

UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) SEDIAAN GEL TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes*

Selvi Marcellia¹, Tutik¹, Sukma Romadhon¹

ABSTRACT

Acne was a skin problem that often experienced by people especially teenagers. Acne caused by the bacterium *Propionibacterium acnes*. Robusta coffee leaf has anti-acne properties. Active substances in robusta coffee leaves can be obtained by extraction using percolation method with 96% ethanol solvent. The percolation method was more effective than the maceration method because it produced a more perfect yield. The phytochemical test showed that the positive robusta coffee leaf extract contains alkaloids, tanins, flavonoids and saponin. Robusta coffee extract obtained was made in a gel preparation with a concentration of 0,1%, 0,5% 1% and 2%. Gel evaluation included the spread ability test, adhesion test, homogeneity test, pH test, and organoleptic. The effectiveness of the highest inhibition zone formed at a concentration of 2% of 28.38%. Antibacterial test results were analyzed using ANOVA. The result of statistical analysis showed that there were significant inhibitory zones $p < 0,005$ differences between all concentrations of robusta coffee extract. The higher the concentration of robusta coffee extract. The wider the inhibition zone diameter. Gel of robusta coffee extract was effective inhibition acne bacterium *Propionibacterium acnes*.

Keyword : *Propionibacterium acnes*, *acnes*, extract robusta coffee.

ABSTRAK

Jerawat merupakan masalah kulit yang sering dialami oleh masyarakat terutama usia remaja. Jerawat disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes*. Daun kopi robusta memiliki khasiat sebagai anti jerawat. Zat aktif pada daun kopi robusta dapat diperoleh dengan ekstraksi menggunakan metode perkolasi dengan pelarut etanol 96%. Metode perkolasi lebih efektif dibandingkan dengan metode maserasi karena menghasilkan rendemen yang lebih sempurna. Pada uji fitokimia menunjukkan bahwa didalam ekstrak daun kopi robusta positif mengandung alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin. Ekstrak daun kopi robusta yang diperoleh dibuat dalam sediaan gel dengan konsentrasi 0,1%, 0,5% 1% dan 2%. Evaluasi gel meliputi uji daya sebar, uji daya lekat, uji homogenitas, uji pH dan uji organoleptis. Uji daya hambat gel ekstrak daun kopi robusta menggunakan metode difusi sumuran. Efektifitas zona hambat tertinggi yang terbentuk pada konsentrasi 2% sebesar 28.38%. Hasil uji antibakteri dianalisis menggunakan ANOVA. Hasil analisis statistik menunjukkan ada perbedaan zona hambat yang signifikan yaitu nilai $p = < 0,005$ antara seluruh konsentrasi gel ekstrak daun kopi robusta. Semakin tinggi konsentrasi gel ekstrak daun kopi robusta maka semakin luas diameter zona hambat. Gel ekstrak daun kopi robusta efektif dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*.

Kata kunci : *Propionibacterium acnes*, Jerawat, Gel ekstrak daun kopi robusta

PENDAHULUAN

Jerawat merupakan penyakit inflamasi kronik yang terjadi pada unit pilosebaceus. Penyakit ini terjadi terutama pada usia dewasa muda dan dapat sembuh sendiri. Jerawat juga merupakan penyakit multifaktorial yang berkembang di dalam folikel sebaceus (Takanori et al., 2005).

Salah satu penyebab jerawat yaitu bakteri *Propionibacterium acne*. Bakteri ini termasuk bakteri gram positif berbentuk batang, yang merupakan flora normal kulit, namun pada kondisi tertentu bakteri menimbulkan jerawat. Bakteri ini mengeluarkan enzim hidrolitik menyebabkan kerusakan folikel pilosebacea dan menghasilkan lipase, hialuronidase, protease, lesitinase, dan neuramidase yang menimbulkan peradangan jerawat.

Sediaan anti jerawat yang banyak beredar di pasaran mengandung antibiotik sintetik penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan resistensi bahkan kerusakan organ dan imunosupresi (Fissy et al., 2014).

Hal ini mendorong untuk penggunaan antibakteri dari bahan alam, Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai

antibakteri yaitu daun kopi robusta (*Coffea canephora*).

Penelitian yang telah dilakukan bahwa daun kopi robusta dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan etanol 96%. Hasil penelitian menunjukkan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri terbaik terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 1000 ppm yaitu dengan efektifitas antibakterinya sebesar 0,549 (Muslim dan Dephinto, 2017). Selain maserasi, cara ekstraksi tanpa pemanasan juga bisa menggunakan metode perkolasi

Bentuk sediaan gel lebih baik digunakan pada pencegahan jerawat daripada bentuk sediaan krim, karena sediaan gel dengan pelarut yang polar lebih mudah dibersihkan dari permukaan kulit setelah pemakaian dan tidak mengandung minyak yang dapat meningkatkan keparahan jerawat (Sasanti et al., 2012).

Berdasarkan uraian di atas akan dilakukan penelitian mengenai ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan metode perkolasi kemudian hasil ekstraksi dibuat gel. Gel yang diperoleh diuji efektifitasnya terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan metode sumuran.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian efektifitas ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai anti jerawat dalam sediaan gel terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* adalah lemari pendingin, hotplate, autoclave, jarum ose, pinset, lidi kapas steril, cawan petri, bulp, pipet ukur, api spitus, wadah maserasi, incubator, alat-alat gelas, dan rak, batang pengaduk, jangka sorong, neraca analitik dan rotavapor.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah sampel daun kopi robusta (*Coffea canephora*), air suling, akuades, MHA, propilen glikol, aluminium foil, etanol 96%, FeCl₃, H₂SO₄, HCl, gliserin, alginat, metil paraben, dan trietanolamin.

Prosedur penelitian

Preparasi Sampel

Pada penelitian ini tanaman kopi robusta yang diambil adalah daun. Daun kopi robusta dikeringkan selama 15 hari, setelah dikeringkan kemudian diserbukan dengan cara di blender.

Skrining Fitokimia

1. Uji flavonoid

Beberapa mL ekstrak sampel ditambahkan dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5

mL ditambahkan 0.05 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Kemudian dikocok dengan kuat. Uji positif ditunjukkan dengan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harbone, 1985).

2. Uji saponin

Beberapa mL ekstrak sampel ditambahkan dengan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Apabila busa yang terbentuk tetap stabil selama kurang lebih 10 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Harbone, 1987).

3. Uji Tanin

Beberapa mL Ekstrak sampel, ditambahkan dengan 10 tetes FeCl₃ 10%. Ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Harbone, 1987).

4. Uji alkaloid

Beberapa mL Ekstrak sampel ditambahkan dengan 2 mL kloroform dan 2 mL amonia lalu disaring. Filtrat kemudian ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipisahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing 2.5 mL ketiga larutan ini dianalisis dengan pereaksi Mayer, Dragendroff dan Wegner sebanyak 4-5 tetes. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid. (Harbone, 1987).

Formulasi sediaan gel

Tabel 1. Formulasi gel

Bahan	Formulasi Konsentrasi				Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Fungsi
	I	II	III	IV			
Ekstrak Daun Kopi Robusta	0,1 %	0,5%	1%	2%	0%	Gel Komersial (medi-klin gel)	Zat Aktif
Sodium Alginat	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g		<i>Gelling agent</i>
TEA	1 mL	1 mL	1 mL	1mL	1 mL		Zat Tambahan
Gliserin	6 g	6 g	6 g	6 g	6 g		Humektan
Metil Paraben	0,03 g	0,03 g	0,03 g	0,03 g	0,03 g		Pengawet
Akuades	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL		Pelarut

Evaluasi Gel

1. Uji organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi pengamatan kejernihan, warna dan bau (Ashar, 2016).

2. Uji homogenitas

Sediaan gel yang dihasilkan dioleskan pada obyek glass kemudian diamati apakah terdapat bagian-bagian yang tidak tercampurkan dengan baik (Ashar, 2016).

3. Uji daya sebar

Penyebaran diukur pada setiap penambahan beban, saat sediaan berhenti menyebar (dengan waktu tertentu secara teratur (Ashar, 2016).

4. Uji pH

Pengukuran pH menggunakan stik pH universal. pH gel yang baik yaitu 4,5-6,5 atau sesuai dengan pH kulit manusia (Ashar, 2016).

5. Uji daya lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan cara meletakkan gel (secukupnya) diatas obyek glass yang lain diatas gel tersebut. Lepaskan beban seberat 100 g dan catat waktunya hingga kedua obyek glass tersebut terlepas (Ashar, 2016).

Pembuatan Ekstrak dan Media *muller hinton agar (MHA)*

Metode ekstraksi yang dilakukan adalah metode perkolasi. Serbuk kering daun kopi robusta ditimbang sebanyak 500 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5 liter. (Raufi, 2016).

Media dasar dibuat dengan cara ditimbang muller hinton agar (MHA) Sebanyak 3,8 g (38 g dalam 1000 mL akuades) dan dimasukan kedalam erlenmayer 250 mL. Media dilarutkan dalam 100 mL akuadest kemudian dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga terlaru secara sempurna.

Selanjutnya larutan dimasukan kedalam autoclave pada suhu 121°C Selama 15 menit untuk disterikan. Dinginkan sampai 45-50°C. Setelah itu tuangkan media kedalam cawan petri hingga dingin (Misna dan Diana ,2016).

Uji Anti Bakteri

Pengujian uji daya hambat bakteri propionibacterium acnes dilakukan dengan menyiapkan cawan petri yang berisi 20 mL media MHA. Oleskan suspensi bakteri uji secara merata menggunakan cotton bud steril dengan cara swab dan biarkan permukaan agar mengering. Dibuat sumuran pada media agar dan beri label pada masing-masing lubang sumuran dengan masing-masing konsentrasi 0.1%, 0.5%, 1% dan 2% serta kontrol negatif dan positif. Setelah diberi label dimasukan konsentrasi gel kedalam lubang sumuran. Perlakuan ini

diulang sebanyak tiga kali. Cawan agar diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah di inkubasi, zona hambatan yang terbentuk diamati dan diukur (Misna dan Diana, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Skrining fitokimia

Identifikasi	Keterangan
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+

Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak kulit jeruk nipis positif mengandung senyawa alkaloid dengan ditandai terbentuk endapan, positif flavonoid dengan ditandai terbentuk endapan merah dibagian tengah tabung dan saponin ditandai dengan terbentuk busa dan tanin dengan ditandai warna hijau pekat kehitaman.

Uji evaluasi gel

Tabel 3. Hasil Evaluasi Sediaan Gel

Formula	Organoleptis			Evaluasi Ph	Homogenitas	Daya Sebar (cm)	Daya Lekat (detik)
	Warna	Bau	Bentuk				
F1	Bening	khas basis	Semi padat	5,9	Homogen	7	>4
F2	Bening Kecoklatan	khas asam daun kopi	Semi padat	5,5	Homogen	6	>4
F3	Bening Kecoklatan	khas asam daun kopi	Semi padat	5,3	Homogen	6	>4
F4	Bening Kecoklatan	khas asam daun kopi	Semi padat	5,2	Homogen	6	>4
F5	Bening Kecoklatan	khas asam daun kopi	Semi padat	5	Homogen	6	>4

Keterangan :

F1 : Kontrol Negatif (konsentrasi 0%)

F2 : Konsentrasi 0,1%

F3 : Konsentrasi 0,5%

F4 : Konsentrasi 1%

F5 : Konsentrasi 2%

Tabel 4. Hasil Efektifitas Zona Hambat dan Uji ANOVA Gel Ekstrak Daun Kopi Robusta

Variabel	Efektivitas Zona Hambat (%)			Rata-Rata E(%)±SB	Efektifitas ekstrak (%)	p-Value
	I	II	III			
F1	60,53	60,86	60,91	60,76±0,20	4,51	0,00
F2	69,09	69,18	69,06	69,11±0,06	12,86	
F3	76,86	76,75	76,85	76,82±0,06	20,57	
F4	84,62	84,55	84,73	84,63±0,09	28,38	
kontrol negatif	56,23	56,44	56,10	56,25±0,17	0,00	
kontrol positif	100	100	100	100,00±0,00	0,00	

Keterangan :

F1 : Konsentrasi 0,1%

F2 : Konsentrasi 0,5%

F3 : Konsentrasi 1%

F4 : konsentrasi 2%

Hasil uji daya hambat Pada Tabel 4 dari gel ekstrak daun kopi robusta didapatkan rata-rata zona hambat pada setiap perlakuan dengan F1, F2, F3, F4, kontrol positif dan kontrol negatif yaitu 10,31mm, 12,38mm, 14,32mm, 16,32mm 20,12mm dan 9,12mm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa gel ekstrak daun kopi

robusta yang memiliki efektifitas tertinggi yaitu konsentrasi 2% dengan efektifitas 28,38%. Jadi, semakin besar konsentrasi ekstrak daun kopi robusta bahan gel yang diujikan pada bakteri *Propionibacterium acnes* maka semakin besar efektifitas yang dihasilkan.

Tabel 5. Hasil Uji LSD (*Least Significance Different*)

Kelompok Perlakuan	Kelompok Perbandingan	P-Value
konsentrasi 0,1%	konsentrasi 0,5%	0,000*
	konsentrasi 1%	0,000*
	konsentrasi 2%	0,000*
	kontrol positif	0,000*
	kontrol negatif	0,000*
konsentrasi 0,5%	konsentrasi 1%	0,000*
	konsentrasi 2%	0,000*
	kontrol positif	0,000*
konsentrasi 1%	kontrol negatif	0,000*
	konsentrasi 2%	0,000*
	kontrol positif	0,000*
konsentrasi 2%	kontrol negatif	0,000*
	kontrol positif	0,000*

kontrol positif	kontrol negatif	0,000*
	kontrol negatif	0,000*

Keterangan * : signifikan

Uji Komparansi Ganda (LSD) pada Tabel 1.4 menunjukkan kelompok perlakuan apabila dibandingkan antara satu sama lain mempunyai perbedaan yang bermakna. Nilai $p < 0,001$ disebut bermakna, hal ini menjelaskan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada perbandingan efektifitas masing-masing kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian digunakan sampel daun kopi robusta (*coffea robusta*) yang diterminasi di Laboratorium FMIPA Universitas Lampung menurut sistem klafikasi (Norrving, Nilsson, & Cronquist, 1981). Determinasi bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian untuk menghindari kesalahan pengambilan sampel untuk analisis fitokimia.

Daun kopi robusta dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode perkolasi. Alasan digunakan metode perkolasi karena penarikan zat berkhasiat dari tumbuhan lebih sempurna dikarenakan adanya aliran cairan

penyari menyebabkan pergantian larutan yang terjadi dengan larutan konsentrasi dan keberadaan ruangan di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler tempat mengalir cairan penyari menyebabkan meningkatnya perbedaan konsentrasi.

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak daun kopi robusta menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.

Saponin diperiksa dengan melihat adanya busa yang bertahan 10 menit setelah pengocokan. Saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid dan tritepenoid sebagai gugus nonpolar. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri *Propionibacterium acnes*.

Flavonoid diperiksa dengan HCl untuk mendeteksi senyawa

yang mengandung inti benzopiranon. Warna mearah atau warna ungu yang terbentuk merupakan garam benzopirilium yang disebut juga garam flavylium (Achmad, 1996). Hasil pada penelitian ini terjadi pembentukan warna merah yang menandakan terdapatnya kandungan flavonoid.

Tanin diperiksa dengan melakukan penambahan larutan FeCl_3 pada larutan sampel dalam tabung reaksi. FeCl_3 ditambahkan untuk golongan tanin terhidrolisis akan menghasilkan warna biru kehitaman dan tanin terkondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman.

Alkaloid diperiksa dengan mereaksikan sejumlah ekstrak dengan HCl lalu diteteskan dengan pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Bauchardat hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan. Prinsip yang digunakan pada uji alkaloid yaitu reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan.

Ekstrak daun kopi robusta diformulasikan dalam bentuk sediaan gel anti jerawat terdiri dari 5 formulasi. Bahan yang digunakan dalam pembuatan gel anti jerawat meliputi zat aktif dari hasil ekstraksi daun kopi robusta, TEA (penstabil sediaan), *gelling agent* (natrium alginat), humektan

(gliserin), pengawet (metil paraben), dan pelarut (akuades).

Pada Tabel 2 menunjukkan gel yang dibuat berdasarkan formulasi yang sudah ditentukan, kemudian dilakukan pengujian evaluasi fisik sediaan seperti uji organoleptis, uji pH, uji daya sebar, dan homogenitas memiliki karakteristik sifat fisik gel yang baik. Pengamatan organoleptis dilakukan bertujuan untuk menilai mutu sediaan gel yang dibuat meliputi bentuk, warna, dan bau. Pengamatan oragoleptis pada semua sediaan gel pada semua sediaan gel ekstrak daun kopi robusta dengan masing-masing konsentrasi menunjukkan warna hijau kekuningan. Semakin tinggi konsentrasinya, semakin pekat warna yang dihasilkan. Sementara gel tanpa ekstrak (kontrol negatif) menunjukan warna bening.

Uji efektivitas daun kopi robusta sebagai anti jerawat dalam sediaan gel terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dilaksanakan di Laboratorium Poli Teknik Negri Lampung dengan menggunakan metode difusi sumuran secara *triplo* dengan konsentrasi gel 0,1%, 0,5%, 1%, 2%, kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Alasan dilakukan pengulangan secara *triplo* karena

agar mendapatkan data yang lebih akurat.

Aktivitas antibakteri ekstrak daun kopi robusta disebabkan karena adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak daun kopi robusta. Berdasarkan hasil fitokimia senyawa metabolit sekunder yang adapada ekstrak daun kopi robusta antara lain alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Perlakuan konsentrasi 2% memiliki efek terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan nilai rata-rata zona hambat sebesar 16,23mm dan efektifitas sebesar 28,38%.

Efektifitas kontrol negatif terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* didapatkan hasil sebesar 56,25%, alasan dapat menghambat karena formulasi kontrol negatif mengandung metil paraben dan gliserin. Metil paraben digunakan sebagai pengawet (*antipreservative*) dan membantu mencegah timbulnya jamur dan bakteri. Gliserin berfungsi sebagai humektan dan antimikroba.

Kategori daya hambat antibakteri menurut davis shout's terdiri dari 4 kategori zona hambat yaitu sangat kuat (>20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah (<5 mm). Berdasarkan

klasifikasi tersebut didapatkan hasil bahwa gel ekstrak daun kopi robusta pada konsentrasi 0,1% yaitu sebesar 10,31mm, konsentrasi 0,5% sebesar 12,38mm, konsentrasi 1% sebesar 14,32mm, konsentrasi 2% sebesar 16,23mm maka dapat digolongkan kuat, sedangkan pada kontrol negatif didapat hasil zona hambat sebesar 9,12mm termasuk golongan sedang dan kontrol positif didapatkan hasil sebesar 20,12mm termasuk golongan sangat kuat

Pada Tabel 4 uji ANOVA didapatkan bahwa nilai signifikan yang diperoleh yaitu 0,00 atau $p < 0,005$. Hal ini berarti terdapat perbedaan bermakna antara gel ekstrak daun kopi robusta terhadap masing-masing kontrol uji.

Berdasarkan Uji Analisa Statistika Kompransi Ganda (LSD) menunjukkan kelompok perlakuan apabila dibandingkan satu antara satu sama lain mempunyai perbedaan yang bermakna. Nilai $p < 0,05$ disebut bermakana, hal ini menjelaskan bahwa terdapat perbedaan bermakana pada rata-rata zona hambat masing-masing kelompok perlakuan. Hasil didapatkan bahwa konsentrasi 0,1% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *propinibacterium acnes* dan dapat disimpulkan Semakin tinggi

konsentrasi ekstrak daun kopi robusta pada sediaan gel semakin efektif zona hambat yang terbentuk disekitaran zona hambat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta*) yang diformulasikan dalam sediaan gel dilihat dari nilai $p < 0,005$ sehingga disimpulkan bahwa ekstrak daun kopi robusta (*coffea robusta*) efektif sebagai anti jerawat.
2. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta*) pada konsentrasi 0,1% dengan rata-rata zona hambat 10,31mm dengan efektifitas 4,51%. Semakin tinggi konsentrasi aktivitas daya hambat terhadap bakteri semakin besar.

DAFTAR PUSTAKA

Ashar M, 2016. Formulasi dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Daun Botto-Botto (*chromolaena odorata L*) Sebagai Obat Jerawat dengan menggunakan Variasi Konsentrasi Basis Karbopol. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kefarmasian

Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Samata-Gowa.

Fissy, N.O.S., Sari, P., Pratiwi, L. 2014. Efektifitas Gel Anti Jerawat Ekstrak Jahe Merah terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal193-201_Rafika_Sari_Jahe Merah.indd 2*.

Harbone, J. B. (1987). Metode Fitokimia: Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. *Jurnal Ed, 2, 47-109*.

Majidah, D., Fatmawati, A W.D., Gunaidi, A., 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L*) terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans* sebagai alternatif Obat Kumur. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Universitas jember.

Muslim Z, Dephinto Y. 2017 Perbandingan Efektifitas Antimikroba Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Dengan Variasi Pengeringan Terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Vol. 19 Suplemen 1*.

Misna, Diana, K. 2016 aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah. *Galerika journal of pharmacy vol. 2 No. 2. Hal 138 - 144*.

Norrving, B., Nilsson, B., & Cronquist, S. (1981). Cerebral Ischemic Symptoms In Carotid Artery Occlusion: Role Of Hemodynamic Factors. *Neurological research, 3(1), 125-138*.

Takanori Igarashi, Ko Nishino, and Shree K. Nayar. 2005. The Appearance of Human Skin. *Jurnal Department of*

*Computer Science Columbia
University New York, USA*