

UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK DAUN KIPAIT (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) TERHADAP BAKTERI *PROPIONIBACTERIUM ACNES*

Neneng Sri Purwaningsih^{*}, Sheila Meitania Utami, Widia Apriandini
STIKes Kharisma Persada, Tangerang Selatan, 15417, Indonesia

ARTICLE INFORMATION	A B S T R A C T
<p>*Corresponding Author</p> <p>Neneng Sri Purwaningsih E-mail : neneng@masda.ac.id</p>	<p>There are 40-80% of acne cases in Southeast Asia while the prevalence of acne in Indonesia is quite high, which ranges from 85-100% of people. Acne is caused by the bacterium <i>Propionibacterium acnes</i> or abbreviated <i>P. acnes</i>. Indonesia is very rich in biological natural resources in the form of medicinal plants. Kipait leaves contain alkaloids, saponins, tannins, phenolics, flavonoids, triterpenoids, steroids, glycosides. One of the important phytochemical compounds and has potential as an antibacterial is flavonoids. The purpose of this study was to determine the antibacterial effectiveness of kipait leaf extract with a concentration of 20%, 40%, 60%, and 80% against <i>Propionibacterium acnes</i>. The effectiveness of antibacterial testing is done using the well method. The test results of antibacterial effectiveness against <i>Propionibacterium acnes</i> bacteria obtained consecutively clear zone of 8.71 mm; 13.36 mm; 20.86 mm; 24.4 mm each was measured at a concentration of 20%; 40%; 60%; 80%. The results showed that the concentration of 60% and 80% of kipait leaf extract was very effective in inhibiting the growth of <i>Propionibacterium acnes</i>.</p>
<p>Keywords:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Antibacterial effectivity test ▪ Inhibition zone ▪ Kipait leaves extract ▪ <i>Propionibacterium acnes</i> ▪ <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray 	
<p>Kata Kunci:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Uji efektivitas antibakteri ▪ Daya hambat ▪ Ekstrak Daun Kipait ▪ <i>Propionibacterium acnes</i> ▪ <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray 	

PENDAHULUAN

Jerawat merupakan peradangan yang disertai dengan penyumbatan saluran kelenjar minyak kulit dan rambut (saluran pilosebacea). Jika pada saluran pilosebacea tersumbat, maka minyak kulit (sebum) tidak dapat keluar dan mengumpul di dalam saluran, saluran menjadi membengkak sehingga terjadi komedo. Komedo itu sendiri adalah permulaan terbentuknya jerawat, baik komedo terbuka (*blackhead*) atau komedo tertutup (*whitehead*). Jerawat disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* atau disingkat *P. acnes*. Bakteri *Propionibacterium Acnes* adalah organisme utama yang memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat. dan termasuk dalam kelompok bakteri gram positif yang berbentuk batang dan tidak berspora (Jawetz dkk, 2012).

Dari survei di kawasan Asia Tenggara, terdapat 40-80% kasus jerawat, dimana prevalensi jerawat di Indonesia cukup tinggi, yaitu berkisar antara 85-100% orang, sedangkan menurut catatan kelompok studi dermatologi kosmetika Indonesia, menunjukkan terdapat 60% penderita jerawat pada tahun 2006 dan 80% pada tahun 2007. Menurut Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin FKUI/RSUPN dr.Cipto Mangunkusumo-Jakarta pada waktu

remaja jerawat adalah salah satu problem, prevalensi jerawat pada perempuan dewasa sekitar 12% dan pada laki-laki dewasa 3%. Prevalensi akan bertambah besar jika tidak ada upaya pengobatan dan pencegahan. Di zaman modern ini telah dikembangkan obat-obatan dari zat kimia yang banyak digunakan untuk pengobatan, tetapi terdapat banyak efek samping dan harga obat-obatan tersebut mahal (Aziz, 2010).

Negara Indonesia sangat kaya dengan sumber daya alam hayati berupa tanaman obat. Banyak diantara tanaman tersebut digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat secara turun temurun, baik untuk menjaga kesehatan, mencegah dan atau mengobati penyakit. Namun, penggunaan tanaman obat ini dalam pengobatan belum didasarkan pada bukti-bukti yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Supaya obat tradisional ini lebih berdaya guna dan dapat dimasukkan ke dalam pelayanan kesehatan formal, maka perlu dilakukan penelitian yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Amanatie, 2015).

Tanaman Kipait (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray lebih dikenal masyarakat sebagai tanaman insulin. Tanaman ini tersebar luas di Indonesia dan merupakan tanaman semak yang mudah tumbuh. Bagian dari tanaman

kembang bulan yang dapat digunakan sebagai obat adalah daun, akar dan bunga. Daun kembang bulan mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, terpenoid dan saponin sedangkan pada bunga hanya mengandung senyawa saponin, flavonoid dan diterpenes, dan pada bagian akar hanya mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid (Odeyemi, 2014).

Tanaman Kipait juga menunjukkan aktivitas sebagai anti bakteri, anti protozoa dan telah dicoba secara tradisional sebagai bahan pestisida alami untuk mengusir hama pertanian, belalang, dan kutu dengan hasil yang cukup efektif (Sulistijowati & Gunawan 2001).

Daun kipait mengandung senyawa flavonoid yang bisa digunakan sebagai antibakteri, maka sebaiknya dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari tanaman tersebut. Karena itulah peneliti tertarik untuk melakukan uji antibakteri ekstrak daun kipait terhadap bakteri penyebab jerawat yaitu bakteri *Propionibacterium acnes*.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium STIKes Kharisma Persada dan di Laboratorium BALITRO LIPI. Bahan yang digunakan adalah ekstrak

daun kipait dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%, kontrol positif (clindamycin), kontrol negatif (aquadestilata steril), etanol 70%, Media Nutrient Agar (NA), Media NB (*Nutrient Broth*), Air fisiologis (NaCl 0,9%) dan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu wadah simplisia, gunting, alat penghalus (*blender*), wadah maserasi (*toples*) wadah penyimpanan maserat (*botol*), aluminium foil, *waterbath*, timbangan analitik, cawan penguap, wadah penyimpanan ekstrak, gelas ukur, autoklaf, *beaker glass*, *Laminar Air Flow* (LAF), oven, kulkas, *Hotplate and magnetic stirrer*, mikropipet dan tip, pipet tetes, erlenmayer, batang pengaduk, cawan petri, corong, pinset, bunsen, ose, jangka sorong, GasPak, batang L, *colony counter*, kertas saring, *plastic wrap*, kain flannel, APD (*Handscoon*, masker, jas lab).

a. Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan menggunakan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam sambil dilakukan pengadukan setiap 24 jam. Maserat yang diperoleh kemudian dilakukan penyaringan, kemudian dikentalkan dengan menggunakan *waterbath*. Selanjutnya dilakukan uji

organoleptis dan skrining fitokimia. Ekstrak kental selanjutnya dilakukan pengenceran dengan masing-masing konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80% sebagai bahan uji.

b. Proses Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) dan Nutrient Broth (NB)

Media NA ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 25 mL. Kemudian dipanaskan dengan menggunakan *hot plate*, lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (sebagai media peremajaan bakteri).

Media NB ditimbang sebanyak 1,3 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL lalu dilarutkan dengan aquadest sampai batas 100 mL. Kemudian dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (sebagai suspensi bakteri).

Media NA ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL lalu dilarutkan dengan aquadest sampai batas 250

mL. Kemudian dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (sebagai media uji).

c. Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes* dari stok murni diambil sebanyak 2 ose dan diinokulasi dengan cara digoreskan secara steril ke dalam media agar miring kemudian diinkubasi pada suhu 36-37°C selama ≥ 2 hari dan menghasilkan *fresh culture*. Setelah mendapatkan *fresh culture* maka selanjutnya melakukan peremajaan dengan menginokulasi 2 ose dari media *fresh culture* ke media NB (suspensi bakteri). Sebelum dilakukan pengujian efektivitas antibakteri ekstrak daun kipait maka dilakukan pengenceran bertingkat untuk mengendalikan populasi bakteri. Hasil peremajaan bakteri sebanyak 1 mL dipindahkan menggunakan pipet steril ke dalam tabung reaksi berisikan 9 mL larutan fisiologis NaCl 0,9% (untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1}). Suspensi dari pengenceran 10^{-1} dipindahkan sebanyak 1 mL dengan pipet steril ke dalam tabung

reaksi berisikan 9 mL larutan fisiologis NaCl 0,9% (untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2}). Dibuat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} dengan cara yang sama. Diinkubasi dalam oven selama 24 jam dengan suhu 37°C .

d. Pengujian Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kipait

Disiapkan medium NA dan dituang secara aseptik ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 mL, tunggu hingga media memadat. Kemudian teteskan 1 mL biakan suspensi bakteri diatas permukaan media lalu ratakan menggunakan batang L dengan baik supaya bakteri

terdistribusi secara merata. Buat lubang sumuran, kemudian tetesi lubang dengan masing-masing larutan sampel uji sediaan ekstrak daun kipait 20%, 40%, 60%, 80%, kontrol positif dan kontrol negatif secara aseptik dengan jarak 2-3 cm dari pinggir cawan petri, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pengujian dilakukan 2 kali pengulangan (duplo). Pengamatan dan pengukuran zona hambat dilakukan setelah 24 jam inkubasi. Zona bening mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan bakteri sehingga diameter zona hambat dapat diukur menggunakan jangka sorong (Dyah, 2013).

Tabel 1. Parameter Efektivitas Antibakteri

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤ 5 mm	Lemah
5 - 10 mm	Sedang
10 - 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat Kuat

Sumber : Zahro dan Agustini, 2013

HASIL

1. Determinasi Tanaman Kipait

Hasil dari identifikasi yaitu benar bahwa tanaman tersebut dari jenis *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray,

suku Composite/Asteraceae, kembang bulan, kiriyu, kipait. Sampel di dapatkan dari daerah Tangerang Selatan.

2. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kipait

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

No.	Uji Fitokimia	Hasil	Metode Pengujian
1.	Alkaloid	+	Kualitatif
2.	Saponin	+	
3.	Tannin	+	
4.	Steroid	+	
5.	Flavonoid	+	
6.	Triterpenoid	+	

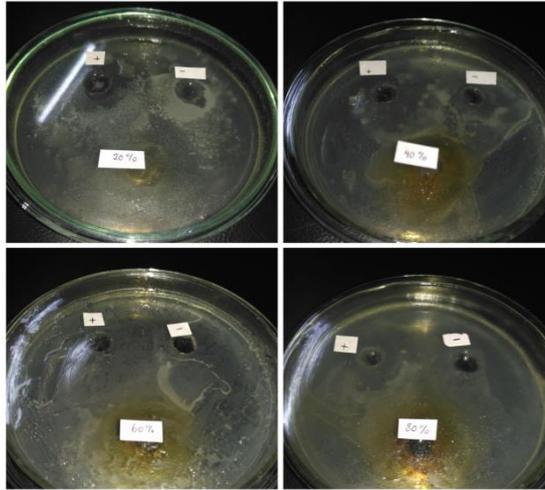
3. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kipait

Tabel 3. Hasil Rata-Rata Zona Hambat Uji Ke-1 dan Uji Ke-2

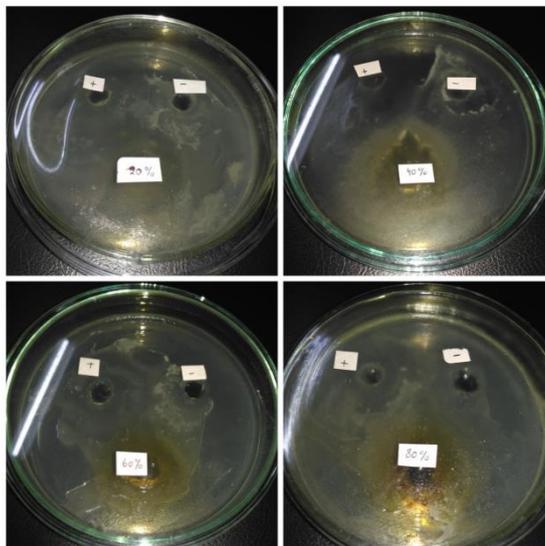
No.	Uji	Kontrol Positif (Clindamycin) (10%)	Kontrol Negatif (Aquadest Steril)	Ekstrak	Ekstrak	Ekstrak	Ekstrak
				20%	40%	60%	80%
1.	Uji Ke-1	29,96 mm	-	4,95 mm	11,5 mm	22,78 mm	28,22 mm
2.	Uji Ke-2	21,35 mm	-	12,47 mm	15,23 mm	18,94 mm	20,59 mm
Rata-Rata ± SD		25,65 mm ± 6,08	-	8,71 mm ± 5,31	13,36 mm ± 2,63	20,86 mm ± 2,71	24,4 mm ± 5,39

Berdasarkan Tabel 3 hasil uji ke-1 dan ke-2 didapatkan bahwa diameter rata-rata pada kontrol positif sebesar 25,65 mm, ekstrak konsentrasi 20% sebesar 8,71 mm, ekstrak konsentrasi 40% sebesar

13,36 mm, ekstrak konsentrasi 60% sebesar 20,86 mm, ekstrak konsentrasi 80% sebesar 24,4 mm, sedangkan pada kontrol negatif (aquadest steril) tidak terbentuk zona bening.



Gambar 1. Hasil Zona Hambat Pada Uji Ke-1



Gambar 2. Hasil Zona Hambat Pada Uji Ke-2

DISKUSI

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan ekstrak yang berasal dari daun tanaman kipait (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray). Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kipait yang masih segar yang diperoleh dari Komplek Purna Bhakti Sitanala Tangerang kemudian dilakukan identifikasi tanaman di pusat konservasi tumbuhan Kebun Raya-LIPI Bogor. Identifikasi ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan untuk uji efektivitas antibakteri. Hasil dari identifikasi yaitu benar bahwa tanaman tersebut dari jenis *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, suku *Compositae/Asteraceae*, kembang bulan, kiriyu, kipait.

Proses ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dikarenakan metode tersebut proses pengerjaannya mudah dan menggunakan peralatan yang cukup sederhana. Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dikarenakan lebih mudah ditemukan, ramah lingkungan, harga murah, dan tingkat kepolarannya lebih tinggi sehingga mudah untuk menarik senyawa yang bersifat polar. Etanol lebih efisien dalam degradasi dinding sel sehingga polifenol

akan tersari lebih banyak. Selain itu, flavonoid ditemukan lebih tinggi pada penggunaan etanol 70% dalam proses ekstraksi (Azis, dkk, 2014). Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan selama 3 hari dengan pelarut total sebanyak 12 L dan menghasilkan maserat sebanyak 9 L. Kemudian di evaporasi menggunakan *waterbath* selama 7 hari sehingga mendapatkan ekstrak kental sebanyak 87,37 gram. Kualitas ekstrak dapat dilihat dari sifat fisik dan kandungan kimianya. Parameter yang diperiksa dalam penelitian ini yaitu organoleptis dan rendemen ekstrak. Pada pemeriksaan organoleptis didapatkan bahwa bentuk ekstrak yang terbentuk adalah kental dengan warna coklat kehitaman, berbau khas, dan rasanya pahit. Setelah terbentuk ekstrak maka dilakukan uji rendemen ekstrak, Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Jika nilai rendemen yang dihasilkan adalah tinggi menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan yaitu semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang didapatkan. Hasil rendemen penelitian ini dari perhitungan rendemen ekstrak yaitu 8,737%.

Uji skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada daun kipait. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor, Jawa Barat. Hasil skrining ekstrak daun kipait (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) yaitu ekstrak tersebut mengandung senyawa kimia yaitu alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida.

Pada penelitian ini, uji efektivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari ekstrak daun kipait dan mengukur besarnya potensi yang terdapat dalam ekstrak daun kipait yang dapat memberikan efek antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

Bakteri *Propionibacterium acnes* adalah bakteri yang tumbuh relatif lambat. Bakteri ini adalah bakteri anaerob gram positif yang toleran terhadap udara. Permasalahan khusus mengenai inkubasi terhadap bakteri anaerob adalah akan terbunuh jika terpapar dengan oksigen, maka untuk inkubasi bakteri anaerob dilakukan pada alat khusus yang mencegah kondisi lingkungan yang kaya oksigen, yaitu alat yang disebut *anaerobic jar*. Pada penelitian ini *anaerobic jar* yang dipakai yaitu *GasPak system*. Adapun prinsip kerja

dari alat *anaerobic jar* yang menggunakan teknik *GasPak system* ini adalah dengan mengeluarkan oksigen dari wadah yang tertutup dengan bantuan *GasPak generator* dan katalis. Sistem tersebut menggunakan bungkus kimia (*GasPak generator*) yang terdiri dari sodium bikarbonat dan sodium borohidrat, yang nantinya akan bereaksi dengan air sehingga menghasilkan karbon dioksida dan hidrogen. Akhirnya, kandungan oksigen semakin berkurang dan kandungan karbon dioksida semakin meningkat, sehingga menciptakan kondisi lingkungan yang kondusif untuk pertumbuhan bakteri anaerob (Tortora *et al*, 2010). Sehingga dalam penelitian ini untuk menumbuhkan bakteri *Propionibacterium acnes* memerlukan alat khusus yaitu GasPak lalu diinkubasi dalam suhu 37°C dan memerlukan waktu >2hari untuk menumbuhkannya. Dalam pengujiannya menggunakan metode sumuran dan dilakukan 2 kali uji/pengulangan (duplo) dan membutuhkan 8 cawan petri.

Dalam pengerjaannya, tiap uji menggunakan 4 cawan petri. Petri pertama berisikan kontrol positif (clindamycin), kontrol negatif (aquadest steril), ekstrak 20%. Petri kedua berisikan kontrol positif (clindamycin), kontrol negatif (aquadest steril), ekstrak 40%. Petri ketiga berisikan kontrol positif (clindamycin), kontrol

negatif (aquadest steril), ekstrak 60%. Petri keempat berisikan kontrol positif (clindamycin), kontrol negatif (aquadest steril), ekstrak 80%. Hal ini dilakukan agar ketika tiap sampel menghasilkan zona bening, maka zona tersebut tidak menyatu satu sama lain sehingga zona hambatnya tidak bisa dihitung dengan akurat.

Menurut Zahro dan Agustini (2013) menyatakan bahwa dari diameter zona hambat yang terbentuk maka efektivitas antibakteri dapat digolongkan menjadi beberapa golongan berdasarkan respon daya hambatnya yakni lemah (≤ 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (≥ 20 mm).

Berdasarkan Tabel 3 hasil uji ke-1 dan ke-2 didapatkan bahwa diameter rata-rata pada kontrol positif sebesar 25,65 mm, ekstrak daun kipait 20% sebesar 8,71 mm, ekstrak daun kipait 40% sebesar 13,36 mm, ekstrak daun kipait 60% sebesar 20,86 mm, ekstrak daun kipait 80% sebesar 24,4 mm, sedangkan pada kontrol negatif (aquadest steril) tidak terbentuk zona bening.

Ekstrak daun kipait dengan konsentrasi 20% tergolong sedang dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* karena nilai tersebut masuk dalam *range* 5-10 mm. Ekstrak daun kipait dengan konsentrasi 40% tergolong kuat dalam menghambat bakteri

Propionibacterium acnes karena nilai tersebut masuk dalam *range* 10-20 mm. Ekstrak daun kipait dengan konsentrasi 60%, 80%, serta kontrol positif (clindamycin) tergolong sangat kuat dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* karena nilai tersebut masuk dalam *range* ≥ 20 mm.

Zona hambat berbanding lurus dengan konsentrasi antibakteri yang diberikan yaitu semakin besar konsentrasi antibakteri yang diberikan, maka semakin besar zona hambat yang terbentuk (Putri dan Milanda, 2013).

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kipait dengan konsentrasi 60% dan 80% sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kipait efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat dan daya hambat ekstrak daun kipait konsentrasi 60% dan 80% terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* tergolong sangat kuat, karena rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 20,86 mm dan 24,4 mm, dimana nilai tersebut termasuk ke dalam *range* (≥ 20 mm) sehingga sangat efektif dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, Azwar. Tanaman obat Indonesia. Palembang : Salemba Medika ; 2010
- Amanatie, E. S. Structure elucidation of the leaf of tithonia *Diversifolia* (Hemsley) A. Gray. Jurnal Sains dan Matematika ; 2015. Vol.23(4) : 101-106
- Astika, Glycine. Sterilisasi alat dan bahan. Bandar Lampung : Fakultas Pertanian Universitas Lampung ; 2012
- Azis, T., Febrizky, S., Mario, A.D. Pengaruh jenis pelarut terhadap persen Yield alkaloid dari daun salam India (*Murraya koenigii*). Palembang : Universitas Sriwijaya ; 2014
- Aziz, N.A. Pengaruh cara dan kebiasaan membersihkan wajah terhadap pertumbuhan jerawat di kalangan siswa siswi SMA Harapan 1 Medan. Medan : Universitas Sumatera Utara ; 2010
- Choma dan Edyta. Bioautography detection in thin-layer chromatography. Journal of chromatography ; 2010. hal.1-8
- Dyah, Ayu. Uji efektifitas sabun cair dari ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. Makassar : Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur Makassar ; 2013
- Farmakope Indonesia Edisi V. Ekstrak dan ekstrak cair. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI ; 2014. hal.47
- Harborne, J.B.1967. Comparative Biochemistry of the Flavonoids, London and New York; Academic Press.
- Hidayat, Syamsul dan Napitupulu, R. M. Kitab tumbuhan obat. Jakarta : Penerbit AGRIFLO ; 2015. hal.201
- Jawetz, M. & Adelberg. Mikrobiologi kedokteran edisi 25. Jakarta : EGC ; 2012
- Jiang, L. Comparison of disc diffusion, agar dilution, and broth microdilution for antimicrobial susceptibility testing of five chitosans. China : A Thesis Agricultural and Forestry University China ; 2011
- Kulsum, Umi. Uji efek antihiperlikemia ekstrak etanol 95% daun kembang bulan (*tithonia diversifolia* (hemsl.) a. gray) terhadap tikus sprague-dawley jantan dengan metode induksi aloksan secara in vivo. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah ; 2016
- Kumar, R., Shrivastava, S.K., Chakraborti, A. Comparison of broth dilution and disc diffusion method for the antifungal susceptibility testing of *Aspergillus flavus*. American journal of biomedical sciences ; 2010. vol.2, No.3 : 206-207
- Luc, M. A comparison of disc diffusion and microbroth methods for the detection of antibiotic resistant subpopulations in gram negative bacilli. Thesis Master Science University of Washington ; 2015
- Maradona, Doni. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* L), daun lengkung (*Dimocarpus longan Lour*), dan daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah ; 2013
- Mira, W., Chairul, S., Rudi, K. Uji toksisitas (*Brine shrimp lethality test*) dan uji aktivitas antibakteri daun kipait (*Tithonia diversifolia*

- (*hemsl.*) *a. gray*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Samarinda : Universitas Mulawarman ; 2015
- Mukhriani. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* ; 2014. hal.7(2) : 361-367
- Nugroho, R.A. Terapi topikal clindamycin dibandingkan dengan niacinamide+zinc pada *acne vulgaris*. Semarang : Universitas Diponegoro ; 2013
- Odeyemi, A. T. 2014. Antibacterial Activities of Crude Extracts of *Tithonia diversifolia* Against Common Environmental Pathogenic Bacteria. *Inter J Scient Tech.* 20(4):1421-1426.
- Sarah & Ratna. Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari simplisia daun insulin (*smallanthus sonchifolius, poepp*). Jakarta : Fakultas Farmasi Universitas Pancasila ; 2014

