Sains Medisina

Vol 1, No 4, Hal 208-220
April 2023
ISSN 2964-1853 (*online*)
Homepage: https://wpcpublisher.com/jurnal/index.php/sainsmedisina

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KAYU LABAN *(Vitex Pubescens Vahl)* TERHADAP BAKTERI *Shigella flexneri*

Daerna Wati[1*], Dede Mahdiyah[1], Siti Malahayati[1]
[1]Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Sari Mulia, Indonesia

*Korespondensi: wdaerna@gmail.com

Diterima: 16 November 2022 Disetujui: 05 Maret 2023 Dipublikasikan: 15 April 2023

ABSTRAK. Menurut WHO diare penyebab kematian ke-2 balita. Di Indonesia diare dikarenakan, salah satunya bakteri *Shigella flexneri.* Secara empiris masyarakat di Tabalong, Kalimantan Selatan menggunakan kulit laban sebagai obat diare. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu laban serta menentukan nilai konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat dan membunuh bakteri *Shigella flexneri.* Peneltian ini menggunakan *True Eksperimental Design* dengan *Post Test Only Wiht Control Group Design*, 4 kelompok perlakuan konsentrasi 50%, 75% dan 100%, DMSO 10%, menggunakan metode difusi sumuran, dilusi dan skrining fitokimia. Pada uji skrining fitokimia terdapat flavonoid dan saponin. Pada aktivitas antibakteri ekstrak laban terhadap *Shigella flexneri* menunjukan zona hambat 50% (12,51 mm) kategori kuat, 75% (19,50 mm) kategori kuat dan 100% (23.08 mm) kategori sangat kuat, pengujian Kruskal-Wallis Test didapatkan nilai signifikansi 0,015. Uji dilusi memiliki nilai KHM di 50%, uji statistik Kruskal-Wallis Test didapatkan nilai signifikansi 0,012 dan tidak memiliki nilai KBM. Dapat disimpulkan ekstrak kulit kayu laban memiliki diameter zona bening 23,08 mm konsentrasi 100%, dan memiliki KHM pada konsentrasi 50% namun tidak memiliki KBM terhadap *Shigella flexneri.* Berdasarkan uji statistik Kruskal-Wallis Test pada hasil difusi sumuran dan KHM didapatkan nilai signifikansi 0,015 dan 0,012 yang berarti ada perbedaan bermakna antar semua perlakuan.

Kata kunci: Antibakteri, Laban (*Vitex pubescens vahl), Shigella flexneri*

ABSTRACT. *According to WHO diarrhea is the 2nd cause of death of toddlers. In Indonesia, diarrhea is caused by, one of which is the bacterium Shigella flexneri. Empirically, people in Tabalong, South Kalimantan use laban skin as a medicine for diarrhea. This study aims to determine the antibacterial activity of laban bark extract and determine the concentration value of extracts that are able to inhibit and kill Shigella flexneri bacteria. This research uses True Experimental Design with Post Test Only Wiht Control Group Design, 4 treatment groups of 50%, 75% and 100% concentrations, 10% DMSO, using well diffusion, dilution and phytochemical screening methods. In the phytochemical screening test, there are flavonoids and saponins. In the antibacterial activity of laban extract against Shigella flexneri showed an inhibitory zone of 50% (12.51 mm) in the strong category, 75% (19.50 mm) in the strong category and 100% (23.08 mm) in the very strong category, the Kruskal-Wallis Test test obtained a significance value of 0.015. The dilution test has a MIC value of 50%, the Kruskal-Wallis Test statistical test has a significance value of 0.012 and does not have a MBC value. It can be concluded that laban bark extract has a clear zone diameter of 23.08 mm concentration of 100%, and has MIC at a concentration of 50% but does not have MBC against Shigella flexneri. Based on the Kruskal-Wallis Test statistical test on the results of well diffusion and MIC, significance values of 0.015 and 0.012 were obtained, which means that there is a significant difference between all treatments.*

Keywords**:** *Antibacterial, Laban (Vitex pubescens vahl), Shigella flexneri*

PENDAHULUAN

Menurut *World Healt Organization* (WHO) diare adalah penyebab kematian nomor dua pada anak umur dibawah lima tahun dengan jumlah 525.000 anak setiap tahunnya. Secara global, hamper 1,7 milyar kasus anak-anak terkena diare di dunia. Penyebab yang terutama pada kematian di karenakan diare adalah dehidrasi dan penyebab lainnya terinfeksi bakteri, kekurangan gizi atau memiliki gangguan pada sistem kekebalan tubuh serta orang yang mengidap HIV juga beresiko terkena diare yang mengancam jiwa (WHO, 2017).

Diare merupakan penyakit endemis yang dapat menyebabkan Kejadian Luar Biasa (KLB) yang disertai kematian. Menurut Rikesdas 2018, persentase prevalensi di Indonesia berdasarkan diagnosa tenaga kesehatan sebesar 6,8% dan berdasarkan diagnosa tenaga kesehatan atau gejala yang pernah dialami sebesar 8%. Prevalensi persentase berdasarkan kelompok umur tertinggi yaitu pada kelompok umur 1-4 tahun sebesar 11,5% dan pada bayi sebesar 9%. Prevalensi diare pada provinsi Kalimantan Selatan sebanyak 8,6% (Kemenkes, 2020).

Penyakit diare yang terjadi di Indonesia bukan hal yang baru lagi. Umumnya diare disebabkan oleh beberapa bakteri dan salah satunya adalah disebabkan oleh bakteri *Shigella. Shigella* adalah bakteri gram negatif, non motil, berbentuk batang dan masuk dalam *family Enterobacteriaceae*. *Shigella* memiliki empat *species*, yaitu : *Shigella sonnei, Shigella boydii, Shigella flexneri* dan *Shigella dysentriae*. Sementara itu, yang menjadi tingkat penularan dan kematian tertinggi disebabkan oleh *Shigella flexneri.* Hasil bakteri yang diisolasi dari 587 pasien, *Shigella flexneri* memiliki presentas 39% (Iswari, 2021).

Dalam kasus diare pemilihan antibiotik harus lebih selektif untuk menentukan terapi antibiotik yang tepat. Sejauh ini dari beberapa penelitian sekitar 40%-60% antibiotik digunakan tidak tepat indikasi. Tingginya tingkat penggunaan antibiotik menyebabkan berbagai permasalahan, yang utamanya adalah resistensi antibiotik (Kemenkes, 2011). Dari hasil penelitian yang didapat resistensi antibiotik terhadap bakteri *Shigella flexneri* tingkat resistensi tertinggi sekitar 80% - 90% terhadap ampisillin, kloramfenikol, tetrasiklin dan trimethoprim-sulfametoksazol (Widyaningsih et al., 2016).

Pohon laban *(Vitex pubescens vahl)* merupakan pohon jenis dari *Famili Lamiaceae* yang berasal dari Asia Timur dan Asia Selatan. Di Indonesia tersebar di beberapa pulau seperti Kalimantan, Jawa, Sumatra dan Sulawesi. Pada umumnya kayu laban dimanfaatkan oleh masyarakat untuk kayu bakar keperluan rumah tangga dan ada juga yang diolah menjadi arang (Alimah, 2020).

Hasil penelitian (Gholib, 2015) menyebutkan bahwa umumnya daun laban berkhasiat sebagai obat menurunkan demam, kudis dan obat luka. Kulit kayu laban berguna untuk mengeringkan luka dan rebusan kulit kayu untuk mengobati sakit perut. Akarnya bisa sebagai obat sakit badan, ramuan selepas bersalin, antioksidan untuk mencairka darah dan melegakan batuk. Laban juga bisa juga berguna sebagai antibakteri dan antifungi. Hasil uji skrining fitokimia dari hasil penelitian terdahulu menyatakan ekstrak etanol kulit kayu laban terdapat senyawa metabolit sekunder tanin, saponin dan flavonoid. Pada hasil uji antibakteri ekstrak laban terhadap *Escherichia coli* menyatakan bahwa pada konsentrasi ekstrak 25%, 50% dan 75% terdapat zona hambat dan masuk dalam kategori sangat kuat (Rahma & Nugraha, 2020). Konsentrasi 100% ekstrak buah laban setengah matang menghasilkan zona hambat berdiameter 2,21 cm terhadap *S.thypi*, sedangkan buah Laban yang masak ekstrak menghasilkan zona hambat berdiameter 2,46 cm terhadap *S. Aureus* dan termasuk kategori sangat kuat (Sirait et al., 2014).

Menurut penelitian (An'aam et al., 2021) karena resistensi obat sangat meningkat terhadap penyakit menular, dilakukan pengujian secara ilmiah ekstrak *Oak Jaft (Quercus Persica)* dan *Echium Amoenum* terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Hasil menunjukkan pada ekstrak *oak jaft* memiliki aktivitas antibakteri dan *Echium Amoenum* tidak ada memiliki aktivitas antibakteri pada *Shigella flexneri*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Fan et al., 2021) menyatakan bahwa *thymoquinone* juga mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri*.

Masyarakat suku Dayak yang ada di daerah Kalimantan Selatan, secara empiris masyarakat memanfaatkan kulit kayu dari pohon laban ini sebagai pengobatan tradisional mengobati diare dan disentri dengan cara meminum air rebusan dari kulit laban. Sampai saat ini, masih tidak ada penelitian ekstrak kulit kayu laban sebagai antibakteri terhadap *Shigella flexneri*, salah satu bakteri penyebab diare. Untuk membuktikan secara ilmiah maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu laban terhadap *Shigella flexneri*.

METODE

Penelitian ini merupakan gabungan penelitian kualitatif dan kuantitatif menggunakan jenis penelitian *True Eksperimental Design* dengan rancangan *Post Test Only Whit Control Group Design* dengan 4 kelompok perlakuan dan ada 3 kali pengulangan. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak kulit kayu laban dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100%, kontrol negatif DMSO 10% sebagai pembanding. Penelitian ini dilakukan di laboraturium Mikrobiologi Universitas Sari Mulia Banjarmasin.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain waterbath, autoklaf, incubator, *biological safety cabinet* (BSC), *hot plate*, jangka sorong, erlenmayer, gelas ukur, gelas beker, corong, cawan petri, cawan penguap, tabung reaksi, mikropipet, neraca analitik, plasitik wrap, batang pengaduk, bunsen, kapas, jarum ose, magnet stirrer, aluminium foil. Bahan yang digunakan bakteri uji *Shigella flexneri* yang didapatkan dari Indilab Samarinda, kulit laban *(Vitex pubescens vahl*) daerah Tabalong, Kalimantan Selatan sebagai bahan uji yang dijadikan ekstrak, aquadest, media Nutrient Agar (NA), media Mueller Hinton Agar (MHA), Media Borth (NB), alkohol 70%, etanol 96%, NaCl 0,9%, DMSO 10%, spritus.

Prosedur Kerja

Pengolahan Simplisia Kulit Laban

Pengumpulan bahan baku kulit kayu laban *(Vitex pubescens vahl*) yang diambil di wilayah Tabalong, Kalimantan Selatan. Kulit laban segar pertama dilakukan sortasi basah utnuk membersihakan dari kotoran yang menempel, selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir dan tiriskan kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari. Kulit laban yang sudah kering kemudian dihaluskan supaya mempermudah proses ekstraksi (Wijanarko, 2020).

Ekstrasi Kulit Laban

Kulit kayu laban diekstraksi dengan metode maserasi, pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Pertama simplisia kulit kayu laban yang telah kering dimaserasi dengan pelarut etanol 96% diaduk dan didiamkan selama 3 x 24 jam, selanjutnya disaring dengan kertas saring (Rahma & Nugraha, 2020). Maserat yang telah terkumpul dipekatkan menggunakan *waterbath* dan dijaganya suhunya agar tidak melebihi 60˚C supaya tidak merusak senyawa metabolit sekunder ada dalam tanaman. Hasil pemekatan ditimbang sebagai berat ekstrak dan hitung rendemen. Rendemen adalah salah satu parameter mutu ekstrak dengan membandingkan ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Kamaliah, 2020). Nilai rendemen menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya, semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku (Senduk et al., 2020). Rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \text{x } 100\%$$

Uji Skrining Fitokimia

Alkaloid

Ambil ekstrak laban 0,5 garm larutkan dalam HCl encer dan saring. Tambahkan 2 ml ammonia dan tambahkan kloroform 5 ml kocok perlahan. Ambil lapisan yang terbentuk di uji dengan pereaksi Dragendorff dan Mayer, menunjukan positif alkaloid jika terjadi perubahan warna putih pada ekstrak dengan Mayer dan endapan coklat kemerahan dengan reagen Dragendorff (Sukma et al., 2018).

Flavonoid

Ambil ekstrak laban 0,5 gram larutkan dengan etanol 2 ml 70% kemudian tambahkan 3 tetes larutan NaOH. Positif flavonoid jika terjadi perubahan warna kuning, merah dan jingga (Sukma et al., 2018).

Saponin

Ambil ekstrak laban 0,5 gram tambahkan 5 ml air panas dan selanjutnya kocok kuat selama 15 menit. Positif saponin jika terbentuk busa setinggi 1 cm (Sukma et al., 2018).

Terpenoid

Ambil ekstrak laban masing-masing pada tabung reaksi 2 ml kemudian tambahkan pada tabung 1 dengan 3 tetes HCl pekat dan pada tabung 2 dengan 1 tetes H2SO4 pekat. Jika terbentuk warna merah atau ungu maka positif terpenoid (Sukma et al., 2018).

Tanin

Ambil ekstrak 0,5 gram tambahkan 5 ml air panas kemudian saring dan tambahkan 3 tetes larutan FeCl3, jika menunjukan perubahan warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman berarti positif mengandung tanin (Sukma et al., 2018).

Sterilisasi Peralatan

Sebelum dilakukan pengujian, alat dan bahan yang digunakan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121ºC dengan tekanan 1 atm selama 15 menit dan jarum ose disterilkan dengan cara dibakar pada api bunsen sampai merah (Istini, 2020). Pengujian mikrobiologi dilakukan secara aseptis pada *Biological safety cabinet* (BSC) yang sudah disterilkan dengan alkohol 70% yang disinari dengan sinar UV.

Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan sebagai tempat pertumbuhan bakteri. Media yang digunakan yaitu, media Nutrient Agar (NA) dan media Nutrient Broth (NB).

Media NA (Nutrient Agar) ditimbang sebanyak 0,4 gram dan dilarutkan dalam 20 ml akuades (20 gram/liter) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Kemudian media ditaruh di atas hot plate dan diaduk dengan magic stirrer hingga media terlihat jernih dan homogen, lalu erlenmeyer berisi media disterilkan di autoklaf dengan suhu 121ºC selama 15 menit (Hidayat et al., 2016). Media NA yang telah disterilisasikan dituang ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu masing-masing sebanyak 20 ml dan ditunggu kering dan memadat pada suhu kamar.

Media MHA ditimbang 0,6 gram dan dilarutkan kedalam 15 ml akuades kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirer sampai homogen. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1,5 atm dan selama 15 menit. Setelah disterilisasi dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml yang akan digunakan sebagai medium dalam uji antibakteri (Hudaya et al., 2018).

Media NB ditimbang sebanyak 0,6 gram dan dilarutkan dalam 20 ml aquadest (30 gram/liter) dalam erlenmeyer. Kemudian media ditaruh di atas *hot plate* dan diaduk dengan *magic stirrer* hingga media terlihat jernih dan homogen, lalu erlenmeyer berisi media disterilkan di autoklaf dengan suhu 121ºC selama 15 menit (Hidayat et al., 2016). Media NB yang telah disterilisasikan dituang ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan terlebih dahulu masing-masing sebanyak 20 ml lalu ditunggu kering dan mengeras pada suhu kamar.

Peremajaan Bakteri

Kultur bakteri *Shigella flexneri* yang didapat dari Indilab Samarinda, kemudian bakteri digoreskan rapat pada media agar dan diinkubasi dengan suhu 37ºC selama 24 jam (Anggraeni dan Triajie, 2021).

Pembuatan Larutan Standar Mc Farland

Suspensi bakteri distandarkan dengan larutan Mc Farland yang terdiri dari BaCl 1% dan H2SO4 1%. Larutan BaCl2 1% sebanyak 0,05 ml di campurkan dengan 9,95 ml larutan H2SO4 kemudian di kocok hingga homogen (Suhendar & Sogandi, 2019).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Setelah bakteri dilakukan peremajaan selama 24 jam selanjutnya pembuatan suspensi bakteri. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan berguna untuk pelaksanaan proses skrining aktivitas antibakteri. Bakteri uji diambil 1 ose lalu disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril dan dihomogenkan lalu di lihat tingkat kekeruhan nya dengan larutan Mc Farland 0,5 (Henaulu dan Kaihena, 2020).

Pembuatan Larutan Ekstrak uji

Pembuatan larutan ekstak uji kulit laban dibuat dalam kosentrasi yang berbeda yaitu 50%, 75% dan 100% b/v (g/10ml). Kosentrasi tersebut dengan cara menimbang ekstrak 0,50 gram, 0,75 gram, dan 1 gram, kemudian dilarutkan dengan DMSO 10% hingga volumenya 10 ml (Wangkanusa et al., 2016).

Pembuatan Kontrol Negatif

DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif untuk pebanding dengan cara 10 ml DMSO di larutkan kedalam 90 ml aquadest dan di homogenkan kemudian larutan di teteskan pada sumuran menggunkan mikropipet (Diayu, 2019).

Skrining Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

Skrining aktivitas antibakteri dengan metode sumuran yaitu dengan memasukkan suspensi bakteri *Shigella flexneri* sebanyak 20 µl yang sudah disetarakan dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 ke dalam media MHA dan diratakan dengan batang L (Mahdiyah et al., 2019). Kemudian buat lubang sumuran dengan diameter 6 mm dengan *cock borer* pada setiap cawan petri. Lalu masukan ekstrak kulit laban yang sudah di kosentrasikan 100%, 75%, 50% dan kontrol negatif diinkubasi pada suhu 37ºC selama 18-24 jam, perlakuan dilakukan 3 kali replikasi. Daya hambat yang terbuat dengan adanya zona disekitar sumuran diamati dan didokumentasikan serta dilakukan pengukuran dengan jangka sorong (Idroes et al., 2020).

Skrining Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan metode dilusi cair. Pertama memasukkan media Nutrient Broth (NB) ke dalam semua tabung reaksi kemudian setiap tabung reaksi dimasukkan ekstrak kulit laban sesuai dengan konsentrasi larutan uji yang terdiri dari 100%, 75%, dan 50%. Larutan kontrol negatif sebagai pembanding. Kemudian setiap tabung reaksi ditambahkan suspensi bakteri *Shigella flexneri* yang sudah disetarakan dengan standar Mc. Farland 0,5 kemudian diinkubasi dengan suhu 37ºC selama 24 jam, perlakuan dilakukan 3 kali replikasi. Konsentrasi paling rendah yang menunjukkan tidak ada kekeruhan pada tabung merupakan KHM-nya (Sariadji, 2019).

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengambil 20 µL dari setiap perlakukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) lalu dimasukkan kedalam media padat dan disebarkan menggunakan teknik spread memakai batang L atau L-glass, kemudian diinkubasi pada suhu 37ºC selama 24 jam, perlakuan dilakukan 3 kali replikasi. Diamati ada atau tidak bakteri yang tumbuh pada setiap kelompok perlakuan dengan menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri pada media agar merupakan KBM-nya (Mahdiyah et al., 2019)

HASIL

Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia kulit laban *(Vitex pubescens vahl)* yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan simplisia halus sebanyak 220 gram. Hasil pembuatan simplisia dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1. Simplisia Halus Kulit Laban *(Vitex pubescens vahl)*

Ekstraksi

Ekstrak kental kulit laban yang diperoleh adalah sebanyak 22,76 gram dengan nilai rendemen sebanyak 10,3 %. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2. Hasil Ekstraksi Kental

Berikut merupakan perhitungan hasil rendemen ekstrak kulit laban.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisia (gram)}} \text{x } 100\%$$

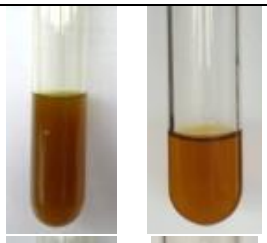
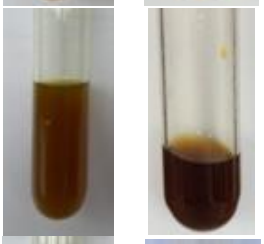
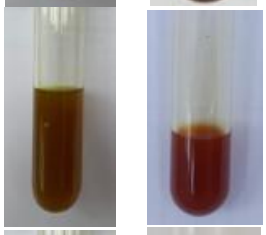
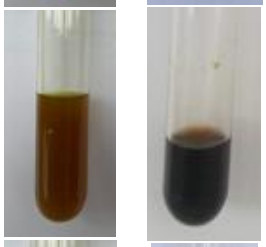
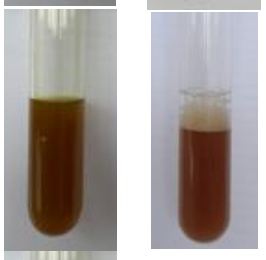
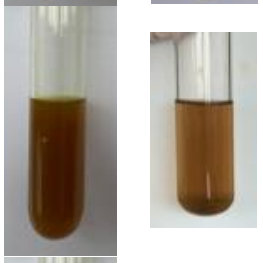
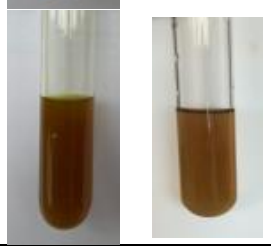
$$= \frac{21{,}76 \text{ gram}}{220 \text{ gram}} \text{ x } 100\%$$

= 10,3 %

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak kulit laban dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Skrining fitokimia

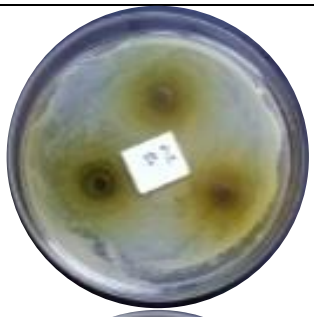
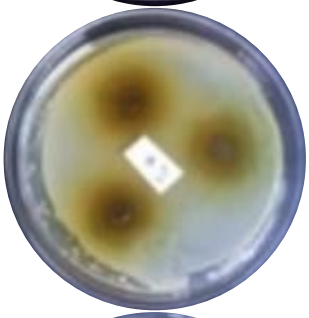
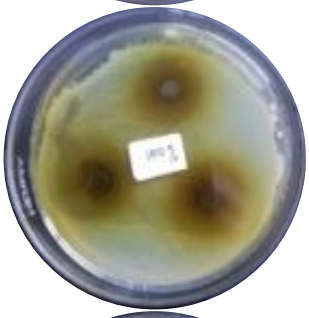
Senyawa	Gambar	Hasil	Keterangan
Alkaloid		Jingga	Negatif
		Coklat	Negatif
Flavonoid		Jingga	Positif
Tanin		Kecoklat kehitaman	Negatif
Saponin		Terbentuk buih	Positif
Terrpenoid		Kuning	Negatif
		Kuning	Negatif

Berdasarkan tabel 1 hasil skrining fitokimia ekstrak kulit kayu laban *(Vitex pubescens vah)* di dapatkan bahwa mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan saponin.

Skrining Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

Hasil uji skrining aktivitas antibakteri ekstrak kulit laban *(Vitex pubescens vahl)* terhadap bakteri *Shigella flexneri* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Skrining Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

Perlakuan	Gambar	Hasil Rata-rata (mm) ± SD	*P (Value)*	Kategori
Konsentrasi 50%		12,51 mm ± 0,776	0,015[a] 0,050[b]	Kuat
Konsentrasi 75%		19,50 mm ± 1,298	0,015[a] 0,050[b]	Kuat
Konsentrasi 100%		23,08 mm ± 2,075	0,015[a] 0,050[b]	Sangat Kuat
Kontrol Negatif		0 mm	0,015[a] 0,037[b]	Tidak ada zona hambat

*Keterangan a : Kruskal-Wallis
b : Man Whitney

Berdasarkan tabel 2 hasil uji skrining aktivitas antibakteri ekstrak kulit laban *(Vitex pubescens vahl)* terhadap bakteri *Shigella flexneri* menggunakan metode sumuran memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat disekitar sumuran.

Berdasarkan hasil pengujian statistik diketahui bahwa ada perbedaan yang bermakna pada pemberian ekstrak kulit laban terhadap bakteri *Shigella flexneri* menggunakan uji Kruskal-Wallis Test didapatkan nilai signifikansi 0,015 ($p < 0,05$) yang memiliki arti bahwa ditemukan perbedaan yang bermakna pada setiap konsentrasi

penelitian. Berdasarkan pengujian Mann Whitney Test didapatkan hasil bahwa konsentrasi 50%, 75% dan 100% memiliki nilai signifikasi 0,050 yang memiliki arti bahwa tidak ada perbedaan bermakna, dan pada kontrol negatif memiliki nilai signifikansi 0,037 (p < 0,05) yang artinya memiliki perbedaan bermakna.

Skrining Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi

Kosentrasi Hambat Minimum (KHM)

Hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak kulit kayu laban *(Vitex pubescens vahl)* terhadap bakteri *Shigella flexneri* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3 Kosentrasi Hambat Minimum (KHM)

Perlakuan	Replikasi			*P (Value)*	Gambar
	I	II	III		
Konsentrasi 50%	1	1	1	0,012[a] 1,000[b]	
Konsentrasi 75%	1	1	1	0,012[a] 1,000[b]	
Konsentrasi 100%	1	1	1	0,012[a] 1,000[b]	
Kontrol Negatif	2	2	2	0,012[a] 0,025[b]	

*Keterangan a : Kruskal-Wallis 1 : Jernih
b : Man Whitney 2 : Keruh

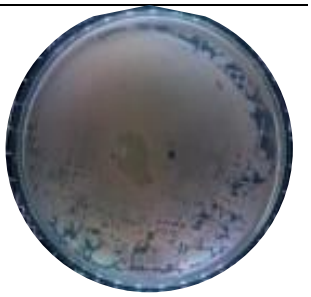
Berdasarkan tabel 3 hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu laban *(Vitex pubescens vahl)* terhadap bakteri *Shigella flexneri* memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) yang ditandai dengan melihat kejernihan pada tabung reaksi. Pada konsentrasi ekstrak 50%, 75% dan 100% larutan pada tabung reaksi terlihat jernih, sedangkan pada kontrol negatif terlihat keruh.

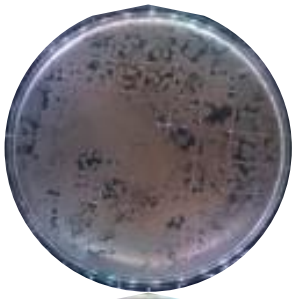
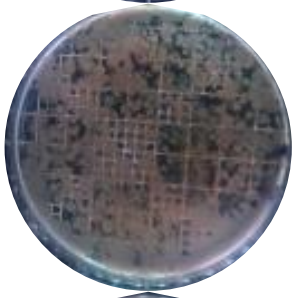
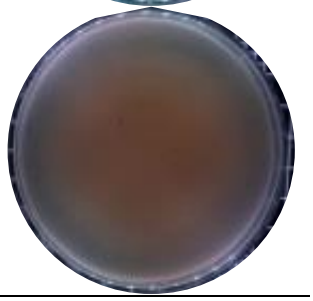
Berdasarkan hasil pengujian statistik diketahui bahwa ada perbedaan yang bermakna pada pemberian ekstrak kulit laban terhadap bakteri *Shigella flexneri* menggunakan uji Kruskal-Wallis Test didapatkan nilai signifikansi 0,012 (p < 0,05) yang memiliki arti bahwa ditemukan perbedaan yang bermakna pada setiap konsentrasi penelitian. Berdasarkan pengujian Mann Whitney Test didapatkan hasil bahwa konsentrasi 50%, 75% dan 100% memiliki nilai signifikasi 1,000 (p > 0,050) yang memiliki arti bahwa tidak ada perbedaan bermakna, dan pada kontrol negative memiliki nilai signifikansi 0,025 (p < 0,05) yang artinya memiliki perbedaan bermakna.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Hasil pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak kulit kayu laban *(Vitex pubescens vahl)* terhadap bakteri *Shigella flexneri* dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Perlakuan	Replikasi			Gambar
	I	II	III	
Konsentrasi 50%	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	

Konsentrasi 75%	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	
Konsentrasi 100%	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	
Kontrol Negatif	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	Tumbuh koloni	

Berdasarkan tabel 4 hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit kayu laban *(Vitex pubescens vahl)* terhadap bakteri *Shigella flexneri* tidak memiliki nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang ditandai dengan tumbuhnya koloni bakteri.

PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Pada proses ekstraksi penelitian ini diperoleh ekstrak kental sebanyak 22,76 gram dengan nilai rendemen sebesar 10,03%. Ekstrak kental kulit kayu laban *(Vitex pubescens vahl)* berwarna coklat kekuningan.

Proses selanjutnya adalah skrining fitokimia, proses ini dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung pada ekstrak kulit kayu laban. Skrining fitokimia ini untuk mencari senyawa metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Dari tabel 1 hasil skrining fitokimia menyatakan bahwa ekstrak kulit laban positif mengandung flavonoid dan saponin. Dari hasil penelitian Rahma (2020) juga melakukan skrining fitokimia terhadap esktrak kulit laban mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin dan saponin.

Uji flavonoid terjadi perubahan warna menjadi jingga dikarenakan penambahan NaOH. Flavonoid termasuk senyawa fenol sehingga apabila direaksikan dengan basa akan terjadi perubahan warna karena terjadinya sistem konjungasi dari gugus aromatik (Kusnadi & Devi, 2017). Pada uji saponin terbentuknya busa di karenakan, saponin mengandung gugus glikosida yang mempunyai kemampun membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Nugrahani et al., 2016).

Skrining Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Sumuran

Penelitian ini dilakukan dengan menguji skrining aktivitas antibakteri ekstrak kulit laban *(vitex pubescens vahl)* dengan menggunakan metode difusi sumuran dengan mengukur zona bening yang terbentuk pada media agar. Uji ini dilakukan untuk melihat potensi aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh ekstrak kulit kayu laban berdasarkan senyawa metabolit yang terkandung didalamnya. Bakteri yang digunakan

pada uji ini yaitu bakteri *Shigella flexneri* yang diperoleh dari Indilab Samarinda. Diameter lubang sumuran yang digunakan dalam uji ini berdiameter 6 mm di media MHA yang sudah diinokolasikan bakteri. Konsentrasi ekstrak yang digunakan konsentrasi 50%, konsentrasi 75% dan konsentrasi 100%, kontrol negatif DMSO 10% sebagai pembanding, DMSO digunakan sebagai kontrol negatif karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar dan juga DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu pengujian aktivitas antibakteri (Nugrahani, 2016).

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa hasil zona hambat ekstrak kulit laban pada konsentrasi 50% 12,51 mm dengan kategori kuat, konsentrasi 75% 19,50 mm dengan kategori kuat, konsentrasi 100% 23,08 mm dengan kategori sangat kuat . Pada kontrol negatif menggunakan DMSO dengan hasil diameter 0 mm tidak ada zona hambat (Davis & Stout, 1971; Deo et al., 2019). Zona hambat ini disebabkan oleh senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak, selain itu pengaruh dari konsentrasi ekstrak juga dapat membuat besar dan kecil nya zona hambat. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Rahma (2020) menggunakan ekstrak yang sama kulit laban terhadap bakteri *Escherichia coli,* menunjukan hasil bahwa pada konsentrasi ekstrak 25%, 50% dan 75% masuk dalam kategori sangat kuat. Penelitian lain yang dilakukan Sirait (2014) juga menyatakan bahwa ekstrak buah laban masak mempunyai kandungan kadar senyawa flavonoid dan alkaloid yang banyak dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. thypi* dan *S. aureus.* Rinaldi (2016) juga menyatakan secara empiris bahwa masyarakat dayak sering menggunakan kulit laban sebagai obat untuk menyembuhkan diare dan disentri.

Data kemudian diuji secara statistik, hasil yang didapat pada uji kelompok ini tedistribusi normal dan tidak homogen menggunakan Saphiro-Wilk dan Levene's sehingga tidak dapat dilakukan pengujian menggunakan *One Way ANOVA*, dilanjutkan dengan uji *Non Parameteric* menggunakan Kruskal-wallis didapatkan nilai signifikan 0,015 < 0,05 yang berarti bahwa ada perbedaan yang bermakna pada setiap perlakuan, kemudian di uji dengan *Mann-Whitney* didapatkan hasil pada konsentrasi ekstrak 50 %, konsentrasi 75% dan konsentrasi 100% memiliki nilai signifikansi 0,050 yang berarti tidak dapat perbedaan berarti, sedangkan pada hasil kontrol negatif memiliki nilai signifikansi 0,037 < 0,050 yang artinya memiliki perbedaan yang berarti.

Skrining Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi

Konsentrasi hambat minimum (KHM) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM), dengan cara melihat konsentrasi terkecil yang masih jernih atau tidak menunjukan adanya pertumbuhan bakteri (Fitriana et al., 2020). Berdasarkan tabel 4.3 dapat diketahui bahwa ekstrak kulit laban memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) yaitu pada konsentrasi 50% yang ditunjukan tidak terlihat adanya kekeruhan yang artinya ekstrak kulit laban mampu menghambat bakteri *Shigella flexneri*. Kemampuan ekstrak kulit kayu laban dalam menghambat *Shigella flexneri* karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kulit kayu yaitu flavonoid dan saponin. Flavonoid mempunyai mekanisme antibakteri dalam melawan bakteri gram positif maupun negatif. Hal ini di karenakan aktivitas gugus alkohol dalam senyawa flavonoid yang bisa mengikat peptidoglikan di dinding sel. Senyawa flavonoid juga dapat merusak membran sel bakteri dengan cara mengikat liposakarida. Sedangkan senyawa saponin memiliki aktivitas antibakteri karena senyawa ini mirip deterjen, saponin menyebabkan turunnya tegangan permukaan dinding sel bakteri sehingga merusak permeabilitas membran. Permeabilitas membran sel yang berkurang menyebabkan keluarnya zat seperti enzim, nutrisi, ion organik dan asam amino membuat terlambatnya metabolisme sehingga bakteri tidak dapat berkembangbiak dan menyebabkan kematian sel (Agung et al., 2021).

Data hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kemudian dilakukan pengujian statistik menggunakan uji non parametrik. Hasil yang didapat pada pengujian statistik menggunakan Kruskal-wallis memiliki nilai signifikansi 0,012 < 0,050 yang berarti terdapat perbedaan yang

bermakna. Untuk melihat perbedaan signifikansi antar konsentrasi dan kontrol negatif dilanjutkan menggunakan uji *Mann-Whitney* didapatkan hasil pada konsentrasi ekstrak 50 %, 75% dan 100% nilai signifikansi 1,000 > 0,050 yang berarti tidak terdapat perbedaan yang berarti, sedangkan pada kontrol negatif memiliki nilai signifikansi 0,025 < 0,050 yang artinya memiliki perbedaan yang berarti.

Pengujian aktivitas antibakteri dilanjutkan dengan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dilakukan untuk mengetahui dari konsentrasi terendah yang tidak menunjukan adanya pertumbuhan koloni bakteri. Konsentrasi rendah hingga tinggi yang terlihat jernih ditanamkan pada media MHA setelah itu diinkubasi dengan suhu 37^{o}C selama 18-24 jam (Fitriana et al., 2020). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 4.4 dari beberapa konsentrasi ekstrak kulit kayu laban terhadap *Shigella flexneri* tidak memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KBM), disebabkan ada pertumbuhan bakteri pada media MHA. Pada penelitian Sitompul (2015) hal yang sama juga terjadi pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana biji buah langsat *(Lansium domesticum Cor.)* tidak memiliki konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap *Shigella flexneri.* Namun, hanya memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) yang artinya ekstrak kulit laban hanya mampu menghambat atau bersifat bakteriostatik pada bakteri *Shigella flexneri* (Sine & Fallo, 2018).

SIMPULAN

Simpulan yang di ambil bahwa ekstrak kulit laban uji skrining fitokimia terdapat metabolit sekunder yang didapat yaitu flavonoid dan saponin. Pada uji difusi sumuran ekstrak kulit laban *(Vitex pubescens vahl)* dapat menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri* pada konsentrasi 50% 12,51 mm dengan kategori *resistent*, konsentrasi 75% 19,50 mm dengan kategori *subceptible-dose dependent*, konsentrasi 100% 23,08 mm dengan kategori *subceptible* dan juga memiliki nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi ekstrak 50% terhadap *Shigella flexneri*. Namum pada penelitian ini tidak memiliki nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam penyelesaian penelitian ini.

REFERENSI

Agung, I. D., Meisha, G., Nengah, N., Fatmawati, D., & Sri, N. N. (2021). Efek Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Klebsiella Pneumoniae Atcc 13883 Dan Staphylococcus Aureus Atcc 25923. *Jurnal Medika Udayana*, *10*(2), 6–12. Https://Doi.Org/Doi:10.24843.Mu.2021.V10.I2.P18

Alimah, D. (2020). Karakteristik Dan Budidaya Laban (Vitex Pubescens) Untuk Tujuan Kayu Energi. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan …*, *5*(April), 74–79. Http://Snllb.Ulm.Ac.Id/Prosiding/Index.Php/Snllb-Lit/Article/View/355

An'aam, M., Riyahi Zaniani, F., & Shirmardi Dezaki, F. (2021). Antimicrobial Effect Of Hydroalcoholic Extracts Of Oak Jaft (Quercus Persica) And Echium Amoenum On Shigella Flexneri. *Qom University Of Medical Sciences Journal*, *15*(5), 352–357. Https://Doi.Org/10.32598/Qums.15.5.2349.1

Anggraeni, A., & Triajie, H. (2021). Uji Kemampuan Bakteri (Pseudomonas Aeruginosa) Dalam Proses Biodegradasi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb), Di Perairan Timur Kamal Kabupaten Bangkalan. *Juvenil:Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, *2*(3), 176–185. Https://Doi.Org/10.21107/Juvenil.V2i3.11754

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method Of Microbiological Assay. *Journal Of Microbiology*, *I (3):337-*. Https://Doi.Org/Https://Doi.Org/10.1128/Am.22.4.659-665.1971

Deo, T., Wilmar, M., Amal, R. G., Silvana, T., & Selvana, T. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Kapur Melanolepis Multiglandulosa Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Bakteri Escherichia Coli. *Berkala Bioteknologi*, *2*(2), 107–114.

Diayu, A. . (2019). Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Edamame (Glycine Max (L) Merril) Terhadap Bakteri Escherichia Coli. *Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember [Skripsi]*.

Fan, Q., Yuan, Y., Jia, H., Zeng, X., Wang, Z., Hu, Z., Gao, Z., & Yue, T. (2021). Antimicrobial And Anti-Biofilm Activity Of Thymoquinone Against Shigella Flexneri. *Applied Microbiology And Biotechnology 2021 105:11*, *105*(11), 4709–4718. Https://Doi.Org/10.1007/S00253-021-11295-X

Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak Khm (Kadar Hambat Minimum) Dan Kbm (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, *16*(2), 101–108. Https://Doi.Org/10.30595/St.V16i2.7126

Gholib, D. (2015). *Tanaman Herbal Anti Cendawan*. Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian.

Henaulu, A. H., & Kaihena, M. (2020). (Psophocarpus Tetragonolobus (L .) Dc) Terhadap Pertumbuhan Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus In Vitro. *Biofaal Journal*, *1(1)*, *44–54. Https://Core.Ac.Uk/Download/Pdf/322568351.Pdf*.

Hidayat, M., Prahastuti, S., Chikita, V., Safitri, D., Rahmawati, S. F., & S., & A., A. (2016). Subchronic Treatment Of Combination Extract Detam 1 Soybean And Jati Belanda Leaves Has No Toxic Effect On Function, Weight, And Histopathological Of Wistar Rat Kidney. *Journal Of Medicine & Health, 1(4)*. Https://Doi.Org/Https://Doi.Org/10.28932/Jmh.V1i4.530

Hudaya, A., Radiastuti, N., Sukandar, D., & Djajanegara, I. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri E. Coli Dan S. Aureus Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Al-Kauniyah Jurnal Biologi*, *7*(1), 9–15. Http://Repository.Uinjkt.Ac.Id/Dspace/Handle/123456789/31025

Idroes, R., Khairan, Nurisma, N. ., Pradysta, R. R. ., & Rofina. (2020). *Skrining Aktivitas Tumbuhan Yang Berpotensi Seabagai Bahan Antimikroba Di Kawasan Ie Brok (Upflow Geothermal Zone) Aceh Besar*. Syiah Kuala University Press. Http://Uilis.Unsyiah.Ac.Id/Uilis/Index.Php?P=Show_Detail&Id=123294

Istini, I. (2020). Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal Of Laboratory*, *2*(3), 41. Https://Doi.Org/10.22146/Ijl.V2i3.57424

Iswari, I. S. (2021). Identifikasi Shigella Dysenteriae Pada Makanan Salad Di Kota Denpasar. *Jurnal medika udayana I. 10*(6), 1–6. Https://Doi.Org/10.24843.Mu.2020.V10.I6.P01

Kamaliah. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Dadangkak (Hydrolea Spinosa L.) Terhadap Bakteri Staphylacoccus Aureus Dan Eschericia Coli Dengan Metode Dilusi. *Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia Banjarmasin [Skripsi]*.

Kemenkes. (2011). *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Kementrian Kesehatan Ri.

Kemenkes. (2020). Health Statistics (Health Information System). In *Short Textbook Of Preventive And Social Medicine* (Pp. 28–28). Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd. Https://Doi.Org/10.5005/Jp/Books/11257_5

Kusnadi, K., & Devi, E. T. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavanoid Pada Ekstrak Daun Seledri (Apium Graveolens L.) Dengan Metode Refluks. *Psej (Pancasakti Science Education Journal)*, *2*(1), 56–67. Https://Doi.Org/10.24905/Psej.V2i1.675

Mahdiyah, D., Wahyudi, A. T. R. I., Widanarni, & Farida, H. (2019). Spongejaspis Sp-Associated Bacteria Producing Protease Inhibitor. *Pakistan Journal Of Medical And Health Sciences,*. Https://Doi.Org/Http://Dx.Doi.Org/10.4108/Eai.23-11-2019.2298399

Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (Phaseolus Vulgaris L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan Ipa*, *2*(1). Https://Doi.Org/10.29303/Jppipa.V2i1.38

Rahma, T. C., & Nugraha, D. F. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Kayu Laban (Vitex Pubescens Vahl) Terhadap Bakteri Escherichia Coli. *Journal Of Pharmaceutical Care And …*, *1*(1), 94–101. Https://Ejurnal.Unism.Ac.Id/Index.Php/Jpcs/Article/View/36

Rinaldi F, F., Ibrahim, A., Fadraersada, J., & Rijai, L. (2016). Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Pengujian Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu Laban (Vitex Pinnata L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*, 4 20–21. Https://Doi.Org/10.25026/Mpc.V4i1.172

Sariadji, K. (2019). Uji Kepekaan Antibiotik Pada Corynebacterium Diphtheriae. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, *8(2)*, *121– 133*. Https://Doi.Org/Https://Doi.Org/10.22435/Jbmi.V8i2.2725

Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove Sonneratia Alba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, *11*(1), 9. Https://Doi.Org/10.35800/Jpkt.11.1.2020.28659

Sine, Y., & Fallo, G. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ketapang (Terminalia Catappa L.) Dan Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Aeromonas Hydrophila. *Bio-Edu: Jurnal Pendidikan Biologi*, *1*(1), 9–11. Http://Jurnal.Unimor.Ac.Id/Jbe/Article/View/497/283

Sirait, E. U., Khotimah, S., & Turnip, M. (2014). Ekstrak Buah Laban (Vitex Pubescens Vahl) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Salmonella Thypi Dan Staphylococcus Aureus. *Protobiont*, *3*(3), 40–45. Https://Doi.Org/Http://Dx.Doi.Org/10.26418/Protobiont.V3i3.7542

Sitompul, I. E. R. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksana Biji Buah Langsat (Lansium Domesticum Cor.) Terhadap Bakteri Shigella Flexneri Secara In Vitro. *Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran Untan*, *3*(1), 1–18.
Https://Jurnal.Untan.Ac.Id/Index.Php/Jfk/Article/View/14390/12835

Suhendar, U., & Sogandi, S. (2019). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Cengkeh (Syzygium Aromaticum) Sebagai Inhibitor Streptococcus Mutans. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, *12*(2), 229–239. Https://Doi.Org/10.15408/Kauniyah.V12i2.12251

Sukma, F. F., Sahara, D., Ihsan, N. F., Halimatussakdiah, Pujiwahyuningsih, & Amna, U. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun "Temurui" (Murraya Koenigii (L.) Spreng) Kota Langsa, Aceh Fisca. *Jurnal Jeumpa*, *5*(1), 34–39.
Https://Ejurnalunsam.Id/Index.Php/Jempa/Article/Download/663/780

Wangkanusa, D., Lolo, W. A., & Wewengkang, D. S. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Prasman (Eupatorium Triplinerve Vahl.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Aeruginosa. *Pharmacon*, *5*(4), 203–210. Https://Doi.Org/10.35799/Pha.5.2016.14003

Who. (2017). *Diarrhoeal Disease*. World Health Organization. Https://Www.Who.Int/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Diarrhoeal-Disease

Widyaningsih, W., Salamah, N., & Maulida, Q. F. (2016). Antibiotic Susceptibility Of Salmonella, Shigella And Vibrio Isolated From Diarrhea Patients In Jakarta, Indonesia. *Indonesian Journal Of Medicine And Health Journal*, *4*(14), 151–160. Https://Doi.Org/Https://Doi.Org/10.20885/Jkki.Vol7.Iss3.Art4

Wijanarko, A. (2020). Standardisasi Simplisia Daun Ciplukan. *Jurnal Farmasetis*, *9*(1), 31–40. Https://Doi.Org/Https://Doi.Org/10.32583/Farmasetis.V9i1.736