

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ESBL

Antibacterial Activity Of Ethanolic Extract Of Butterfly Pea Flower (Clitoria ternatea L.) Against Escherichia coli ESBL

Ivory Zella Frisca¹, Novena Yety Lindawati², Lusya Murtisiwi³

haeiv.hi@mail.com

²Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat, S1 Farmasi, Farmasi, STIKES Nasional, Sukoharjo

³Laboratorium Mikrobiologi, S1 Farmasi, Farmasi, STIKES Nasional, Sukoharjo

Abstrak

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi oleh mikroorganisme di bagian traktus urinarius. Mikroorganisme yang dapat menyebabkan ISK paling banyak ditemui pada bakteri *Escherichia coli*, bakteri tersebut merupakan salah satu bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) yang menyebabkan resisten terhadap beberapa antibiotik. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) telah diketahui memiliki kandungan senyawa utama antosianin yang memiliki khasiat antibakteri yang bisa digunakan sebagai alternatif pengobatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol bunga telang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL. Penelitian ini menggunakan metode uji bakteri difusi cakram dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, menggunakan kontrol positif Chloramphenicol 30 µg dan kontrol negatif DMSO 10%. Data penelitian ini dianalisis menggunakan uji statistik *One Way Anova*. Hasil penelitian ekstrak etanol bunga telang positif mengandung antosianin, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan alkaloid. Hasil rata-rata zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% berturut-turut 6,3 mm, 6,9 mm, 8,3 mm dan 8,8 mm yang masuk dalam kategori resisten menurut CLSI dan memiliki perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan kontrol negatif (DMSO 10%). Hasil tersebut belum setara dengan kontrol positif chloramphenicol 30 µg dengan zona hambat sebesar 32,2 mm.

Kata Kunci : Antibakteri, Bunga Telang, *Clitoria ternatea* L., *Escherichia coli* ESBL

Abstract

Urinary Tract Infection (UTI) is an infection by microorganism in the urinary tract. Microorganism that can cause UTI are mostly found in Escherichia coli bacteria, these bacteria that produce Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) which causes resistance to several antibiotics. Butterfly pea flower (Clitoria ternatea L.) has been known to contain the main compound anthocyanin which has antibacterial properties that can be used as an alternative treatment. The purpose of this research was to determine the effectiveness of the ethanolic extract of butterfly pea flower in inhibiting the growth of Escherichia coli ESBL. This research used the disc diffusion bacterial test method with various concentrations of 25%, 50%, 75%, 100%, using a positive control of DMSO 10%. The data of this research were analyzed using One Way Anova statistical test. The results of this research showed that the ethanol extract of butterfly pea flower contained positive anthocyanin, flavonoid, saponin, tannin, triterpenoid and alkaloid that were able to inhibit Escherichia coli ESBL bacteria. The average results of the inhibition zones produced at concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% respectively, were 6,3 mm, 6,9 mm, 8,9 mm, 8 mm with the resistant category having significant differences ($p < 0,05$) with negative control (DMSO 10%). These results were not equivalent to the positive control of chloramphenicol 30 µg with an inhibition zone of 32,2 mm.

Keywords : Antibacterial, Butterfly pea flower, *Clitoria ternatea* L., *Escherichia coli* ESBL

Pendahuluan

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi oleh mikroorganisme di bagian traktus urinarius. Mikroorganisme yang dapat menyebabkan ISK paling banyak ditemui pada bakteri *Escherichia coli*, bakteri tersebut merupakan salah satu bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL). ESBL adalah enzim yang menyebabkan bakteri tahan terhadap berbagai macam antibiotik seperti penisilin dan sefalosporin. (Coyle and Prince, 2008; Imaniah, 2015).

Bunga telang merupakan tumbuhan monokotil dan mempunyai bunga yang berwarna biru, putih, coklat yang biasanya digunakan sebagai tanaman hias. Bunga telang mengandung tanin, flobatanin, karbohidrat, saponin, triterpenoid, fenol flavonoid, flavanol glikosida, protein, alkaloid, antrakuinon, antosianin, stigmasit 4-ena- 3,6 dion, minyak volatil dan steroid (Hussain *et al.*, 2008).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol bunga telang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL.

Metode Penelitian

Alat

Timbangan analitik (Acis BC 500), *rotary evaporator* (IKA HB 10 basic), autoklaf, cawan petri, jarum ose, kapas lidi, pinset, mikropipet dan tip (Eppendorf), pembakar spiritus, kapas steril, oven (Memmert), dan jangka sorong (Vernier Caliper).

Bahan

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), etanol 96%, HCl, larutan dragendorf, larutan Wagner, larutan Mayer, anhidrida asetat, serbuk Mg, H₂SO₄ pekat, standar Mc. Farland no. 0,5, *Nutrient Agar* (NA) Oxoid, *Kigler Iron Agar* (KIA), *Sulfide Indol Motilitas* (SIM), *TSIA (Triple Sugar Iron Agar)*, Citrat, *Nutrient Broth* (NB) Merck KgaA, antibiotik cakram Chloramphenicol 30 µg, kontrol negatif DMSO 10%, aquades steril (H₂O), NaCl fisiologis 0,9%, bakteri uji *Escherichia coli* ESBL yang diambil dari sampel urin, *paper disc* kosong.

Tahapan Penelitian

1. Determinasi Bunga Telang

Tanaman telang yang digunakan dalam penelitian dideterminasi di

Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Penyiapan Bahan

Bunga telang yang diperoleh disortasi untuk memisahkan kotoran atau bahan asing kemudian dicuci dengan air mengalir. Bunga telang dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam diatasnya selama 1 hari kemudian dilanjutkan dengan dioven pada suhu 50°C selama 4 jam. Bunga yang telah kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk halus (*simplisia*) menggunakan blender, kemudian diayak menggunakan pengayak nomor 20 (Mulangsri, 2019).

3. Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan cara 200 gram serbuk bunga telang direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 1500 mL dengan perbandingan (1:7,5) dalam wadah kaca selama 3 hari sambil diaduk sesekali tiap 12 jam. Maserat yang diperoleh disaring dilakukan proses remaserasi dengan sisa pelarut etanol yaitu 500 mL (1:2,5) selama 2 hari hingga warna pelarut etanol bening yang menandakan pelarut tersebut sudah tidak bisa menarik senyawa yang terdapat dalam *simplisia*. Hasil maserat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diupkan filtrat ekstrak bunga telang menggunakan alat *rotatory evaporator* dengan suhu 50°C dan diresidukan dengan *waterbath* suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Khumairoh, 2020).

4. Uji bebas etanol

Ekstrak sebanyak 0,5 g ditambahkan 2 mL asam asetat dan 2 mL H₂SO₄, kemudian dipanaskan. Reaksi positif bebas etanol ditunjukkan dengan tidak tercium bau ester wangi. Jika masih tercium bau ester wangi, artinya masih ada kandungan etanol yang mengalami esterifikasi (Schoorl, 1998).

5. Penetapan kadar etanol

Ekstrak pekat bunga telang ditimbang 4 g dan dilarutkan dalam aquades sampai 50 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi, suhu destilat diatur pada 78,5°C. proses destilasi ± 3 jam atau dihentikan apabila tidak menetes lagi. Kadar sisa etanol ditentukan dengan metode berat jenis (Saifudin *et al.*, 2011). Kadar alkohol ditentukan menggunakan daftar hubungan BJ

$$\text{Volume aquadest} = \frac{W_1 - WO_1}{\text{BJ aquadest}}$$

$$\text{BJ destilat} = \frac{W_2 - WO_2}{\text{Volume aquades}}$$

destilat dengan kadar alkohol pada farmakope (Depkes, 1995).

merah kecoklatan (Alamsyah, 2014).

6. Skrining fitokimia

a. Pembuatan larutan uji fitokimia

500 mg ekstrak kental dilarutkan dalam pelarut 50 mL etanol 95% dan 50 mL metanol (Susanti *et al.*, 2014).

b. Pemeriksaan flavonoid

Larutan uji direaksikan dengan HCl dan serbuk Mg, positif mengandung flavonoid apabila menghasilkan warna merah (Alamsyah, 2014).

c. Pemeriksaan saponin

Larutan uji ditambahkan dengan air hangat, dikocok *vertical* selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1–10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang (Alamsyah, 2014).

d. Pemeriksaan tanin

Larutan uji direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Simaremare, 2014).

e. Pemeriksaan triterpenoid dan steroid

Pemeriksaan triterpenoid dan steroid dilakukan dengan reaksi Liebermann-Burchard. Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan porselin. Residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Asam sulfat pekat sebanyak 2 mL selanjutnya ditambahkan melalui dinding tabung. Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan bila muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid (Arum *et al.*, 2012).

f. Pemeriksaan alkaloid

Larutan uji diujikan dengan uji Mayer menghasilkan endapan putih, kemudian uji Wagner menghasilkan endapan coklat dan uji Dragendroff menghasilkan endapan

7. Karakterisasi bakteri *Escherichia coli*

ESBL Karakterisasi bakteri dilakukan pengecatan gram; isolasi pada media *MacConkey*; uji biokimia meliputi KIA, SIM, Urea, Citrat, MR, VP, PAD, Fermentasi Karbohidrat (Laktosa, Glukosa, Maltosa, Sakarosa, Manitol).

8. Uji pemastian ESBL

Menggunakan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST) berdasarkan panduan dari *Clinical and Laboratory Standar Institute* (CLSI) (CLSI, 2019). Bakteri digoreskan pada *Nutrient Agar* (NA) sampai seluruh permukaan cawan petri tertutup kemudian kertas cakram yang berisi antibiotik ceftazidime dan cefotaxime diletakkan di atas NA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif menunjukkan bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL apabila zona hambat yang dihasilkan pada ceftazidime sebesar ≤ 22 mm dan cefotaxime sebesar ≤ 27 mm.

9. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol terhadap

Escherichia coli ESBL

Ekstrak etanol dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% 100% diuji pada bakteri uji yang telah digoreskan secara perataan pada media agar NA.

Analisa Data

Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL didapatkan dari pengukuran zona hambat yang terbentuk pada media menggunakan jangka sorong, kemudian data diameter zona hambat tersebut dikategorikan ke penilaian menurut CLSI yaitu resisten, intermediet atau sensitif. Penilaian dikatakan resisten apabila zona hambat yang dihasilkan sebesar ≤ 12 mm, intermediet dengan zona hambat 13-17 mm dan sensitif dengan zona hambat sebesar ≥ 18 mm. Setelah itu, data diameter zona hambat dimasukkan dalam program SPSS dan dapat dilihat dari hasil uji statistik *One Way Anova*.

Hasil dan Pembahasan

Determinasi Bunga Telang

Determinasi bertujuan untuk

mendapatkan kebenaran identitas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengambilan sampel penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman bunga telang berdasarkan hasil determinasi di Fakultas Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Ekstraksi sampel

Pemilihan metode ekstraksi dengan cara maserasi yaitu karena memiliki banyak keuntungan seperti cara yang dilakukan mudah dan sederhana, tidak memerlukan alat yang banyak, selain itu metode ini dapat menghindari kerusakan yang mudah rusak proses kompilasi (Mukhriani, 2014).

Tabel I. Hasil Rendemen Ekstrak

Sampel	%Rendemen
Ekstrak Etanol	48,3%

Uji Bebas Etanol

Uji keberadaan etanol pada ekstrak bunga telang bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak tersebut masih mengandung pelarut etanol atau tidak sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015). Uji ini dilakukan dengan ekstrak direaksikan dengan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan. Hasil uji pada kedua ekstrak yang didapatkan yaitu tidak terjadi esterifikasi dengan ditandai tidak terbentuk bau ester wangi.

Penetapan kadar etanol

Penetapan kadar etanol dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui berapakah persentase pelarut yang masih terkandung dalam ekstrak bunga telang. Uji ini dilakukan melalui pengukuran berat jenis menggunakan alat piknometer. Sebelum dilakukan pengukuran berat jenis ekstrak bunga telang didestilasi dengan tujuan memisahkan etanol dari air dan komponen lainnya sehingga akan diperoleh etanol murni. Menurut *guideline for disinfection and sterilization* (2008) konsentrasi etanol dari 40% – 100% dapat membunuh bakteri *Escherichia coli* sehingga dapat disimpulkan bahwa dari hasil uji kadar

etanol sebesar 6,3% tidak dapat membunuh bakteri *Escherichia coli* dan tidak mengganggu pengamatan dalam penelitian.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol bunga telang. Sebelum dilakukan uji skrining fitokimia dibuat larutan uji fitokimia terlebih dahulu yaitu dengan melarutkan ekstrak etanol bunga telang dengan pelarut etanol. Hal ini bertujuan untuk mengencerkan ekstrak agar tidak terlalu pekat sehingga saat pengamatan hasil terlihat jelas. Hasil skrining fitokimia bunga telang dapat dilihat pada Tabel II

Tabel II. Hasil Skrining Fitokimia.

Uji Fitokimia	Hasil
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Triterpenoid/ Steroid	+
Alkaloid	+

Karakterisasi bakteri *Escherichia coli* ESBL

Pengecatan gram pada bakteri uji

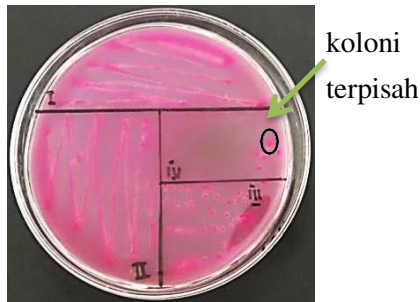
dihasilkan bakteri gram negatif berbentuk kokobasil (batang pendek), berwarna merah, serta tersusun menyebar. Menurut Pelczar (2009), bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih tipis (10-15 nm) dan presentase lemak lebih tinggi (11-24%) daripada bakteri gram positif dikarenakan bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan sedikit sehingga tidak mampu mengikat cat utama sehingga menyerap zat warna lain safranin yang berwarna merah.



Gambar 1. Hasil pengecatan bakteri *Escherichia coli* ESBL, berbentuk kokobasil berwarna merah dan menyebar dengan perbesaran 100x

Hasil isolasi bakteri *Escherichia coli* ESBL pada media *MacConkey* berbentuk bulat kecil,

berwarna merah, dan permukaan cembung. *MacConkey* merupakan media selektif bakteri gram negatif. Salah satu komposisi dari *MacConkey* yaitu laktosa menjadi sumber karbohidrat bakteri batang gram negatif sekaligus digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi laktosa.



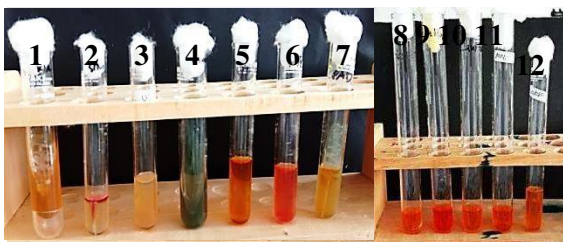
Gambar 2. Hasil koloni bakteri pada *MacConkey* berbentuk bulat berwarna merah dan permukaan cembung

Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menggunakan suatu senyawa tertentu sebagai sumber karbon sumber energi serta untuk menentukan sifat metabolisme bakteri (Waluyo, 2010).

Tabel III. Hasil Biokimia

SPESIES BAKTERI <i>Escherichia coli</i>		
MEDIA		KETERANGAN
KIA	Ferm	Acid/Acid
	H ₂ S	-
	Gas	+
SIM	Indol	+
	Motil	+
	H ₂ S	-
UREA		-
CITRAT		-
MR		+
VP		-
PAD		-
Fermentasi Karbohidrat	Laktosa	+G
	Glukosa	+
	Maltosa	+
	Sakarosa	+
	Manitol	+



Gambar 3. Hasil Uji Biokimia *Escherichia coli* ESBL (1) KIA (2) SIM (3) Urea (4) Citrat (5) VP (6) MR (7) PAD (8) Sukrosa (9) Maltosa (10) Laktosa (11) Manitol (12) Glukosa

Uji pemastian ESBL

Pada uji konfirmasi bakteri ESBL menggunakan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST) dengan hasil yang diperoleh bakteri positif penghasil ESBL. Mekanisme resistensi antibiotik golongan beta laktam, yaitu enzim- enzim beta laktamase dapat menghidrolisis struktur cincin beta laktam sehingga antibiotik beta laktam menjadi tidak aktif (Severin *et al.*, 2010). Dari hasil uji konfirmasi ESBL menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* ESBL resisten terhadap antibiotik Ceftazidime dan Cefotaxime dengan zona hambat sebesar 20 mm dan 6 mm.

Tabel IV. Hasil Pemastian ESBL

Antibiotik	Hasil (mm)	Pustaka (CLSI, 2017)	Ket.
Ceftazidime 30 µg	20	≤ 22 mm	Resisten
Cefotaxime 30 µg	6	≤ 22 mm	Resisten



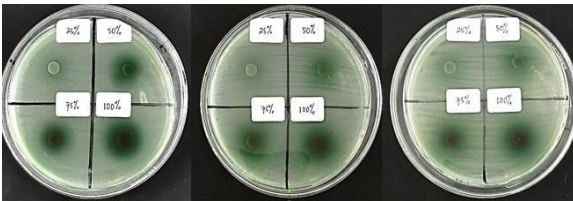
Gambar 4. Hasil Uji Pemastian ESBL

Uji antibakteri ekstrak etanol bunga telang

Uji antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dimana adanya respon penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekitar *disc* pada semua konsentrasi. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10% dan kontrol positif Chlorampenicol 30 µg. Diameter zona hambat yang dihasilkan diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Tabel IV. Hasil zona hambat ekstrak etanol

Uji	Konsentrasi	Hasil Diameter (mm)			Rata-rata (mm)
		1	2	3	
Ekstrak etanol	25%	6,0	6,3	6,5	6,3
	50%	7,0	6,9	6,9	6,9
	75%	8,0	8,5	8,3	8,3
	100%				8,8
Kontrol negatif		6,0	6,0	6,0	6,0
Kontrol positif		32,4	32	32,5	32,3



Gambar 5. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL didapatkan hasil semakin besar konsentrasi ekstrak semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahmawati (2014) bahwa besar konsentrasi interaksi ekstrak yang diberikan maka semakin besar pula diameter daya hambat yang terbentuk, karena semakin banyak komponen bioaktif yang terkandung.

Selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri.

Simpulan

Ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% sebesar 8,8 mm yang masuk dalam kategori resisten menurut CLSI dan tidak ada konsentrasi yang memiliki kemampuan penghambatan yang setara dengan kontrol positif Chloramphenicol 30 µg.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu terwujudnya publikasi ini terutama kepada kampus STIKES Nasional, kepada ibu dosen pembimbing dan pendamping yang selalu memberi bimbingan dan arahan.

Daftar Pustaka

- Alamsyah, H. K., Ita W., Agus S, 2014, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut *Sargassum cinereum* (J.G.Agaradh) dari Perairan Pulau Panjang Jepara terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*, *Journal Of Marine Research*, 3(2): 69-78
- Arum, Supartono, Sudarmin, 2012, Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal MIPA*, 35(2): 165-174
- Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R., 2008, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oil depends on seasonal variations, *Food Chem*, 108, 986-995
- Imaniah, B.A., 2015, *Peta Kuman dan Resistensinya terhadap Antibiotika pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSUD Dr. Moewardi Tahun 2014*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Khumairoh, Lisa., 2020, Perbedaan Pelarut Etanol 96% dan Etil Asetat pada Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*, *Artikel*, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran.
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2):36-367 Mulangsri, Dewi Andini Kunti, 2019, Penyuluhan Pembuatan Bunga Telang Kering sebagai Seduhan Teh Kepada Anak Panti Asuhan Yatim Putra Baiti Jannati, *Abdimas Unwahas*, 4(2): 93-96
- Rahmawati, N., Edhy Sudjarwo, Eko W., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(3): 24-31
- Severin J.A., Mertaniasih N.M., Kuntaman K., Lestari E.S., Den Toom N.L., et al, 2010, Molecular characterization of

extended- spectrum b-lactamase
in clinical *Escherichia coli* and
Klebsiella pneumoniae isolates
from Surabaya, Indonesia,
Antimicroba. Chemother, 65(3):
465-469

Simaremare, E. S., 2014, Skrining
Fitokimia Ekstrak Etanol Daun
Gatal (*Laportea decumana*
Roxb), *Parmacy*, 11(1): 98-107

Waluyo dan Lud, 2010, *Mikrobiologi*
Lingkungan, Universitas
Muhammadiyah Malang,
Malang Pres