



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga *Halimeda opuntia* dari Perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

Tikonuwu Bryan^{1*}, Wewengkang Defny¹, Rumondor Erladys¹

¹Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

*Corresponding author email: tikonuwubryan@gmail.com

INFORMASI ARTIKEL ABSTRACT

Diterima pada 11 Juli 2023
Disetujui pada 27 Mei 2024
Dipublikasikan pada 28 Mei 2024
Hal. 507 - 514

Halimeda opuntia is a genus of seaweed from the *Chlorophyta* division that contains bioactive compounds that can be utilized in various fields, especially in medicine. This study was conducted with the aim of determining the antibacterial activity of *Halimeda opuntia* algae extracts obtained from coastal waters of Poopoh Village, Tombariri District, Minahasa Regency against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Samples were extracted by maceration method using 95% ethanol solvent. Antibacterial activity testing was conducted using the Kirby and Bauer Disc Diffusion method. The results showed that the average diameter of the inhibition zone against *Pseudomonas aeruginosa* test bacteria was 6.83 mm and for *Staphylococcus aureus* test bacteria was 8.58 mm, the inhibition zone that arose against these two bacteria was included in the medium inhibition category. Through this study, it can be concluded that ethanol extract has antibacterial activity against test bacteria, especially on *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: *Algae, Halimeda opuntia, antibacterial activity, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Halimeda opuntia adalah salah satu genus rumput laut dari divisi *Chlorophyta* yang mengandung senyawa bioaktif sehingga dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang khususnya pada pengobatan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak alga *Halimeda opuntia* yang diperoleh dari perairan pantai Desa Poopoh Kecamatan Tombariri Kabupaten Minahasa terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Disc Diffusion Kirby and Bauer*. Hasil penelitian menunjukkan diameter rata-rata zona hambat terhadap bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 6,83 mm dan untuk bakteri uji *Staphylococcus aureus* yaitu 8,58 mm, zona hambat yang timbul terhadap kedua bakteri ini termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji terutama pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: Alga, *Halimeda opuntia*, aktivitas antibakteri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

DOI: 10.35799/pha.13.2024.49364

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia, termasuk di Indonesia. Ini adalah penyebab utama meningkatnya morbiditas dan mortalitas (Purnomo dkk, 2012). Penanganan untuk mengatasi penyakit infeksi yaitu dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan aturan dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten. Resistensi antibiotik bakteri adalah ketidakmampuan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini mempunyai dampak terbesar bagi kesehatan manusia. Setidaknya 2 juta orang terinfeksi bakteri resisten antibiotik dan 23.000 orang meninggal setiap tahun sebagai akibat langsung dari infeksi tersebut. (Frieden, 2013)

Antibakteri adalah senyawa yang diproduksi oleh mikroorganisme dalam konsentrasi kecil yang mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan mikroorganisme. Antibakteri termasuk ke dalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Suatu zat aktif dikatakan memiliki aktivitas sebagai antibakteri apabila dalam konsentrasi yang rendah mampu memberi daya hambat terhadap bakteri (Pratiwi, 2014). Antibiotik berspektrum luas (*Broad Spectrum*) mampu menghambat bahkan membunuh bakteri dari golongan Gram-positif maupun Gram-negatif. Antibiotik jenis ini diharapkan dapat mematikan sebagian besar bakteri termasuk virus tertentu. Antibiotik yang termasuk dalam spektrum luas ini yaitu tetrasiklin dan derivatnya, kloramfenikol, ampicillin, dan sefalosporin. Antibiotik yang berspektrum sempit (*narrow spectrum*), hanya mampu menghambat segolongan bakteri saja, misalnya hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri Gram-positif saja atau bisa juga hanya membunuh bakteri Gram-negatif saja. Antibiotik golongan ini hanya aktif terhadap beberapa jenis bakteri. Antibiotik yang termasuk dalam spektrum sempit yaitu penisilin, streptomisin, neomisin, basitrasina dan pilimisin B (Dewi, 2013).

Halimeda merupakan salah satu genus alga dalam divisi *Chlorophyta* yang berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan alami. *Halimeda opuntia* adalah spesies alga berkapur dan diklasifikasikan dalam ordo *Bryopsidales*. Alga ini banyak dijumpai di terumbu karang yang kondisi pantainya tenang dan agak terlindung. Alga *H. opuntia* berperan penting dalam produksi primer dan pembentukan sedimen karbonat di perairan koral tropis (Agus *et al.*, 2020). Nufus *et al* (2017) menyatakan bahwa *H. opuntia* memiliki beberapa komponen aktif antara lain alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid. Sebagian besar senyawa aktif pada alga *H. opuntia* merupakan senyawa aktif dengan aktivitas antibakteri. Selain itu, *H. Opuntia* juga memiliki sifat antioksidan, antijamur dan antimikroba.

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar dengan nanah hijau kebiruan karena pigmen prosianin, juga dapat menyebabkan meningitis bila masuk lewat punksi lumbal (Mayasari, 2015). *P. aeruginosa* termasuk bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, menghasilkan enzim oksidase dan katalase, mampu memproduksi pigmen serta termasuk β -hemolysis (Carroll *et al.* 2017). Bakteri ini tergolong patogen opportunistic yang merupakan bakteri yang secara alami bukan berada di habitat suatu lingkungan tetapi masuk akibat tercemarnya lingkungan dengan limbah manusia.

Bakteri *Staphylococcus aureus* menginfeksi jaringan atau organ dan dapat menyebabkan penyakit yang ditandai dengan peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. *S. aureus* sering menyebabkan penyakit sporadis (Inayatullah, 2012). *S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Kristiani, 2018).

Bakteri ini merupakan patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik (Rahmi et al, 2015).

METODOLOGI PENELITIAN

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 sampai dengan bulan Mei 2023 di Laboratorium Farmakognosi & Fitokimia, Laboratorium lanjutan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Hama & Penyakit pada Tumbuhan Fakultas Pertanian.

Alat dan Bahan

Alat

Dalam penelitian ini, alat yang digunakan yaitu *scuba diving* (peralatan selam), kamera, *cool box*, *zipper lock bag*, sarung tangan, talenan, gunting, pisau, botol air kemasan 600 ml, spidol permanen, kertas label, jas lab, masker, *handscoon*, gelas ukur (*pyrex*), gelas kimia (*pyrex*), *erlenmeyer*, corong gelas, wadah kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, *microtube*, spatula, mikropipet, jangka sorong, pinset, batang pengaduk, *magnetic stirrer*, timbangan analitik, lampu bunsen, lemari pendingin, oven, *incubator incucell* (N-Biotek), *rotary evaporator* (EYELA^{OSB-2100}), *laminary air flow* dan autoklaf (autoklaf KT-30s).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alga *Halimeda opuntia*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, etanol, metanol, aquades, natrium klorida, pepton, *beef extract*, nutrient agar, kertas cakram (*blank paper disc*), kertas cakram kloramfenikol (*cloramphenicol paper disc*), *aluminium foil*, kertas saring, kertas pH, kapas, tisu.

Pengambilan Sampel

Sampel alga *H. opuntia* diambil di perairan pantai Desa Poopoh Kecamatan Tombariri Kabupaten Minahasa dengan menggunakan alat bantu selam *scuba diving* hingga kedalaman 5 meter di bawah permukaan air. Sampel yang telah diambil, dimasukkan ke dalam plastik *zipper lock bag* dan diletakkan dalam *cool box* yang sudah diberikan es batu serta tidak terkena paparan sinar matahari secara langsung. Sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Sampel difoto, diberi label serta diberikan nomor untuk selanjutnya dideterminasi.

Ekstraksi Sampel

Sampel alga *H. opuntia* diekstrak menggunakan metode maserasi etanol 95%. Kemudian sampel disortasi basah, dibagi menjadi potongan kecil dan diletakkan dalam wadah (botol ukuran 600 mL). Sampel direndam menggunakan pelarut etanol hingga terendam seluruhnya. Proses ini dilakukan selama 24 jam, setelah itu disaring menggunakan kertas saring hingga terbentuk filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 diremaserasi selama 24 jam dengan pelarut etanol sampai seluruh sampel terendam, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sampai terbentuk filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 diremaserasi selama 24 jam dengan etanol hingga seluruh sampel terendam, kemudian dilakukan penyaringan hingga terbentuk filtrat 3 dan debris 3. Filtrat 1, 2 dan 3 yang

diperoleh dari proses maserasi dicampur menjadi satu kemudian disaring kembali. Setelah proses penyaringan selesai, filtrat dibawa ke Laboratorium Hama dan Penyakit pada Tumbuhan Fakultas Pertanian untuk dievaporasi dengan menggunakan alat *rotary evaporator* (EYELA^{OSB-2100}) pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kasar kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik. Ekstrak kasar alga *H. opuntia* dibawa kembali ke Laboratorium Farmakognosi & Fitokimia untuk disimpan.

Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi. Pinset disterilisasi dengan cara dibakar langsung diatas api. Media dan peralatan gelas dilakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Putri *et al.*, 2020).

Pembuatan Media Cair

Media cair dibuat dengan mencampurkan 0,3 g ekstrak daging (*beef extract*), 100 mL aquadest, 0,5 g pepton dan 0,3 g natrium klorida dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen kemudian disterilkan pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit menggunakan autoklaf. Setelah itu pH media cair diukur dengan menggunakan kertas pH. Masukkan media cair sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditutup menggunakan *aluminium foil*. Media cair siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

Kultur Bakteri Uji

Media cair yang telah dibuat sebelumnya, diberikan masing-masing 100 µL bakteri yang telah dikultur yaitu *P. aeruginosa* dan *S. aureus* ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Tiap tabung reaksi ditutup menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam (Ortez, 2005).

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Dalam proses pengujian antibakteri, *chloramphenicol paper disc* digunakan sebagai kontrol positif dan *blank paper disc* yang telah ditotolkan metanol 100 µL sebagai kontrol negatif (Josua *et al.*, 2021)

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 2 mg ekstrak kasar alga *H. opuntia* menggunakan 400 µL metanol sampai menghasilkan konsentrasi larutan uji dengan besar 250 µg/50 µL. (Josua *et al.*, 2021).

Pembuatan Media Agar

Media agar dibuat dengan mencampurkan 0,3 g ekstrak daging (*beef extract*), 0,5 g pepton, 0,3 g natrium klorida, 1,5 g nutrien agar dan 100 mL aquades hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer* kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media agar siap digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri (Ortez, 2005)

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Dalam pengujian aktivitas antibakteri, metode yang digunakan yaitu metode difusi (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Kertas cakram (*paper disc*) yang digunakan berukuran 6 mm dengan

daya serap 50 μL tiap cakram. Sampel dengan konsentrasi 250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$ ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Bakteri yang telah dikultur (*P. aeruginosa* dan *S. aureus*) dipipet kemudian diinokulasi pada media agar yang telah steril di suhu sekitar 40°C. Media agar yang telah diinokulasi dituangkan ke dalam cawan petri dan diamkan hingga media mengeras. Kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji alga *H. opuntia* diletakkan menggunakan pinset ke dalam cawan petri dan diinkubasi selama 1 x 24 jam (Josua *et al.*, 2021).

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat

Daerah yang timbul disekitar cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau sampel uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan mistar berskala. Diameter ≤ 5 mm memiliki kekuatan daya hambat lemah, 6-10 mm daya hambat sedang, 11-20 mm daya hambat kuat dan ≥ 21 mm daya hambat sangat kuat (Davis dan Stout, 1971)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode difusi digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji terhadap agen antimikroba. Disc diffusion test dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Metode ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Letakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel, kertas cakram kloramfenikol dan kontrol negatif kedalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba. Kelebihan metode difusi ini yaitu mudah dilakukan karena tidak menggunakan alat khusus dan mencakup fleksibilitas mikroba terhadap antimikroba pada konsentrasi yang telah ditentukan (Katrin *et al.*, 2015).

Bakteri yang digunakan yaitu *S. aureus* yang mewakili bakteri gram positif dan *P. aeruginosa* mewakili bakteri gram negatif. Kedua bakteri ini digunakan untuk mengetahui kemampuan antibakteri dari ekstrak etanol alga *H. Opuntia*. Ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari ekstrak *H. opuntia* ditandai dengan adanya zona bening yang muncul di sekeliling kertas cakram yang telah diberikan larutan uji ekstrak. Kertas cakram yang digunakan memiliki diameter 6 mm. Masing-masing kertas cakram memiliki daya serap sebesar 50 μL . Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 250 $\mu\text{L}/50 \mu\text{L}$. Kertas cakram yang digunakan adalah 8 buah yang terdiri dari 3 kertas cakram untuk pengujian pada bakteri *S. aureus* untuk 3 kali pengulangan, 3 kertas cakram untuk pengujian pada bakteri *P. aeruginosa* untuk 3 kali pengulangan dan 2 kertas cakram sebagai cadangan ketika terjadi kesalahan. Pengujian diamati setelah 1 x 24 jam diinkubasi dengan suhu 37°C. Dalam pengujian ini dilakukan pengulangan selama 3 kali bertujuan untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Hasil pengukuran rata-rata diameter daya antibakteri dari ekstrak etanol ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Rata-Rata Diameter Daya Antibakteri dari Ekstrak Alga *Halimeda opuntia*

Ulangan	Bakteri		Kontrol	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-
I	6,75	9,25	22	-
II	6,75	9,50		
III	7,00	7,00		
Σ	20,50	25,75		
\bar{x}	6,83	8,58		

Pengujian ini menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding. Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol karena merupakan antibiotik *broad-spectrum* yang berkhasiat bakteristatik terhadap Gram-positif dan bakteri Gram-negatif (Katzung, 2018). Kontrol positif digunakan untuk membandingkan daerah hambat yang terbentuk antara kontrol dengan ekstrak sampel yang digunakan. Dari hasil yang diperoleh, kloramfenikol yang merupakan kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat rata-rata sebesar 22 mm.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol. Utomo (2018) menyebutkan bahwa zat yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer dari senyawa yang akan diuji. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan untuk mengencerkan sampel adalah metanol. Sehingga kontrol negatif yang digunakan adalah metanol. Tujuannya yaitu sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri dari senyawa yang akan diuji. Hasil zona bening kontrol negatif terhadap *P. aeruginosa* dan *S. aureus* adalah 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri dari ekstrak alga *H. opuntia*. Pengujian aktivitas antibakteri dari sampel alga *H. opuntia* menggunakan pedoman penggolongan kekuatan daya antibakteri menurut Davis and Stout (1971) yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kategori Kekuatan Daya Antibakteri Berdasarkan Davis dan Stout

Daya Hambat Antibakteri	Kategori Daya Hambat Antibakteri
≥ 21 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

Pada media uji bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan bahwa diameter rata-rata zona bening yang terbentuk berada pada rentang 6,83 mm dimana berdasarkan pada penggolongan kekuatan daya hambat menurut Davis and Stout termasuk dalam kategori sedang. Untuk media uji bakteri *S. aureus*, diameter rata-rata zona bening yang terbentuk ada pada rentang 8,58 mm yang menurut Davis dan Stout juga termasuk dalam kategori sedang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari alga *H. opuntia* memiliki senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Adanya zona hambat yang terbentuk di kedua media uji bakteri menandakan bahwa senyawa aktif dari ekstrak etanol alga *H. opuntia* memiliki spektrum kerja yang luas untuk bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. *P. aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif.

Utomo (2018) menjelaskan bahwa, lapisan dinding sel *P. aeruginosa* lebih kompleks jika dibandingkan dengan *S. aureus*. Bakteri Gram-positif (*S. aureus*) dinding selnya hanya tersusun oleh

peptidoglikan dan membran plasma tunggal. Sedangkan bakteri Gram-negatif (*P. aeruginosa*) tersusun oleh membran plasma luar, membran plasma dalam, serta peptidoglikan. Membran plasma luar di bagian dinding sel bisa menghalangi masuknya zat antibiotik dan juga sebagai sistem pertahanan inang. Hal inilah yang menyebabkan adanya perbedaan kekuatan daya antibakteri yang ditandai dengan diameter rata-rata pada bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dari sampel alga *Halimeda opuntia* yang diambil dari perairan Poopoh Kabupaten Minahasa memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (6,83 mm) dan *Staphylococcus aureus* (8,58 mm) yang digolongkan dalam kategori sedang.

SARAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh melalui penelitian aktivitas antibakteri ekstrak alga *H. opuntia*, disarankan untuk penelitian berikutnya dilanjutkan ke tahap fraksinasi agar dapat diketahui lebih lanjut tentang potensi dari alga *H. opuntia* sebagai antibakteri melalui masing-masing fraksi. Selain itu, pengambilan ekstrak *H. opuntia* untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk dapat diambil di lokasi yang berbeda karena kandungan dari bahan alam yang berada di suatu lokasi berbeda dengan lokasi yang lain bisa saja berbeda tergantung dengan kondisi sekitarnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, Y. Nur, I. A. H. Aninditya, A. S. Nindya, H. W. Adenia, C. A. Nadia, F. Muamar, M. Muhammad, N. F. Nurjanah. dan Asadatun, A. 2020. Karakterisasi Komponen Kimia dan Screening Fitokimia *Halimeda macroloba* dari Perairan Jakarta. Prosiding Seminar Nasional Hasil Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Tahun 2020. Hlm 57-66
- Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. 2017. Jawetz, Melnick and Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta
- Davis, W. W., T.R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological assay. *Journal of microbiology* **22**: 659-665.
- Dewi, A.K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta *Journal of Sain Veterinary*, 138-150
- Frieden, T., 2013. The Threat of Antibiotic Resistance, dalam: Antibiotic Resistance Threats in The United States. US Departement of Health and Human Services, United States.
- Inayatullah, S. (2012) Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* [skripsi]. Universitas Islam Negeri Jakarta.
- Josua, E., Wewengkang, D. S., dan Suoth, E. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Liosina paradoxa* dari Perairan Pulau Mantehage. *Pharmacon* **10(3)**: 933-939.
- Katrin, D., N. Idiawati, dan B. Sitorus. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea graciae* Vidal) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK* **4(1)**.

- Katzung B G. 2018. Basic Clinical Pharmacology. 14th Ed. Mc Graw Education. North America.
- Kristiani, F. B, T. U. Soleha, dan A. J. Wulan. 2018. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Manjority*. **7(1)**: 42-49
- Mayasari E, 2015. *Pseudomonas aeruginosa*; Karakteristik, Infeksi dan Penanganan. e-USU Repository, Medan.
- Nufus, C., Nurjanah., dan Abdullah, A. 2017. Karakteristik Rumput Laut Hijau Dari Perairan Kepulauan Seribu Dan Sekotong Nusa Tenggara Barat Sebagai Antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. **20 (3)**: 627-628
- Ortez, J. H. 2005. Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology. America.
- Purnomo B. 2012. Dasar-Dasar Urologi. Ed. 3. Sagung Seto, Jakarta.
- Pratiwi. 2014. Skrining Uji Efek Antimitosis Ekstrak Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* L.) Menggunakan Sel Telur Bulubabi (*Tripneustus gratilla* L.) [skripsi]. Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin, Makasar
- Putri, R. A., Simbala, H. E., dan Mpila, D. A. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Pharmacon*. **9(4)**: 525-532.
- Rahmi, A.H. *et al.* 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) Terhadap *Propionibacterium Acnes* Penyebab. Jerawat [skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati, Bandung.
- Utomo, S. B. dkk. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4- Metoksifenilkaliks Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia* **3 (3)**: 201-209.