

ARTIKEL ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CABE
JAWA (*Piper retrofractum* Vahl) TERHADAP *Escherichia coli***



DESY WULANSARI

NIM 16.037

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Pembimbing,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Nela Agustin Kusuma Wardani".

Nela Agustin Kusuma Wardani, S.TP., M.P

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CABE

JAWA (*Piper retrofractum* Vahl) TERHADAP *Escherichia coli*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF JAVANESE PIPER (Piper Retrofractum Vahl) LEAF ETHANOL EXTRACT ON Escherichia coli

Desy Wulansari, Nela Agustin Kusuma Wardani

Jurusan D-III Farmasi, Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Diare merupakan penyakit dimana feses berubah menjadi lembek atau cair yang biasanya terjadi paling sedikit 3x dalam 24 jam. Diare yang disebabkan oleh *Escherichia coli* merupakan salah satu mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia, menjadi patogen jika jumlah bakteri ini meningkat dalam saluran pencernaan. Pengobatan menggunakan antibiotik yang tidak rasional merupakan salah satu penyebab timbulnya resistensi dan efek samping. Penggunaan bahan alam dengan daun cabe jawa terdapat senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid dan saponin sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap *Escherichia coli*. Metode yang digunakan yaitu difusi sumuran pada media EMBA dengan seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dilakukan 3x pengulangan. Hasil identifikasi fitokimia ekstrak daun cabe jawa positif mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun cabe jawa pada konsentrasi 25% dan 50% tidak terdapat zona bening, sedangkan pada konsentrasi 75% dan 100% terdapat hasil rata-rata diameter zona bening 2,49 mm dan 3,17 mm. Kesimpulan dari penelitian ini pada konsentrasi 25% dan 50% tidak ada aktivitas antibakteri dan pada konsentrasi 75% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri tergolong lemah.

Kata kunci: Aktifitas Antibakteri, Daun Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl), *Escherichia coli*, Identifikasi Fitokimia.

ABSTRACT

Diarrhea is a disease where the feces turn to mushy and liquid that typically occurs least 3 times a day in 24 hours. Diarrhea caused by *Escherichia coli* is one of the microflora that normally exists in the human digestive tract, become a pathogen if quantity of these bacteria in the digestive tract increases. Treatment of irrational antibiotics is one the causes of resistance and the side effects increase. The use of natural materials with Javanese piper leaf have secondary metabolite compounds of flavonoids, alkaloids and saponins as antibacterial. This research aimed to examine the antibacterial activity of Javanese piper (*Piper retrofractum* Vahl) leaf ethanol extract on *Escherichia coli*. The method used in this research is the diffusion method on EMBA media with a concentration series of 25%, 50%, 75%, and 100% with 3 times of repetition. The results of phytochemical identification, Javanese piper leaf positive compound secondary metabolites as flavonoids, alkaloids and saponins. The results showed that Javanese piper leaf at a concentration of 25% and 50% did not have clear zones, whereas at concentrations of 75% and 100% there are results of the average clear zone diameter of 2.49 mm and 3.17 mm. The conclusion of this research is that at a concentration of 25% and 50% there is no antibacterial activity and at concentrations of 75% and 100% have weak antibacterial activity.

Keywords: Antibacterial Activity, Javanese Piper (*Piper retrofractum* Vahl) Leaf, *Escherichia coli*, Phytochemical Identification.

PENDAHULUAN

Diare adalah sebuah penyakit dimana tinja atau feses berubah menjadi lembek atau cair yang biasanya terjadi paling sedikit tiga kali dalam 24 jam. Prevalensi diare pada tahun 2017 penyakit diare di Jawa Timur mencapai 1.060.910 dengan presentasi 57,0% kasus diare yang sudah ditangani (Kemenkes, 2017). Diare yang disebabkan oleh *Escherichia coli* merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia, menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat (Kusuma, 2010).

Upaya pengobatan penderita diare sebagian besar dengan terapi rehidrasi untuk mengganti cairan tubuh yang hilang akibat adanya dehidrasi serta obat anti diare untuk diare akut non infeksi dan penyakit diare yang disebabkan oleh berbagai jenis infeksi memerlukan tambahan terapi antibiotik (Pratiwi, 2017). Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat menyebabkan resistensi dimana bakteri akan memberikan perlawanan terhadap kerja antibiotik. Oleh karena itu

diperlukan alternatif selain antibiotik yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* pada penanganan diare menggunakan bahan alam.

Penggunaan yang berasal dari bahan alam diyakini dapat menimbulkan efek samping yang minimal dan efek terapeutik yang maksimal. Salah satu bahan alam yang bisa digunakan sebagai antimikroba adalah golongan *pipericeae*. Daun cabe jawa memiliki aktivitas antimikroba karena mengandung minyak atsiri (Evizal, 2013), saponin, alkaloid dan flavonoid (Sari, 2013) sehingga mendorong untuk dilakukan penelitian tentang bagian tanaman yang dimanfaatkan berupa daun cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak daun cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) menggunakan etanol 70% dengan seri konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dengan media EMBA dan pengulangan sebanyak 3x dengan dibuat kontrol media dan kontrol bakteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan metode ekperimental dalam laboratorium. Metode yang digunakan untuk mengekstraksi kandungan kimia dalam daun cabe jawa adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% kemudian dilakukan skrining fitokimia, selanjutnya pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi sumuran, tahapan akhir dengan pengumpulan data, menganalisis data dan membuat kesimpulan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstraksi seperti : botol kaca gelap, lap dan tisu, water bath, rotary evaporasi, sudip, batang pengaduk, cawan porselin, penjepit kayu, gelas ukur, kertas saring, corong *bucner*, *vacuum stage pump*. Adapun alat yang digunakan dalam uji aktivitas anti bakteri ini antara lain : sendok tanduk, kertas perkamen, neraca analitik, erlenmeyer, batang pengaduk, kaki tiga, api bunsen spirtus, asbes, kapas, kertas coklat, tali atau benang, cawan petri, beaker glass, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, kawat ose,

oven, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *Laminar air flow*, mikro pipet, autoklaf, blue tip, lemari pendingin, vortex, korek api, pembuat lubang sumuran, label, tisu dan lap.

Bahan yang digunakan pada pembuatan ekstrak daun cabe jawa seperti : simplisia daun cabe jawa, etanol 70%. Bahan yang digunakan pada uji aktivitas anti bakteri seperti : ekstrak daun cabe jawa, Bakteri *Escherichia coli*, media EMB (*Eosin Methylene Blue*), NaCl 0.9%, alkohol, aquadest steril

Tahap Penelitian

Determinasi tanaman, Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl). Determinasi dan pembuatan simplisia dilaksanakan di Materia Medika Batu.

Pembuatan ekstrak, Serbuk simplisia sebanyak 100 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml dilakukan selama 4 x 24 jam dengan pengadukan secara berkala. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya secara vakum menggunakan *rotary evaporator*

dengan suhu 50°C sampai berbentuk ekstrak kental. Apabila masih terdapat sisa pelarut maka ekstrak dikering anginkan dengan menggunakan *waterbath*.

$$\text{Kadar rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot hasil ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Pembuatan Seri Konsentrasi,

Ekstrak kental daun cabe jawa dibuat seri konsentrasi dengan menggunakan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). Setiap seri konsentrasi dibuat dengan menambahkan pelarut DMSO ke dalam beberapa gram ekstrak kental daun cabai jawa, sampai volumenya 2 mL. Jumlah ekstrak yang digunakan dalam penelitian ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah ekstrak yang digunakan dalam pembuatan seri konsentrasi

Konsentrasi ekstrak b/v	Berat ekstrak etanol daun cabe jawa	DMSO
25%	0,5 g	ad 2 mL
50%	1 g	ad 2 mL
75%	1,5 g	ad 2 mL
100%	2 g	ad 2 mL

Pembuatan Media, Media agar dibuat dengan melarutkan EMBA 12 gram ke dalam 300 mL aquadest. Dipanaskan hingga mendidih dan diaduk agar tidak menggumpal. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C dengan tekanan 1 atm

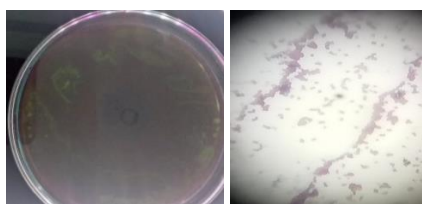
selama 15 menit. Media yang sudah disterilisasi dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL untuk dibuat agar miring dan digunakan untuk peremajaan bakteri.

Peremajaan Bakteri, Bakteri *E.coli* murni dibiakkan dalam agar miring yang telah disiapkan kemudian diinkubasi pada suhu optimum 37°C selama 18-24 jam. Pembuatan suspensi bakteri dengan mengambil kultur yang diinokulasikan pada media miring dimasukkan pada NaCl lalu diaduk hingga homogen dan kekeruhan dari suspensi diukur dengan spektrofotometri UV sesuai dengan panjang gelombang 580 nm dan diperoleh nilai transmittan 25% yang setara dengan jumlah sel 1,0 x 10⁸ cfu/mL.

Uji Aktivitas Antibakteri, Suspensi bakteri sebanyak 1 mL dituang pada cawan petri dengan media EMBA 15 mL, membuat sumuran dengan diameter ± 8 mm lalu diisi dengan ekstrak etanol daun cabe jawa dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, Diinkubasi selama 1x 24 jam pada incubator lalu diukur diameter zona bening yang terbentuk.

HASIL PENELITIAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun yang diteliti merupakan *Piper retrofractum* Vahl. Dari proses ekstraksi metode maserasi dihasilkan ekstrak etanol kental berwarna hijau kecokelatan sebanyak 33,1084 gram dengan rendemen 33,108%. Hasil uji identifikasi menunjukkan bahwa bakteri uji merupakan benar bahwa bakteri *Escherichia coli* dengan kriteria berwarna hijau metalik ketika tumbuh pada media EMB Agar, dan selanjutnya dilakukan uji pewarnaan gram yang dilihat dengan mikroskop terlihat bakteri berwarna merah karena termasuk bakteri gram negatif dan berbentuk batang pendek (*coccobasil*).



Gambar 1. *E. coli* pada EMBA dan hasil pewarnaan

	Senyawa	Hasil
Alkaloid	Pereaksi Dragendroff	↓ merah bata
	Pereaksi Mayer	↓ Putih
	Pereaksi Wagner	Kuning kecokelatan
Flavonoid	Etanol + serbuk Mg + HCl	Larutan kuning jingga
Saponin	Air hangat	Busa stabil

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cabe jawa ditunjukkan dengan adanya diameter zona bening terhadap bakteri uji. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun cabe jawa mempunyai aktivitas antibakteri lemah terhadap *E. coli*.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) Terhadap *Escherichia coli*

Perlakuan	Rata-rata (mm)	Aktivitas Antibakteri
25%	0	-
50%	0	-
75%	2,49	Lemah
100%	3,17	Lemah

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, dipilih daun cabe jawa sebagai zat aktif karena berdasarkan penelitian terhadap daun cabe jawa memiliki aktivitas antimikroba karena mengandung minyak atsiri (Evizal, 2013), saponin, alkaloid dan flavonoid (Sari, 2013) oleh karena itu dilakukan penelitian terhadap daun cabe jawa terhadap *E. coli*. Dari hasil penelitian yang dilakukan terbentuknya diameter zona hambat yang disebabkan adanya kandungan zat aktif dalam daun cabe jawa yang

bersifat antibakteri. Kandungan senyawa Flavonoid yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein sehingga mengganggu proses metabolisme (Poelongan dkk, 2010). Mekanisme kerja dari Flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara Flavonoid dengan DNA bakteri (Manoi dkk, 2009). Selain mengandung Favonoid, daun cabe jawa juga mengandung Saponin yang termasuk golongan Terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya dinding sel, dimana dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tetapi tidak sempurna (Utami, 2015). Senyawa Alkaloid juga dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Aulya, 2012).

Perbedaan diameter zona bening yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dipengaruhi adanya faktor

pengenceran yang berbeda-beda pada setiap konsentrasi yang dibuat, perbedaan volume ekstrak menyebabkan kandungan zat aktif yang terkandung di dalam setiap konsentrasi juga berbeda. Semakin besar konsentrasi maka akan semakin banyak kandungan zat aktif yang terkandung, sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* akan semakin besar yang menyebabkan timbulnya diameter zona bening.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Identifikasi Fitokimia terdapat kandungan metabolit sekunder senyawa Alkaloid, Flavonoid dan Saponin. Hasil perbedaan yang bermakna antara diameter zona bening pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% yang dilihat dari uji statistik *One-Way* Anova dan Kruskall-Wallis didapatkan nilai signifikan ($p < 0,05$). Konsentrasi 25% dan 50% tidak terlihat zona bening sehingga tidak memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan pada konsentrasi 75% dan 100% terdapat rata-rata diameter zona bening 2,49 mm dan 3,17 mm yang dikategorikan

mempunyai aktivitas antibakteri lemah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dipersembahkan kepada kedua orang tua saya, Dosen Pembimbing saya Nela Agustin Kusuma Wardani, S.TP., M.P, rekan-rekan mahasiswa dan semua pihak yang telah membantu saya selama proses penelitian, mempersembahkan karya tulis ini untuk institusi Akademi Putra Indonesia Malang.

DAFTAR RUJUKAN

- A, Zuchri. Habitus dan pencirian tanaman cabe jamu (*Piper retrofractum* Vahl) spesifik Madura. *Agrovigor*. 2008;1(1):3944.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*, Penerbit ITB. Bandung
- An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in The Purwodadi Botanic Garden, tahun 2013
- Anonim, 2001. *McFarland Standards*, PMLMicrobiologicalsInc., Wils onville.
- Aulya, S. Adsorpsi, Emulsifikasi, Dan Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*). Skripsi. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institute Pertanian Bogor. 2012.
- Bhaskara, B.M., Budiasa, K., dan Tono, P.G. K. 2012. "Uji Kepekaan *Escherichia coli* sebagai Penyebab Kolibasilosis pada Babi Muda terhadap Antibiotika Oksitetrasiklin, Streptomisin, Kanamisin, dan Gentamisin". *Denpasar: Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 2012 1(2): 186-201.
- Cronquist A, 1981, *An Integrated System Of Classification Of Flowering Plant*, The New York Botanical Garden, Columbia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Dinas Kesehatan. 2017. *Profil Kesehatan Kota Malang 2016*. Dinkes. Malang.
- Farmakope Herbal Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*. Kemenkes RI. Jakarta : 21-25
- Fras Korompis, Heedy Tjitrosantoso, Lily Ranti Goenawi. 2013. *Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT MANADO Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 2 No. 01 ISSN 2302 – 2493*.
- Handayani, Rezky dan Heni Rusmita. 2017J. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Akar Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm. F.) Bedd.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. *Jurnal Surya Medika Volume 2 (2)*

- Hendrayati, Teksis irena. Perubahan morfologi *Escherichia coli* akibat paparan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) secara in vitro [skripsi] Jember: Universitas Jember; 2012.
- Hidayat, N. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Jmaur Endofit Pada Umbi Bawang Putih (Allium Sativum) Sebagai Penghasil Senyawa Anti Bakteri Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans dan Esccheria Coli*. Skripsi. UIN Malang.
- Hilfa PA. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* serta *Salmonella sp* yang diisolasi dari soto ayam [skripsi] Tangerang Selatan: Universitas Islam Negeri Jakarta; 2015.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin pada buah cabe jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Skripsi: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Jawetz E. Medical Microbiology 24th ed. USA: Mc Graw hill, 2009. 223-36P 29.
- Juansa. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiberofficinaleroscoe Var. Suntival*) Dan Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper Retrofractum vahl*) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Perpustakaan Universitas Islam Bandung.
- Juwita, Usna, Jose, Christine. Jumlah bakteri coliform dan deteksi *Escherichia coli* pada daging ayam di pekanbaru. JOM FMIPA. Juni 2014; 1 (2): 48-55.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2018. Data Dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia. 2017. Kemenkes RI. Jakarta.
- Kementrian Kesehatan RI. Formularium obat herbal asli Indonesia. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI; 2011.
- Kusuma, Sri Agung. 2010. *Escherichia coli*. Pustaka Universitas Padjajaran.
- Mahon C, Lehman D, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiologi 4th ed. USA: Saunders Elsevier, 2015. 420-853P 30.
- Manoi, F dan Balitro. Binahong (*Anrederacordifolia*) Sebagai Obat. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2009.
- Melliawati, Ruth. *Escherichia coli* dalam kehidupan manusia. BioTrends 4, no. 1 (2015): 10-14.
- Pakekong, E.D., Homenta, H., Mintjelungan, C.N. 2016. "Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa L*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro". Manado: Jurnal Ilmiah Farmasi Universitas Sam Ratulangi. 2016 1(5): 23022493.
- Pelczar, M.J, E.S, Chan. Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi ke-2.

- Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia. 1988.
- Poelongan, dkk. 2010. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Kulit Manggis (*Garciniamongostana* Linn)
- Prayoga, Eko. 2013. Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Rachmawati, Nita, Nursyamsi. 2015. Efek antibakteri ekstrak etanol buah pare (*Momordica charanta*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media pembenihan difusi. Jurnal Ilmiah Kedokteran. Universitas Tadulako.
- Rosida, Evi, *et al.* 2013. Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun cabai jawa (*Piper retrofractum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Universitas Sebelas Maret. ISSN: 1693-2242 Vol. 11, No. 2, pp. 36-42.
- Saparianti, Ella, Dian Widya Ningtyas *et al.* Buku Petunjuk Umum: Mikrobiologi Umum. Malang: Universitas Brawijaya.
- Sari M. Uji bakteriologis dan resistensi antibiotik terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella* sp pada makanan gado-gado di kantin UIN Syarif hidayatullah Jakarta [skripsi] Tangerang Selatan: Universitas Islam Negeri Jakarta: 2015.
- Setiabudy, R. Gan. 2007. Pengantar Antimikroba. Dalam : Farmakologi dan terapi edisi 5. Jakarta: Gaya Baru.
- Sofiana E. 2012. Hubungan higienis dan sanitasi dengan kontaminasi *Escherichia coli* pada jajanan di Sekolah Dasar Kecamatan Tapos Depok tahun 2012. Skripsi. Universitas Indonesia Jakarta.
- Supomo, F.D.S., Moerfiah. 2011. Pengaruh Daun Sirih Merah (*Piper Cf. Fragile Benth.*) Terhadap Bakteri Penyebab Sakit Gigi. *Ekologia*, 11(1):30-35
- Talaro, K. P., 2008, *Foundation in Microbiology: Basic Principles*, Sixth Edition, Mc Graw Hill, New York.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja. 2007. Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya. Edisi keenam, 262, 269-271. Jakarta.: PT. Elex Media Komputindo.
- Utami, Ayu Bintang L P, *et al.* 2015. Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Berbagai Konsentrasi Perasan Daun Pare Secara *In Vitro*. Skripsi: Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Denpasar.
- Utami P, 2008, Buku Pintar Tanaman Obat, PT Agromedia Pustaka, Ciganjur, Jakarta Selatan.
- Wijaya, Ayu Ariyani. 2010. Evaluasi Penggunaan Antibiotika Untuk

Penyakit Diare Pada Pasien Rawat Inap Di Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten Karanganyar Tahun 2009. Skripsi: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

WL Dyah, Ragil, PS Dyah, Yunita. 2017. Hubungan Antara Pengetahuan Dan Kebiasaan Mencuci Tangan Pengasuh Dengan Kejadian Diare Pada Balita. *Jurnal of Health Education*. Universitas Negeri Semarang.