

Antibacterial Activity Test of African Leaf Extract Against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa Bacteria Growth.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Afrika Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dan Pseudomonas aeruginosa

Trifosa Permata Dewani Sarijowan^{1)*}, Widdhi Bodhi^{2)*}, Julianri Sari Lebang^{3)*}

¹⁾Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT, Manado 95115

trifosapermata@gmail.com

ABSTRACT

African leaves (*Vernonia amygdalina*) are known to be one part of a plant that has antibacterial activity that has the potential to be developed as a traditional medicine. This study aims to determine the antibacterial activity, the effect of increasing extracts and the most effective concentration on the inhibitory power of bacterial growth. Extraction is carried out by maceration using 96% ethanol solvent. The results of measuring the diameter of the inhibitory zone concentration of 5% (7.0 mm), 10% (9.2 mm), 20% (11.5 mm), 40% (13.8 mm), 80% (15.7 mm) in *S. aureus* bacteria, concentration of 5% (8.1 mm), 10% (9.1 mm), 20% (11.6 mm), 40% (13.1 mm), 80% (15.1 mm) in *P. aeruginosa* bacteria has provided activity inhibiting the growth of test bacteria. Antibacterial effect is best seen at a concentration of 80%. The results were analyzed using One Way ANOVA and continued with the Duncan test. Research shows that the higher the concentration of the extract, the greater the diameter of the bacterial growth inhibition zone.

Keywords : Disk diffusion method, *Vernonia amygdalina*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRAK

Daun afrika (*Vernonia amygdalina*) diketahui merupakan salah satu bagian dari tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri, pengaruh peningkatan ekstrak serta konsentrasi yang paling efektif terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil pengukuran diameter zona hambat konsentrasi 5% (7,0 mm), 10% (9,2 mm), 20% (11,5 mm), 40% (13,8 mm), 80% (15,7 mm) pada bakteri *S. aureus*, konsentrasi 5% (8,1 mm), 10% (9,1 mm), 20% (11,6 mm), 40% (13,1 mm), 80% (15,1 mm) pada bakteri *P. aeruginosa* telah memberikan aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri uji. Efek antibakteri paling baik terlihat pada konsentrasi 80%. Hasil dianalisa menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri.

Kata kunci: Difusi cakram, *Vernonia amygdalina*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Perkembangan pengobatan telah mengarah kembali ke alam karena obat tradisional telah terbukti lebih aman dan ada beberapa obat tradisional yang tidak menimbulkan efek samping seperti pada obat-obat kimia. Selain hal itu, terjadi peningkatan keinginan masyarakat untuk menggunakan bahan alam, ditanggapi dengan banyak produk-produk topikal berbahan aktif tanaman untuk perawatan kesehatan, kosmetik, luka dan pencegahan penyakit (Yovita, *et al.*, 2010).

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk negara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2011). Penyakit ini merupakan penyakit yang infektivitas atau agennya memiliki kemampuan untuk masuk, bertahan, dan berkembang biak di dalam tubuh (Timmreck, 2005). *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit

Beberapa tanaman di Indonesia memiliki khasiat sebagai obat tradisional yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit, yang salah satunya yaitu daun afrika (*Vernonia amygdalina*). Daun Afrika telah dikenal oleh masyarakat Nigeria Selatan sebagai obat tradisional (Okeke dkk., 2015). Dan digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti: demam, antibakteri, inflamasi, malaria, diare, disentri, hepatitis, batuk, antimikroba, antioksidan, mengurangi kolesterol, antihipertensi, untuk pengobatan kanker, dan pengobatan diabetes (Swandiny dkk., 2017).

Bioaktivitas dari *V. amygdalina*: memberikan efek sebagai antifungi pada ekstrak air daun Afrika, antiparasit pada ekstrak metanol daun Afrika dan menghambat aktivitas dari *Trichomonas vaginalis*, ekstrak etanol daun Afrika berpotensi sebagai anti malaria terhadap

Plasmodium falciparum setelah dilakukan pengujian secara *in vitro*. Ekstrak akar *V. amygdalina* berpotensi menghambat *P. falciparum* dengan nilai IC50 $\mu\text{g/mL}$, sebagai antihelmitik, ekstrak etanol buah *V. amygdalina* berpotensi sebagai antivirus pada virus polio, ekstrak etanol daun Afrika dengan konsentrasi 25-100 $\mu\text{g/mL}$ dapat memberikan aktivitas sebagai anti inflamasi, berpotensi sebagai antidiabetes dengan dosis pemberian 500 mg/kg dapat mengurangi konsentrasi glukosa darah (Yeap *et al.*, 2010)

Pada penelitian Oboh dan Masodjie (2009) menunjukkan ekstrak air daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat 0,8 cm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta mengetahui konsentrasi paling efektif dan pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun Afrika terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021 – Februari 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado.

Alat-alat yang digunakan ialah :

timbangan analitik, batang pengaduk, blender, kertas saring, peralatan maserasi, *aluminium foil*, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, mikropipet, ayakan mesh 65, pipet tetes, neraca analitik, gelas beaker, lumpang dan alu, oven, autoklaf, *laminair air flow*, *pinset*, cawan petri, tisu, spidol, lemari es, kertas saring, kertas cakram, toples.

Bahan-bahan yang digunakan ialah :

simplisia daun Afrika (*Vernonia amygdalina*), *natrium agar* (NA), etanol 96%, biakan murni

Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeruginosa*, aquades, *Ciprofoxacin* 500mg, CMC.

Persiapan Sampel

Daun Afrika dibersihkan dengan air yang mengalir kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah sampel kering dihaluskan dengan cara diblender dan diayak dengan ayakan mes 65 hingga diperoleh serbuk yang halus, lalu ditimbang beratnya.

Ekstraksi

Sebanyak 200 gram serbuk dimasukan kedalam wadah dan dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 1000mL (simplisia : pelarut = 1 : 5) sampai terendam, lalu disimpan selama 5 hari sambil sesekali diaduk dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Setelah dimaserasi selama 5 hari, larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan fitrat I dan residu. Residu yang ada, ditambahkan lagi dengan etanol 96% sebanyak 600mL selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 2 hari sampel disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan fitrat 2 dan residu 2. Fitrat 1 dan 2 dicampur menjadi 1 kemudian diuapkan dengan menggunakan *drying oven*. Ekstrak yang diperoleh ditimbang bobotnya dan dihitung presentase rendemen.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu menggunakan metode sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf. Peralatan yang disterilkan dengan sterilisasi basah yaitu gelas ukur, Erlenmeyer, Cawan petri dan pipet tetes. Proses sterilisasi ini dilakukan pada suhu 121°C selama 30 menit di bawah tekanan 15 N/m².

Pembuatan Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif

Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif dibuat dari CMC 1% dengan cara : sebanyak 1gram serbuk CMC didispersikan dalam 100 mL aquades steril dengan cara dimasukan 50 mL aquades dikocok sampai larutan membentuk seperti gel, lalu ditambahkan lagi aquades hingga 100 mL.

Pembuatan kontrol positif

Kontrol positif dibuat dengan menggunakan *Ciprofoxacin* 500mg, dengan cara digerus.. kemudian serbuk disuspensikan dalam 100mL CMC.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan stok dibuat dengan cara ditimbang 16 gram ekstrak etanol daun afrika kemudian dilarutkan dalam larutan CMC 1% hingga volume 20 mL. Selanjutnya dibuat larutan uji dalam berbagai konsentrasi sebagai berikut :

- 1) Larutan uji 5% dibuat dengan cara dipipet 0,625 mL larutan stok kemudian ditambahkan larutan CMC hingga 10 mL.
- 2) Larutan uji 10% dibuat dengan cara dipipet 1,25 mL larutan stok kemudian ditambahkan larutan CMC hingga 10 mL.
- 3) Larutan uji 20% dibuat dengan cara dipipet 2,5 mL larutan stok kemudian ditambahkan larutan CMC hingga 10 mL.
- 4) Larutan uji 40% dibuat dengan cara dipipet 5 mL larutan stok kemudian ditambahkan larutan CMC hingga 10 mL.

Pembuatan Media Agar Miring

Sebanyak 0,46 gram nutrient agar (NA) dilarutkan dalam 20 ml aquades (23g/1000 ml) menggunakan Erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan dengan *stirrer* di atas *waterbath* sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 2 tabung reaksi dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dibiarkan pada suhu ruangan selama kurang lebih 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulasi.

Inokulasi Bakteri pada Media Agar Miring

Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

Pembuatan suspensi uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi dengan kawat steril diambil kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% dihomogenkan.

Pembuatan Media Pengujian

Sebanyak 8,4 gram *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam 300 mL aquades menggunakan erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *hotplate* dan didinginkan sampai 45°C sampai 50°C. Sebanyak 150mL dituangkan masing-masing pada 2 erlenmeyer dan ditutup dengan *aluminium foil*. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan masing-masing 50 mL NA dari media dasar ke dalam 6 cawan petri, lalu dibiarkan sampai memadat. Setelah memadat, pada permukaan lapisan dasar diletakkan 7 kertas cakram.

Pewarnaan bakteri

Pewarnaan bakteri dilakukan dengan membersihkan objek kaca menggunakan etanol 96% lalu dikeringkan. Tambahkan aquadest 1 tetes di atas objek kaca. Biakan bakteri diambil menggunakan ose steril (biakan bakteri yang diambil hanya 1 koloni saja), ratakan. Fiksasi dengan api bunsen. Setelah kering, ditetesi dengan pewarna kristal violet tunggu 1 menit lalu bilas dengan

aquadest. Tetesi Lugol dan tunggu 1 menit lalu bilas dengan aquadest dan bilas dengan menggunkan etanol 96% lalu bilas lagi dengan aquadest. Tetesi dengan pewarna Safranin dan tunggu 1 menit lalu bilas dengan aquadest kemudian keringkan dengan tisu. Lalu preparate bakteri diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 x 10.

Uji Aktivitas Antibakteri

Proses pengujian ini dilakukan dengan menuangkan 50 mL campuran suspensi dan media pembenihan tersebut ke dalam tiap cawan petri kemudian digoyang secara perlahan-lahan untuk menyebarkan biakan bakteri secara merata dan didiamkan hingga media memadat. Masing-masing dari cakram kertas setril dipindahkan ke konsentrasi 5%, 10%, 20%, 40% dan 80% serta ke kontrol positif dan kontrol negatif direndam selama 15menit. Cakram kertas yang telah direndam dipindahkan dengan pinset steril ke media nutrien agar yang berisi *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Senyawa antibakteri diuji dengan melihat adanya diameter zona hambat. Zona hambat terebut berwarna bening pada sekitaran disk kertas saring. Kemudian zona hambat yang sudah terbentuk diukur dengan menggunakan penggaris sehingga hasilnya biasanya dalam satuan milimeter (mm). lalu dilakukan replikasi pengujian 3 kali.

Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dianalisa secara statistik dengan menggunakan metode *One Way ANOVA* (analisa varians satu arah) dengan program SPSS versi 25 dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$. Dikarenakan data yang diuji tidak homogen maka dilakukan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Serbuk daun afrika sebanyak 200 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi

dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 24,1 gram dengan presentase rendemen 12,05%.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina*), terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Diameter zona hambat (mm)				
Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
Kontrol -	0	0	0	0
Kontrol +	25	27,5	26	26,16
5%	9,5	9,5	5,5	8,16
10%	9,5	10	8	9,16
20%	11,5	11,5	12	11,66
40%	12,5	13	14	13,16
80%	15	15,5	15	15,6

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina*), terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Diameter zona hambat (mm)				
Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
K -	0	0	0	0
K +	27,5	25	27	26,5
5%	9	6	6	7
10%	10	9	8,5	9,16
20%	10,5	14	10,5	11,5
40%	13	15	13	13,66
80%	16	15	16	15,66

Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun afrika. Sampel yang digunakan disortasi kemudian dicuci dan dipisahkan dari kotoran atau bahan asing. Dari hasil sortasi didapatkan daun afrika sebanyak 1,5kg. Daun afrika kemudian di keringkan dengan cara diangin – anginkan sampai kering lalu diblender hingga halus dan diayak kemudian didapatkan hasil sebanyak 270 gram simplisia dan diambil 200 gram simplisia untuk dimaserasi dengan 1 liter etanol 96%, dan diremaserasi dengan menggunakan 600 mL etanol 96%. Setelah itu, fitrat diuapkan dengan menggunakan *drying oven*.

Pengujian daya antibakteri merupakan salah satu cara untuk mengukur kemampuan zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro* (Vandepitte *et al.*, 2010). Zona hambat adalah zona bening yang terdapat disekitar kertas cakram pada media yang sudah diinokulasi. Terjadi pembentukan zona bening ini dikarenakan adanya aktifitas antibakteri terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Davis and Stout (1971), Penggolongan kekuatan antibakteri daerah hambatan yaitu 5 mm atau < 5mm lemah, 5-10 mm sedang, 10-20 mm kuat dan lebih dari 20 mm sangat kuat.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat dari ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, terlihat memiliki zona bening pada konsentrasi 5%, 10%, masing masing sebesar 8,1 mm dan 9,1 mm termasuk kategori sedang, konsentrasi 20%, 40%, 80% sebesar 11,6 mm, 13,1 mm dan 15,1 mm termasuk kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun afrika, memiliki aktivitas antibakteri dan

mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 5% hingga 80%. Kemampuan menghambat dari ekstrak etanol daun afrika lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif yang digunakan yaitu ciprofloxacin sebesar 26,16 mm termasuk dalam kategori sangat kuat.

Dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* terlihat memiliki zona bening pada konsentrasi 5%, 10%, masing masing sebesar 7,0 mm dan 9,2 mm termasuk kategori sedang, konsentrasi 20%, 40%, 80% sebesar 11,5 mm, 13,8 mm dan 15,7 mm termasuk kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5% hingga 80%. Kemampuan menghambat dari ekstrak etanol daun afrika lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik yang digunakan yaitu ciprofloxacin sebesar 26,5 mm termasuk dalam kategori sangat kuat.

Peningkatan konsentrasi dari yang terkecil hingga yang terbesar berdampak pada besarnya diameter zona hambat yang terbentuk, karena semakin meningkat senyawa – senyawa berkhasiat dalam ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika pada konsentrasi 5% hingga 80% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambatan disekitar kertas cakram. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa pada ekstrak yang berperan sebagai antibakteri. Senyawa tersebut di antaranya adalah flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Hendra *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan senyawa fenol. Flavonoid menyebabkan terjadinya

kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Bontjura *et al.*, 2015). Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Cushnie *et al.*, 2005).

Senyawa lain yang diduga berperan sebagai antibakteri adalah tanin dan steroid. Tanin memiliki peran sebagai antibakteri dengan cara mengikat protein sehingga pembentukan dinding sel akan terhambat. Efek antibakteri tanin adalah melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivasi adhesin sel mikroba, menginaktivasi enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Enzim reverse

transkriptase dan DNA topoisomerase sel bakteri tidak dapat terbentuk oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada ribosom (Madduluri *et al.*, 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Ekstrak etanol daun afrika (*Vernonia amydalina*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* adalah 80%.

SARAN

Perlu dilakukan uji KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun afrika yang dapat membunuh bakteri dan perlu adanya penelitian lanjutan mengenai aktivitas antibakteri daun afrika terhadap bakteri patogen lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, B. 2007. Chemistry of Natural Products. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard.
- Abdullah, S.S., Djide, N., Natsir, S. (2021). KLT Bioautografi Hasil Partisi Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Chem. Prog.*

14(1).15-17

- Mopangga, E., Yamlean, P. V. Y., & Abdullah, S. S. (2021). Formulasi Sediaan Sabun Mandi Padat Ekstrak Etanol Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmacon*, **10(3)**, 1017–1024.
- Legi, A.P., Edy, H.J., Abdullah, S. S., (2021), Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Terhadap Bakteri *Staphylococcus*, *Pharmacon*, **10(3)**, 1058–1065.
- Sahuleka, A.S.G., Edy, H.J., Abdullah, S. S., (2021), Formulasi Sediaan Krim Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pharmacon*, **10(4)**, 1162–1168.
- Sinrang, V.N.S., Edy, H.J., Abdullah, S.S., (2022), Formulasi Sediaan Obat Kumur Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.), *Pharmacon*, **11(1)**, 1342–1349.
- Bontjura S. 2015. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* l.) terhadap bakteri streptococcus mutans. *Jurnal ilmiah Farmasi-Pharmacon.*; **4 (4)**:96-101
- Cushnie, T.P.T. and Lamb, A.J. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **38(2)**: 99-107.
- Davis WW dan TR. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *J. Applied Microbiology*. Vol. **22(4)**: 659-665.
- Madduluri, S., Rao, K.B., Sitaram, B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **5(4)**:679-684.
- Nuria, M., Faizaitun, A.C., Sumantri. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*, **5(2)**:26–37.
- Okeke CU, Ezeabara CA, Okoronkwo OF, Udechukwu CD, Uka CJ, Bibian O Aziagba. 2015. Determination of nutritional and phytochemical compositions of two variants of bitter leaf (*Vernonia amygdalina* Del). *J Hum Nutr Food Sci*.**3(3)**:1065.
- Radji, M., 2010, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran, Edisi ke 96., Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Swandiny Greesty, Kumala Shirly. 2017. Aktivitas Antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap ekstrak etanol 70% daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). *Rakernas & PIT 2017 ikatan apoteker Indonesia*. 47-50
- Timmreck T.C. 2005. *Epidemiologi Suatu Pengantar*. EGC.
- Vandepitte L., Vanhoorne B., Kraberg A., et al.. (2010) Data integration for European marine biodiversity research: creating a database on benthos and plankton to study large- scale patterns and long-term changes. *Hydrobiologia*, 644, 1–13
- Yeap SK., Ho WH., Beh BK., Liang WS., Huynh Ky, Yousr AHN., & Alitheen NB. 2010. *Vernonia amygdalina*, an ethnoveterinary and ethnomedical used green vegetable with multiple bioactivities. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4(25)**: 2787- 2812.