1992).

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol negatif dibuat dari aquades steril sebanyak 50 mL. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dan pembuatan larutan uji.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif dibuat dari sediaan obat tablet Ciprofloxacin 500 mg. Satu tablet Ciprofloxacin digerus, lalu ditimbang dan disetarakan dengan 50 mg. Serbuk tersebut kemudian dilarutkan dalam 50 mL aquades steril. Diambil 1 mL dari larutan tersebut dan ditambahkan aquades sampai 10 mL sehingga diperoleh larutan Ciprofloxacin dengan

konsentrasi 5µg/50µL. Konsentrasi ini digunakan sebagai kontrol positif.

Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji 10, 20, 40 dan 80% b/v untuk setiap masing-masing ekstrak dengan cara ditimbang 0,1 g, 0,2 g, 0,4 g dan 0,8 g ekstrak etanol bunga dan biji pacar air kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 1 mL larutan aquades steril.

Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Nutrient Agar* (NA). Media ini digunakan sebagai media agar miring untuk inokulasi bakteri, media dasar dan media pembedahan.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 3 ml larutan NaCl 0,9% sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

Pembuatan Media Pengujian

Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan masing-masing 10 ml NA dari media dasar ke dalam 18 cawan petri, lalu dibiarkan sampai memadat. Setelah memadat, pada permukaan lapisan dasar diletakkan 7 pencadangan baja yang diatur sedemikian rupa jaraknya agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuh. Kemudian, suspensi

bakteri dicampurkan ke dalam media pembedahan NA.

Uji Aktivitas Antibakteri secara *In-vitro*

Masing-masing larutan uji ekstrak etanol bunga dan biji pacar air dengan berbagai konsentrasi (10, 20, 40 dan 80%); Larutan aquades steril 1% sebagai kontrol negatif ; Larutan Ciprofloxacin 5µg/50µL sebagai kontrol positif ; masing-masing diteteskan pada sumur yang berbeda sebanyak 50 µL dengan menggunakan mikropipet. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi dengan 3 kali pengulangan untuk masing-masing bakteri. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte dkk, 2005). Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 8 mm. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout (1971).

Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas ekstrak etanol bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap

diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* dianalisa secara statistik menggunakan metode *One way anova* (analisa varians satu arah) dengan program *Statistical Product Service Solution* (SPSS 17) dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha=0,05$, dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Masing-masing hasil maserasi berupa filtrat berwarna merah kecoklatan (bunga) dan kuning bening (biji), kemudian untuk masing-masing filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh

ekstrak kental masing-masing sebanyak 15.8 g untuk sampel bunga pacar air dan 2,4 g untuk sampel biji.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga dan Biji Pacar Air (*Impatiens balsamina* L).

Hasil uji aktivitas antibakteri dan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer yang dimodifikasi) dengan cara sumuran dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Rata- rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Bunga Pacar Air terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri (mm)		
	<i>S.aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
10%	8,33	8,50	7,83
20%	10,16	10,33	10,16
40%	12,66	13,33	14,00
80%	17,16	17,16	19,00
Kontrol (+)	23,00	23,00	22,33
Kontrol (-)	0,00	0,00	0,00

Tabel 2. Hasil Pengukuran Rata- rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Biji Pacar Air terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri (mm)		
	<i>S.aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
10%	3,50	3,38	3,66
20%	4,83	4,33	5,16
40%	5,66	4,83	6,66

80%	6,66	5,33	8,33
Kontrol (-)	23,00	22,66	22,00
Kontrol (+)	0,00	0,00	0,00

Analisis Data

Hasil data ANOVA dan uji Duncan pengujian aktivitas ekstrak etanol bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* menunjukkan nilai signifikan 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan terhadap pengaruh perlakuan yang diberikan pada bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa antara kontrol positif dan keempat konsentrasi ekstrak etanol bunga dan biji pacar air baik konsentrasi 10, 20, 40 dan 80% memberikan efek aktifitas yang berbeda-beda terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Sedangkan untuk kontrol negatif tidak memberikan efek sama sekali terhadap ketiga bakteri uji. Dari hasil data tersebut untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* pada masing-masing konsentrasi ekstrak memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada ekstrak etanol bunga pacar air untuk semua bakteri uji pada konsentrasi 10, 20, 40 dan 80% menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap konsentrasi ekstrak yang lain. Untuk masing-masing bakteri uji

efek antibakteri yang paling baik terlihat pada konsentrasi ekstrak 80% sedangkan pada konsentrasi yang terkecil pun (10%) masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Sedangkan pada ekstrak etanol biji pacar air untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 10, 20, 40 dan 80% menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap konsentrasi ekstrak yang lain. Untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi ekstrak 10% menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata dengan konsentrasi ekstrak 20%, begitu pula sebaliknya hal yang sama terjadi pula antara konsentrasi ekstrak 20% dan 40%, 40% dan 80%. Akan tetapi dari ketiga jenis bakteri tersebut efek antibakteri yang paling baik masih terlihat pada konsentrasi ekstrak 80% sedangkan pada konsentrasi yang terkecil pun (10%) masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Dari data-data yang didapat masing-masing ekstrak memiliki potensi sebagai antibakteri. Menurut Davis dan Stout (1971) kriteria kekuatan daya antibakteri dapat dikategorikan sebagai berikut :

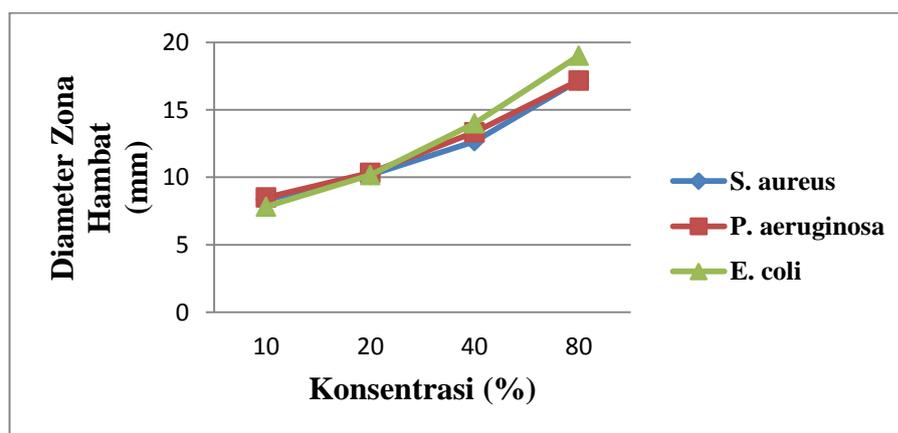
Kriteria kekuatan daya antibakteri	Diameter zona hambat (mm)
Lemah	Kurang dari 5
Sedang	5-10
Kuat	10-20
Sangat Kuat	Lebih dari 20

Berdasarkan kriteria tersebut, maka kekuatan daya antibakteri dari ekstrak etanol bunga dan biji dapat dilihat pada diameter zona hambat pada setiap masing-masing konsentrasi.

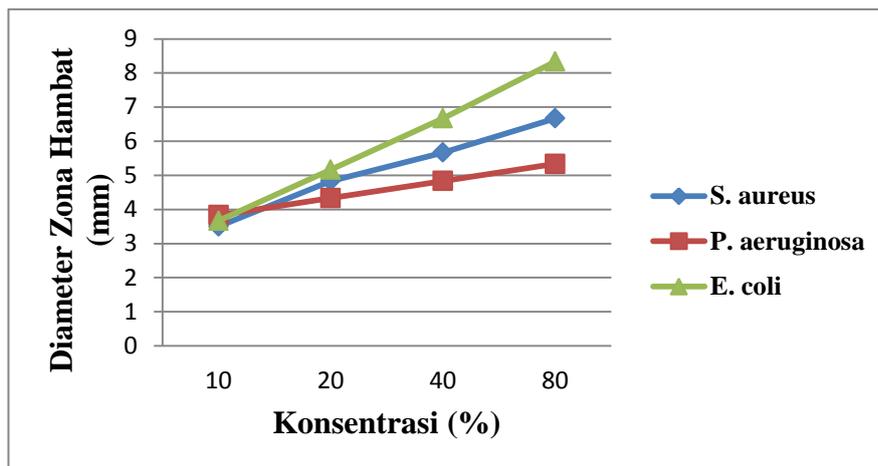
Dari data tersebut dapat diketahui bahwa pada ekstrak etanol bunga pacar air, pada konsentrasi 20, 40 dan 80% efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji, sebab pada konsentrasi tersebut daya antibakterinya dikategorikan kuat. Sedangkan untuk semua konsentrasi ekstrak etanol biji pacar air tidak efektif untuk menghambat pertumbuhan semua bakteri uji, sebab pada semua konsentrasinya daya antibakterinya dikategorikan

lemah dan sedang sehingga ekstrak tersebut dikatakan tidak efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Untuk menunjukkan perbedaan kepekaan konsentrasi ekstrak etanol bunga dan biji pacar air terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada kurva pada gambar 11 dan 12.



Gambar 11. Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Bunga Pacar Air Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.



Gambar 12. Kurva Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Pacar Air Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ekstrak etanol bunga dan biji pacar air terbukti memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*, hal itu dibuktikan dari besarnya diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji. Penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri kemungkinan diduga karena adanya kandungan senyawa-senyawa berkhasiat yang terkandung dalam bunga dan biji pacar air. Akan tetapi pada ekstrak etanol biji pacar air aktivitas antibakterinya tidak sebesar dibandingkan dengan ekstrak pada bunga. Hal itu mungkin dikarenakan kandungan senyawa-senyawa lain yang terkandung pada biji pacar air yang dapat mempengaruhi proses penghambatan bakteri, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak biji tidak sebesar pada ekstrak bunga. Seperti penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya bahwa senyawa kimia yang terkandung pada tanaman pacar air (*Impatiens*

balsamina L.) ialah flavonoida, saponin, antosianin, steroida, dan glikosida (Adfa, 2001). Pada penelitian ini bagian tanaman yang digunakan ialah bunga dan biji. Menurut Adfa (2007), pada bunga pacar air mengandung antosianin dan kamperol sedangkan pada biji mengandung saponin dan fixel oil. Dengan demikian, aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji diduga oleh adanya kandungan senyawa saponin, kamperol dan antosianin dalam ekstrak etanol bunga dan biji pacar air.

Menurut Samsumaharto dan Sari (2011) Saponin dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Saponin dapat menyebabkan denaturasi protein sehingga membrane sel akan rusak dan lisis (Siswandono dan Soekarjo, 1995). Antosianin sendiri merupakan sub-tipe senyawa organik dari keluarga flavonoid, dan merupakan salah satu golongan polifenol (Karnjanawipagul dkk, 2010). Menurut Wrolstad (2001)

antosianin selain sebagai antioksidan yang baik juga dapat berperan sebagai antiviral dan anti mikroba.

Kamperol merupakan flavonoid golongan flavon yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antibakteri. Menurut Robinson (1995) flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mengikat protein bakteri sehingga menghambat aktivitas enzim yang pada akhirnya mengganggu proses metabolisme bakteri.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*.
2. Perbedaan konsentrasi ekstrak etanol dari bunga dan biji tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) mempengaruhi penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*, dimana semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin tinggi pula aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disarankan :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa spesifik yang berkhasiat

sebagai antibakteri pada tanaman bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dan aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen lain.

2. Perlu dilakukan uji pra-Klinis dan toksisitas ekstrak etanol bunga dan biji pacar air (*Impatiens balsamina* L.) untuk mengetahui dosis yang tepat dan aman dalam penggunaannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, M., Kasrina. 2001. *Pacar air (Impatiens Balsamina L.) sebagai Tanaman Obat Masyarakat Bengkulu*. Survey Etnobotani dan Keanekaragaman hayati, Laporan Penelitian, Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu.
- Adfa, M. 2007. *Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar Air (Impatiens Balsamina L.)*. Jurnal Gradien Vol.4 (1). Halaman 318-322.
- Almira, R. 2008. *Kajian Aktivitas Fraksi Hexsan Rimpang Kunyit (Curcuma longa Linn) Terhadap Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (Musmusculus Albinus)*. [Skripsi]. FKH IPB, Bogor.
- Davis, W.W., Stout, T.R. 1991. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay*. *Microbiology*. 22(4). Halaman 659-665.
- Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. 2008. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia 1 jilid 1*. Badan

- Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Depertemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Dharma, A. 2001. *Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder, Makalah Workshop Kimia Bahan Alam Hayati*, Proyek Ditjen Dikti, Universitas Andalas, Padang.
- Karnjanawipagul, P., W. Nittayanuntaweck., P. Rojsanga., L. Suntornsuk. 2010. *Analysis of β -Carotene in Carrot by Spectrophotometry*. Journal of Pharmaceutical Science 37 (1-2): 8 – 16.
- Lay, B. W., Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. IPB, Bogor.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi 6*. ITB Pres, Bandung.
- Samsumaharto, R. A., Sari, Y. N. 2011. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-heksan, Etil asetat dan Etanol 70% Daun Rosella (Hibiscus sabdrariffa L.) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923*. *Jurnal Penelitian*. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Siswandono., Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal*. Penerbit Airlangga University Press, Surabaya. Halaman 544.
- Vandepitte., J. Verhaegen., K. Engbaek., P. Rohner., P. Piot., C.C. Heuck. 2005. *Prosedur laboratorium Dasar dan untuk Bakteriologis Klinis. Edisi 2*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Wrolstad, R. 2001. *The Possible Health Benefits of Anthocyanin Pigments and Polyphenolics*, <http://lpi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html> [Diakses tanggal 29 oktober 2014].