Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid Total dan Tanin Total dari Ekstrak Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale*. L)

Dewi Yuniharni[1*], Lamek Marpaung[2], dan Sovia Lenny[2]

[1]*Program Studi Farmasi Universitas Sains Cut Nyak Dhien*

Jl. Perumnas No.45 Paya Bujok Seulemak, Kota Langsa, Aceh 24354

[2] *Program Studi Kimia Universitas Sumatera Utara (USU)*

* Corresponding author: dewiyuniharni827@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan uji skrining fitokimia ekstrak kasar daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*. L). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri senyawa flavonoid total dan tanin total dari ekstrak daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*. L) dengan penambahan pereaksi Meyer, Dragondorf dan Wagner/Bouchardat tidak memberikan perubahan warna (negatif) untuk uji alkaloid. Tetapi untuk uji fenolik dengan penambahan $FeCl_3$ 5% terjadi perubahan warna hijau kehitaman (positif fenolik) demikian pula dengan uji terpenoid dengan $CeSO_4$ memberikan warna merah pada plat TLC (positif terpenoid). Aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar, diperoleh zona hambat hanya pada bakteri S. aureus, zona hambat flavonoid ekstrak daun jambu monyet berturut – turut 5%, 10%, 20%, dan 25% (v/v) adalah 8,5; 11; 13; dan 16,1 mm. Dan zona hambat tanin total berturut – turut 5%, 10%, 20%, dan 25% (v/v) adalah 6,85; 9; 12,5; 15 mm.

Kata kunci : Anacardium occidentale. L, Flavonoid, Antibakteri.

PENDAHULUAN

Tanaman jambu monyet (Anacardium occidentale L) merupakan komoditi ekspor yang banyak manfaatnya, mulai dari akar, batang, daun dan buahnya. Kulit kayu mengandung tannin yang cukup banyak, asam galat, dan gingkol katekin. Daun mengandung tannin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elegat, senyawa fenol, kardol, dan metal kardol. Buah mengandung protein, lemak, vitamin (A,B dan C), kalsium, fosfor, besi, dan belerang. Dinding buah mengandung zat samak, asam anakardat, dan asam elegat. Biji mengandung 40-45 % minyak dan 21% protein. Selain buahnya, bagian tanaman yang lain dapat juga dimanfaatkan, terutama dalam ramuan obat tradisional. Daunnya berkhasiat sebagai anti radang dan menurunkan kadar glukosa dalam darah. Bijinya berkhasiat sebagai pelembut kulit dan penghilang nyeri (analgesik). Tangkai daunnya berfungsi sebagai pencahar (laksatif). Kulit kayu berkhasiat sebagai pencahar, astringen, dan memacu aktivitas enzim pencernaan (alternatif) [1].

Telah diisolasi senyawa flavonoida dari ekstrak daun tumbuhan jambu monyet yang dilakukan menunjukkan bahwa hasil isolasi memiliki antioksidan yang tinggi [2]. Isolasi dan identifikasi golongan kimia aktif antioksidan ekstrak etanol daun jambu monyet menunjukkan golongan kimia yang aktif sebagai antioksidan adalah golongan flavonoid [3]. Kandungan senyawa golongan flavonoid, fenolat dan tanin dalam daun jambu monyet merupakan kontributor utama dalam aktivitas antioksidan [4]. Aktivitas fenol pada daun jambu monyet yang berfungsi sebagai antifungi dan tanin dalam daun jambu monyet juga bermanfaat sebagai antiseptik dan antifungi [5].

Serbuk kulit biji jambu monyet bersifat toksik terhadap telur keong emas (Pomacea sp) [6]. Ekstrak metanol batang dan daun jambu monyet memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) [6]. Pada umumnya metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tumbuhan yaitu flavonoid atau tanin, alkaloid , terpen dan saponin. Metabolit sekunder flavonoid dan tanin disebut juga sebagai senyawa fenolik karena strukturnya terdiri dari gugus fenol. Sifat dari tanin dan flavonoid sama-sama polar, umumnya kedua senyawa itu terdapat bersamaan dalam satu tumbuhan, juga sama-sama memberikan pereaksi positif terhadap $FeCl_3$ yang memberikan warna hitam pekat, berdasarkan sifat ini maka perlu dilakukan

pemisahan tanin dan flavonoid. Sifat kelarutan flavonoid dan tanin berbeda dalam pelarut protik dan aprotik. Menurut literatur bahwa tanin hanya larut dalam pelarut protik misalnya metanol dan tidak dapat larut dalam pelarut aprotik misalnya dengan etil asetat maka dengan teori ini dapat dipisahkan antara tanin dan flavonoid [7][14].

Banyak tumbuh-tumbuhan mengandung golongan senyawa kimia seperti flavonoid yang menunjukkan sifat antimokroba. Beberapa golongan fenolik seperti flavonoid , tanin, dan senyawa fenol lainnya berfungsi sebagai alat pertahanan bagi tumbuhan untuk melawan mikroorganime patogen [8].

Berdasarkan penelitian sebelumnya aktivitas senyawa fenol dan tanin pada daun jambu monyet bermanfaat antifungi dan antiseptik. Kandungan senyawa golongan flavonoid, dan tanin dalam daun jambu monyet merupakan kontributor utama dalam aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, maka perlu ditentukan aktivitas antibakteri senyawa flavonoid total dan tanin total dari ekstrak daun jambu monyet. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun jambu monyet, methanol, etil asetat, n-heksan, $FeCl_3$ 5%, bakteri, dimetil sulfoksida (DMSO).

Metode

Uji Fitokimia

Preparasi Sampel Daun Jambu Monyet Segar

Diambil 100 gram daun jambu monyet segar, dibersihkan, dipotong kecil dan dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer kemudian ditambahkan metanol 100 mL dipanaskan dengan penangas air sampai diperoleh ekstrak metanol kemudian didinginkan dan diambil filtratnya.

Uji Alkaloid

Sebanyak 5 tetes filtrat ekstrak metanol daun jambu monyet masing-masing diteteskan pada tiga tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditetesi 2 tetes pereaksi Meyer (positif jika membentuk endapan putih atau keruh), tabung reaksi kedua ditetesi 2 tetes pereaksi Dragendorf (positif jika membentuk endapan merah kecoklatan). Diamati perubahan yang terjadi [5].

Uji Fenolik

Sebanyak 5 tetes filtrat ekstrak metanol daun jambu monyet diteteskan pada sebuah tabung reaksi kemudian ditambah masing-masing 3 tetes larutan $FeCl_3$ 5% (positif jika membentuk coklat kehitaman). Diamati perubahan yang terjadi [9].

Uji Flavonoid

Sebanyak 5 tetes filtrat ekstrak metanol daun jambu monyet diteteskan pada sebuah tabung reaksi dengan 3 tetes etil asetat ditambah 2 tetes $FeCl_3$ 5% sehingga terbentuk warna hijau sampai coklat kehitaman (positif membentuk warna hijau sampai coklat kehitaman). Diamati perubahan warna yang terjadi [9].

Uji Lieberman Bouchardat

Sebanyak 20 mL ekstrak metanol daun jambu monyet dimasukkan ke dalam gelas beaker kemudian diuapkan sampai pelarut habis kemudian didinginkan kemudian ditetesi 5 tetes asam sulfat pekat (positif terpenoid jika terbentuk warna merah kecoklatan sampai violet dan positif steroid jika terbentuk warna hijau sampai biru). Diamati perubahan yang terjadi [9].

Uji Plat Tipis

Sebanyak 3 mL ekstrak metanol daun jambu monyet ditetesi plat tipis dipanaskan pada hotplate ditetesi 2 tetes Cerik sulfat pekat (positif terpenoid jika terbentuk warna kemerahan) [9].

Uji Saponin

Sebanyak 5 tetes ekstrak metanol daun jambu monyet dimasukkan pada sebuah tabung reaksi kemudian ditambahkan 20 mL aquades. Filtrat didinginkan kemudian diguncang kuat selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit (positif jika terbentuk busa). Diamati perubahan yang terjadi [9].

Preparasi Serbuk Daun Jambu Monyet

Daun jambu monyet dikeringkan di dalam ruangan sampai sampel kering. Kemudian dihaluskan dengan blender sampai diperoleh serbuk daun jambu monyet, lalu ditimbang beratnya yaitu 250 gram.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun jambu monyet dimasukkan ke dalam bejana dan ditambahkan pelarut metanol sampai semua sampel terendam oleh pelarut dan dibiarkan selama 24 jam. Maserat disaring dan diperoleh ekstrak daun jambu monyet, maserasi dilakukan kembali secara berulang-ulang menggunakan pelarut metanol sampai ekstrak metanol yang diperoleh memberikan hasil uji yang negatif pada pereaksi untuk identifikasi senyawa flavonoid dan tanin. Ekstrak metanol yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 60^{o}C dengan putaran 60 rpm sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol. Ekstrak pekat yang diperoleh ditambah etil asetat hingga terbentuk endapan dan ekstrak etil asetat. Endapan dipisahkan dan diuji pada pereaksi untuk identifikasi senyawa tanin positif.

Ekstrak etil asetat dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 60^{o}C dengan putaran 60 rpm sehingga diperoleh ekstrak pekat etil asetat. Ekstrak pekat yang diperoleh diuapkan hingga semua etil asetat menguap. Ekstrak pekat tersebut dilarutkan dengan metanol sampai ekstrak metanol yang diperoleh memberikan uji yang negatif pada pereaksi untuk identifikasi senyawa tanin. Ekstrak metanol yang diperoleh diekstraksi partisi dengan n-heksan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah yaitu lapisan metanol dan lapisan atas yaitu lapisan n-heksan. Partisi dilakukan kembali sedara berulang-ulang menggunakan pelarut n-heksan sampai lapisan n-heksan bening dan ekstrak metanol yang diperoleh memberikan hasil uji yang positif pada pereaksi untuk identifikasi senyawa flavonoid. Ekstrak metanol yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan penangas sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol sampai ekstrak metanol yang diperoleh memberikan uji yang positif pada pereaksi untuk identifikasi senyawa flavonoid.

Pengujian Aktivitas Bakteri

1. Pembuatan Media Agar Miring

Ke dalam tabung reaksi yang steril dimasukkan 3 mL media nutrien agar steril, didiamkan pada temperatur kamar sampai membeku pada posisi miring membentuk sudut 30 – 45^{o}C, kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 5^{o}C.

2. Pembuatan Inokulum

Koloni bakteri S. aureus diambil dari stok kultur menggunakan jarum ose steril kemudian disuspensikan ke dalam 10 mL nutrient broth (NB) steril lalu diinkubasi pada suhu 35 ± 20^{o}C sampai didapat kekeruhan dengan transmitan 25% menggunakan alat spektrofotometer UV panjang gelombang 580 nm [10]. Dilakukan hal yang sama untuk pembuatan inoculum pada bakteri P. aeruginosa, E. coli dan S. typhi.

3. Pembuatan Stok Kultur

Biakan bakteri S. aureus dari strain utama diambil dengan jarum ose steril lalu diinokulasikan pada permukaan media nutrient agar miring kemudian diinkubasikan pada suhu 35 ± 2^{o}C selama 24 jam. Dilakukan hal yang sama untuk pembuatan stok kultur pada bakteri E. coli, P. aeruginosa dan S. typhi.

4. Cara Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap flavonoid total dan tannin total dengan berbagai konsentrasi. Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi agar. Sebanyak masing-masing 0,1 mL inokulum S. aureus, P. Aeruginosa, E.coli, dan S. Typhi masing-masing diusapkan dengan menggunakan cotton bud ke dalam media nutrien agar.

Kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji flavonoid total dengan berbagai konsentrasi, kemudian diletakkan di atas media yang telah diusap bakteri kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35±20C selama 18-24 jam, setelah itu diukur diameter daerah hambat (zona bening) menggunakan jangka sorong. Dilakukan hal yang sama untuk pengujian aktivitas antibakteri pada tanin total.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Skrinning Fitokimia Daun Jambu Monyet (Anacardium occidentale. L)

Diambil 100 g daun jambu monyet segar untuk skrining fitokomia. Di bawah ini disajikan tabel hasil skrining fitokimia dari daun segar jambu monyet sebagai berikut;

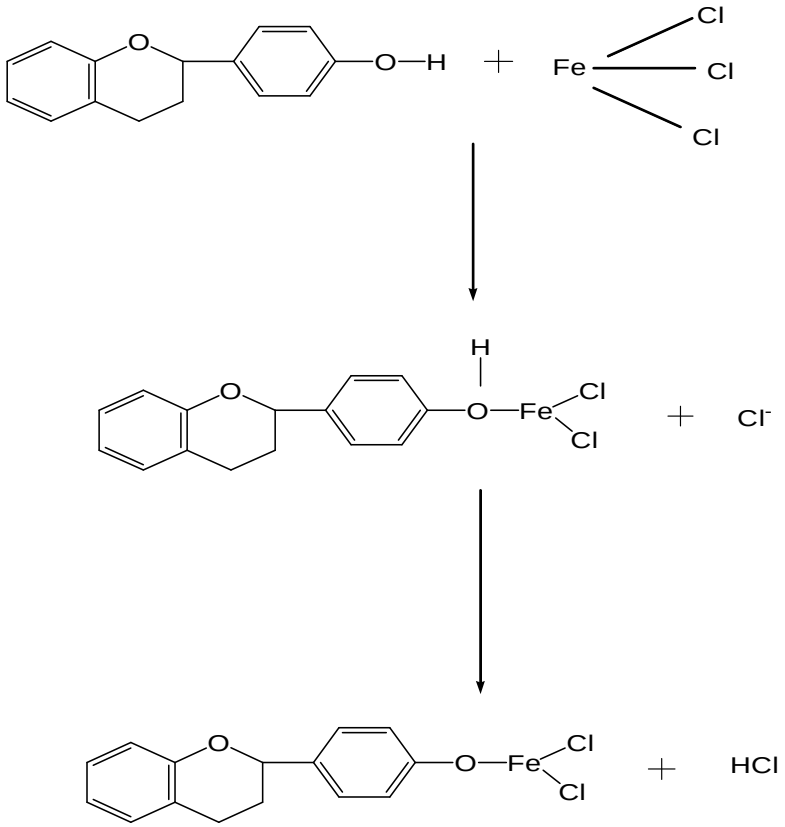
Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak metanol daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L)

No	Golongan	Pereaksi	Hasil
1	Alkaloid	Meyer	-
		Bouchardat	-
		Dragendorf/wagner	-
2	Fenolik	Flavonoid (ekstrak Et. Asetat $FeCl_3$ 5%)	+
		Fenolik (ekstrak metanol $FeCl_3$ 5%)	+
3	Saponin	Aquades	+
4	Terpenoida / Steroida	$CeSO_4$ 1% dalam H_2SO_4 dengan plat TLC	+

Note : - (Negatif) dan + (Positif)

Dari uji skrining fitokimia daun jambu monyet segar yang dilakukan bahwa uji alkaloid antara lain ekstrak metanol daun jambu monyet dengan penambahan pereaksi Meyer, Dragondorf dan Wagner / Bouchardat tidak memberikan perubahan warna (negatif). Tetapi untuk uji fenolik ekstrak metanol dengan penambahan $FeCl_3$ 5% terjadi perubahan warna hijau kehitaman (positif fenolik) dan ekstrak etil asetat ditambah $FeCl_3$ 5% memberikan warna hijau kehitaman (positif flavonoid) demikian pula dengan uji terpenoid dengan $CeSO_4$ memberikan warna merah pada plat TLC (positif terpenoid).

Reaksi senyawa flavonoid dengan pereaksi $FeCl_3$ adalah sebagai berikut.



Gambar 1. Reaksi senyawa flavonoid dengan pereaksi $FeCl_3$

Tabel 2. Data rata-rata diameter zona hambat aktivitas antibakteri flavonoid total

No	Konsentrasi	Rata-rata diameter daerah hambat (mm)				
	(%)	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*E. coli*	*S.typhi*	*E. faecalis*
1.	5	8,5	-	-	-	-
2.	10	11	-	-	-	-
3.	20	13	-	-	-	-
4.	25	16,1	-	-	-	7,7
5.	Blanko	-	-	-	-	-

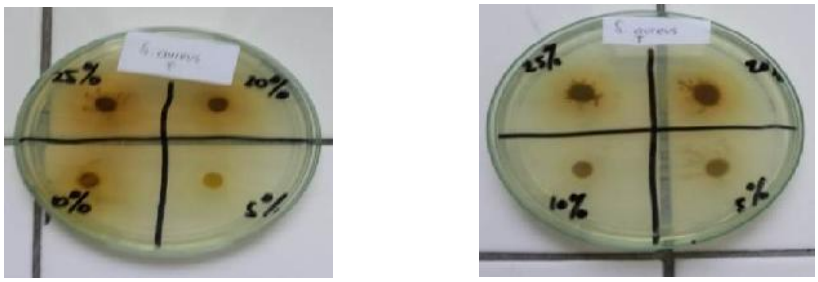
Keterangan : - = tidak ada hambatan

Tabel 3. Data rata-rata diameter hambat aktivitas antibakteri tanin total

No	Konsentrasi	Rata-rata diameter daerah hambat (mm)				
	(%)	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*E. coli*	*S.typhi*	*E. faecalis*
1.	5	6,85	-	-	-	-
2.	10	9	-	-	-	-
3.	20	12,5	-	-	-	-
4.	25	15	-	-	-	7,5
5.	Blanko	-	-	-	-	-

Keterangan : - = tidak ada hambatan

.



A **B**

Gambar 2. Zona hambat total daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*. L) terhadap bakteri *S. Aureus* (A) *Flavonoid* (B) *Tanin*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid total dan tanin total dari ekstrak daun jambu monyet (*Anacardium occidentale. L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. faecalis* yang ditandai dengan adanya daerah hambat disekitar kertas cakram. Penentuan aktivitas antibakteri flavonoid total dan tannin total dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Pengukuran daerah hambat pertumbuhan dapat dilakukan menggunakan jangka sorong. Ketentuan daya antibakteri suatu ekstrak didasarkan pada zona hambat di mana jika 5-10 mm bersifat sedang dan 10-20 bersifat kuat [11].

Hasil aktivitas antibakteri senyawa flavonoid dan tanin dari ekstrak daun jambu monyet terhadap bakteri *S. aureus* menghasilkan diameter daya hambat berkisar 10 – 20 pada konsentrasi 10%, 20%, dan 25% yang menunjukkan flavonoid dan tanin memiliki

daya antibakteri yang kuat. sedangkan pada 5 % flavonoid dan tanin memiliki daya anti bakteri yang bersifat sedang.

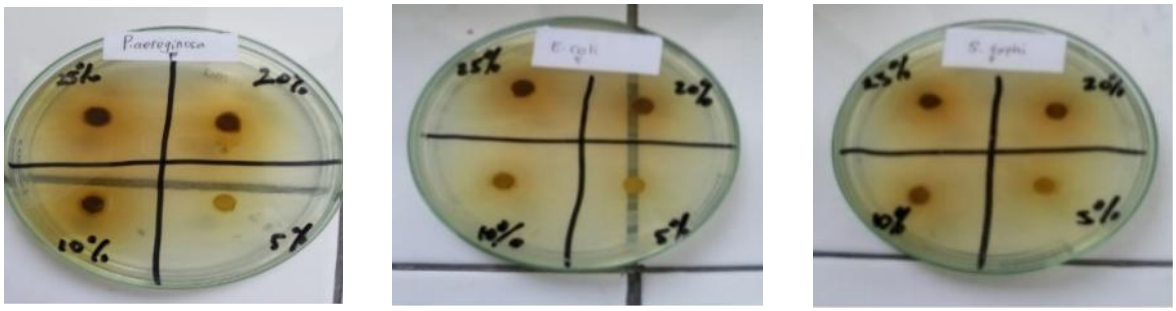
Hasil uji antibakteri senyawa flavonoid dan tanin dari ekstrak daun jambu monyet terhadap bakteri *E. faecalis* menghasilkan daya hambat berkisar 5 – 10 mm hanya pada konsentrasi 25% yang menunjukkan flavonoid dan tanin memiliki daya antibakteri yang bersifat sedang. Sedangakan pada konsentrasi 5%, 10%, dan 20% tidak menghasilkan zona hambat.

Hasil uji antibakteri senyawa flavonoid dari ekstrak daun jambu monyet terhadap bakteri *P. Aeruginosa, E. coli, dan S. typhi* tidak menghasilkan zona hambat, dapat dilihat pada gambar 3. Sedangkan hasil uji antibakteri senyawa tanin dari ekstrak daun jambu monyet terhadap bakteri *P. Aeruginosa, E. coli, dan S. typhi* juga tidak menghasilkan zona hambat. Hasil uji antibakteri senyawa tanin dari ekstrak daun jambu monyet dapat dilihat pada gambar 4.

Tanin dan flavonoid merupakan golongan senyawa fenol. Golongan fenol diketahui memiliki aktivitas antimokroba yang bersifat bakterisidal artinya zat yang bersifat membunuh bakteri, tidak hanya mencegah bakteri berkembang biak, namun tidak bersifat sporisidal artinya tidak menghancurkan spora [12]. Menurut Carpenter (2006) bahwa komposisi bakteri adalah 70% air dan 30% protein (RNA, DNA) diduga bahwa gugus OH di dalam senyawa flavonoid dapat mengkoagulasi protein pada bakteri, sehingga bakteri tidak dapat berkembang [13].

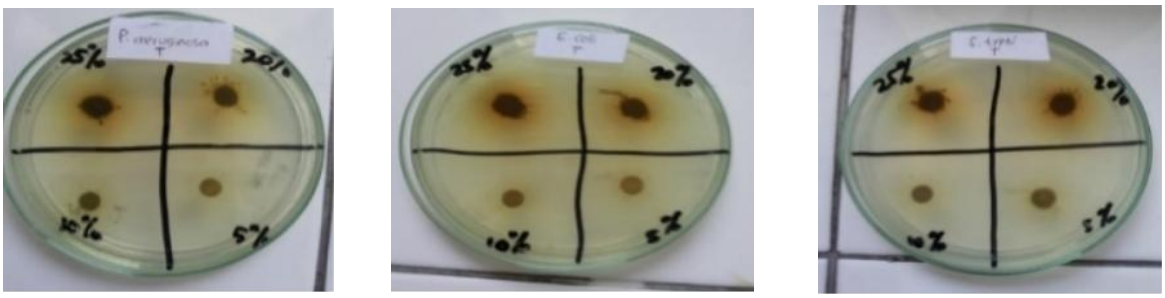
Pada penelitian ini aktivitas antibakteri senyawa flavonoid dan tanin dari ekstrak daun jambu monyet menghasilkan zona hambat hanya pada bakteri *S. aureus*, hal ini disebabkan karena *S. aureus* sebagai bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari mukopeptida, berbeda halnya dengan bakteri gram negatif memiliki dinding sel terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan bagian dalam, dan lapisan bagian luar yang terdiri dari dua lapisan yaitu lipopolisakarida dan lipoprotein. Kekakuan dan kekuatan dinding sel terutama disebabkan oleh serat – serat yang kuat umumnya tersusun dari heteropolimer yang disebut peptidoglikon atau mukopeptida. Serat – serat ini membentuk anyaman yang kuat. Anyaman ini tidak merupakan struktur yang padat (solid), sehingga tidak menghalangi masuknya air, zat-zat makanan seperti mineral, glukosa asam amino, dan bahkan molekul – molekul organik yang lebih besar [9]. Sehingga sel nya akan mudah terdenaturasi oleh senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak daun jambu monyet dan menghasilkan diameter daya hambatnya besar.

Aktivitas antibakteri flavonoid total lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antibakteri tanin total, hal ini disebabkan karena adanya hubungan struktur dengan aktivitas. Menurut Kuntz dkk (1999) perbedaan struktur akan mempengaruhi aktivitas, senyawa tanin memiliki struktur yang lebih besar dibandingkan dengan flavonoid sehingga untuk berikatan dengan gugus aktif akan lebih sukar disebabkan adanya rintangan sterik dari struktur tanin itu sendiri [14].



A **B** **C**

Gambar 3. Zona hambat dari flavonoid total daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*. L) terhadap (a) bakteri *P. Aeruginosa* (b) bakteri *E. coli* (c) bakteri *S. typhi*



Gambar 4. Zona hambat dari tanin total daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*. L) terhadap (a) bakteri *P. Aeruginosa* (b) bakteri *E. coli* (c) bakteri *S. typhi*

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan terhadap ekstrak daun jambu monyet (*Anacardium occidentale*. L) dapat disimpulkan bahwa :
Aktivitas antibakteri flavonoid total dan tanin total dengan metode difusi agar diperoleh zona hambat hanya pada *S. aureus*, hal ini disebabkan karena dinding sel *S. aureus* terdiri dari mukopeptida yang tidak menghalangi masuknya air, zat – zat makanan dan molekul – molekul organik yang besar, sehingga sel nya akan mudah terdenaturasi oleh senyawa fenol.

Aktivitas antibakteri flavonoid total dan tanin total dengan metode difusi agar diperoleh zona hambat hanya pada *S. aureus,* menghasilkan diameter daya hambat berkisar 10 – 20 pada konsentrasi 10%, 20%, dan 25% yang menunjukkan senyawa flavonoid dan tanin memiliki daya antibakteri yang kuat. Sedangkan pada konsentrasi 5% flavonoid dan tanin memiliki daya antibakteri sedang.

REFERENSI

[1] R. Weni, *Ensiklopedia Flora Khas Indonesia*. Jakarta: PT Mediantara Semesta, 2012.

[2] O. O. Ajileye, E. M. Obuotor, E. O. Akinkunmi, and M. A. Aderogba, “Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from Anacardium occidentale L. (Anacardiaceae) leaf extract,” *J. King Saud Univ. - Sci.*, vol. 27, no. 3, pp. 244–252, 2015, doi: https://doi.org/10.016/j.jksus.2014.12.04.

[3] A. A. Dahlia and Hasnawati, “Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale L .),” *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 1, no. 1, pp. 24–30, 2012.

[4] I. Fidriany, K. Ruslan, and J. Saputra, “Antioxidant Activities of Different Polarity Extracts From Cashew (Anacardium Occidentale L.) Leaves and Isolation of Antioxidant Compound,” *J. Med. Planta*, vol. 2, no. 1, p. 246783, 2012.

[5] D. Sulistyawati and S. Mulyati, “Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale, L) Terhadap Candida albicans,” *Biomedika*, vol. 2, no. 1, pp. 47–51, 2009.

[6] R. Nursanty and Y. Yunita, “The Potent of Methanol Extracts Of Cashew (Anacardium occidentale. L) Againts Methicilin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA),” *J. Nat.*, vol. 12, no. 2, pp. 40–43, 2012.

[7] W. C. Evans and G. E. Trease, *Pharmacognosy*, 12th ed. London : Baillière Tindall, 1983.

[8] E. Hayet *et al.*, “Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of Retama raetam (Forssk.) Webb flowers growing in Tunisia,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 24, no. 12, pp. 29–33, 2008.

[9] J. . Harborne, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: ITB, 1996.

[10] K. Irianto, *Mikrobiologi Menguak Mikroorganisme*, Satu. Bandung: Penerbit Yrama Widya., 2006.

[11] W. W. Davis and T. R. Stout, "Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error," *Appl. Microbiol.*, vol. 22, no. 4, pp. 659–665, Oct. 1971, doi: 10.1128/am. 22.4.659-665.1971.

[12] P. Pratiwi, *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga, 2006.

[13] P. L. Carpenter, *Microbiology*, Second. Philadelphia. USA: W.B. Saunders Company, 1967.

[14] S. Kuntz, U. Wenzel, and H. Daniel, "Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines.," *Eur. J. Nutr.*, vol. 38, no. 3, pp. 133–142, Jun. 1999, doi: 10.1007/s 003940050054.