

**PERBEDAAN EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu L.*)**

**TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI**

**Study Eksperimental Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro**

**Karya Tulis Ilmiah**

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan

Untuk Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran



**Oleh**

**Ranangga Sidhiasto Prabowo**

**01.206.5257**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**2010**

**KARYA TULIS ILMIAH**  
**PERBEDAAN EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca*  
*catechu L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI**

**Study Eksperimental Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

**Ranangga Sidhiasto Prabowo**

**01.206.5257**

Telah dipertahankan di depan dewan penguji

Pada tanggal 1 Oktober 2010

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



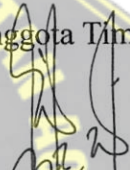
**dr. Masfiah**

Pembimbing II



**Dra. Endang Lestari, M.Pd., M.Pd.Ked.**

Anggota Tim Penguji



**dr. Ridha Wahyutomo**



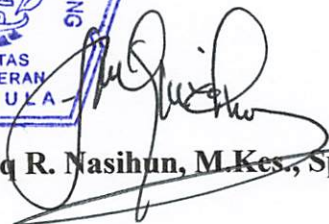
**dr. Hadi Sarosa, M.Kes**

**Semarang, Oktober 2010**

**Fakultas Kedokteran**

**Universitas Islam Sultan Agung**

**Dekan,**



**Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes., Sp.And**

## PRAKATA

Assalamu'alaikum. Wr. Wb

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena dengan rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan Judul **“PERBEDAAN EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI”** Study Eksperimental Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro.

Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah begitu banyak bantuan saran, ide, dan dorongan dari berbagai pihak yang membuat penyusun tetap bersemangat dan terus berusaha untuk menyelesaikan Tugas Akhir ini. Pada bagian ini penyusun menyampaikan ucapan terima kasih kepada Yang terhormat :

1. DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes. Sp.And, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan persetujuan untuk membuat Karya Tulis Ilmiah.
2. Ibu dr. Masfiah selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, masukan, perhatian dan bimbingan dalam pelaksanaan dan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Ibu Dra. Endang Lestari, M.Pd., M.Pd.Ked. selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak memberikan ilmu, waktu dan nasehat dalam penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
4. dr. Ridha Wahyutomo dan Alm. dr.H.M.Purnama selaku Dosen Penguji I yang telah memberikan saran dan kritik dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

5. dr. Hadi Sarosa, M.kes, selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan saran dan kritik dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Mba Ita sebagai analis mikrobiologi dan semua staff Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan kegiatan praktikum.
7. Kedua orang tuaku tercinta H. Suryo dan (alm) Mama Hj. Srihartati yang ikut membantu secara moral, spiritual dan materi namun tidak sempat merasakan kebahagiaan penulis dan kakakku Adhista Sinantya Prawestri yang selalu memberikan dukungan baik moril maupun materiil dan doa yang tak kunjung lepas menyertai penulis dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah.
8. Teman-temanku Adhistry, Ifan, Engkuz, Bose, Reza, Dj, Mida dan Reydi yang selalu tulus ikhlas mendukung dan membantu penulis. Tanpa Kalian Penulis takkan ada artinya.
9. Semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih jauh dari kesempurnaan mengingat keterbatasan penulis. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran untuk perbaikan dalam penulisan di waktu mendatang.

Harapan penulis semoga karya tulis ini bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Wassalamu'alaikum. Wr. Wb.

Semarang, Oktober 2010

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
INTISARI.....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	6
2.1.1 Taksonomi <i>Escherichia coli</i> .....	6
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi <i>Escherichia coli</i> .....	6
2.1.3 Struktur Bakteri.....	7
2.1.4 Pertumbuhan Bakteri.....	9



2.2 Pinang ( <i>Areca Catechu L.</i> ).....	10
2.2.1 Taksonomi .....	10
2.2.2 Kandungan Kimia Biji Pinang .....	11
2.2.3 Zat Aktif Biji Pinang.....	11
2.2.4 Efektivitas Biji Pinang dengang Kandungan Zat Aktif Tanin dan Flavonoid Terhadap Bakteri Gram Negativ <i>E. Coli</i> .....	12
2.3 Kerangka Konsep Dan Teori.....	14
2.3.1 Kerangka Teori.....	14
2.3.2 Kerangka Konsep.....	15
2.3.3 Hipotesis.....	15
<b>Bab III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Jenis Penelitian.....	16
3.2 Variabel dan Definisi Operasional .....	16
3.3 Populasi dan Sampel .....	17
3.4 Instumen dan Bahan Penelitian .....	18
3.5 Cara Penelitian .....	19
3.6 Tempat Dan Waktu Penelitian .....	24
3.7 Analisis .....	24
3.8 Kerangka Kerja.....	25
<b>Bab IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Hasil Penelitian.....	27
4.2. Pembahasan.....	28

**Bab V SIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan.....	31
5.2. Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN	



## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Tabel 1 Diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstra biji pinang dan gentamycin terhadap kematian <i>Escherichia Coli</i> .....	28





## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Gambar 1 Gram positif (+).....	7
2. Gambar 2 Gram negative (-).....	8
3. Gambar 3 Alat penelitian.....	34
4. Gambar 4 Cara kerja.....	36
5. Gambar 5 Hasil Penelitian.....	36



## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Lampiran 1 Surat Keterangan Penelitian dan Lampiran Hasil Penelitian dari Laboratorium Mikrobiologi UNISSULA (Universitas Islam Sultan Agung Semarang).....	38



## INTISARI

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tumbuhan yang bermanfaat bagi kesehatan, misalnya daun mahkota dewa, sambiloto, sirih merah dan sebagainya. Zat aktif yang terkandung dalam tumbuhan tersebut antara lain seperti tanin dan flavonoid. Zat aktif tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas ekstrak biji pinang (*Areca Catechu L.*) terhadap kematian *Eshcerichia coli* secara in vitro.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only control groups design* dengan metode difusi. Sampel terdiri dari kelompok I kontrol positif (gentamycin), kelompok II ekstrak biji pinang 50%, kelompok III 25%, kelompok IV 12,5%, kelompok V 6,25%, kelompok VI 3,125% dan kelompok VII kontrol negatif (aquadest). Pertumbuhan kuman diketahui dengan menghitung jumlah koloni pada media *Mac conkey* diencerkan dengan standar Mac Farlan III. Data dianalisis secara deskriptif.

Rerata jumlah koloni kelompok I : 16,6 dan kelompok lainnya : 0. Hasil uji Semakin luas zona hambat yang terbentuk maka perlakuan yang diberikan semakin efektif.

Ekstrak biji pinang (*Areca Catechu L.*) tidak efektif terhadap kematian *Eshcerichia coli* secara invitro.

Kata kunci : biji pinang (*Areca Catechu L.*), *Eshcerichia coli*

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tumbuhan yang bermanfaat bagi kesehatan, misalnya daun mahkota dewa, sambiloto, sirih merah dan sebagainya. Zat aktif yang terkandung dalam tumbuhan tersebut antara lain seperti tanin dan flavonoid. Zat aktif tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu tanaman yang diyakini bermanfaat bagi kesehatan adalah pinang (*Areca Catechu L.*). Sulistyorini dan Handayani (2008) menyatakan bahwa biji buah pinang mengandung alkanoid seperti arekolin, arekolidine, arekain, guvakolin, isoguvasine, tanin terkondensasi, tanin terhidrolisis, flavonoid, senyawa fenolik, asam galat, getah, ligin. Menurut penelitian dari Farida (2006) Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak sirih merah yang mengandung tanin terhadap bakteri gram positif (*staphylococcus*) cenderung pada kadar 25% sementara untuk bakteri gram negatif (*E. coli*) cenderung pada 6,25%. Tetapi Masduki (1996), mengatakan bahwa pada ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 20% *E. coli* tetap mampu tumbuh, mungkin karena *E. coli* mempunyai sifat permeabilitas terhadap zat terlarut bermolekul rendah sehingga zat aktif yang ada tidak dapat masuk dalam sel bakteri dan akibatnya bakteri

tidak mengalami hambatan. Perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan efektivitas antibakteri biji pinang karena hasil berbeda – beda tersebut.

Pinang (*Areca Catechu L.*) adalah tanaman yang termasuk famili palmae yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional secara turun – temurun (Syahid dan Kristiana, 2008). Hermawan (2007) menyatakan bahwa saponin dan tanin bersifat sebagai antiseptik pada luka permukaan. Astri (2007) telah membuktikan bahwa ekstrak daun Mahkota Dewa dengan kandungan alkaloid, flavanoid, senyawa polisenol, saponin dan tanin pada konsentrasi 50%, dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*, sedangkan Masniari (2003) menyatakan bahwa ternyata konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang mengandung zat aktif flafonoid, andrografolide, alkane, keton, aldehyd, mineral, tarida yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram (-) seperti *Pasteurella sp* dan *E. Coli* pada konsentrasi 25%, sedangkan untuk ekstrak daun sirih merah yang mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, senyawa polifenolat, minyak atsiri pada konsentrasi 6,25% efektif untuk menghambat bakteri *E. coli* (Farida, 2006).

Di Indonesia angka kesakitan diare mencapai 200 sampai 400 kejadian tiap 1000 penduduk setiap tahun. Sebagian besar (70%-80%) penderita adalah anak balita (Harianto, 2004). Umar Zein dkk (2004) menyebutkan bahwa di negara berkembang, diare infeksi menyebabkan kematian sekitar 3 juta penduduk setiap tahun yang disebabkan oleh bakteri *E.coli*. Salah satu alternative obat diare adalah dengan menggunakan tumbuhan obat, misalnya

sabut tanaman kelapa. Menurut Marline (2004) sabut kelapa dapat dimanfaatkan sebagai obat karena diduga mengandung tanin, yang merupakan senyawa kimia yang kompleks, terdiri dari beberapa senyawa polifenol. Dengan menggunakan media *Mueller Hinton broth*, karena media ini sudah luas digunakan secara internasional dalam metode *broth dilution*. *Mueller Hinton Broth* merupakan media tumbuh yang baik bagi hampir semua bakteri patogen, selain itu media tersebut menunjukkan reproduktibilitas yang baik dan memberikan pertumbuhan yang memuaskan dari sebagian besar bakteri patogen (EUCAST, 2005). Lain halnya dengan Budiyan (2009) salah satu alternatif tanaman tersebut adalah cermai yang mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. Zat – zat tersebut merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk meneliti apakah ada perbedaan efektifitas anti bakteri ekstrak biji pinang yang mengandung tannin dan flavonoid terhadap pertumbuhan bakteri *E. Coli* dengan antibiotik yang digunakan sebagai control positif pada penelitian ini adalah gentamycin. Gentamycin adalah antibakteri yang mampu terikat secara irreversible pada unit 30S ribosom dan membekukan proses inisiasi kompleks dari pembentukan protein pada sel, sehingga mematikan sel muai terjadi. Alasan ketertarikan terhadap biji pinang karena salah satu kandungannya sama dengan tanaman yang lain yaitu tanin dan flavonoid, sedangkan ketertarikan terhadap *E. Coli*



karena besarnya masalah yang ditimbulkan oleh bakteri ini. Penulis tertarik untuk mengetahui efektifitas ekstrak biji pinang pada konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125% dengan rentang tertinggi sama seperti penelitian Astri (2007) yaitu konsentrasi 50% dengan rentang terendah seperti penelitian Farida (2006) pada konsentrasi 3,125%.

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut : “ Apakah ada perbedaan efektivitas antibakteri ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.”

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

### 1.3.2. Tujuan khusus

Mengetahui perbedaan efektivitas antibakteri ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Praktisi**

Untuk menambah pembendaharaan pengetahuan tentang pengobatan tradisional yang dapat digunakan di masa yang akan datang, khususnya tentang efektivitas ekstrak biji pinang terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* (*E. coli*) secara *in vitro*.

### **1.4.2 Manfaat Teoritis**

Sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya, terutama penelitian tentang efektivitas antibakteri ekstrak biji pinang.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Escherichia coli*

##### 2.1.1 Taksonomi *Escherichia coli*

Klasifikasi *E.coli* menurut (Jawetz dkk, 2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Procaryotae</i>
Divisi	: <i>Gracilicutes</i>
Classis	: <i>Schotobacteria</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Familia	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spasies	: <i>E.coli</i>

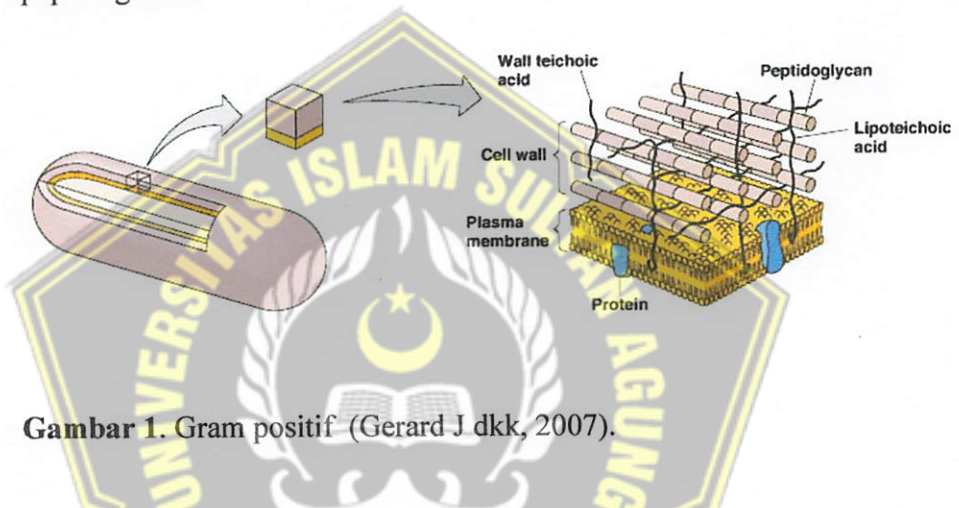
##### 2.1.2 Morfologi dan Identifikasi *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah salah satu group koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 44°C, bersifat indol positif tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37°C, bersifat merah metal (*methyl red*) positif, voges-proskauer (VP) negatif. Pada biakan *E.coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan tumbuh pada pembenihan biasa, misalnya pada biakan cair, agar gizi pembenihan Mac Conkey dan agar darah. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37°C (Farida, 2006).

### 2.1.3 Struktur Bakteri

Secara umum berdasarkan pengecatan, bakteri dibedakan menjadi gram (+) dan gram (-). Keduanya berbeda jauh dari struktur dinding sel.

Pada bakteri gram paling positif, dinding sel terdiri dari banyak lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur, tebal dan kaku. Dengan menggunakan kontras, dinding sel gram negatif hanya berisi lapisan tipis peptidoglikan.

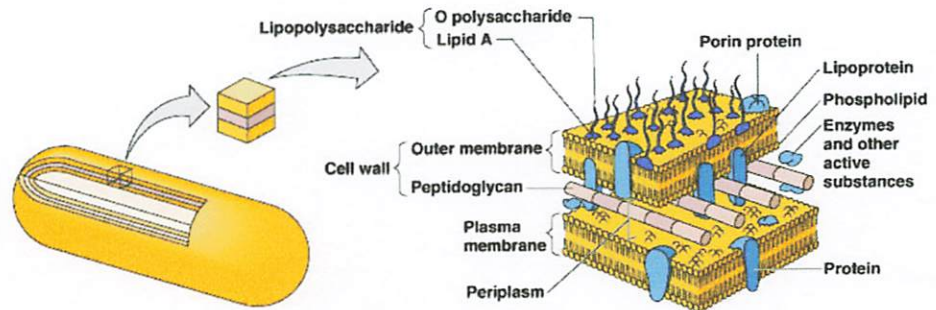


**Gambar 1.** Gram positif (Gerard J dkk, 2007).

Selain itu, dinding sel bakteri gram positif mengandung *asam teichoic*, yang terdiri terutama dari alkohol (seperti gliserol atau ribitol) dan fosfat. Ada dua kelas asam teichoic: asam lipoteichoic, yang membentang lapisan peptidoglikan dan terkait dengan membran plasma, dan asam dinding teichoic, yang terkait dengan lapisan peptidoglikan. karena muatan negatif mereka (dari gugus fosfat), asam teichoic mengikat dan mengatur pergerakan kation (ion positif) ke dalam dan keluar dari sel. Mereka juga berperan dalam pertumbuhan sel, mencegah kerusakan dinding sel lisis dan mungkin akhirnya, asam teichoic menyediakan spesifisitas antigenik dan dengan demikian memungkinkan untuk



identifikasi dengan tes laboratorium tertentu. sama, dinding sel bakteri gram positif (+) juga ditutupi dengan berbagai polisakarida.



**Gambar 2.** Gram negative (Gerard J dkk, 2007).

Dinding sel bakteri gram negative terdiri dari satu atau lapisan sangat sedikit dari peptidoglikan dan membran luar. Peptidoglikan yang terikat pada lipoprotein (lipid kovalen dihubungkan dengan protein) pada membran luar dan dalam periplasm serta gel seperti cairan antara membran luar dan membran plasma. Periplasma berisi konsentrasi tinggi degradatif enzim dan protein transport. Dinding sel gram negatif tidak mengandung asam teichoic. Karena dinding sel bakteri gram negatif hanya berisi sejumlah kecil peptidoglikan, mereka lebih rentan terhadap kerusakan mekanis. Membran luar sel gram negatif terdiri dari lipopolysaccharides (LPS), lippoproteins dan fosfolipid. Membran luar memiliki fungsi khusus. Beberapa ion muatan negatif merupakan faktor penting dalam menghindari fagositosis dan tindakan komplemen (lisis sel dan meningkatkan fagositosis) dari bakteri. Membran luar juga menyediakan penghalang untuk antibiotik tertentu (misalnya penisilin),

enzim digestive seperti lysoyme, deterjen, logam berat, garam empedu, dan pewarna tertentu.

Sifat permeabilitas membran disebabkan karena lapisan protein membentuk purin (saluran). Porin dapat mengatur molekul – molekul seperti nukleotida, disakarida, besi peptida asam amino, vitamin B<sub>12</sub>, dan zat besi masuk kedalam sel.

LPS komponen membran luar menyediakan dua karakteristik penting dari bakteri gram negatif. Pertama bagian polisakarida dapat terdiri dari gula, yang disebut polisakarida O, yang berfungsi sebagai antigen dan berguna untuk membedakan jenis bakteri gram negatif. misalnya patogen E.coli O157: H7 dibedakan dari serotonin lain dengan uji laboratorium dan uji antigen tertentu. Peran ini sebanding dengan asam teichoic dalam sel gram positif. kedua, porion, lipid dari lipopolisakarida, (A lipid) sebagai endotoksin yang beracun ketika dalam aliran darah host atau saluran pencernaan dan dapat menyebabkan demam dan shock (Gerard J dkk, 2007).

#### **2.1.4 Pertumbuhan bakteri**

- Media : Media Muller Hinton dan agar-agar telah dipilih untuk pengujian aerobik dan fakultatif anaerob bakteri yang terisolasi. Media ini untuk formulasi yang paling mendekati kriteria untuk media yang direproduksi.
- Temperatur : piring dan tabung sebaiknya diinkubasi secara rutin di 35° C.



- Suasana : media yang diinkubasi di dalam inkubator udara ambien. Sebuah inkubator dengan CO<sub>2</sub> yang banyak tidak boleh digunakan untuk uji rutin.
- Waktu inkubasi: waktu inkubasi selama 24 jam untuk pertumbuhan optimum *E.coli* media Mac conkey.
- pH: pemberian pH media harus antara 7,2 dan 7,4 pada suhu kamar.

( Elmer W dkk, 1988)

## 2.2. Pinang (*Areca Catechu L.*)

### 2.2.1 Taksonomi

Taksonomi tanaman pinang adalah :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledonae</i>
Ordo	: <i>Arecales</i>
Famili	: <i>Areaceae</i>
Genus	: <i>Areca</i>
Species	: <i>Areca catechu</i>

(Sulistyorini dan Handayani 2008)

## 2.2.2 Kandungan Kimia Biji Pinang

Secara umum terdapat kandungan sejumlah alkaloid turunan yuridin yaitu arekolin (*arechaidin methyl ester*), dan guvacoline (*guvacine methyl ester*). Total alkaloid berkisar diatas 1,45%. Arekolin merupakan alkaloid yang paling aktif. Areca juga berisi tanin sekitar 15% (Masduki, 1996). Biji pinang (*Areca Catechu L.*) juga mengandung alkaloid, saponin, dan flavonoid (Anonim, 2008). Biji buah pinang mengandung alkaloid, seperti arekolin (C<sub>8</sub> H<sub>13</sub> N<sub>2</sub>), arekolidine, arekain, guvakolin, guvasine dan isoguvasin, tanin terkondensasi, tanin terhidrolisi, flavonoid, senyawa fenolik, asam galat, getah, lignin, minyak menguap dan tidak menguap, serta garam (Sulistiyorini & Handayani, 2008).

## 2.2.3 Zat Aktif biji pinang (*Areca cetachu*)

### 2.2.3.1 Tanin

Tanin adalah suatu nama diskriptif umum untuk satu grup substansi fenolik polimer yang mampu menyamak kulit atau mempresipitasi gelatin dari cairan, suatu sifat yang dikenal sebagai astringensi. Mereka ditemukan hampir di setiap bagian dari tanaman : kulit, kayu, daun, buah, biji, dan akar. Mereka dibagi kedalam dua grup, tanin yang dapat dihidrolisi dan tanin terkondensasi. Tanin dibentuk dengan kondensasi derivatif flavan yang ditransportasikan ke jaringan kayu dari tanaman. Tanin mungkin juga dibentuk dengan polimerasi unit quinon.

Salah satu aksi molekul tanin adalah membentuk kompleks dengan protein melalui kekuatan non – spesifik seperti ikatan hidrogen dan efek hidrofobik sebagaimana pembentukan ikatan kovalen. Cara kerja aksi antimikrobal tanin berhubungan dengan kemampuan tanin untuk meninaktivasi adhesin mikroba, enzim, protein, transport cell envelope. Mereka juga membentuk kompleks dengan polisakarida (Naim, 2004).

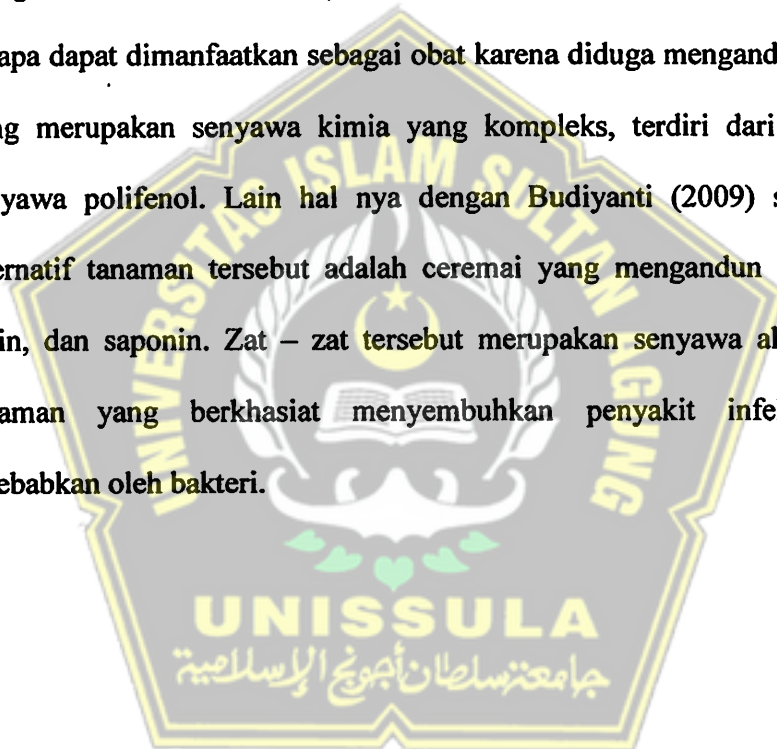
#### 2.2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Golongan flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae (Dinata, 2008). Aktivitas mereka disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak membran mikroba (Naim, 2004).

#### 2.2.4 Efektivitas biji pinang dengan kandungan zat aktif tanin dan flavonoid, terhadap bakteri gram negatif (*E. coli*)

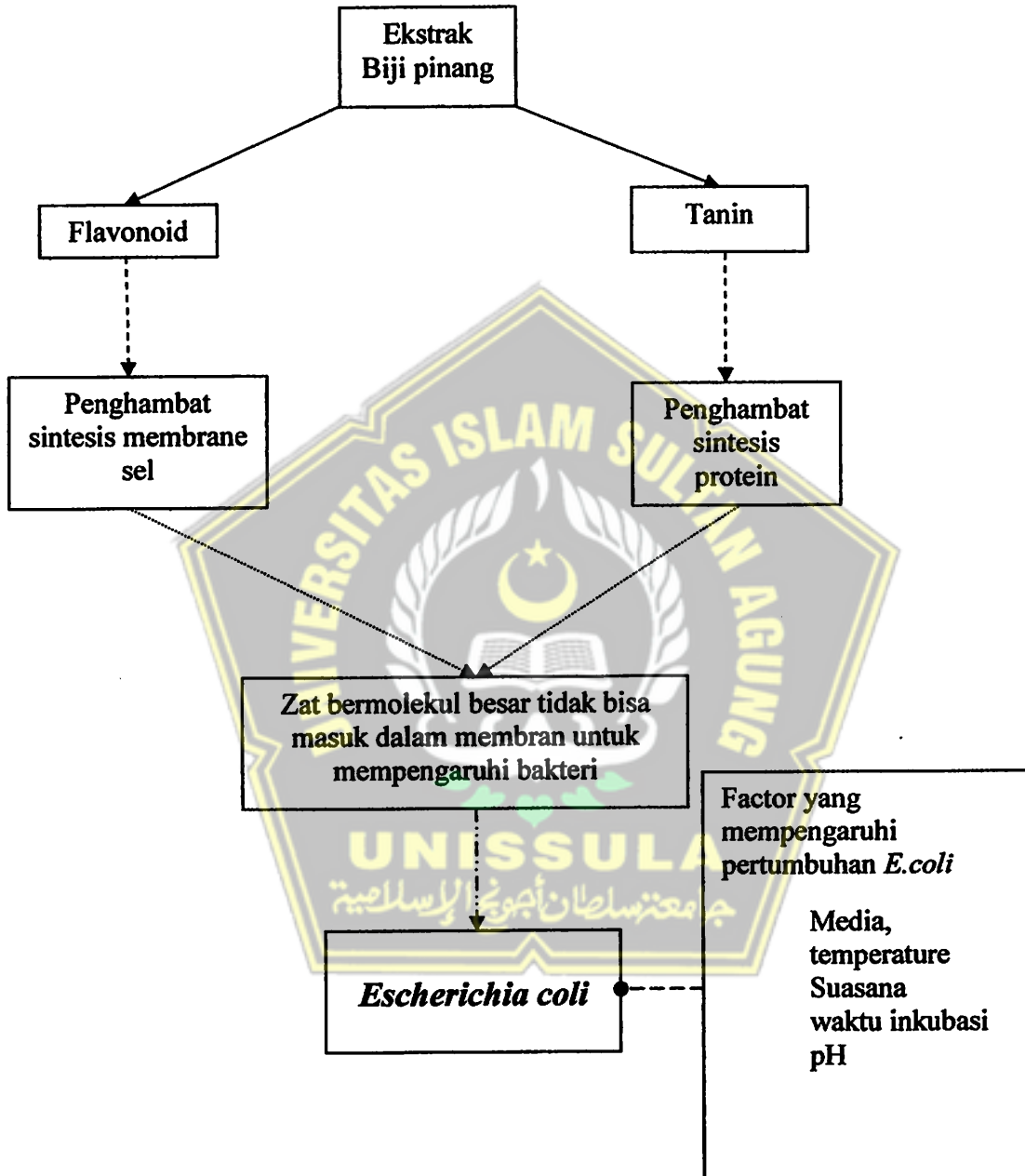
Berbagai tanaman misalnya mahkota dewa, sambiloto, dan sirih merah mampu menghambat kuman gram (-). Astri (2007) telah membuktikan bahwa ekstrak daun Mahkota Dewa dengan kandungan alkaloid, flavanoid, senyawa polisenol, tanin pada konsentrasi 50%, dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*, sedangkan Masniari (2003)

menyatakan bahwa ternyata konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang mengandung zat aktif flafonoid, andrografolide, alkane, keton, aldehid, mineral, tarida yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram (-) seperti *Pasteurella sp* dan *E. Coli* pada konsentrasi 25%, sedangkan untuk ekstrak daun sirih merah yang mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, senyawa polifenolat, minyak atsiri pada konsentrasi 6,25% efektif untuk menghambat bakteri *E. coli* (Farida, 2006). Menurut Marline (2004) sabut kelapa dapat dimanfaatkan sebagai obat karena diduga mengandung tanin, yang merupakan senyawa kimia yang kompleks, terdiri dari beberapa senyawa polifenol. Lain hal nya dengan Budiyaniti (2009) salah satu alternatif tanaman tersebut adalah ceremai yang mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. Zat – zat tersebut merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri.



2.3. Kerangka Konsep dan Teori

2.3.1 Kerangka Teori



Keterangan :

—————> : mengandung

-----> : akibat/efek

-----> : bekerja/ cara kerja/ system

●----- : mempengaruhi pertumb.

### 2.3.2 Kerangka Konsep



### 2.3.3 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah “efektivitas ekstrak biji pinang (*Areca Cetechu L.*) terhadap pertumbuhan *Escherchia coli* secara *in vitro*”.





## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium, dengan rancangan *post test only control group design*.

#### 3.2. Variabel dan Definisi Operasional

##### 3.2.1. Variabel

###### 3.2.1.1. Variabel bebas

Ekstrak biji pinang

###### 3.2.1.2. Variabel tergantung

Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*)

###### 3.2.1.3. Variabel terkontrol

3.2.1.3.1. Nutrien: dikendalikan dengan media pertumbuhan yang sesuai untuk *E.coli* yaitu media Mac conkey.

3.2.1.3.2. Temperatur: dikendalikan dengan menggunakan alat inkubator dengan suhu 37 °C untuk pertumbuhan optimum *E.coli*.

3.2.1.3.3. Waktu inkubasi: dikendalikan dengan waktu inkubasi selama 24 jam untuk pertumbuhan optimum *E.coli* media Mac conkey.

3.2.1.3.4. pH: dikendalikan dengan pH yang sesuai dengan pertumbuhan optimum *E.coli* pada media Mac conkey, yaitu 7,4.

### 3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1 Ekstrak biji pinang adalah ekstrak yang dibeli di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dengan konsentrasi 100% yang kemudian diencerkan dengan aquadest steril sesuai konsentrasi yang diinginkan yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125%.

Skala pengukuran variabel adalah skala ordinal.

3.2.2.2 Pertumbuhan bakteri *E.coli* adalah terbentuk koloni *E.coli* yang dinilai dengan mengukur besarnya diameter zona hambat yang terlihat jernih di sekeliling cakram pada media Mac conkey. Diameter zona hambat tersebut diukur dengan menggunakan alat ukur panjang skala milimeter.

Skala pengukuran variabel adalah skala rasio.

### 3.3 Populasi dan sample

Populasi yang digunakan adalah bakteri *E.coli* isolasi galur murni yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada periode Juni 2010. Sementara itu, sampel yang digunakan adalah bakteri yang kepekatannya sesuai dengan standar *Mac Farland III* yang mengandung  $9 \times 10^8$  bakteri/ml (Jawet, 2001).

### 3.4 Instrumen dan bahan penelitian

#### 3.4.2 Instrumen penelitian

- 3.4.2.1 Pipet ukur
- 3.4.2.2 Tabung reaksi
- 3.4.2.3 Rak tabung reaksi
- 3.4.2.4 Tabung Elenmeyer
- 3.4.2.5 Ose steril
- 3.4.2.6 Lampu spirtus
- 3.4.2.7 Lidi kapas steril
- 3.4.2.8 Cawan Petri
- 3.4.2.9 Pinset
- 3.4.2.10 Autoklaf
- 3.4.2.11 Inkubator
- 3.4.2.12 Mortar dan stumfer
- 3.4.2.13 Kertas cakram
- 3.4.2.14 Alat pengukur panjang skala millimeter
- 3.4.2.15 Pengaduk

#### 3.4.3 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

##### 3.4.3.1 Bahan biologi yang diuji

- 3.4.3.1.1 Isolat bakteri *E.coli* dengan kekeruhan setara dengan standar *Mac Farland III* yaitu sebanyak  $9 \times 10^8$  bakteri/ml

3.4.3.1.2 Ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 50%, 25%,  
12,5%, 6,25% dan 3,125%

3.4.3.1.3 Gentamycin

3.4.3.2 Media yang digunakan

3.4.3.2.1 Mac conkey

3.4.3.2.2 *Heart Infusion Broth* (HIB)

3.4.3.2.3 Aquades steril

3.4.3.2.4 Kertas saring bentuk cakram

### 3.5 Cara Penelitian

#### 3.5.1 Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang digunakan disterilkan. Alat-alat berupa Cawan Petri dan tabung reaksi disterilkan dengan pemanasan kering. Tabung reaksi ditutup dengan kapas kemudian dibungkus dengan kertas sebelum dimasukkan ke dalam oven. Pemanasan dilakukan pada suhu 160 °C selama 1,5 – 2 jam. Alat-alat yang tidak tahan panas seperti pipet dan media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada 2 atm selama 20 menit. Alat-alat yang akan digunakan harus ditunggu terlebih dahulu hingga mencapai suhu kamar dan sudah kering (Volk dan eheeler, 1984).

#### 3.5.2 Membuat suspensi bakteri *E.coli*

Sebelum digunakan, bakteri ditumbuhkan pada media Mac conkey dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Dari koloni *E.coli* yang tumbuh, diambil satu ose dan disuspensi ke dalam 5 ml BIH cair dan diinkubasi pada

suhu 37 °C selama 4-6 jam. Setelah diinkubasi, suspensi tersebut ditambah dengan aquades steril sehingga mempunyai kekeruhan sesuai dengan larutan standar *Mac Farland III* yang mengandung  $9 \times 10^8$  bakteri/ml. Bakteri *Escherichia coli* yang dipakai merupakan galur murni koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sultan Agung Semarang.

### 3.5.3 Pembuatan ekstrak biji pinang 100%

Ekstrak biji pinang konsentrasi 100% dibeli di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang yang diproses sebagai berikut :

- 3.5.3.1 Biji pinang ditumbuk sampai halus menggunakan alat mortar dan stumfer
- 3.5.3.2 Biji pinang yang sudah ditumbuk kemudian ditimbang sebanyak 1000g menggunakan timbangan analitis
- 3.5.3.3 Bungkus biji pinang tersebut dengan kertas saring
- 3.5.3.4 Alat ekstraksi dipasang
- 3.5.3.5 Memasukan 100 ml etanol sebagai pelarut ke dalam labu destilasi
- 3.5.3.6 Menjalankan pendingin dan kompor listrik dinyalakan
- 3.5.3.7 Percobaan selesai setelah terjadi flooding 16 kali (ekstraksi dilakukan selama 4 jam)
- 3.5.3.8 Ekstraknya diuapkan, didapat ekstrak biji pinang 100%

### 3.5.4 Pembuatan media dengan perbandingan konsentrasi ekstrak biji pinang

Ekstrak biji pinang dengan berbagai ekstraksi didapat dengan cara mengencerkan ekstrak biji pinang 100% yang didapat dari ekstraksi biji pinang.

Pengenceran tersebut menggunakan persamaan berikut :

$$h_1 \times V_1 = h_2 \times V_2$$

Keterangan :

$h_1$  = konsentrasi awal

$V_1$  = Volume awal

$h_2$  = konsentrasi akhir

$V_2$  = Volume akhir

Cara kerja pengenceran ekstrak biji pinang :

3.5.4.1 Biji pinang konsentrasi 50% sebanyak 5 cc diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$\begin{aligned} h_1 \times V_1 &= h_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 50\% \times 5 \text{ cc} \\ V_1 &= 2,5 \text{ cc} \end{aligned}$$

Kemudian untuk memperoleh volume 5 cc ditambahkan aquadest sebanyak 2,5cc.

3.5.4.2 Biji pinang konsentrasi 25% sebanyak 5 cc diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$\begin{aligned} h_1 \times V_1 &= h_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 25\% \times 5 \text{ cc} \\ V_1 &= 1,25 \text{ cc} \end{aligned}$$



Kemudian untuk memperoleh volume 5 cc ditambahkan aquadest sebanyak 3,75 cc.

3.5.4.3 Biji pinang konsentrasi 12,5% sebanyak 5 cc diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$\begin{aligned} h_1 \times V_1 &= h_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 12,5\% \times 5 \text{ cc} \\ V_1 &= 0,625 \text{ cc} \end{aligned}$$

Kemudian untuk memperoleh volume 5 cc ditambahkan aquadest sebanyak 4,375 cc.

3.5.4.4 Biji pinang konsentrasi 6,25% sebanyak 5 cc diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$\begin{aligned} h_1 \times V_1 &= h_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 6,25\% \times 5 \text{ cc} \\ V_1 &= 0,3125 \text{ cc} \end{aligned}$$

Kemudian untuk memperoleh volume 5 cc ditambahkan aquadest sebanyak 4,6875 cc.

3.5.4.5 Biji pinang konsentrasi 3,125% sebanyak 5 cc diperoleh dengan dilakukan pengenceran sebagai berikut :

$$\begin{aligned} h_1 \times V_1 &= h_2 \times V_2 \\ 100\% \times V_1 &= 3,125\% \times 5 \text{ cc} \\ V_1 &= 0,15625 \text{ cc} \end{aligned}$$

Kemudian untuk memperoleh volume 5 cc ditambahkan aquadest sebanyak 4,84375 cc.

### 3.5.5 Membuat cakram ekstrak biji pinang berbagai konsentrasi

3.5.5.1 Cakram dibuat dari kertas saring dan dicelupkan pada ekstrak biji pinang berbagai konsentrasi beberapa saat ( $\pm$  10 menit) agar terhisap sempurna

3.5.5.2 Cakram diangkat dan siap diletakkan pada permukaan media Mc Conkey Agar.

### 3.5.6 Uji efektifitas ekstrak biji pinang dalam berbagai konsentrasi dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

3.5.6.1 Persiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan yang telah disterilisasi.

3.5.6.2 Pembuatan kultur *Escherichia coli*.

3.5.6.3 Pembuatan berbagai konsentrasi ekstrak biji pinang dimana konsentrasi yang mulai membunuh *Escherichia coli* sebagai dasar.

3.5.6.4 Kertas cakram yang telah disterilisasi dimasukkan ke dalam ekstrak biji pinang dengan menggunakan pipet steril, kemudian diamkan selama beberapa saat ( $\pm 10$  menit) agar larutan terhisap sempurna oleh kertas cakram.

3.5.6.5 Kertas cakram dalam ekstrak biji pinang diambil menggunakan pinset steril, kemudian diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang berisi media Mc Conkey yang sebelumnya telah ditanami bakteri *Escherichia coli*.

3.5.6.6 Kertas cakram yang berisi gentamycin diambil menggunakan pinset steril, kemudian diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang berisi media Mc Conkey yang sebelumnya telah ditanami bakteri *Escherichia coli*. Gentamycin digunakan sebagai kontrol positif.

3.5.6.7 Kertas cakram yang mengandung aquadest diambil menggunakan pinset steril, kemudian diletakkan di tengah-tengah cawan petri yang berisi media Mc Conkey yang sebelumnya telah ditanami bakteri *Escherichia coli*. Aquadest digunakan sebagai kontrol negatif.

3.5.6.8 Masukkan semua cawan petri ke dalam inkubator untuk diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam.

3.5.6.9 Setelah diinkubasi, amati cawan petri apakah terbentuk zona hambat di sekeliling kertas cakram.

3.5.6.10 Dilakukan pengulangan untuk tiap konsentrasi dan kontrol sebanyak 5 kali. Pengulangan ini berdasarkan perhitungan dengan memakai rumus Frederer :

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan / replikasi

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \rightarrow 5$$

3.5.6.11 Diameter zona hambat yang terbentuk pada cakram ekstrak biji pinang berbagai konsentrasi dan gentamycin dibandingkan.

### 3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

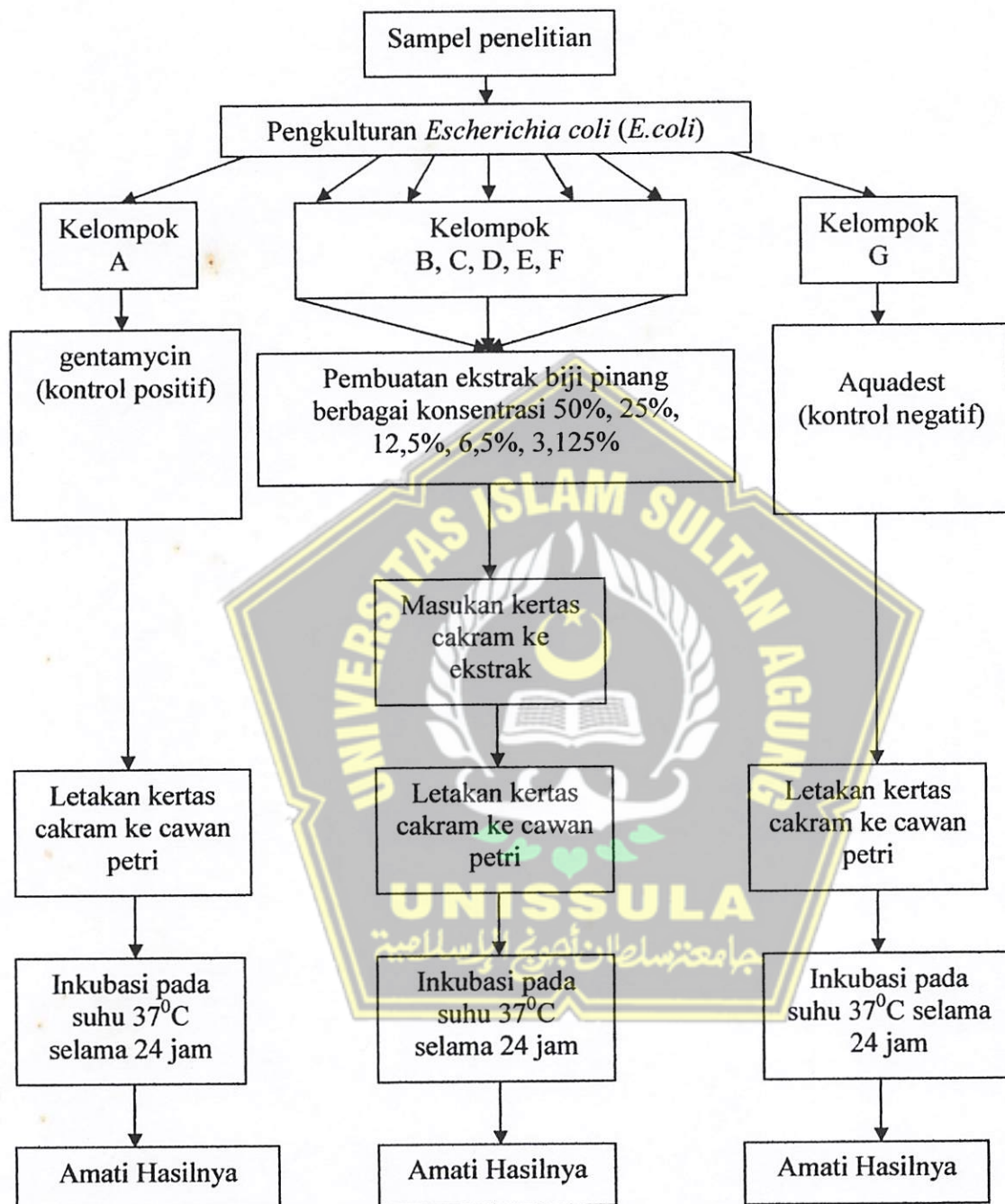
Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sultan Agung Semarang. Waktu penelitian dilakukan pada bulan September 2010.

### 3.7 Analisis

Efektivitas dari ekstrak biji pinang dalam membunuh *Escherichia coli* (*E.coli*) dinilai dari luas diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin luas zona hambat yang terbentuk maka perlakuan yang diberikan semakin efektif. Data mengenai diameter zona hambat ditabulasi dengan analisis secara deskriptif.



## 3.8 Kerangka Kerja





## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% terhadap pertumbuhan *Eshcerichia coli* secara invitro. Penelitian ini di lakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Sultan Agung.

Untuk mengetahui jumlah pertumbuhan bakteri *Eshcerichia coli* dengan mengukur diameter pertumbuhan pada cawan petri yang sebelumnya telah ditanami di media Mac Conkey.

Sampel terdiri dari 7 kelompok, masing- masing terdiri dari 5 cawan petri. Kelompok I (kontrol positif) diberi gentamycin, kelompok II (perlakuan ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 50%), kelompok III (perlakuan ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 25%), kelompok IV (perlakuan ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 12,5%), kelompok V (perlakuan ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 6,25%), kelompok VI (perlakuan ekstrak biji pinang dengan konsentrasi 3,125%) dan kelompok VII (kontrol negatif) diberi aquadest.



**Tabel 1.** Diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstra biji pinang dan gentamycin terhadap kematian *Escherichia Coli*.

Cawan	Kontrol (+) (mm)	Konsent 50%	Konsent 25%	Konsent 12,5%	Konsent 6,25%	Konsent 3,125%	Kontrol (-) (mm)
1	17	0	0	0	0	0	0
2	16	0	0	0	0	0	0
3	16	0	0	0	0	0	0
4	16	0	0	0	0	0	0
5	16	0	0	0	0	0	0
Mean	16,6	0	0	0	0	0	0

#### 4.2. PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat kelompok ekstran biji pinang sama dengan kontrol negatif tetapi berbeda jauh dengan kontrol positif Gentamycin. Hal ini dikarenakan Gentamycin adalah antibakteri yang mampu terikat secara irreversible pada unit 30S ribosom dan membekukan proses inisiasi kompleks dari pembentukan protein pada sel, sehingga mematikan sel muai terjadi.

Ternyata pada ekstrak biji pinang dengan menggunakan media Mc Conkey berbagai konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% belum dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Bila dibandingkan dengan penelitian Astri (2007) yang membuktikan bahwa ekstrak daun Mahkota Dewa dengan kandungan alkaloid, flavanoid, senyawa polisenol, saponin dan tanin pada konsentrasi 50% dengan menggunakan media Muller Hinton, dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*. Sedangkan menurut Masniari (2003), ternyata konsentrasi ekstrak daun sambiloto yang mengandung zat aktif flavonoid, andrografolide, alkane, keton, aldehid, mineral, tarida yang

mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram (-) seperti *Pasteurella sp* dan *E. coli* pada konsentrasi 25% dengan media Muller Hinton, sedangkan untuk ekstrak daun sirih merah yang mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, senyawa polifenolat, minyak atsiri pada konsentrasi 6,25% efektif untuk menghambat bakteri *E. coli* menggunakan media Mc Conkey (Farida, 2006). Dapat ditarik kesimpulan bahwa dari ketiga ekstrak terdapat perbedaan konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri, itu dikarenakan zat – zat yang terkandung didalam tanaman tersebut berbeda. Misalnya pada daun mahkota dewa sekalipun mengandung tanin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri adalah saponin (Ning, 2005). Saponin merupakan suatu kelompok glikosida yang ditemukan pada tanaman (Dorlan, 2002). Salah satu senyawa glikosida adalah streptomisin, yang merupakan golongan aminoglikosida (Jawetz dkk, 2007). Sedangkan pada sambiloto ternyata andrografolide mengganggu integritas dalam sel, Farida (2006) menyatakan pada sirih merah selain mengandung tanin dan flavonoid juga mengandung minyak atsiri yang berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membrane atau dinding sel sehingga tidak terbentuk secara sempurna.

Tetapi penelitian Masduki (1996), menunjukkan bahwa pada ekstrak biji pinang dengan media Mc Conkey pada konsentrasi 20%, *E. coli* tetap mampu tumbuh, mungkin karena *E. coli* mempunyai sifat permeabilitas terhadap zat terlarut bermolekul rendah sehingga zat aktif yang ada tidak dapat masuk dalam sel bakteri dan akibatnya bakteri tidak



mengalami hambatan. Sehingga ada perbedaan antara hasil penelitian Astri (2007), Masniari (2003) dan Farida (2006) dengan Masduki (1996) sekalipun keempat ekstrak tersebut mengandung tanin dan flavonoid. Hal ini kemungkinannya disebabkan tidak hanya tanin dan flavonoid saja yang terdapat tumbuhan obat, tetapi ada juga zat – zat yang lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Dari penelitian ini, penulis menyadari kekurangan yang ada dari penelitian ini, media yang sesuai untuk bakteri *E. coli* tumbuh adalah Mac Conkey, tetapi harusnya kita juga melihat tujuan dari penelitian itu sendiri. Tujuan ekstrak ini adalah sebagai antibakteri, jadi uji sensitivitas ekstrak yang sering digunakan adalah media Muller Hinton agar, karena media ini sudah luas digunakan secara internasional dalam metode *broth dilution*. *Mueller Hinton Broth* merupakan media tumbuh yang baik bagi hampir semua bakteri patogen, selain itu media tersebut menunjukkan reproduktibilitas yang baik dan memberikan pertumbuhan yang memuaskan dari sebagian besar bakteri pathogen (Eucast, 2005). Untuk itu penulis bertujuan kedepannya penelitian ini bisa sebagai alternative obat antibiotika, sebaiknya sensitivitas diukur menggunakan media Muller Hinton agar.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

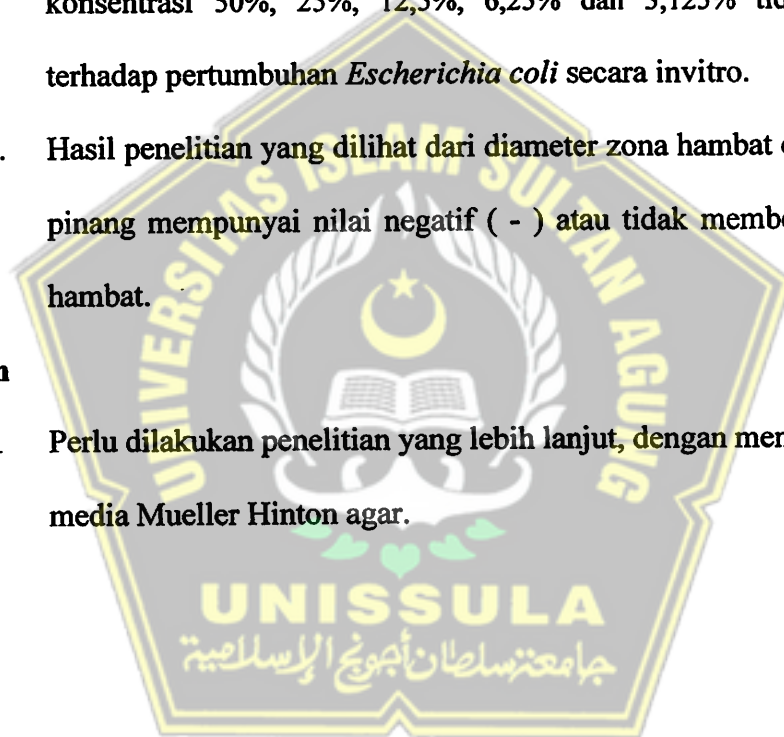
#### 5.1. Kesimpulan

5.1.1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji pinang dengan berbagai konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% tidak efektif terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara invitro.

5.1.2. Hasil penelitian yang dilihat dari diameter zona hambat ekstrak biji pinang mempunyai nilai negatif ( - ) atau tidak membentuk zona hambat.

#### 5.2. Saran

5.2.1 Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut, dengan menggunakan media Mueller Hinton agar.



## DAFTAR PUSTAKA

- Antik Budiyantri, 2009, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ceremai (Phyllanthus acidus (L.) Skeels) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dan Bioautografinya*
- Dorland, W.A., 2002, *Kamus Kedokteran Dorland*, Edisi 29, EGC, Jakarta, 2339
- Elmer W dkk, 2007, *Diagnostic Microbiologi*, third edition
- Eucast 2005, *mueller hinton* American Society for Microbiology
- Farida Juliantina R. *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Gram Positif dan Gram Negatif* . *JKKI - Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*
- Gerard J. Tortora, 1988, *Microbiology An Introduction*
- Harianto, 2004, *Penyuluhan Penggunaan Oralit Untuk Menanggulangi Diare Di Masyarakat*, *Majalah Ilmu Kefarmasian Volume 1*, Jakarta, 27 – 33
- Hermawan, A, 2007, *Pengaruh Ekstrak Daun sirih (Popre betle L.) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Disk*  
<http://www.journal.unair.ac.id/fillerPDF/15.%20Daun%Sirih.pdf> dikutip tanggal 27.12.2008
- Iyep Komala, 2010, *Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Metanol Biji Pinang (Areca catechu L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli yang Diisolasi dari Ayam*  
Dalam : [http://bss-ub.com/cms/infodetilmakalahbss7/BSS\\_105\\_1](http://bss-ub.com/cms/infodetilmakalahbss7/BSS_105_1), diunduh pada tanggal 2 Agustus 2010
- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A., 2000, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 21, EGC, Jakarta
- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A., 2007, *Mikrobiologi Kedokteran*, Ed 24 EGC, Jakarta
- Marline, N. 2004. *Pemeriksaan Senyawa Kimia Serabut Kelapa (Cocos Nutcifera Linn) dan Uji Efek Antidiare Terhadap Tikus Putih Secara In Vivo*. *Media Farmasi An Indonesian Pharmaceutical Journal*, 13, (1).
- Masduki I, 1996. *Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (Areca catechu) terhadap S. aureus dan E. coli*. *Cermin Dunia Kedokteran* 109 : 21-4.

Masniari, P., 2003, *Digital Library Pusat Penelitian Bogor-LIPI*, dalam <http://digilib.biologi.lipi.go.id/view.html?idm=26676>, dikutip tanggal 28 Januari 2009

Mayer, G., 2002, *Microbiology and Immunology online*. University of South Carolina School of Medicine.

Naim, R, 15-09-2004, *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*.  
<http://www.kompas.com/kesehatan/index.htm> dikutip tanggal 26.12.2008

Natalini Nova Kristina dan Siti Fatimah Syahid, *Warta Puslitbangun*  
Vol.13 No. 2

Ning Harmanto (2005), *Mahkota dewa: obat pusaka para dewa*. dalam [http://books.google.co.id/books?id=fCI7yhd7W-MC&pg=PP4&lpg=PP4&dq=ning+2005+mahkota+dewa&source=bl&ots=fubbw5ndk-&sig=dDoOX5x82z1mu4VZYII-rew0JJk&hl=id&ei=NiauTJacCYv0cbCcsRQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=6&ved=0CCOQ6AEwBO#v=onepage&q=ning%202005%20mahkota%20dewa&f=false](http://books.google.co.id/books?id=fCI7yhd7W-MC&pg=PP4&lpg=PP4&dq=ning+2005+mahkota+dewa&source=bl&ots=fubbw5ndk-&sig=dDoOX5x82z1mu4VZYII-rew0JJk&hl=id&ei=NiauTJacCYv0cbCcsRQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&ved=0CCOQ6AEwBO#v=onepage&q=ning%202005%20mahkota%20dewa&f=false), pada tanggal 9 Juli 2010

Sulistiyorini, E, Handayani, S, 2008, *Pinang*.

dalam <http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com/ensiklopedia-tanaman-antikanker/p/pinang> dikutip tanggal 24.12.2008

Volk and Wheeler. 1984. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid I*. Erlangga : Jakarta.

Zein, Umar. 2004. *Diare Akut Infeksius Pada Dewasa*.  
[library.usu.ac.id/download/fk/penydalam-umar4.pdf](http://library.usu.ac.id/download/fk/penydalam-umar4.pdf).