

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL  
DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees)  
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Yuska Novi Yanti, Sucia Mitika  
Akademi Farmasi Yayasan Al-Fatah Bengkulu  
Email : yuskanoviyanty@gmail.com

**ABSTRAK**

Tumbuhan memiliki zat kimia aktif yang memiliki potensi besar salah satunya adalah membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang mempunyai berbagai macam manfaat bagi kesehatan manusia, berbagai aktivitas farmakologi dari sambiloto adalah antiinflamasi, antibakteri, antipiretik dan antioksidan. Sampel dalam penelitian ini adalah koloni *Staphylococcus aureus* dan ekstrak kental tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Ekstraksi dengan metode maserasi Salanjutnya di rotary dengan menggunakan *Rotary evaporator* dan dilakukan uji susut pengeringan. Kemudian ekstrak dibagi menjadi lima perlakuan yaitu 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml dibuat kontrol positif dan negatif lalu dilakukan pembuatan media NA dan NB. Selanjutnya dibuat peremajaan bakteri dan pembuatan larutan uji lalu dilakukan pengujian daya hambat dengan metode cakram lalu diikubasi dan diukur diameter zona hambat. Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak sambiloto memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daya hambat ekstrak sambiloto ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar cakram. Diketahui bahwa pada dosis 100 µg/mL, 1000 µg/mL memiliki daya hambat lemah dan dilanjutkan dengan analisa SPSS diperoleh hasil yang tidak berbeda secara signifikan.

Kata kunci : Sambiloto, *Staphylococcus aureus*, daya hambat

### ABSTRACT

Plants have active chemicals that have great potential one of them is to kill or inhibit the growth of bacteria. One of the plants used as traditional medicine is bitter plant (*Andrographispaniculata* Nees) that have various benefits for human health, various pharmacological activity of bitter is anti-inflammatory, antibacterial, antipyretic and antioxidant. The sample in this research was a colony of *Staphylococcus Aureus* and viscous plant extracts bitter (*Andrographispaniculata* Nees). Extraction by maceration method using a rotary next in Rotary evaporator and drying shrinkage test. Then extract is divided into five treatments, 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL created positive and negative controls and conducted media creation NA and NB. Subsequently made rejuvenation of bacteria and manufacturing test solution and the test is passed inhibition with discs and incubations method and measured the diameter of inhibition zone.

Test results showed that all concentrations of bitter extracts have inhibitory effect on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Paniculata* extract inhibitory indicated by a clear zone around the disc. It is known that at a dose of 100 µg/mL, 1000 µg/mL had a weak inhibitory and continued with SPSS analysis obtained results that did not differ significantly.

**Keywords:** *Sambiloto, Staphylococcus aureus, inhibition*

### PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) kandungan utama dari daun sambiloto adalah *andrographolide*, dan *flavonoid*. Kandungan yang dapat dipercaya melawan penyakit adalah *andrographolide*. Disamping itu daun sambiloto mengandung saponin, alkaloid, dan tanin (Dalimunthe, 2009)

Tumbuhan sambiloto merupakan tumbuhan semusim,

dengan tinggi 50-90 cm, batang yang disertai dengan banyak cabang berbentuk segi empat. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan bersilang, bentuk lanset, pangkal runcing, ujung meruncing, tepi rata, permukaan atas daun berwarna hijau tua, bagian bawah daun berwarna hijau muda, panjang 2-8 cm, lebar 1-3 cm. Bunga tumbuh dari ujung batang atau ketiak daun, berbentuk tabung, kecil-kecil, warnanya putih bernuda ungu. Memiliki buah kapsul berbentuk jorong, panjang sekitar 1,5

cm, lebar 0,5 cm, pangkal dan ujung tajam, bila masak akan pecah membujur menjadi 4 keping. Biji gepeng, kecil-kecil, warnanya coklat muda. Tumbuhan ini dapat dikembangkan dengan biji atau stek batang (Yuniarti, 2008).

Kegunaan dari sambiloto yang didukung dari data klinis antara lain sebagai profilaksis dan pengobatan gejala infeksi pernafasan atas, seperti flu dan sinusitis, bronkitis, dan faringotonsilitis, infeksi saluran kemih, dan diare akut. Sedangkan penggunaan sambiloto untuk pengobatan tradisional meliputi pengobatan disentri basiler, kolitus, batuk, dispepsia, demam, hepatitis, malaria, ulser pada mulut, luka, tuberkulosis, gigitan ular berbisa, otitis media, vaginitis, penyakit radang panggul, cacar air, eksim, dan luka bakar (WHO, 2002).

Aktivitas lain dari sambiloto antara lain sebagai antimikroba, antifungi, antihipertensi, antiinflamasi, antirombin, analgesik, antipiretik, hipoglikemik, antispasmodik, antifertilitas, eratogenik, antitumor, hepatoprotektif, sitotoksik, antileishmaniasis, stimulan pertumbuhan rambut, anti

HIV, pengobatan sidrom nefrotik, koleretik, perlindungan membran eritrosit, aktivitas kardiovaskuler, antialergi, antiflu, dan induksi fagositosis (Kardono, Artanti, Dewiyantri, & Basuki, 2003).

*Staphylococcus aureus* merupakan Gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk *kluster* yang tidak teratur seperti anggur. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan cepat pada beberapa tipe media dan dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari putih hingga kuning gelap. *Staphylococcus aureus* yang patogen sering menghemolisa darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler dan toksin (Jawetz, dkk., 2005).

*Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada berbagai media bakteriologik di bawah suasana aerobik atau mikroaerobik. Stafilokokus tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, namun pembentukan pigmen yang terbaik pada suhu kamar (20-35°C) dan pada

media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat (Jawetz, dkk., 2001).

Salah satu infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial adalah infeksi yang diperoleh atau terjadi di Rumah Sakit. Dimana infeksi ini dapat terjadi pada penderita, tenaga kesehatan, dan juga setiap orang yang datang kerumah sakit. Infeksi yang dapat ditularkan atau diperoleh melalui petugas kesehatan, orang sakit, pengunjung yang berstatus karier atau karena kondisi rumah sakit (Jawets *et al*, 2005).

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian dilakukan pada bulan Januari – Mei 2016 yang bertempat di Laboratorium Farmakognosi dan Mikrobiologi Akademi Farmasi Al-Fatah Bangkulu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, kertas saring, kapas, batang pengaduk, tabung reaksi, pipet volume, mikro pipet, *inkubator* (memmert), *autoklaf*, botol gelap,

*oven*, *rotary evaporator*, lampu spritus, *erlemeyer* (pirex), beker gelas (pirex), gelas ukur (pirex), dan jarum ose.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), etanol 70%, Aquades, *Nutrien Agar* (NA), *Nutrien Broth* (NB), biakan murni *Staphylococcus aureus*, pembuatan *Dimetil Sulfoksida* (DMSO), kapas, aluminium foil, dan kloramfenikol sebagai kontrol positif.

#### **Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sambiloto**

Dalam metode ini, peneliti menggunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi yang kemudian dievaporasikan dengan alat *rotary evaporator*. Serbuk daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) ditimbang kemudian direndam dalam botol kaca berwarna gelap dengan menggunakan pelarut etanol 70%, lalu tutup botol dan lakukan sesering mungkin pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan selama 7 hari, kemudian ekstrak dikumpulkan dan dievaporasikan dengan *rotary evaporator* dengan tekanan 70 rpm dan suhu 60°C. Hasil

ekstraksi disimpan dalam lemari pendingin (Voight, 1994).

### **Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakan dicuci bersih dengan menggunakan detergen dan dibilas dengan aquadest. Alat-alat yang tahan terhadap pemanasan tinggi disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm (FI ED IV). Alat-alat logam disterilkan dengan pemanasan langsung pada lampu spritus hingga memijar. Sedangkan alat-alat yang tidak tahan terhadap pemanasan tinggi disterilkan dengan menggunakan etanol 70%.

### **Pembuatan Larutan Uji**

Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang digunakan adalah 10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL, dan 1000 µg/mL dalam pelarut DMSO. Kontrol negatif dibuat dari DMSO 10% dan pembanding yang digunakan adalah kloramfenikol 0,3%.

### **Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)**

Media pembenihan *Nutrient Agar* (NA) dibuat dengan cara

*Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam aquadest dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan panaskan sampai mendidih. Selanjutnya media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

### **Pembuatan Media Nutrien Broth (NB)**

Media agar cair (NB) *Nutrien Borth* digunakan untuk pembuatan larutan inokulum bakteri. Media cair dibuat dengan cara NB dilarutkan dalam aquadest, lalu di masukkan dalam erlemeyer dan di tutup dengan kapas. Kemudian suspensi dipanaskan sampai mendidih lalu didinginkan dalam suhu ruangan, media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm.

### **Pembuatan larutan DMSO**

Larutan DMSO dibuat dengan konsentrasi 10% dengan cara melarutkan DMSO dengan aquadest.

### **Peremajaan Bakteri**

Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode gores. Biakan murni bakteri *Stapylococcus aureus* diambil satu ose kemudian di inokulasikan dengan cara digoreskan

pada media NA secara aseptik. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

**Pembuatan larutan Bakteri**

Pembuatan Larutan Standar Suspensi Bakteri dilakukan dengan cara ambil satu ose bakteri hasil peremajaan lalu disuspensikan kedalam media NB sampai tingkat kekeruhannya sama dengan standar. Kekeruhannya dilihat pada latar belakang kertas putih yang digaris dengan menggunakan spidol. Jika kurang keruh ditambah koloni bakteri dan apabila terlalu keruh maka ditambahkan media NB.

Satu ose hasil peremajaan biakan murni di biakan dalam 10 ml media cair NB dan di homogenkan. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif.

**Pengujian Daya Hambat**

Ambil suspensi bakteri *Stapylococcus aureus* kemudian masukkan kedalam cawan petri dan

ditambahkan NA steril. Lalu dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Letakkan paper disc dengan menggunakan pinset.

Kontrol Negatif : ditetesi larutan DMSO 10 %

Kontrol Positif : Kloramfenikol 0,3% Ekstrak Etanol daun sambiloto 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml.

Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dan amati pertumbuhan bakteri lalu ukur zona hambat dengan menggunakan jangka sorong ( Lay, 1994 ).

**Analisa Data**

Data dari hasil pengujian daun sambiloto ( *Andrographis paniculata* Nees) terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dianalisa secara statistik menggunakan metode One Way Anova pada program SPSS dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95 % atau  $\alpha = 0,05$

**Tabel I.** Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat	Respon Hambat Pertumbuhan
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21	Sangat Kuat

Sumber : Riska F dan Puguh S (2014).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil Verifikasi Tanaman**

Hasil verifikasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Bengkulu, menunjukkan bahwa tumbuhan uji yang digunakan dalam penelitian

adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Verifikasi dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan pada uji efektivitas antibakteri.

**Tabel II.** Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol daun sambiloto

Karakteristik ekstrak	Ekstrak etanol daun sambiloto
a. Organoleptik <ul style="list-style-type: none"> <li>• Konsistensi</li> <li>• Warna</li> <li>• Bau</li> <li>• Rasa</li> </ul>	Ekstrak Kental Hijau Pekat Khas Pahit
b. Rendemen	5,1%
c. Susust Pengerinan	27%

**Hasil pengujian efektivitas dan diameter daya hambat antibakteri**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu, metode yang digunakan adalah Metode Difusi Cakram.

**Tabel III.** Hasil Uji efektivitas Dan Diameter Daya Hambat Ekstrak daun sambiloto Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Pengulangan (mm)				Jumlah	Rata-rata	Kategori Daya Hambat
		1	2	3	4			
1	Kontrol positif (Kloramfenikol)	19,63	18,78	17,46	21,28	77,15	19,28	Kuat
2	Kontrol negatif (DMSO 10%)	0	0	0	0	0	0	Lemah
3	10 µg/mL	0,13	0,13	0,6	0,23	1,09	0,272	Lemah
4	50 µg/mL	0,366	1,233	0,333	0,5	2,342	0,608	Lemah
5	100 µg/mL	0,56	1,43	3,16	0,5	5,65	1,412	Lemah
6	500 µg/mL	2,36	0,2	0,25	0,36	3,17	0,792	Lemah
7	1000 µg/mL	0,7	1,2	2,36	0,5	4,766	1,191	Lemah

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) yang diambil dikota Bengkulu. Verifikasi tanaman dilakukan di Fakultas Biologi Universitas Bengkulu. Verifikasi dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan pada uji efektivitas antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Hal ini untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak daun sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Cara pengujian efektivitas ini dilakukan dengan cara kertas cakram di celupkan ke dalam 5 konsentrasi ekstrak yaitu (10 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL, 1000

µg/mL). Selanjutnya kertas cakram ditempelkan pada media bakteri dengan pinset kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Pembuatan larutan uji ekstrak daun sambiloto dilarutkan dengan Dimethyl-sulfoxide (DMSO) 10% yang sekaligus sebagai kontrol negatif. Penggunaan DMSO 10% dipilih karena berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa DMSO tidak menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi kurang dari 15%. Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol karena antibiotik golongan ini berspektrum luas yaitu efektif untuk bakteri gram positif dan negatif mikroorganisme lain.

Berdasarkan hasil pengujian dengan metode difusi kertas cakram

terhadap bakteri menunjukkan bahwa konsentrasi 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1000 µg/ml ekstrak daun sambiloto yang diuji pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram.

Menurut Riska dan Puguh (2014) jika zona hambat yang terbentuk pada uji difusi lempeng agar berukuran kurang dari  $\leq 5$  mm, maka respon zona hambat dikategorikan kedalam lemah. Jika zona hambat yang terbentuk 6-10 mm, maka respon zona hambat masuk kedalam kategori sedang, sedangkan 11-20 mm kuat, dan  $\geq 20$  mm sangat kuat.

Hasil pengukuran zona hambat pada Tabel II menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml memiliki respon penghambatan yang lemah ( $\leq 5$  mm) dan kontrol positif memiliki respon penghambatan yang kuat (11-20 mm), sedangkan DMSO 10 % sebagai kontrol negatif tidak dapat

menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* baik pada awal hingga akhir perlakuan.

Pada konsentrasi 100 µg/ml, 500 µg/ml dan 1000 µg/ml terjadi peningkatan dan penurunan zona hambat hal ini dikarenakan kandungan bahan kimia dalam ekstrak daun sambiloto dapat dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain dalah lokasi tanaman, pemilihan bagian tanaman sambiloto (akar, batang, ranting, daun, bunga, buah) memiliki kandungan yang tidak sama. Pada proses pengeringan derajat daun sambiloto dapat berpengaruh terhadap kualitas dan kuantitas kandungan bahan kimia yang terdapat dalam daun (Cendranata 2012). Peneliti mengambil daun sambiloto tidak memperhatikan usia tanaman, ini juga memungkinkan komponen zat yang terdapat pada tanaman daun sambiloto tidak optimal seharusnya pengambilan daun sambiloto pada saat tanaman akan berbunga (umur sambiloto 2-3 bulan).

Menurut Dwidjoseputro dan Hidayati (dalam Lamapaha dan Rupilu, 2008) bahwa pada waktu pendedahan medium tertentu, suhu

dan temperatur dapat menurunkan aktifitas konsentrasi ekstrak. Selanjutnya, menurut Elifah (dalam Ariyanti, 2012) bahwa diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda.

Secara statistik hasil daya hambat yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Sminornov*. Dari hasil uji normalitas menggunakan uji didapatkan nilai signifikansi 7,93 yang artinya data terdistribusi normal. Dari hasil uji homogenitas didapat hasil  $(0,041) < p(0,05)$  yang berarti varians data tidak bersifat homogen, maka dilanjutkan dengan analisis non parametik *Kruskal-Wallis*, uji didapatkan nilai signifikan  $(0,02) < p(0,05)$  yang artinya terdapat pengaruh ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri. Namun berdasarkan uji duncan tidak ada perbedaan yang bermakna pada tiap

konsentrasi yang digunakan ( $p > 0,05$ ) meskipun dari nilai hambat terlihat bahwa 100  $\mu\text{g/ml}$  adalah konsentrasi terbaik.

Hasil analisa data kontrol positif kloramfenikol memiliki sig  $(0,000) < p(0,05)$  terhadap semua kontrol uji. Hal ini menunjukkan bahwa kloramfenikol memiliki kemampuan daya hambat paling baik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$ , 50  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , 500  $\mu\text{g/ml}$ , dan 1000  $\mu\text{g/ml}$  ekstrak etanol daun sambiloto tidak berbeda secara signifikan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Sikumalay dkk 2014) mengenai efek antibakteri dari rebusan daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan produk herbal sambiloto terhadap *Staphylococcus aureus*, didapatkan hasil rebusan daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan produk herbal sambiloto tidak mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) tidak memiliki kemampuan dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil uji data statistik dengan ( $p > 0,05$ ).

Seluruh konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) tidak memiliki daya hambat dengan hasil uji data statistik dengan ( $p > 0,05$ ) yang artinya tidak berbeda secara signifikan, sehingga tidak dapat digunakan sebagai antibakteri dalam dunia pengobatan

#### DAFTAR PUSTAKA

Dalimunthe, A. 2009, *Interaksi Sambiloto (Andrographis Paniculata Nees)*, Departemen Farmakologi Fakultas Universitas Sumatra Utara, Medan.

Jawetz, E., et al 2005, *Mikrobiologi kedokteran*. Buku 1. Salemba Medika. Jakarta.

Kardono, L. B. S., Artanti, N., Dewiyanti, I. D., Basuki. T. 2003, *Selected Indonesian Medicinal Plants Monographs and Description*, Vol, I, Gramedia Widiasarana, Jakarta, Indonesia. Hal 121-152.

Lamapha, Yulia F. Dan Rupilu Novie S.2008. *potensi Lengkuas sebagai Antimikroba (Studi In Vitro pada Bakteri Gram Negatif)*.

Riska F, Puguh S, Sarwiyono, 2014, *Inhibition Activity of*

*Moringa oleifera Leaf Juice to Growth of Streptococcus agalactiae and Streptococcus uberis Bacteris Caused Mstitisin Dairy Cows*, Jurnal, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

T.Tan Hoan, Raharjo K, 2002, *Obat-obat Penting*, Edisi 20, Hal 153,317-322, EGC, Jakarta.

Voigt, 1984, *Buku Ajar Teknologi Farmasi, Diterjemahkan oleh Soewandi N. S*, Edisi 5, Hal 202-211, 564-570, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

World Health Organization (WHO). 2002.*Guidelines for Drinking-water Quality 3rd Edition*. Geneva:WorldHealthOrganization)

Yuniarti, T.2008, *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional Cetakan Pertama*, Jakarta. Medpress