

## Difference Inhibition Zone of Ethanol and Water Celery (*apium graveolens*) Extract to *Neisseria gonorrhoeae* by In Vitro Test

<sup>1</sup>Hasna Sitti Hanifa, <sup>2</sup>Usep Abdullah Husin, <sup>3</sup>Ismawati

<sup>1</sup>Prodi pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

<sup>3</sup>Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung

**Abstract.** Gonorrhoea is one of the sexually transmitted infections (STIs) caused by the bacteria *Neisseria gonorrhoeae*. The spread of infectious gonorrhoea and increased resistance to antibiotics increase the morbidity of gonorrhoea disease. Based on this, it is necessary to consider alternative uses of natural ingredients as substitute drugs, one of which is celery plants. Celery (*Apium graveolens*) has pharmacological benefits as an antimicrobial. Chemically, celery contains fatty acids (octadecanoic acid / stearic acid) and coumarins which have antimicrobial activity and are known to be easier to dissolve in ethanol than water. This study aimed to assess the differences in antimicrobial activity of water extract and ethanol of celery plants (*Apium graveolens*) which were assessed based on the inhibitory zone produced on *Neisseria gonorrhoeae*. The research was carried out by pure experimental method in vitro. The number of samples used were 13 samples divided into three groups. The first and second groups each consisted of five concentrations of extract and water extract of celery plants, with concentrations of 130,000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 13,000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 1,300  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 130  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , and 13  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . The third group was aquabides and ethanol as negative controls, and ceftriaxone as a positive control. The results showed that the average inhibition zone in each concentration in the first and second groups had a significant difference,  $P = 0.00$  ( $P \leq 0.05$ ) and it was found that all groups had different diameter inhibition zones, proved with the P value at each comparison is 0.00 except in the group using the ethanol extract of celery plants the concentration of 1,300  $\mu\text{g ml}^{-1}$  and the water extract of the celery plant concentration of 13,000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  with P value is 1.00. The conclusion of this study is that there are differences between the inhibitory zones of water extract and celery ethanol plants. The resulting inhibition zone shows the activity of the active substance possessed by ethanol extract and water extract of celery plants such as fatty acids and coumarins.

**Keywords:** *Apium graveolens*, Celery Plant, Extract, Inhibition Zone

### Perbedaan Zona Hambat Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Tanaman Seledri (*Apium Graveolens*) terhadap *Neisseria Gonorrhoeae* Secara In Vitro

**Abstrak.** *Gonorrhoea* merupakan salah satu penyakit infeksi menular seksual (IMS) yang diakibatkan oleh bakteri *Neisseria gonorrhoeae*. Penyebaran penyakit *gonorrhoea* yang bersifat infeksius dan peningkatan resistensi terhadap antibiotik menyebabkan morbiditas penyakit *gonorrhoea* bertambah. Berdasarkan hal tersebut, perlu dipertimbangkan alternatif penggunaan bahan alam sebagai obat pengganti, salah satunya adalah tanaman seledri. Seledri (*Apium graveolens*) memiliki manfaat secara farmakologis sebagai antimikroba. Secara kimia, seledri mengandung asam lemak (*octadecanoic acid/stearic acid*) dan *coumarins* yang memiliki aktivitas antimikroba dan diketahui lebih mudah terlarut dalam etanol daripada air. Penelitian ini bertujuan untuk menilai Perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak air dan etanol tanaman seledri (*Apium graveolens*) yang dinilai berdasarkan zona hambat yang dihasilkan terhadap *Neisseria gonorrhoeae*. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental murni *in vitro*. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 13 sampel yang terbagi dalam tiga kelompok. Kelompok pertama dan kedua masing-masing terdiri dari lima konsentrasi ekstrak dan ekstrak air tanaman seledri, dengan konsentrasi 130.000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 13.000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 1.300  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 130  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , dan 13  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Kelompok ketiga adalah akuabides dan etanol sebagai kontrol negatif, serta *ceftriaxone* sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata zona hambat pada masing-masing konsentrasi dalam kelompok pertama dan kedua memiliki perbedaan yang bermakna yaitu  $P=0,00$  ( $P \leq 0.05$ ) dan didapatkan bahwa seluruh kelompok memiliki diameter zona hambat yang berbeda satu sama lain, dibuktikan dengan nilai P di setiap perbandingan adalah 0,00 kecuali pada kelompok yang menggunakan ekstrak etanol tanaman seledri konsentrasi 1.300  $\mu\text{g/ml}$  dan ekstrak air tanaman seledri konsentrasi 13.000  $\mu\text{g/ml}$ , dengan nilai P adalah 1,00. Kesimpulan penelitian ini adalah terdapat perbedaan antara zona hambat ekstrak air dan etanol tanaman seledri. Zona-hambat yang dihasilkan menunjukkan adanya aktivitas zat aktif yang dimiliki oleh ekstrak etanol dan ekstrak air tanaman seledri seperti asam lemak dan *coumarins*.

**Kata Kunci:** *Apium graveolens*, Ekstrak, Tanaman Seledri, Zona Hambat

## Pendahuluan

Lebih dari satu juta orang di dunia terkena penyakit infeksi menular seksual (IMS) setiap harinya, dengan perkiraan 499 juta orang dengan kasus baru penyakit IMS yang dapat disembuhkan (*gonorrhoea*, *chlamydia*, *sypilis*, dan *trichomoniasis*) terjadi setiap tahun. *Gonorrhoea* merupakan salah satu penyakit IMS yang diakibatkan oleh bakteri *Neisseria gonorrhoeae* dan distribusinya mencakup seluruh dunia.<sup>1</sup> Pada penelitian yang dilakukan Center for Sexual Health and HIV Research, University College London, menyatakan bahwa *Neisseria gonorrhoeae* menjadi kurang rentan terhadap antibiotik yang tersedia, terbukti dengan semakin meningkatnya konsentrasi hambat minimum obat azithromycin atau ceftriaxone (sebagai terapi lini pertama) sejak 2011.<sup>11,12</sup> Berdasarkan hal tersebut, perlu dipertimbangkan akan penggunaan bahan alam untuk masalah yang tertera di atas, antara lain dengan penggunaan tanaman herbal sebagai antibakteri.

Seledri (*Apium graveolens*) merupakan tanaman yang berasal dari Eurasia (Eropa dan Asia) dan bermanfaat dalam bidang farmakologis, antara lain untuk penyakit kardiovaskular, sebagai antijamur, dan antimikroba.<sup>3,4</sup> Secara kimia, seledri mengandung unsur-unsur yang memiliki aktivitas antimikroba, salah satunya *coumarins*.<sup>5</sup>

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kiran C. Nilugal, dkk. mengenai ekstrak air dan etanol *petiole* tanaman seledri yang diuji pada rentang konsentrasi  $130.000 \mu\text{g ml}^{-1}$  –  $13 \mu\text{g ml}^{-1}$  menyatakan bahwa *petiole* tanaman seledri memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian tersebut menggunakan ekstrak etanol dan air tanaman seledri dan memperlihatkan hasil bahwa;

ekstrak air ternyata lebih ampuh dibandingkan ekstrak etanol, dilihat dari zona inhibisi yang didapat pada bakteri *Neisseria gonorrhoeae* yang sudah dikembangkan pada media GC Agar Base, dimana diameter yang dihasilkan ekstrak air lebih besar daripada ekstrak etanol.<sup>3</sup> Dapat disimpulkan bahwa jenis pelarut yang digunakan untuk mengekstrak tampaknya berdampak pada aktivitas antimikrobanya.<sup>3</sup>

Berdasarkan pengamatan di atas, peneliti berpikir untuk melakukan penelitian *in vitro* tentang perbedaan aktivitas antimikroba ekstrak air dan etanol tanaman seledri (*Apium graveolens*) bagian *aerial* (batang, *petiole*, dan daun) atau tanaman seledri terhadap bakteri *Neisseria gonorrhoeae* yang dilakukan dengan beberapa konsentrasi ekstrak air dan ekstrak etanol tanaman seledri.

## Metode

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental murni *in vitro* yang menggunakan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL). Efek antimikroba ekstrak air dan etanol tanaman seledri (*Apium graveolens*) terhadap bakteri *Neisseria gonorrhoeae* yang dilakukan secara *in vitro* pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram, yang hasilnya akan terlihat zona hambat yang dapat diukur menggunakan jangka sorong.

Analisis data bertujuan untuk menilai Pelarut yang lebih baik, dinilai dari perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk dari reaksi *Neisseria gonorrhoeae* terhadap pemberian ekstrak air dan etanol tanaman seledri dalam konsentrasi  $130.000 \mu\text{g ml}^{-1}$ ,  $13.000 \mu\text{g ml}^{-1}$ ,  $1.300 \mu\text{g ml}^{-1}$ ,  $130 \mu\text{g ml}^{-1}$ , dan  $13 \mu\text{g ml}^{-1}$  yang dianalisis secara deskriptif dalam rata-rata, standar deviasi, median dan nilai minimum dan maksimum. Waktu dan tempat penelitian dilakukan pada bulan

Agustus tahun 2018 di Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi FK UNPAD.

Hasil yang sudah didapat dari percobaan, dilakukan dahulu uji normalitas data numerik yaitu data zona hambat dengan *Shapiro Wilks Test* untuk besar sampel kurang dari 50 sampel, data berdistribusi normal bila nilai  $P > 0,05$ .

Hasil data pada penelitian ini berupa variabel numerik lebih dari dua kelompok tidak berpasangan pada masing-masing kelompok ekstrak air dan etanol tanaman seledri sehingga menggunakan uji *One Way ANOVA* bila data berdistribusi normal dan bila data tidak berdistribusi normal maka digunakan *Kruskall Wallist test*. Kemudian bila terdapat perbedaan

bermakna dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* dengan metoda *Tukey's-b test*, untuk mendapatkan kelompok yang memiliki perbedaan paling baik pada masing-masing kelompok ekstrak air dan etanol tanaman seledri, sedangkan apabila data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Kemudian menggunakan Uji T untuk membandingkan kelompok yang memiliki perbedaan paling baik pada masing-masing kelompok ekstrak air dan etanol tanaman seledri. Data hasil penelitian efek ekstrak air dan etanol tanaman seledri pada *Neisseria gonorrhoeae* dianalisis menggunakan dengan program *SPSS for windows* versi 24.0. pada derajat kepercayaan 95% dengan nilai  $P \leq 0,05$

**Tabel 1 Deskripsi Hasil Zona Hambat**

No.	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)														
		Ekstrak Etanol Tanaman Seledri			Ekstrak Air Tanaman Seledri			Ceftriaxone			Kontrol Negatif					
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	Etanol			Air		
1.	130.000 µg/ml	19	17,5	18,5	14,4	14,6	15,5	40	39,5	41	0	0	0	0	0	0
2.	13.000 µg/ml	10	11	10,6	7,2	7,4	6,8	40	39,5	41	0	0	0	0	0	0
3.	1.300 µg/ml	7	7,2	6,8	0	0	0	40	39,5	41	0	0	0	0	0	0
4.	130 µg/ml	0	0	0	0	0	0	40	39,5	41	0	0	0	0	0	0
5.	13 µg/ml	0	0	0	0	0	0	40	39,5	41	0	0	0	0	0	0

Tabel 1 menunjukkan Gambaran zona hambat yang terbentuk dari reaksi *Neisseria gonorrhoeae* terhadap pemberian ekstrak air dan etanol tanaman seledri dalam konsentrasi 130.000 µg ml<sup>-1</sup>, 13.000 µg ml<sup>-1</sup>, 1.300 µg ml<sup>-1</sup>, 130 µg ml<sup>-1</sup>, dan 13 µg ml<sup>-1</sup>, *ceftriaxone* dan kontrol negatif (air dan etanol)

### Pengolahan Data Zona Hambat Ekstrak Etanol Tanaman Seledri dan Ceftriaxone

Uji statistik dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro Wilks Test*, uji *one-way ANOVA* dan uji *Post-Hoc*

mendapatkan hasil seluruh kelompok memiliki diameter zona hambat yang berbeda satu sama lain, dibuktikan dengan nilai P di setiap perbandingan adalah 0,00. Hasil uji *Post-Hoc* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2 Uji *Post-Hoc* Ekstrak Etanol Tanaman Seledri dan Ceftriaxone**

Kelompok	Perbandingan	<i>P value</i>
Etanol 130.000 µg/ml	Etanol 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Etanol 1.300 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
Etanol 13.000 µg/ml	Etanol 1.300 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Ceftriaxone	0,00 <sup>a</sup>
Ceftriaxone	Etanol 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Etanol 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Etanol 1.300 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>

Keterangan: <sup>a</sup> Nilai secara statistik berbeda

<sup>b</sup> Nilaisecara statistik tidak berbeda

### Pengolahan Data Zona Hambat Ekstrak Air Tanaman Seledri dan Ceftriaxone

Uji statistik dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro Wilks Test*, uji *one-way ANOVA* dan uji *Post-Hoc*

mendapatkan hasil seluruh kelompok memiliki diameter zona hambat yang berbeda satu sama lain, dibuktikan dengan nilai P di setiap perbandingan adalah 0,00. Hasil uji *Post-Hoc* dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3 Uji *Post-Hoc* Ekstrak Air Tanaman Seledri dan Ceftriaxone**

Kelompok	Perbandingan	<i>P value</i>
Air 130.000 µg/ml	Air 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
Ceftriaxone	Air 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>

Keterangan: <sup>a</sup> Nilai secara statistik berbeda

<sup>b</sup> Nilai secara statistik tidak berbeda

### Pengolahan Data Zona Hambat Ekstrak Air dan Etanol Seledri

Uji statistik dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro Wilks Test*, uji *one-way ANOVA* dan uji *Post-Hoc* mendapatkan hasil seluruh kelompok memiliki diameter zona hambat yang berbeda satu sama lain, dibuktikan dengan nilai P di setiap perbandingan adalah 0,00 kecuali pada kelompok yang menggunakan ekstrak etanol tanaman seledri dalam konsentrasi 1.300 µg ml<sup>-1</sup> dan ekstrak air tanaman seledri dalam konsentrasi 13.000 µg ml<sup>-1</sup>, dengan nilai P adalah 1,00 yang dinilai secara statistik tidak bermakna perbedaannya. Hasil uji *post-hoc* dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4 Uji *Post-Hoc* Ekstrak Etanol dan Air Tanaman Seledri juga *Ceftriaxone***

Kelompok	Perbandingan	<i>P value</i>
Etanol 130.000 µg/ml	Etanol 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Etanol 1.300 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
Etanol 13.000 µg/ml	Etanol 1.300 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
Etanol 1.300 µg/ml	Air 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 13.000 µg/ml	1,00 <sup>b</sup>
<i>Ceftriaxone</i>	Etanol 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Etanol 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Etanol 1.300 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 130.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>
	Air 13.000 µg/ml	0,00 <sup>a</sup>

Keterangan: <sup>a</sup> Nilai secara statistik berbeda

<sup>b</sup> Nilai secara statistik tidak berbeda

**Perbandingan Pelarut Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Tanaman Seledri pada Konsentrasi 130.000 µg ml<sup>-1</sup>**

Uji statistik dilakukan dengan uji normalitas dan dilanjutkan dengan Uji T tidak berpasangan, menunjukkan bahwa dari dua bentuk pelarut yang

digunakan pada penelitian ini, rerata diameter ekstrak etanol tanaman seledri lebih besar daripada ekstrak air tanaman seledri pada konsentrasi 130.000 µg ml<sup>-1</sup>. Perbedaan rata-rata ini secara statistik signifikan karena nilai  $P=0,003$ , Hasil Uji T dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5 Uji T Tidak Berpasangan Ekstrak Air dan Etanol Tanaman Seledri pada Konsentrasi 130.000 µg ml<sup>-1</sup>**

Kelompok	Jumlah (n)	Mean (SD)	<i>P value</i>
Etanol 130.000 µg/ml	3	18,33 mm (0,76)	0,003*
Air 130.000 µg/ml	3	14,83 mm (0,58)	

Keterangan: \*Nilai P signifikan



## Pembahasan

Pada penelitian ini menunjukkan hasil uji ekstrak etanol tanaman seledri konsentrasi 130.000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  memiliki zona inhibisi terbesar dan masuk dalam kategori respon hambat pertumbuhan yang sedang (16 – 20 mm), sedangkan ekstrak air tanaman seledri konsentrasi paling tinggi memiliki respon hambat pertumbuhan lemah (10 – 15 mm).<sup>36</sup>

Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kiran C Nilugal, dkk. Ekstrak air dan etanol *petiole* tanaman seledri diuji pada rentang konsentrasi 130.000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  – 13  $\mu\text{g ml}^{-1}$  untuk melihat efek antimikroba. Berdasarkan hasil penelitian tersebut ekstrak air *petiole* tanaman seledri lebih baik kemampuannya untuk menghambat bakteri *Neisseria gonorrhoeae* daripada ekstrak etanol *petiole* tanaman seledri, dilihat dari perbedaan zona hambat yang terbentuk.

Berdasarkan pengamatan yang dinilai menggunakan jangka sorong, pada penelitian ini didapatkan diameter zona hambat ekstrak etanol tanaman seledri (batang, *petiole*, dan daun) lebih besar daripada ekstrak air tanaman seledri. Ekstrak etanol tanaman seledri (batang, *petiole*, dan daun) memiliki daya hambat yang lebih tinggi daripada ekstrak air tanaman seledri, karena etanol sebagai pelarut ekstrak yang dapat mengambil senyawa-senyawa yang terkandung di dalam tanaman seledri lebih efektif seperti asam lemak (*octadecanoic acid/stearic acid*) dan *coumarins* yang keduanya memiliki sifat antibakteri dan kurang larut di dalam air tetapi dapat dengan mudah larut di dalam etanol karena sifat air lebih polar daripada etanol sehingga kurang bisa mengambil senyawa

antibakteri yang derajat kepolaritasannya lebih rendah.<sup>6,7,8,9</sup>

Terlihat bahwa sebenarnya ekstrak tanaman seledri memiliki daya hambat terhadap *Neisseria gonorrhoeae*, tetapi zona hambat yang terbentuk masih belum bisa setara dan melebihi efek yang dihasilkan dari obat *ceftriaxone* sebagai standar pengobatan yang digunakan untuk pengobatan. Hal ini menunjukkan bahwa memungkinkan dosis yang diambil dari penelitian sebelumnya masih tidak cukup untuk melewati atau setara dengan obat standar, sehingga masih diperlukannya penelitian yang lebih lanjut untuk menentukan dosis yang efektif dari ekstrak etanol tanaman seledri.

## Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan pemberian ekstrak air dan etanol tanaman seledri konsentrasi 130.000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 13.000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 1.300  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 130  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 13  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , akuades, dan *ceftriaxone*, menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna dan signifikan antara zona hambat ekstrak etanol dan air tanaman seledri (*Apium graveolens*) terhadap *Neisseria gonorrhoeae* secara *in vitro*. Berdasarkan hasil percobaan diperoleh hasil rerata diameter zona hambat ekstrak etanol lebih besar daripada ekstrak air tanaman seledri.

## Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, para staf di Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi FK Unpad, keluarga, sahabat serta seluruh pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## Daftar Pustaka

1. Putu Yuda Hananta I, Van Dam AP, Bruisten SM, Van Der Loeff

- MFS, Soebono H, De Vries HJC. Gonorrhea in Indonesia: High prevalence of asymptomatic urogenital gonorrhea but no circulating extended spectrum cephalosporins-resistant neisseria gonorrhoeae strains in Jakarta, Yogyakarta, and Denpasar, Indonesia. *Sex Transm Dis.* 2016;43(10):608–616.
2. Talbot GH. What is in the pipeline for Gram-negative pathogens? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008;6(1):39–49.
  3. Nilugal KC, Chittur A iqbal, Nishaidevi, Ugandar R. Antimicrobial Potentiality of Petiole Extracts of *Apium Graveolens L.* *World J PharmPharm Sci.* 2015;4(4):216–231.
  4. Kooti W, Ali-akbari S, Asadi-samani M, Ghadery H, Ashtary-larky D. A review on medicinal plant of *Apium graveolens*. *Adv Herb Med.* 2014;1(1):48–59.
  5. Al-Asmari A, Athar MT, Saeed K. An updated phytopharmacological review on medicinal plant of arab region: *Apium graveolens Linn.* *Pharmacognosy Reviews.* 2017;11(21):13-18.
  6. Heryanto R, Hasan M, Abdullah EC, Kumoro AC. Solubility of Stearic Acid in Various Organic Solvents and Its Prediction using Non-ideal Solution Models. *Science Asia.* 2007;33(4):469.
  7. ILO.org [homepage on the Internet]. International group of experts on behalf of ILO and WHO, with the financial assistance of the European Commission;[updated 2017;diunduh 1 Januari 2018]. Tersedia dari: [http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p\\_version=2&p\\_card\\_id=1105](http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_version=2&p_card_id=1105).
  8. Toxnet.nlm.nih.gov [homepage on the Internet]. United States: U. S. National Library of Medicine.; [updated 2003 May 29;diunduh 1 Januari 2018]. Tersedia dari: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+91-64-5>.
  9. Gray AI, Sarker SD, Latif Z. Initial and Bulk Extraction. Natural Products Isolation. Humana Press Inc. 2006.2: hlm. 30–37
  10. Prayoga E. Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. 2013 Sept 12:1–33.
  11. Clifton S, Bolt H, Mohammed H, et al. Prevalence of and factors associated with MDR *Neisseria gonorrhoeae* in England and Wales between 2004 and 2015, analysis of annual cross-sectional surveillance surveys. *J Antimicrob Chemother.* 2018;(February):1–10.
  12. Patel BJ, Weinstein PM, Eliopoulos MG, Jenkins GS, Lewis SJ, Limbago B, dkk. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 2017 January;27;172–24. Phosphate Dehydrogenase(G6PD) deficiency in Neonates with Neonatal Hyperbilirubinemia and to Compare the Course of the Neonatal Jaundice in deficient Versus Non Deficient Neonates. *Journal of Clinical Neonatology.* 2017 Apeil-Juni; 6(2):71-4
- Veni DVK, The Study On The Effect Of Gender On Serum Bilirubin



Concentration In Infants With Neonatal Hyperbilirubinemia. *Int J Pharm Bio Sci.* 2013; 4(2):603-8

Bala,Jyorti dkk. 2015. Variation in the serum bilirubin levels in newborns according to gender and seasonal changes. *AM&HS Journal.*2015;3(1):50-5. Tersedia dari : [http://www.amhsjournal .org/article.asp?issn=23214848;year=2015;voume=3;issue=1;spage=50;epage=55;aulast=](http://www.amhsjournal.org/article.asp?issn=23214848;year=2015;voume=3;issue=1;spage=50;epage=55;aulast=)