

DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* L.) DENGAN PELARUT ETHANOL DAN AQUADES TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI PERAH

Wina Astriyai^{1*}, Puguh Surjowardojo², Tri Eko Susilorini²

¹Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

*Email: whyna501@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this research was determined effect of inhibitory the *Phaleria macrocarpa* L. fruits extract with ethanol and aquades solvents against *Staphylococcus aureus*. Materials used was *Staphylococcus aureus* which isolated from mastitis milk. *Phaleria macrocarpa* L. fruits powder were extracted using ethanol and aquades with concentration were 10%, 20%, 30% and 40%. Iodips was used as control. Inhibitory of bacteria effect test was done by well diffusion methods. Variable was inhibition zone of each concentration, both of ethanol and aquades solvent. Data was analyzed by using two way nested ANOVA and continued by Duncan Multiple Range Test (DMRT). Result showed that highly significantly ($P < 0.01$) on inhibition zone of *Staphylococcus aureus*. Diameters of inhibitory was the optimum inhibition with ethanol solvent (17.46 ± 0.67) mm and aquades solvent (11.14 ± 0.30) mm. The best of treatment of *Phaleria macrocarpa* L. fruits extract against *Staphylococcus aureus* with ethanol and aquades solvent was 40%. The conclusion of this research is that mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) fruits extract with ethanol and aquades solvent in concentration 40% had a high ability to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. *Phaleria macrocarpa* L. fruits extract with ethanol higher in inhibiting capability the *Staphylococcus aureus* bacteria compared to aquades solvent.

Keywords : *Phaleria macrocarpa* L, extract, Ethanol, Aquades, *Staphylococcus aureus* and Mastitis

PENDAHULUAN

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* L.) merupakan tanaman obat berwarna merah yang dikenal oleh masyarakat. Mahkota dewa ditanam disekitar pekarangan rumah sebagai tanaman hias atau di kebun sebagai tanaman peneduh. Mahkota dewa memiliki kandungan kimia terdiri dari alkaloid, saponin, flavonoid, tannin dan polifenol. Alkaloid sebagai detoksifikasi yang dapat menetralkan racun didalam tubuh. Saponin berfungsi sebagai sumber antibakteri, meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Flavonoid memiliki kandungan antiinflamasi (anti radang), sebagai antioksidan sedangkan polifenol sebagai histamin (anti alergi). Kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu saponin dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut yang berperan sebagai bahan aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Tristiyanto, 2011).

Bakteri yang menyebabkan mastitis subklinis dan sering terdeteksi pada sapi perah adalah *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* (Poeloengan, 2009). *Staphylococcus aureus* termasuk salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan mastitis subklinis. Secara ekonomis bakteri ini sangat merugikan bagi peternak, karena dapat menyebabkan penurunan produksi susu yang signifikan (sekitar 10-20%), menurunkan kualitas susu secara umum dan meningkatkan jumlah *somatic cell count* (SCC) pada suatu peternakan yang terinfeksi.

Bakteri *Staphylococcus aureus* menempati angka 67% sebagai bakteri patogen penyebab terjadinya mastitis. *Staphylococcus aureus* menunjukkan warna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau, menghasilkan toksin yang tahan

panas. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki ciri-ciri berbentuk kokus, diameter 0,7-0,9 µm dan tersusun atas sekelompok bentuk yang tidak beraturan, tidak membentuk spora dan dapat lisis oleh obat-obatan seperti penisilin, dapat bertahan hidup tanpa oksigen (Dewi, 2013). *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan memiliki substansi penting di dalam struktur dinding sel.

Staphylococcus aureus termasuk bakteri gram positif memiliki kepekaan terhadap antibakteri lebih baik. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel mikroba gram positif relatif lebih sederhana, sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk melakukan aktivitas bekerja (Amalia, Wahdaningsih dan Untari, 2014). Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Buah mahkota dewa memiliki kandungan antibakteri seperti saponin, flavonoid, alkaloid, tannin dan fenol yang sangat efektif dalam mencegah mastitis. Senyawa fenol pada buah mahkota dewa berfungsi mengganggu pertumbuhan bakteri gram positif.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 2 Mei – 2 Juni 2016 di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya dan Laboratorium Bakteriologi Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah oven, pisau, wadah plastik, rotary evaporator, corong buchner, shaker inkubator, timbangan analitik, erlenmeyer 500 ml, gelas media, kertas saring dan spatula, tabung reaksi, cawan petri, lampu spiritus atau bunsen, inkubator, autoklaf, labu erlenmeyer 500 ml, gelas ukur, jangka sorong, mikro pipet, pinset, stirrer, pengaduk, aluminium foil, kertas label, tissue dan kertas wrap.

Bahan yang digunakan adalah aquades, ethanol 96% p.a dan simplisia buah mahkota dewa, media MHA (*Mueller Hinton Agar*), Media NB (*Nutrient Broth*), Ethanol 96% p.a, Aquades dan Kertas Cakram.

Materi Penelitian

1. Bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Buah Mahkota Dewa.
3. Larutan Iodips

Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah percobaan laboratorium dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Metode menggunakan analisis ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang. Konsentrasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Perlakuan

P0 = Kontrol		Iodips 1 ml	
Perlakuan	Perlakuan yang diberikan		
	Ekstrak Pelarut Ethanol	Ekstrak Pelarut Aquades	
P1 (10%)	0,5 ml EBMD + 4,5 ml aquades	0,5 ml EBMD + 4,5 ml aquades	
P2 (20%)	1 ml EBMD + 4 ml aquades	1 ml EBMD + 4 ml aquades	
P3 (30%)	1,5 ml EBMD + 3,5 ml aquades	1,5 ml EBMD + 3,5 ml aquades	
P4 (40%)	2 ml EBMD + 3 ml aquades	2 ml EBMD + 3 ml aquades	

Prosedur Penelitian

1. Prosedur Pembuatan Media MHA

- a. Dilarutkan *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan komposisi 12,16 gr/320 ml, kemudian dilarutkan dengan aquades ke dalam erlenmeyer 500 ml.
- b. Ditutup erlenmeyer dengan aluminium foil kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.
- c. Di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 atm selama 25 menit.

- d. Dituangkan media MHA ke cawan petri masing masing 10 ml dan dibiarkan hingga dingin dan padat.

2. Ekstraksi Buah Mahkota Dewa

- Prosedur pembuatan ekstraksi buah mahkota dewa metode maserasi menggunakan pelarut aquades menurut Tristiyanto (2011). sebagai berikut :
- a. Ditimbang serbuk buah mahkota dewa sebanyak 150 gram.
 - b. Dimasukkan serbuk buah mahkota dewa ke dalam erlenmeyer 1 liter.
 - c. Dilakukan maserasi dengan menambahkan aquades sebanyak 350 ml atau sampai terendam.
 - d. Dihomogenkan dengan alat *shaker incubator* selama 3x24 jam.
 - e. Disaring larutan buah mahkota dewa menggunakan *vacumm pump* sampai tidak menetes dan diperoleh filtrat.
 - f. Diuapkan filtrat dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 100°C (Sibuea, 2015).
 - g. Diencerkan ekstrak pekat menjadi beberapa konsentrasi sesuai perlakuan

3. Uji Daya Hambat

- Uji daya hambat menggunakan metode difusi cakram Gunawan, Sarwiyono, Surjowardojo (2003) sebagai berikut :
1. Disiapkan 20 cawan petri yang telah dituangi media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dalam bentuk padat (sesuai standar MC Farland 10⁸ CFU/ml).
 2. Ditambahkan 100 µl bakteri aktif dari media NB (*Nutrient Broth*) yang diambil dari masing-masing botol kultur ke permukaan media MHA (*Mueller Hinton Agar*).
 3. Diratakan kultur tersebut dipermukaan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) menggunakan *spreader glass* hingga merata, kemudian ditutup kembali cawan petri (*metode spread plate*).
 4. Dichelupkan kertas cakram ke masing-masing konsentrasi dari dua ekstrak buah mahkota dengan dengan pelarut ethanol dan aquades.
 5. Ditiriskan kertas cakram tersebut hingga tidak menetes.
 6. Diletakkan kertas cakram diatas media MHA (*Mueller Hinton Agar*).
 7. Diinkubasi media tersebut dengan suhu 37°C selama 48 jam.
 8. Diamati zona hambat /zona bening disekeliling *paper disk* yang

menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran zona bening disekitar cakram kertas terdapat aktivitas untuk menghambat bakteri karena adanya senyawa aktif pada buah mahkota dewa yaitu flavonoid, saponin, alkaloid dan tannin. Ningsih, Zufahair dan Kartika (2016) metode difusi cakram digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

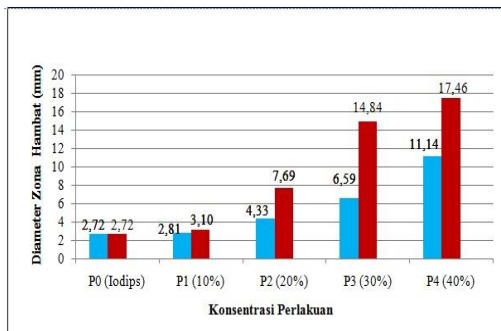
Hasil dari analisis ragam pada penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat oleh ekstrak buah mahkota dewa dengan pelarut ethanol pada konsentrasi P1 (10%) sampai P4 (40%) berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berikut hasil rata-rata pengukuran diameter zona hambat ekstrak buah mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pelarut ethanol dan aquades dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata pengukuran diameter zona hambat ekstrak buah mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pelarut ethanol dan aquades

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)	
	Ethanol	Aquades
P1 (10%)	3,10±1,03 ^a	2,81±0,85 ^a
P2 (20%)	7,69±0,41 ^b	4,33±0,99 ^a
P3 (30%)	14,48±1,27 ^b	6,59±1,13 ^a
P4 (40%)	17,46±0,67 ^b	11,14±0,30 ^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda (a-b) pada kolom diatas menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata (P<0,01)

Berikut perbandingan daya hambat ekstrak buah mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pelarut ethanol dan aquades dengan dibandingkan daya hambat iodip 10% (kontrol) dapat disajikan pada diagram dibawah ini :



Gambar 1. Diagram rata-rata daya hambat

Apriyani, Priani dan Gadri (2015) luas daerah hambatan berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri, semakin kuat daya aktivitas antibakteri maka semakin luas daerah hambatannya. Diameter zona bisa dihitung dengan penggaris atau jangka sorong. Semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba maka akan semakin cepat sel mikroba terbunuh dan terhambat pertumbuhannya (Rahman, 2015).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah mahkota dewa dengan pelarut ethanol menunjukkan pada konsentrasi P3 (30%) dan P4 (40%) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan P0 (Iodips), P1 (10%) dan P2 (20%). Sedangkan Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak buah mahkota dewa dengan pelarut aquades menunjukkan pada konsentrasi P3 (30%) dan P4 (40%) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan P0 (Iodips), P1 (10%) dan P2 (20%).

Penentuan konsentrasi yang optimal dilakukan dengan penentuan pelarut yang terbaik dalam pembuatan ekstrak buah mahkota dewa. Pelarut yang terbaik dari penelitian ini ditinjau berdasarkan hasil rata-rata daya hambat yang dihasilkan. Berikut nilai rata-rata daya hambat masing-masing pelarut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata daya hambat masing-masing pelarut

Pelarut	Rata-rata (mm)
Ethanol	10,77 ^b
Aquades	6,22 ^a

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata (P<0,01)

Tabel 3 menunjukkan bahwa pelarut yang optimal digunakan untuk ekstrak buah mahkota dewa adalah pelarut ethanol dengan rata-rata daya hambat sebesar 10,77 mm sedangkan pelarut aquades hanya memiliki rata-rata daya hambat sebesar 6,22. Ethanol digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan. Berdasarkan penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pelarut ethanol lebih baik daripada aquades, metanol atau pelarut lain dalam mengekstraksi senyawa antioksidan maupun antibakteri. Namun ethanol memiliki harga yang lebih mahal dibandingkan dengan aquades. Ekstrak ethanol memiliki kemampuan dalam proses ekstraksi yang tinggi untuk semua senyawa.

Senyawa tersebut yang memiliki molekul yang rendah diantaranya alkaloid, saponin dan flavonoid (Prayitno, Kusnadi and Murtini, 2016). Septiana, Muchtadi dan Zakaria (2002) aquades merupakan bentuk pelarut yang aplikatif dalam pembuatan ekstrak. Aquades merupakan pelarut yang memiliki polaritas tertinggi, sehingga memberikan rendemen paling rendah dibanding ekstrak pelarut lain. Hal ini menyebabkan karbohidrat ikut terekstrak, sehingga menyebabkan total fenol per berat sampel menjadi rendah.

Kemampuan Zat Antibakteri Buah Mahkota Dewa

Daging buah mahkota dewa memiliki kandungan kimia terdiri dari flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan polifenol. Kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu saponin dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut yang berperan sebagai bahan aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Tristiyanto, 2011).

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai bakteriostatik dengan cara merusak membran sitoplasma (Nikhah dan Basjir, 2012). Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Senyawa tannin berfungsi sebagai bakteriolitik. Mekanisme kerja tannin yaitu aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba dan enzim serta mengganggu transport protein

pada lapisan dalam sel (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013).

Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Senyawa fenolik golongan flavonoid yang dapat larut dalam pelarut etanol. Senyawa alkaloid bersifat bakteriolitik. Alkaloid merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Apabila alkaloid berinteraksi dengan bakteri, maka akan pecah atau lisis.

Kemampuan Ekstrak Buah Mahkota Dewa Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Mekanisme ekstrak buah mahkota dewa dalam menghambat bakteri dengan cara merusak lapisan dinding sel. Dinding sel bakteri adalah lapisan tebal yang mampu melindungi bagian dalam dari tekanan luar. Senyawa flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik. Mekanisme kerja flavonoid yaitu mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma (Nikham dan Basjir, 2012). Senyawa saponin dapat bekerja sebagai bakteriostatik dengan cara merusak membran sitoplasma.

Mekanisme kerja antimikroba dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuan alkaloid untuk berikatan dengan DNA sel. Mekanisme kerja tannin yaitu aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba dan enzim serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013). Apabila alkaloid berinteraksi dengan bakteri, maka akan pecah atau lisis (Sari, Komala dan Astuty, 2011). Setelah lisis, senyawa tannin mampu merusak dinding sel. Tanin dapat merusak membran sel bakteri, mengerutkan dinding sel, sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan akan terhambat bahkan mati.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak buah mahkota dewa menggunakan pelarut etanol dan aquades memiliki kemampuan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Konsentrasi optimal ekstrak buah mahkota dewa dengan pelarut etanol dan aquades dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 40%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian untuk bahan *teat dipping* menggunakan ekstrak buah mahkota dewa dengan pelarut aquades lebih murah dibandingkan dengan etanol dalam menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis pada sapi perah. Hal ini ditinjau berdasarkan pertimbangan ekonomi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Keluarga yang memberikan semangat dan restunya.
2. Dosen pembimbing yang telah memberikan kritik dan saran.
3. RISTEKDIKTI yang telah memberikan bantuan dana penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, S., S. Wahdaningsih dan E. K. Untari. 2014. Uji Aktivitas Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus Britto and Rose*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* atcc 25923. Trad Med Journal. 19(2): 89-94.
- Angelique, L., W. J. Frederik, J. Garmi and D. P. L. Hester. 2015. The potential use of natural and structural analogues of antimicrobial peptides in the fight against neglected tropical diseases. Molecules. 20(1): 15392-15433
- Apriyani, Y. M., S. E. Priani dan A. Gadri. 2015. Akktivitas Antibakteri Minyak Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni Nees Ex Bl.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. ISSN 2460-6472. 350
- 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. Jurnal Sains Veteriner. 31(2): 140.
- Kamal, R. M., M. A. Bayoumi and S. F. A. Abd El Aal. 2014. Correlation between some direct and indirect tests for screen detection of subclinical mastitis. *International Food Research Journal* 21(3): 1249-1254.
- Mandal, V., Y. Mohan, and S. Hemalata. 2007. Microwave assisted extraction-an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research, *Pharmacognosy Reviews*, 1(1):18.
- Ngajow, M., J. Abidjulu dan V.S Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal MIPA Unsrat*. 2(2): 128-132.
- Nikham dan T.E. Basjir. 2012. Uji Bahan Antibakteri dari Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) Hasil Iradiasi Gamma dan Antibiotik Terhadap Bakteri Patogen. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Pengetahuan dan Teknologi*. ISSN 1411-2213. 171.
- Ningsih, R. Zufahair dan D. Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*. 11(1): 101-106
- Prayitno, S. A., J. Kusnadi and E. S. Murtini. 2016. Antioxidant activity of red betel leaves extract (*piper crocatum* ruiz & pav.) by difference concentration of solvents. *Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 7(5): 1-8.
- Poeloengan, M. 2009. Aktivitas Air Perasan dan Ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri Yang Diisolasi Dari Sapi Mastitis Subklinis. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor
- Rahman, E. F., 2015. Efektivitas Ekstrak Daun Dewa (*Gynura Pseudochina* (Lour.) Dc) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* Pada Plat Dasar Gigi Tiruan Resin Akrilik. *Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA*. 1(1): 9.
- Sari, B. L., O. Komala dan E. Astuty. 2011. Efektivitas Antimikroba Biji Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* [scheff.] Boerl) Terhadap Mikroba Gangren Diabet. *Jurnal Medika*. 1(3): 22-30.
- Septiana, A.T., D. Muchtadi dan F. R. Zakaria. 2002. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe Pada Asam Linolenat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XIII* (2): 105-110
- Taylor, R. E. 1988. *Scientific Farm Animal Production : An Introduction to Animal Science-4th Edition*. Macmillan Publishing Company. New York.
- Tristyanto, N. 2011. Daya Anti Bakteri Ekstrak Buah Mahkota Dewa Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Analisis Kesehatan Akademi Analisis Kesehatan Malang*. 1(1): 1-10
- Utomo, A. D., W. R. Rahayu dan B. A. Dhiani. 2009. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Pharmacy*. 6(1): 59.
- Vineetha, N., RA. Vignesh and D. Sridhar. 2015. Preparation, standardization of antibiotic discs and study of resistance pattern for first-line antibiotics in isolates from clinical samples. *International Journal of Applied Research*. 1(11): 624-631.