Uji Aktivitas Antibakteri Daun Belimbing Manis (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* serta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya

Wibawa Mulyati, Yani Lukmayani, & Esti Rachmawati Sadiyah
Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia
email: mulyatiwibawa@gmail.com, lukmayani@gmail.com, esti_sadiyah@gmail.com

ABSTRACT: *Staphylococcus epidermidis* is one of the bacteria that cause infection. Star fruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) is known to have antibacterial activity due to the presence of secondary metabolites. However, it is uncertain whether the compound that plays an active role in *Averrhoa bilimbi* L. as an antibacterial especially against *Staphylococcus epidermidis*. Therefore, study aimed to determine the compounds that act as antibacterial. Crude material was firstly stratified by maceration and using n-hexane, ethyl acetate and methanol as solvents. The extracts collected were then tested for antibacterial activity to *Staphylococcus epidermidis* at a concentration of 10.000; 20.000; 30.000; 40.000; and 50.000 ppm using the diffusion method for the well technique. The test results showed that the extracts of n-hexane, ethyl acetate, and methanol produced inhibitory diameters of 15.9 mm ± 0.9; 12.45 mm ± 2.72; and 14.2 mm ± 4.16 consecutively. n-hexane extract which showed the best activity was tested then by contact bioautography TLC to detect the presence of compounds that have antibacterial activity. However, clear areas and color patches have not been identified resulting from the appearance of alkaloid, flavonoid, and phenol patches. Based on the results of phytochemical screening, n-hexane extract contains alkaloid, polyphenolate, flavonoid, anthraquinone, tanin, monoterpene and sesquiterpene, triterpenoid and steroid, which have potency in antibacterial activity resulted.

Keywords: Averrhoa bilimbi L, antibacterial, Staphylococcus epidermidis, Bioautography TLC.

ABSTRAK: *Staphylococcus epidermidis* adalah salah satu bakteri penyebab infeksi. Daun belimbing manis (*Averrhoa bilimbi* L.) diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri berdasarkan kandungan metabolit sekundernya. Namun belum dapat dipastikan senyawa apakah yang berperan aktif dalam *Averrhoa bilimbi* L. sebagai antibakteri khususnya terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa yang berperan sebagai antibakteri. Simplisia dan ekstrak dengan metode ekstraksi bertingkat (maserasi) dan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 10.000; 20.000; 30.000; 40.000; dan 50.000 ppm menggunakan metode difusi agar teknik sumuran. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol menghasilkan diameter hambat secara berurutan masing-masing sebesar 15,9 mm ± 0,9; 12,45 mm ± 2,72; dan 14,2 mm ± 4,16. Ekstrak n-heksana yang menunjukkan aktivitas paling baik selanjutnya dilakukan KLT bioautografi kontak untuk mendeteksi keberadaan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Namun, belum dapat teridentifikasi area jernih dan bercak warna yang dihasilkan dari penampak bercak alkaloid, flavonoid, dan fenol. Adapun berdasarkan hasil penapisan fitokimia, golongan senyawa yang terdeteksi pada ekstrak n-heksana adalah alkaloid, polifenolat, flavonoid, antrakuinon, tanin, monoterpen dan sesquiterpen, triterpenoid dan steroid, yang berpotensi dalam aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

Kata Kunci: *Averrhoa bilimbi* L, antibakteri, *Staphylococcus epidermidis*, KLT bioautografi.

1 PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia dan satu kumpulan jenis-jenis penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, dan parasit (Mutsaqof *et* al, 2015). Infeksi yang terjadi salah satunya disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis* dengan terjadinya pembentukan abses (Indriana dkk, 2013).

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram-positif dan bersifat anaerob fakultatif (Indriana dkk, 2013). Bakteri *Staphylococcus epidermis* secara alami hidup di membran kulit dan membran mukosa manusia (Maftuhah dkk, 2015).

Menurut Otto (2012) bakteri *Staphylococcus epidermidis* umumnya resisten terhadap antibiotik penisilin dan metisilin. Penggunaan bahan kimia terutama antibiotik dalam jangka panjang selain dapat menimbulkan resistensi juga dapat menimbulkan kerusakan organ dan imunohipersensitivitas (Qomar *et al*, 2018). Adanya masalah yang timbul akibat penggunaan antibiotik dari bahan kimia sintetis tersebut, maka diperlukan alternatif pengobatan menggunakan bahan alami. Salah satu alternatif bahan alami tersebut tanaman belimbing manis (*Averrhoa bilimbi* L.).

Berdasarkan informasi di atas dapat diketahui tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari daun belimbing manis

(*Averhhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, mengetahui ekstrak yang memiliki aktivitas tertinggi dari ketiga ekstrak, mengetahui senyawa yang terkandung dalam daun belimbing manis (*Averhhoa bilimbi* L.) yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, dan mengetahui kandungan senyawa pada ekstrak n-heksana hasil penapisan fitokimia yang memiliki aktivitas antibakteri tehadap *Staphylococcus epidermidis.*

2 LANDASAN TEORI

Belimbing Manis

Klasifikasi dan Nama Umum

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnolipsida
Anak kelas : Rosidae
Bangsa : Geraniales
Suku : Oxalidaceae
Marga : *Averrhoa*
Jenis : *Averrhoa bilimbi* L.

(Cronquist, 1981; Backer & Bakhuizen Van Den Brink, 1963; Samson, 1992).

Gambar 1. Averrhoa bilimbi L. (Paull dan Duarte, 2012)

Belimbing manis memiliki nama daerah *Carambolier* yang dikenal dengan nama *star fruit; carambola; five corners* (Inggris), *balimbing amis* (Sunda), *asam jorbing* (Batak), *lembutua* (Gorontalo), *bainang sulapa* (Makassar), *balireng* (Bugis), *totofuko* (Ternate) (Heyne, 1987).

Belimbing diperkaya akan nutrisi yang sangat baik dari antioksidan alami seperti asam askorbat, epikatekin dan asam galat dalam bentuk tanin galat. Daun belimbing manis mengandung alkaloid, triterpenoid, saponin, flavonoid dan tanin (Masduqi dan Anggoro: 2017).

Staphylococcus epidermidis

Menurut Garrity *et al* (2004), klasifikasi *Staphylococcus epidermidis* yaitu sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Bangsa : Eubacteriales
Suku : Micrococcaceae
Marga : *Staphylococcus*
Jenis : *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis merupakan flora normal yang terdapat di kulit dan membran mukosa. Bakteri *S. epidermidis* merupakan bakteri Gram positif, koloni berwarna putih atau kuning, tumbuh cepat pada suhu 37°C, dan bersifat anaerob fakultatif (Radji, 2010).

KLT Bioautografi

KLT bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi dan antivirus (Pratiwi, 2008).

Keuntungan dari KLT bioautografi adalah sifatnya yang sederhana, murah, dan efisien untuk mendeteksi adanya senyawa antimikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Sedangkan kerugian dalam menggunakan metode ini adalah tidak dapat digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

3 METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu penyiapan bahan, penetapan parameter standar, penapisan fitokimia, ekstraksi, uji aktivitas antibakteri dan pemantauan ekstrak dengan menggunakan KLT Bioautografi.

4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing manis (Averrhoa bilimbi L.) yang diperoleh dari daerah Cimahi, Jawa Barat yang selanjutnya dilakukan determinasi.

Pembuatan simplisia diawali dengan sortasi. Selanjutnya dilakukan pencucian dan simplisia segera dikeringkan agar tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu lebih lama. Simplisia diperkecil ukurannya untuk

memudahkan pelarut berdifusi pada saat dilakukan nya ekstraksi.

Penetapan parameter standar merupakan parameter yang bertujuan untuk suatu simplisia dalam mengetahui kebenaran dan keamanan simplisia. Adapun parameter standar tersebut dibagi menjadi dua yaitu penetapan parameter spesifik dan penetapan parameter non spesifik. Hasil dari penetapan parameter standar tersebut dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penetapan Parameter Standar

No	Parameter	Simplisia	Ekstrak		
			Nheksan	Etil Asetat	Metanol
1	Organoleptis	Bentuk : Rajangan daun; Warna : Hijau tua; Bau : Aromatik	Bentuk: Kental; Warna : Hijau tua pekat; Bau: Aromatik kuat	Bentuk: Kental; Warna : Hijau pudar kecoklatan; Bau: Aromatik kuat	Bentuk: Kental; Warna : Hijau semakin pudar kecoklatan; Bau: Aromatik kuat
2	Kadar sari larut air	13,77 ± 0,93	-	-	-
3	Kadar sari larut etanol	14,00 ± 2,00	-	-	-
4	Kadar abu total	5,61 ± 0,13	-	-	-
5	Kadar abu tidak larut asam	0,91 ± 0,08	-	-	-
6	Kadar air	5,5 ± 0,71	-	-	-
7	Susut pengeringan	8,2 ± 0,09	-	-	-
8	Bobot jenis	-	0,705	0,909	0,827

Keterangan :
(-) = Tidak dilakukan pengujian

Parameter organoleptis merupakan pengujian dengan menggunakan pancaindera sebagai alat utama untuk mendeskripsikan bentuk, warna, dan bau dari suatu objek yang diamati.

Parameter kadar sari adalah metode pengujian untuk menunjukkan jumlah kandungan senyawa di dalam suatu simplisia yang dapat tersari dalam pelarut tertentu.

Parameter kadar abu dilakukan karena berhubungan dengan kemurnian dari suatu simplisia. Kadar abu total yang diperoleh dari simplisia daun belimbing manis (Averrhoa bilimbi L.) sebesar 5,61%. Kadar abu tidak larut asam yang diperoleh dari simplisia daun belimbing manis (Averrhoa bilimbi L.) sebesar 0,91%. Hasil kedua parameter kadar abu tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Zainab, dkk (2016).

Kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang berada didalam simplisia. Metode yang digunakan dalam kadar air adalah destilasi azeotrop menggunakan toluen yang telah dijenuhkan dengan air.

Penetapan susut pengeringan merupakan batasan maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan yang disebabkan oleh pemanasan saat proses terjadi (Depkes RI, 2008).

Bobot jenis merupakan perbandingan bobot zat terhadap air dengan volume dan suhu yang sama (Depkes RI, 1979).

Penapisan fitokimia dan ekstrak dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada simplisia dan ekstrak. Hasil yang terdeteksi dari penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak adalah alkaloid, polifenolat, flavonoid, antrakuinon, tanin, monoterpen dan sesquiterpen, triterpenoid dan steroid, dan saponin.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Averrhoa bilimbi L.

Senyawa	Simplisia	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol
Alkaloid	+	+	+	+
Polifenolat	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	+	-	-	+
Antrakuinon	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Moonoterpen dan Sesquiterpen	+	+	+	+
Triterpenoid dan Steroid	+	+	+	+

Keterangan :
(+) = Terdeteksi (-) = Tidak Terdeteksi

Pada ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat tidak terdeteksi adanya saponin, dikarenakan glikosida yang terkandung lebih larut pada pelarut polar (Haryati dkk, 2015).

Ekstraksi yang dilakukan terhadap simplisia Averrhoa bilimbi L. menggunakan ekstraksi bertingkat dengan cara maserasi yang menggunakan pelarut dengan kepolaran yang meningkat dimulai dari n-heksana, etil asetat dan metanol yang dilakukan adalah 3 x 24 jam.

Hasil dari ekstraksi selanjutnya dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator dan diuapkan di atas waterbath. Sehingga dihasilkan ekstrak kental dan rendemen dari masing-masing pelarut. Rendemen ekstrak yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rendemen Ekstrak

Sampel	Berat Ekstrak (g)	Berat simplisia (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Ekstrak n-heksana	7,94	500	1,59
Ekstrak etil asetat	14,82	500	2,96
Ekstrak metanol	98,34	500	19,67

Rendemen ekstrak yang dihasilkan menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol memiliki persentase lebih besar dibandingkan rendemen ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan difusi agar teknik sumuran. Selanjutnya dibuatlah konsentrasi uji yang terdiri dari 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm dan 50.000 ppm. Pada pengujian ini media yang telah diisi larutan uji, kontrol positif dan kontrol negatif diinkubasi selama 24 jam menggunakan suhu 37°C.

Tabel 4. Diameter Hambat Larutan Uji

Larutan Uji	Diameter Hambat (mm)						
	10.000 ppm	20.000 ppm	30.000 ppm	40.000 ppm	50.000 ppm	K. Positif (Klindamisin 0,1%)	K.Negatif (Etanol 96%)
n-heksana	11,5 ± 1,88	12,53 ± 2,12	14,64 ± 2,95	13,72 ± 3,44	15,9 ± 0,9	29,42 ± 2,82	-
Etil Asetat	12 ± 1,48	13,33 ± 2,55	11,77 ± 2,36	12,63 ± 1,92	12,45 ± 2,72	29,42 ± 2,82	-
Metanol	12,23 ± 2,75	12,79 ± 2,11	12,08 ± 2,21	12,64 ± 2,39	14,2 ± 4,16	29,42 ± 2,82	-

Keterangan : Diameter sumur 8 mm.

Ekstrak n-heksana memiliki aktivitas dominan lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat dan metanol apabila dilihat dari rata-rata diameter hambat yang diperoleh **(Tabel 4).** Ekstrak yang memiliki aktivitas terbaik di antara ketiga ekstrak yang digunakan adalah ekstrak n-heksana. Diameter hambat yang diperoleh dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol menunjukkan daya hambatan pertumbuhan bakteri yang lemah dikarenakan diameter hambat yang diperoleh kurang dari 14 mm (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

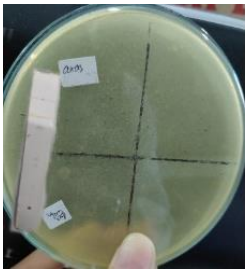
Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk menghasilkan eluen yang sesuai sehingga akan memperoleh noda bercak yang baik dan dilakukan setelah dipilihnya ekstrak terbaik untuk selanjutnya dilakukan KLT bioautografi. Untuk ekstrak n-heksana dilakukan elusi menggunakan eluen kloroform : n-heksana dengan perbandingan (1:1).

(a) (b)

Gambar 2. (a) Cahaya Tampak; (b) UV 366 nm

Hasil KLT pada **(Gambar 2)** menghasilkan 2 spot bercak dengan nilai Rf masing – masing sebesar 0,47 dan 0,78.

KLT bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak suatu senyawa pada kromatogram hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memiliki aktivitas antibakteri (Pratiwi, 2008).



Gambar 3. Hasil KLT bioautografi ekstrak n-heksana

Hasil yang didapatkan pada saat KLT bioautografi tidak menunjukkan adanya area jernih di permukaan agar yang telah di tempel oleh plat. Hal ini dapat disebabkan karena ekstrak yang berada pada plat tidak efektif dalam proses difusi pada media agar yang menyebabkan hasilnya negatif.

Identifikasi golongan senyawa menggunakan penampak bercak dilakukan untuk mengetahui senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Hasil yang didapatkan pada saat penyemprotan bercak adalah tidak teridentifikasi nya senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dikarenakan tidak adanya perubahan warna jingga untuk penampak bercak Dragendroft pada senyawa alkaloid, warna biru atau hitam untuk penampak bercak $AlCl_3$ pada senyawa flavonoid, dan noda berfluoresensi kuning untuk penampak bercak $FeCl_3$ pada senyawa fenol. Hal ini berarti senyawa yang berperan dalam aktivitas antibakteri bukan berasal dari golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan fenol.

5 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan,

peneliti dapat menyimpulkan beberapa hasil sebagai berikut:

1. Aktivitas antibakteri dari ketiga ekstrak daun belimbing manis (Averrhoa bilimbi L.) terhadap bakteri Staphylococcus epidermidis memiliki respon hambatan lemah.
2. Dari ketiga jenis ekstrak, ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah ekstrak n-heksana yang diikuti dengan ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat.
3. Golongan senyawa dalam ekstrak daun belimbing manis yang memiliki aktivitas antibakteri pada Staphylococcus epidermidis belum dapat teridentifikasi menggunakan KLT Bioautografi kontak.
4. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, kandungan ekstrak n-heksana yang berpotensi dalam aktivitas antibakteri adalah alkaloid, polifenolat, flavonoid, antrakuinon, tanin, monoterpen dan sesquiterpen, triterpenoid dan steroid.

6 SARAN

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk dilakukan metode ekstraksi selain ekstraksi bertingkat dan dilakukan KLT bioautografi menggunakan metode selain bioautografi kontak.

DAFTAR PUSTAKA

Backer, C.A., Bakhuizen V.D.B, Jr., R.C. (1963). *Flora of Java*. Volume I. the Netherlands: Wolters-Noordhoff N.V., Groningen.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Performance Standardsfor Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard-Eleventh Edition.* USA: West Valley Road. Hal: 4.

Cronquist, A. (1981). *An Intergrated System Of Classification Of Flowering Plants.* New York: Columbia University Press. Xiii – Xviii.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia*, Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal: 767.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*: Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. (2004). Taxonomic Outline of The Procaryotes: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 2nd ed, New York, Release 5,0 Spring-Verlag, p. 46.

Haryati, N.A., Saleh, C., Erwin. (2015). Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman* Volume 13 Nomor 1. Samarinda: Universitas Mulawarman

Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid kedua, Terjemahan Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Jakarta Pusat: Koperasi Karyawan Departemen Kehutanan.

Indriana, W., Yuliani, R., Munawaroh, R. (2013). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Kedondong (Spondias pinnata) Terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis Dan Klebsiella pneumonia*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah. Hal: 2.

Maftuhah, A., Bintari, S.H., Mustikaningtyas, D. (2015). Pengaruh Infusa Daun Beluntas (*Pluchea indica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis. Unnes Journal of Life Science*. Vol.4 No.1 Hal: 60-65.

Masduqi, A.F dan Anggoro, A.B. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Sebagai Bahan Dasar Formula Pasta Gigi dan Daya Antibakteri *Streptococcus mutans*. Media Farmasi Indonesia. Vol 12 No 1. Hal: 1210.

Mutsaqof, A.A.N., Wiharto., Suryani, E. (2015). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining. Surakarta: *Jurnal Itsmart*. Vol 4. No.1 Hal 43-47.

Otto, M. (2012). Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. *Seminars in Immunopathology*. Vol. 34 No.2 Hal 201-214. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3272124/

Paull, E, R., Duarte, O. (2012). *Tropical Fruits*, Volume 2. Peru: Crop Production Science in Horticulture.

Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta: Erlangga. Hal: 188-192.

Qomar, M.H., Budiyanto, M.A.K., Sukarsono, Wahyuni, S., Husamah. (2018). Efektivitas Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kayu Manis *(Cinnamomum burmannii* [Ness.] BI*)* Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Malang: *Jurnal Biota* Vol.4 No.1 Hal 12-18.

Radji, M. (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Hal: 194.s

Samson, J.A. (1992). *Averrhoa* L. In: Verheij, E.W.M., Coronel, R.E. (eds). *Plant Resources of South-East Asia* No.2: Edible Fruits and nuts. Hal: 96-98.

Stahl, E. (1985). *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Diterjemahkan oleh Fadmawinata dan Sudiro. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hal: 3-4.

Zainab., Gunanti, F., Witasari, H.A., Edityaningrum, C.A., Mustofa., Murrukmihadi, M. (2016). Penetapan Parameter Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Prosiding Rakernas dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia*. Hal: 212.