

AKTIVITAS INFUS KAYU APU (*Pistia stratiotes*) DALAM MENURUNKAN JUMLAH BAKTERI COLIFORM PADA SAMPEL AIR

Noor Rizka Yulia Rahmani¹, Siti Kaidah², Lia Yulia Budiarti³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

² Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

³ Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

Email korespondensi: yuliarizka10@gmail.com

Abstract: *Water lettuce (*Pistia stratiotes*) is an aquatic weed plant which contained antibiotic compounds and potentially to used as alternative disinfectant. This research was carried out to analyze the activity of water lettuce infusion in reducing the number of coliform bacteria colonies in the sample. The method in this research is a true experimental with pretest-posttest control group design approach. The concentrations of the infusion used are 50%, 75%, 100% (b/v). The data was analyzed with One-Way ANOVA and Post-hoc Duncan at the value of confidence of 95%. The research shows that there was a significant difference between MPN and TPC value index after the infusion added. The smallest value of MPN and TPC came from the 100% water lettuce infusion. Conclusion of this research, the water lettuce infusion has activity to decrease the number of coliform bacteria but its effectiveness is still below the 0.0002% of chlorine.*

Keywords: *Pistia stratiotes, chlorine, MPN, TPC, coliform*

Abstrak: Kayu apu (*Pistia stratiotes*) merupakan tanaman gulma perairan yang mengandung senyawa antibakteri dan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai sediaan disinfektan alternatif. Tujuan penelitian ini menganalisis aktivitas infus kayu apu dalam menurunkan jumlah koloni bakteri coliform pada sampel air melalui uji MPN dan TPC. Metode penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan *pretest-posttest control group design*. Perlakuan infus kayu apu 50%, 75%, 100% (b/v) diujikan terhadap sampel air perpipaan yang dimodifikasi dengan kandungan coliform setara *Mac Farland 1*. Data penelitian dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan uji *Post-hoc Duncan* pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian, terbukti aktivitas antibakteri infus kayu apu mampu menurunkan jumlah coliform; ada perbedaan bermakna nilai indeks MPN dan TPC sampel air setelah pemberian perlakuan infus. Nilai indeks MPN dan TPC terkecil didapat dari perlakuan infus kayu apu 100%. Simpulan penelitian, infus kayu apu memiliki aktivitas dalam menurunkan jumlah bakteri coliform tetapi efektivitasnya masih di bawah klorin 0,0002%.

Kata-kata kunci: *Pistia stratiotes, klorin, MPN, TPC, Coliform.*

PENDAHULUAN

Perilaku sanitasi masyarakat yang kurang baik seperti kebiasaan membuang limbah industri dan limbah rumah tangga ke sungai akan menyebabkan pencemaran air sungai dan berdampak terhadap kesehatan masyarakat yaitu timbulnya kasus infeksi diare atau penyakit saluran pencernaan lainnya.^{1,2} Infeksi diare yang terjadi pada masyarakat yang bertempat tinggal di bantaran sungai, dapat dikaitkan dengan penggunaan air yang tercemar oleh bakteri golongan *coliform* seperti *Escherichia coli* (*E.coli*).^{3,4}

Upaya yang bisa dilakukan untuk mengurangi kekeruhan dan kontaminan mikroba pada sumber air adalah dengan penambahan zat tawas atau zat (*Chlor*) pada konsentrasi 2 ppm (0,0002%). Klorin adalah disinfektan dengan harga relatif murah, efektif, mudah dicari, dan mudah penggunaannya.⁵ Namun, zat klorin yang berlebihan dapat berbahaya ketika memasuki tubuh saat terhirup atau tertelan bersama air yang dikonsumsi dan menyebabkan rasa gatal pada kulit.⁶

Penanganan kontaminasi bakteri dalam air juga dapat dilakukan dengan pemanfaatan tanaman yang tumbuh disekitar perairan/air sungai yang mengandung senyawa antibakteri. Salah satu tanaman yang biasa tumbuh dilingkungan air adalah kayu apu (*Pistia stratiotes*). Penelitian Tyagi Tulika, menyebutkan bahwa kayu apu mengandung senyawa antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, fenol, saponin dan tannin.⁷

Tujuan penelitian ini adalah membuktikan aktivitas infus kayu apu (*Pistia stratiotes*) dalam menurunkan jumlah bakteri *coliform* pada sampel air yang diteliti dan menganalisis perbedaan jumlah bakteri *coliform* sebelum dan sesudah penambahan infus kayu apu dibandingkan dengan klorin 0,0002%. Aktivitas infus kayu apu diamati dalam menurunkan pertumbuhan bakteri *coliform* pada sampel air diamati melalui

pemeriksaan uji *Most Probable Number* (MPN) dan *Total Plate Count* (TPC). Nilai MPN *coliform* dan TPC pada sampel air uji dengan perlakuan sediaan infus kayu apu pada berbagai konsentrasi uji dibandingkan dengan nilai MPN *coliform* dan TPC dengan perlakuan klorin 0,0002%.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini adalah *true experimental* dengan pendekatan *pretest-posttest control group design* menggunakan perlakuan yang terdiri dari sediaan infus kayu apu dengan konsentrasi 50%, 75%, 100% (b/v) serta klorin 0,0002% untuk kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk setiap kelompok berdasarkan hasil perhitungan menurut rumus Federer dan diukur secara duplo.⁸

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah meja *laminary flow* (Holten Maxisafe®), inkubator aerob (Carbolite®), *autoclave* (All American®), oven, tabung reaksi (Pyrex Brand®) dan rak tabung, penjepit tabung, ose, labu erlenmeyer (IWAKI®), neraca analitik (Kern ABJ 320-4NM), *colony counter* (Interscience Scan®) *blender* (National™), panci, cawan petri, pipet tetes 1 ml, durham, lampu spiritus, batang pengaduk, gelas beker, pipet ukur, gelas ukur, kapas, kassa, korek api, pinset, penangas air (*waterbath*), pisau (*stainless*), dan *aluminium foil*.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu apu 1 kg. Bahan lainnya yaitu, Sampel air perpipaan termodifikasi *coliform*, Akuades steril, Cairan klorin 0,0002%, *Lactose Broth* (LB), *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB), *Lactose Broth Double Strength* (LBDS), *Lactose Broth* (LBSS), *Media Nutrient agar* (NA), Larutan standar *Mac Farland* No.1, Larutan NaCl fisiologis 0,9%, Alkohol 70%, Spiritus dan Tissue.

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian dikeringkan dan dibungkus *aluminium foil*. Setelah itu disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C pada tekanan 2 Atm selama 15 menit.

Pembuatan sediaan infus kayu apu dilakukan dengan menyiapkan kayu apu, kemudian dicuci dengan air mengalir, setelah itu ditiriskan. Selanjutnya diiris kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara dimasukkan dalam oven dengan suhu 60°C . Lalu dihaluskan dengan *blender*. Simplisia kayu apu yang sudah dihaluskan disaring dan dimasukkan masing-masing ke akuades 100 ml. Berat simplisia yang diperlukan disesuaikan dengan konsentrasi terbesar dari tanaman yang telah ditentukan sebelumnya. Konsentrasi 100% dibuat dengan melarutkan 100 g simplisia ke dalam akuades 100 ml. Campuran simplisia dan akuades dimasukkan ke dalam panci infus, kemudian dipanaskan di atas tanggas air selama 15 menit terhitung saat suhu mencapai 90°C seraya diaduk-aduk. Sediaan cairan disaring melalui kain flannel selagi panas. Apabila volume yang diinginkan belum tercapai, dapat ditambahkan air panas melalui ampasnya.^{10,11} Setelah disiapkan konsentrasi terbesar (100%) dari sediaan kayu apu yang sudah dibuat, selanjutnya dilakukan seri pengenceran 50% dan 75% didalam tabung reaksi.

Prosedur Persiapan dan pembuatan sampel air berisi bakteri *coliform* ini dilakukan di dalam *laminary flow*. Selama menyiapkan bakteri uji, peneliti mengenakan alat perlindungan diri (APD): jas laboratorium, *handscoon*, masker, dan sepatu tertutup. Sebelum dan sesudah bekerja, peneliti mencuci tangan dengan sabun. Disiapkan sampel air yang berasal dari aliran air di laboratorium mikrobiologi dan diambil secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu menyiapkan isolat kultur bakteri *coliform*

murni hasil rekultur selama 24 jam. Kemudian diambil masing-masing sebanyak 1 ose dan dimasukkan ke dalam media *lactose broth* untuk dibuat suspensi biakan bakteri *coliform* uji. Sebelum dan sesudah digunakan, ose dibakar di atas api lampu bunsen. Lampu bunsen dibiarkan menyala hingga prosedur menyiapkan bakteri uji selesai. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah proses inkubasi, dilakukan penambahan akuades steril pada suspensi bakteri dalam media *lactose broth* tersebut sehingga semua bakteri uji mempunyai konsentrasi atau kekeruhan yang sama dan setara dengan larutan standar *Mac Farland I* atau jumlah bakteri setara dengan 3×10^8 cfu/ml. Setelah itu, lakukan pengukuran nilai MPN dan TPC *coliform* sebagai data penelitian awal sebelum perlakuan (*pretest*).

Pengujian potensi infus kayu apu dilakukan dengan metode MPN dan TPC. Pada *Most Probable Number* (MPN) Ragam 5-1-1, uji pendugaan (*Presumptive test*) diawali dengan menyiapkan sampel air uji yang telah ditambahkan perlakuan, kemudian dimasukkan ke dalam sejumlah tabung reaksi sesuai ragam yang telah berisi *Lactose broth*. Inkubasi semua tabung pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam, kemudian amati terbentuknya gas, dan dicatat jumlah tabung reaksi yang membentuk gas (positif) pada setiap seri tabung (10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml).¹² Uji penegas (*Confirmed test*): Menyiapkan tabung reaksi sesuai jumlah tabung yang positif pada uji penduga. Setiap tabung diisi 10 ml media BGLB, dan masukkan 1 ose dari tabung positif uji penduga, serta memasukkan tabung durham ke semua tabung. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.¹²

Hasil dari metode *Most Probable Number* (MPN) ini adalah berupa nilai/indeks MPN dalam 100 ml sampel yang didapatkan setelah *confirmative test* saat dihasilkannya asam dan timbulnya

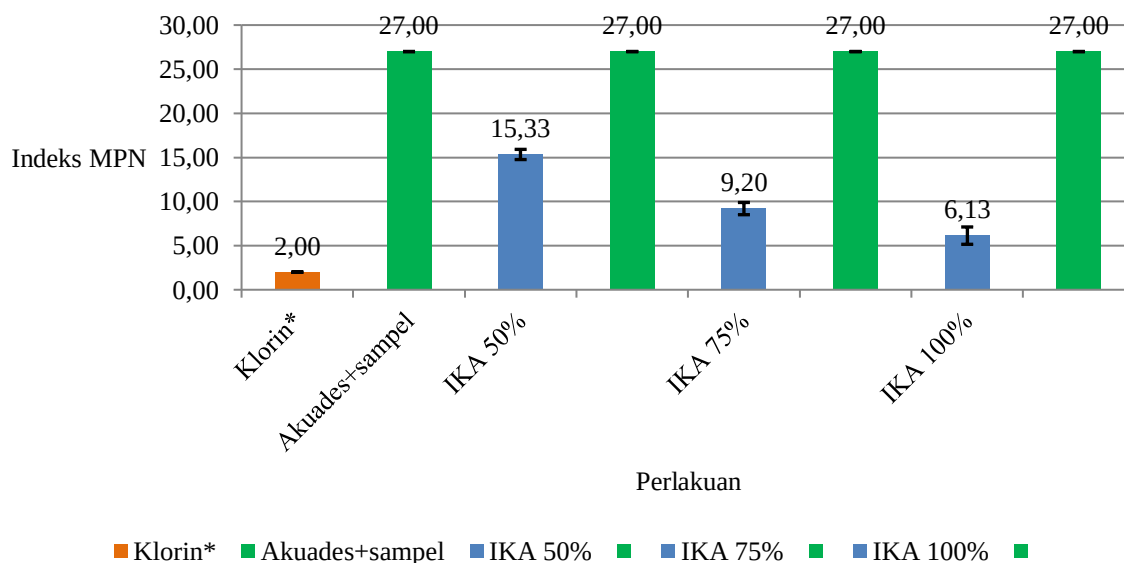
gelembung gas.¹³⁻¹⁵ Kemudian dibandingkan dengan tabel ragam MPN 5-1-1.¹³ Pada penelitian didapatkan rerata nilai MPN sebelum diberikan perlakuan sebesar 27,00/100 ml.

Pemeriksaan *Total Plate Count* (TPC) dilakukan dengan memasukkan sampel air uji yang telah ditambahkan perlakuan dalam masing-masing tabung yang berisi larutan fisiologis 0,9%. Kemudian homogenkan dan melakukan pengenceran hingga pengenceran ke 3. Ambil 1 ml larutan setiap pengenceran dan masukkan kedalam cawan petri serta tambahkan media NA secara merata dengan *spread plate* serta

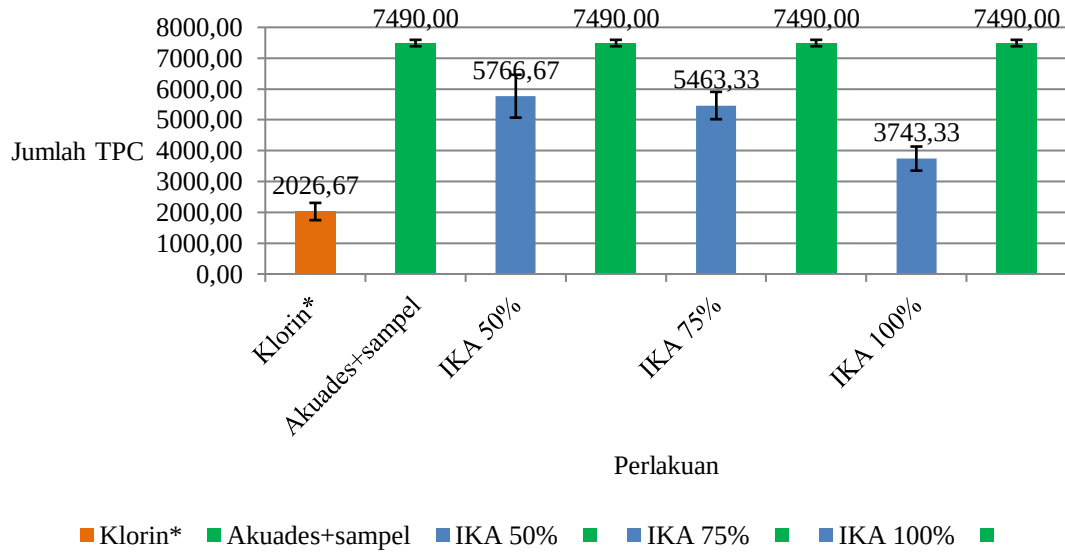
diinkubasi selama 2 x 24 jam. Hitung jumlah koloni sebelum dan sesudah perlakuan dengan *colony counter*. Pada penelitian didapatkan rerata nilai TPC sebelum perlakuan sebesar 7490 cfu/ml.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas infus kayu apu (*Pistia stratiotes*) dalam menurunkan jumlah bakteri *coliform* pada sampel air berdasarkan indeks nilai MPN dan TPC (Gambar 1 dan 2). Klorin memiliki aktivitas paling besar.



Gambar 1 Rerata nilai indeks MPN sampel air pada kontrol dan perlakuan infus kayu apu pada berbagai konsentrasi



Gambar 2 Rerata jumlah TPC sampel air pada kontrol dan perlakuan infus kayu apu pada berbagai konsentrasi

Keterangan :
 IKA : Infus Kayu Apu
 * : Kontrol positif

Pada gambar 1 dan 2, tampak semakin besar konsentrasi infus kayu apu yang diberikan, semakin besar juga efeknya menurunkan nilai indeks MPN dan TPC. Hal ini memiliki makna bahwa infus kayu apu memiliki aktivitas antibakteri untuk menurunkan jumlah bakteri *coliform* berdasarkan uji MPN dan TPC *coliform*.

Perbedaan nilai indeks MPN dan indeks TPC pada semua perlakuan disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Kayu apu mengandung senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, fenol, saponin dan tannin.⁷

Senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme kerja masing-masing dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga terjadi penurunan jumlah bakteri *coliform*/*E.coli*. Alkaloid memiliki

mekanisme kerja mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat sintesis dinding sel bakteri.¹⁶ Mekanisme kerja senyawa flavonoid yaitu dengan menyebabkan koagulasi atau penggumpalan protein sel dan menghambat enzim DNA girase bakteri.¹⁷ Kerja steroid dengan menyebabkan kebocoran liposom dengan berikatan pada membran lipid.¹⁸ Fenol dapat bersifat bakteristatik maupun bakterisidal karena bekerja pada dinding sel, membran sel, sitoplasma dan nukleus.¹⁹ Saponin memiliki komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik yang bisa menyebabkan terjadinya penurunan tegangan pada permukaan dinding sel bakteri.²⁰ Senyawa tannin bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat pembentukan polipeptida dinding sel bakteri yang menyebabkan lisisnya dinding sel bakteri.²¹

Tabel 1 Hasil Uji *Post-hoc Duncan* Perlakuan Infus Kayu Apu (*Pistia stratiotes*) Dalam Menurunkan Jumlah Bakteri *Coliform* Pada Sampel Air

Perlakuan	Aq+sampel	IKA 50%	IKA 75%	IKA 100%	Klorin
Aq+sampel		BB	BB	BB	BB
IKA 50%	BB		TB	BB	BB
IKA 75%	BB	TB		BB	BB
IKA 100%	BB	BB	BB		BB
Klorin	BB	BB	BB	BB	

Keterangan:

IKA : Infus Kayu Apu

BB : Berbeda Bermakna

TB : Tidak Berbeda Bermakna

Tabel 1, menunjukkan bahwa ada efek berbeda dan tidak berbeda dari perlakuan infus kayu apu terhadap indeks nilai TPC berdasarkan uji *Duncan* dengan signifikansi 1,000; $P > 0,05$. Perlakuan-perlakuan yang efeknya berbeda bermakna adalah perlakuan klorin dengan kontrol negatif (Akuades+sampel) dan semua perlakuan infus kayu apu konsentrasi (50%, 75%, dan 100%) ($P=1,000$); perlakuan kontrol negatif dengan semua perlakuan infus kayu apu ($P=1,000$); perlakuan infus kayu apu konsentrasi 100% dengan konsentrasi 75% dan 50% ($P=1,000$). Perlakuan yang efeknya sama (tidak berbeda bermakna) adalah perlakuan infus kayu apu konsentrasi 75% dengan 50% ($P=0,408$). Efek menurunkan TPC perlakuan infus kayu apu konsentrasi 50% dan 75% secara signifikansi lebih rendah dibandingkan klorin 0,0002% ($P=1,000$).

Perbedaan hasil yang signifikan ini dikarenakan perbedaan mekanisme kerja zat dalam menurunkan jumlah bakteri *coliform*. Gas klorin dan gas klor dioksida merupakan zat pengoksidasi kuat. Kemampuan oksidasi yang kuat menyebabkan perubahan komponen lipid dan protein penyusun exopolymer matrix melalui proses saponifikasi, reaksi kloraminasi dan netralisasi asam amino.²² Klorin dioksida adalah gas yang larut dalam air dan digunakan sebagai agen antimikroba pada pengolahan air limbah dan pemurnian air

karena cepat membunuh berbagai mikroba dengan oksidasi, penetrasi dan pembunuhan sel bakteri melalui reaksi dengan asam amino esensial di protoplasma.²³

Menurut SNI 01-3553-1996, persyaratan untuk air minum dipasaran adalah memiliki angka lempeng total/total plate count (TPC) maksimal $1,0 \times 10^5$. Berdasarkan Permenkes No. 736 Tahun 2010, jumlah bakteri yang diperbolehkan pada air PDAM adalah 10 dalam 100 ml sampel air perpipaan dan 50 dalam 100 ml air sampel bukan dari air perpipaan.²⁴ Sampel air yang diberikan infus kayu apu konsentrasi 75% dan 100% memenuhi kriteria jumlah bakteri yang diperbolehkan pada air PDAM, sehingga infus kayu apu ini memiliki potensi untuk menurunkan jumlah bakteri *coliform*/*E.coli* dalam air PDAM. Nilai indeks MPN yang tinggi dalam sampel air sebelum perlakuan diakibatkan air perpipaan telah dimodifikasi dengan bakteri agar jumlah bakteri yang digunakan dalam penelitian setara, sehingga memudahkan dalam melihat perbedaan sebelum dan setelah perlakuan.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa semua perlakuan infus kayu apu yang diujikan (50%, 75%, dan 100%) mampu menurunkan jumlah bakteri *coliform*. Terdapat perbedaan jumlah bakteri *coliform* sebelum dan sesudah penambahan infus kayu apu dibandingkan dengan klorin 0,0002%. Nilai indeks MPN dan TPC

terkecil didapat dari perlakuan infus kayu apu 100% dengan rerata nilai MPN sebesar 6,13/100 ml dan nilai TPC sebesar 3743,33 cfu/ml. Perlakuan klorin 0,0002% memberikan efek penurunan yang terbesar yaitu nilai MPN sebesar 2,00/100 ml dan TPC sebesar 2026,67 cfu/ml.

Peningkatan konsentrasi infus kayu apu yang diberikan, dapat memberikan efek pada penurunan jumlah/ nilai indeks MPN dan TPC sampel air yang diamati, serta efek terbaik didapat dengan perlakuan kontrol positif (gambar 1 dan 2). Hal ini dipengaruhi oleh faktor konsentrasi sediaan antibakteri, jenis sediaan bahan antibakteri, serta struktur dan sifat sel bakteri uji.^{25,26,27} Peningkatan konsentrasi akan meningkatkan kandungan zat aktif yang terlarut dalam sediaan obat, meningkatkan efeknya terhadap bakteri, serta mampu mengadsorpsi permukaannya sel bakteri yang spesifik sehingga terjadi penurunan jumlah bakteri.^{25,26} Penurunan nilai indeks dan jumlah *coliform*, menunjukkan kualitas air semakin baik.²⁸

Metode dan jenis pelarut yang digunakan pada proses sediaan antibakteri mempengaruhi efeknya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.²⁹ Metode infundasi yang menggunakan pelarut air merupakan ekstraksi dengan metode panas.³⁰ Penggunaan air sebagai pelarut akan mempengaruhi banyaknya zat aktif yang terlarut pada sediaan infus. Air merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan antrakuinon, alkaloid, tanin, terpenoid, polipeptida, lektin, dan glikosida; kekurangan metode infus yaitu kurang cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat tidak tahan panas karena menggunakan suhu yang tinggi.³¹⁻³³

Bakteri *E.coli* lebih tahan terhadap perlakuan zat antibakteri, hal ini dipengaruhi oleh struktur/ komponen pembentuk sel dan virulensi bakteri.^{29,34,35} Bakteri *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang

memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dan berlapis-lapis sehingga lebih tahan terhadap perubahan lingkungan yang disebabkan bahan kimia. Selain itu, *E. coli* memiliki banyak kandungan lipid sehingga senyawa yang bersifat polar akan sukar menembus dinding selnya.³⁴

Hasil penelitian ini dapat menggambarkan potensi kayu apu sebagai deinfektan alternatif. Namun untuk meningkatkan aktivitasnya secara optimum sehingga bisa menyamai aktivitas khlorin dapat dilakukan penelitian lebih lanjut, misalnya mengkombinasikan kayu apu dengan jenis tanaman air lainnya seperti eceng gondok atau kiambang.

PENUTUP

Simpulan dari penelitian ini adalah terdapat aktivitas dari infus kayu apu (*Pistia stratiotes*) dalam menurunkan jumlah bakteri *coliform* pada sampel air yang diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dahruji, Wilinarti, P.F., Hendarto, T. Studi pengolahan limbah usaha mandiri rumah tangga dan dampak bagi kesehatan di Wilayah Kenjeran. Aksiologi: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat. 2017.1(1): 36-44.
2. Arisanty, D., Adyatma, S., Huda, N. Analisis kandungan bakteri *fecal coliform* pada sungai Kuin kota Banjarmasin. Majalah Geografi Indonesia. 2017. 31(2): 51-60.
3. Sutiknowati, L.I. Bioindikator pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. Oseana. 2016; XLI (4): 63-71.
4. Adrianto, R. Pemantauan jumlah bakteri *coliform* di perairan sungai Provinsi Lampung. Teknologi Agro Industri (Tegi). 2018; 10(1): 1-6.
5. Supriyadi, Sumantri, I., Hartati, I. Pengaruh dosis klorin pada pertumbuhan bakteri *coliform* total dan

- Escherichia coli* pada sungai Kreo, sungai Garang dan sungai Tugu Suharto. Momentum. 2016; 12(1): 30-5.
6. Herawati, D., Yuntarso, A. Penentuan dosis kaporit sebagai desinfektan dalam menyisihkan konsentrasi ammonium pada air kolam renang. Jurnal SainHealth. 2017; 1(2): 66-74.
7. Tyagi, T., Agrawal, M. *Pharmaceutical potential of aquatic plant Pistia stratiotes (L.) and Eichhornia crassipes. Journal of plant sciences. Special issue: Medicinal Plants.* 2015; 3(1): 10-3.
8. Federer WT. Statistics and society: data collection and interpretation. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1991: 329-30.
9. Syah, I.S.K. Penentuan tingkatan jaminan sterilitas pada autoklaf dengan indikator biologi spore strip. Farmaka. 2016; 14(1): 59-69.
10. Ambarini SP. Perbandingan daya hambat optimum ekstrak daun eceng gondok (*Eichornia crassipes* solms.) terhadap *Escherichia coli* atcc 25922 dan *salmonella typhi* atcc 13311 *in vitro* [skripsi]. [Banjarmasin]: Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat; 2019: 29-30.
11. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia. Acuan sediaan herbal volume kelima. Edisi 1. Jakarta: BPOM RI; 2010: 30-31.
12. Jiwintarum Y, Agrijanti, Septiana BL. *Most probable number (MPN) coliform* dengan variasi volume media *lactose broth single strength* (LBSS) dan *lactose broth double strength* (LBDS). Jurnal Kesehatan Prima. 2017; 11: 11-7.
13. Dewanti RA, Sulistyorini L. Analisis kualitas bakteriologis air minum isiulang di Kelurahan Sememi Kecamatan Benowo. The Indonesian Journal of Public Health. 2017; 12(1): 39-50.
14. Agustini S. Harmonisasi standar nasional (SNI) air minum dalam kemasandan standard Internasional. Majalah Teknologi Agro Industri (Tegi). 2017; 9(2): 30-9.
15. Suriaman E, Apriliasari WP. Uji MPN *coliform* dan identifikasi fungi patogen pada air kolam renang di Kota Malang. Jurnal Sainhealth. 2017; 1(1):15-22.
16. Sapara, T.U., Waworuntu, O., Juliatri. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT. 2016; 5(4): 14-5.
17. Sartika, I. Karakterisasi senyawa antibakteri dari beberapa tanaman obat empiris yang berasal dari Desa Pattiro Kabupaten Bone [skripsi]. [Makassar]: Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin; 2018: 48-49.
18. Shihabudeen M.S., Pricilla, H., Thirumurugan K. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medical plants. Int J Pharm Sci and Research. 2010; 1(10): 430.
19. Sabbineni, J. Phenol-An effective antibacterial agent. JOMC. 2016; 3(2): 185.
20. Nurzaman, F., Djajadisastra, J., Elya, B. Identifikasi kandungan saponin dalam ekstrak kamboja merah (*Plumeria rubra L.*) dan daya hambat surfaktan dalam sediaan kosmetik. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2018; 8(2): 85-93.
21. Osman, M.A., Aziz, M.A., Habib, M.R., Karim, M.R. Antimicrobial investigation on Manilkara zapota L. P. Royen. IJDDR. 2011; 3(1): 185-90.
22. Widiastuti, D., Karima, I.F., Setiyani, E. Efek antibakteri sodium hipoklorit terhadap *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat. 2019; 11: 306.

23. Al-Sa'ady, A.T., Nahar, H.S., Saffah, F.F. Antibacterial activities of chlorine gas and chlorine dioxide gas against some pathogenic bacteria. *Journal of BioSciences Eurasia*. 2020; 14: 3875-82.
24. Agustini S. Harmonisasi standar nasional (SNI) air minum dalam kemasan dan standar internasional. *Majalah Teknologi Agro Industri (Tegi)*. 2017; 9(2): 30-9.
25. Brooks GF, Karen CC, Janet SB, Stephen AM, Timothy AM. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology. 26th Edition. New York: mcgraw Hill Medical. 2013.
26. Ajizah A. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium Guajava L.* *Bioscientiae*. 2004; 1(1): 31-8.
27. Rahmayanti, A., Hamidah, L.N. Efisiensi removal bakteri pada filter air payau dengan media karbon aktif. *Journal of Research and Technology*. 2019; 5(1): 81-8.
28. Dhafin, A.A. Analisis cemaran bakteri coliform *Escherichia coli* pada bubur bayi home industry di Kota Malang dengan metode MPN dan TPC [skripsi]. *Unsiversitas Islam Malang*: 2017: 28-30.
29. Permata P, Kawuri R, Darmadi AAK. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis (*Gracinia mangostana L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *J Symbiosis*. 2018; 6(1): 7-11.
30. Sutrisna, E.M. Herbal medicine: suatu tujuan farmakologis. *Surakarta: Muhammadiyah University Press*; 2016.
31. Ansel HC. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. 4th Ed. Jakarta; UI Press: 2005.
32. Pandey, A., Tripathi, S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drugs. *J Pharm and Phytochemistry*. 2014; 2(5):115-9.
33. Balakrishna T, Vidyadhara S, Sasidhar RLC, Ruchita B, Prathyusha EV. A review on extraction techniques. *IAJPS*. 2016; 3(8); 880-91.
34. Lingga, AR, Pato U, Rossi E. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa Horan*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2016; 3(1): 1-15.
35. Indrawati I, Rizki AFM. Potensi Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius L*) Sebagai Antibakteri Dengan Bakteri Uji *Salmonella Thypimurium* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Biodjati*. 2017; 2(2):143-4.

