

Saintek, Vol 6, No 2 2011
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA MEDIA
YANG DIEKSPOS DENGAN INFUS DAUN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*)

Yuliana Retnowati¹, Nurhayati Bialangi², Nona Wingti Posangi³

(1,3) Jurusan Biologi, (2) Jurusan Pend. Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo

ABSTRACT

The aim of study was to determine the growth of *Staphylococcus aureus* on The Medium that Exposed with sambiloto leaf infusion. The study was done at microbiology laboratory, Biology Department, Gorontalo State University. The descriptive method was used, that describes of the effect of sambiloto leaf infusion to *S. aureus* growth, which refers to the specific growth rate and generation time in bitter leaf infusion concentration variation during the incubation period 72 hours. The results showed that the sambiloto leaf infusion have bacteriostatic effect on *S. aureus* growth with specific growth rates at concentrations (v/v) of 0%, 25%, 50% and 75% were 0.362, 0.260, 0.169 and 0.974 / h and each of generation time were 1.92, 2.66, 4.09 and 9.29 hours.

Keywords: Growth, S. aureus, infusion sambiloto leaf, bacteriostatic effect.

Pendahuluan.

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan bakteri gram positif yang tergolong sebagai bakteri pathogen. Hal tersebut karena *S. aureus* mampu menghasilkan enterotoksin ketika bakteri ini tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawets dkk, 1996). Keracunan makanan oleh *S. aureus* dapat terjadi jika menelan makanan yang tercemar enterotoksin.

Melihat dampak bakteri *S. aureus* bagi kesehatan manusia, maka perlu dilakukan suatu pengendalian terhadap pertumbuhan bakteri tersebut. Pengendalian adalah segala kegiatan yang dapat menghambat aktivitas mikroorganisme (Pelzar dan Chan, 1996). Upaya pengendalian aktivitas mikroorganisme pada umumnya menggunakan senyawa antimikroba/antibakteri dan antiseptik yang berasal dari bahan-bahan kimia sintetis yang justru dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan (Ati, 2009).

Dewasa ini telah banyak dilakukan penelitian yang mengkaji tentang kimia tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai antibakteri. Hasil penelitian Ajizah dkk (2007) tentang ekstrak kayu ulin yang mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, tanin dan saponin mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 2% dan 2,5%. Selain itu, penelitian Pratama (2005) tentang ekstrak kayu siwak yang mengandung saponin, alkaloid,

tanin, flavonoid dan sterol dapat menghambat pertumbuhan *S. Aureus*. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba adalah sambiloto. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tanaman obat tradisional yang secara empirik mempunyai khasiat untuk mengobati penyakit diare (Dalimarta, 1999).

Hasil analisa kimia yang dilakukan oleh Novalina (2003) menyatakan bahwa daun sambiloto mengandung saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, andrografolida, deoksi-andrografolida, neo-andrografolida, panikolina, dan apigenin. Beberapa senyawa yang terkandung dalam daun sambiloto diketahui mempunyai kemampuan sebagai antibakteri. Senyawa saponin dapat bekerja sebagai bakteriostatik dengan cara merusak membran sitoplasma (Robinson 2005 dalam Aulia, 2008). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan dapat merusak membran sitoplasma (Pelzar dkk. 1998 dalam Aulia, 2008). Sementara menurut Ajizah (2007) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh dari bakteri *Staphylococcus aureus* pada medium yang mengandung infus daun sambiloto.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, terhadap kemampuan tumbuh *S. aureus* pada medium yang mengandung infus daun sambiloto pada variasi konsentrasi 25%, 50% dan 75% dengan mengacu pada kecepatan tumbuh spesifik dan waktu generasi selama 72 jam inkubasi.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan : tabung reaksi, lampu spritus, cawan petri, ose, gelas erlenmeyer, termometer, neraca analitik, gelas ukur pirex, *autoclav*, inkubator, *colony counter*, dan *shaker inkubator*.

Bahan yang digunakan : infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), biakan murni *Staphylococcus aureus* (koleksi LIPI Bogor), Aquades.

Teknik Pengumpulan Data

1. Pembuatan Infus Daun Sambiloto

Daun sambiloto yang sudah dibersihkan kemudian dikering-anginkan di udara terbuka yang terlindung dari sinar matahari langsung. Sebanyak 150 gr daun sambiloto kering direbus

dalam air mendidih sebanyak 150 ml selama 15 menit pada suhu 90°C sampai volumenya menjadi setengah. Setelah itu disaring dan hasil penyaringan ini disebut infus.

Infus daun sambiloto yang akan diuji efek bakteriostatiknya dibuat pengenceran sebagai berikut : 75%, 50% dan 25%.

2. Penyiapan inokulum/starter dan medium pertumbuhan

Sebanyak 2 ose kultur murni *S. aureus*, dimasukkan dalam 50 ml *Nutrient Broth* steril dan diinkubasi selama 24 jam (Iskandar dkk, 2009).

Medium *Nutrient Broth* dibuat menurut Hadioetomo (1993) dengan cara melarutkan 9,6 gr *Nutrient Broth* kedalam 1200 ml aquades steril dalam erlenmeyer. Larutan ini selanjutnya dipanaskan diatas kompor listrik sambil diaduk-aduk selama 10-15 menit, selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium dengan konsentrasi 75% dengan cara menambahkan 75 ml infus 100% + 25 ml aquades dan 0,8 gr NB, konsentrasi 50% dengan cara menambahkan 50 ml infus 100% + 50 ml aquades dan 0,8 gr NB, konsentrasi 25% dengan cara menambahkan 25 ml infus 100% + 75 ml aquades dan 0,8 gr NB, medium NB + aquades tanpa ditambah infus (konsentrasi 0%) sebagai kontrol.

Medium *Nutrient Agar* dibuat dengan cara melarutkan 42 gr *Nutrient Agar* kedalam 1500 ml aquades steril dalam erlenmeyer. Larutan ini selanjutnya dipanaskan diatas kompor listrik sambil diaduk-aduk selama 10-15 menit, selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Hadioetomo, 1993).

3. Uji Kemampuan Tumbuh *S. aureus*

Stater *S. aureus* sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam masing-masing konsentrasi medium dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam menggunakan *shaker inkubator*.

Pengamatan pertumbuhan dimulai sejak inkubasi jam ke-0 sampai jam ke-72. Setiap interval waktu 3 jam dilakukan *Plate Count* pada media NA (Hadioetomo, 1993). Suspensi bakteri *S. aureus* dilakukan seri pengenceran pada tingkatan 10⁻¹ sampai 10⁻⁶. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri pada pengenceran 10⁻¹ dimasukkan kedalam 9 ml akuades steril, disebut sebagai pengenceran 10⁻². Demikian seterusnya sampai mencapai pengenceran 10⁻⁶. Pada pengenceran 10⁻⁵ – 10⁻⁶ diambil 1 ml kemudian diinokulasikan pada medium NA diteknik *Pour Plate*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam & koloni yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*.

Untuk penentuan kecepatan tumbuh spesifik, digunakan rumus menurut Kusnadi dkk, (2003) sebagai berikut :

1. Kecepatan Tumbuh Spesifik (μ)

$$\mu = 0,693 \cdot \frac{\log N_t - \log N_0}{t}$$

$$0,301 \times t$$

Dimana : t = Interval waktu t_1-t_2
 N_0 = Jumlah sel bakteri awal(t_0)
 N_t = Jumlah akhir mikroorganisme

2. Waktu Generasi (g)

$$g = \frac{0,301 \times t}{\text{Log } N_t - \text{log } N_0}$$

Dimana : g = Waktu generasi
 t = Waktu yang dibutuhkan dari jumlah mulai (N_0) menjadi jumlah pada t (N_t)

Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan mengacu pada kecepatan tumbuh spesifik dan waktu generasi.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

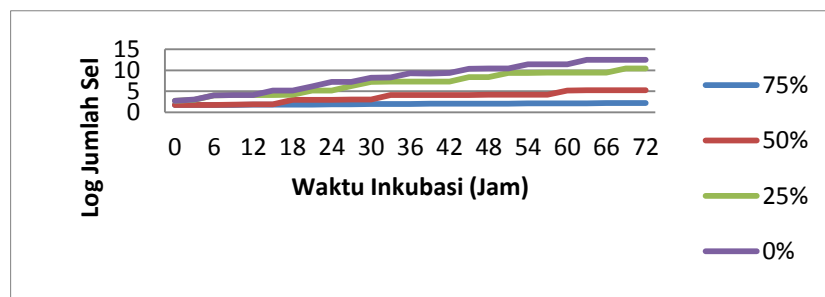
Hasil Penelitian

Data hasil penelitian tentang kemampuan tumbuh *S. aureus* pada variasi konsentrasi infus daun sambiloto yang ditunjukkan dengan perbedaan jumlah bakteri pada masing-masing konsentrasi selama 72 jam inkubasi disajikan pada Tabel 1.

Waktu Inkubasi (Jam)	Jumlah Bakteri (CFU/ml)			
	0 %	25 %	50 %	75%
0	$5,3 \cdot 10^2$	$5,2 \cdot 10^2$	$5,3 \cdot 10^1$	$5,3 \cdot 10^1$
3	$1,1 \cdot 10^3$	$9,7 \cdot 10^2$	$5,5 \cdot 10^1$	$5,4 \cdot 10^1$
6	$1,1 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^1$	$5,9 \cdot 10^1$
9	$1,2 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$	$6,9 \cdot 10^1$	$6,1 \cdot 10^1$
12	$1,3 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^4$	$7,7 \cdot 10^1$	$6,2 \cdot 10^1$
15	$1,4 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$	$8,3 \cdot 10^1$	$6,3 \cdot 10^1$
18	$1,5 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^2$	$6,8 \cdot 10^1$
21	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^5$	$9,5 \cdot 10^2$	$7,3 \cdot 10^1$
24	$1,6 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^3$	$7,9 \cdot 10^1$
27	$1,7 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^3$	$8,5 \cdot 10^1$
30	$1,8 \cdot 10^8$	$1,8 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^1$

33	$1,9 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^4$	$9,7 \cdot 10^1$
36	$2,0 \cdot 10^9$	$2 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^2$
39	$2,1 \cdot 10^9$	$2,1 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^2$
42	$2,2 \cdot 10^9$	$2,2 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^2$
45	$2,3 \cdot 10^{10}$	$2,2 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^2$
48	$2,4 \cdot 10^{10}$	$2,3 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^2$
51	$2,5 \cdot 10^{10}$	$2,4 \cdot 10^9$	$1,5 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^2$
54	$2,6 \cdot 10^{11}$	$2,5 \cdot 10^9$	$1,5 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^2$
57	$2,7 \cdot 10^{11}$	$2,6 \cdot 10^9$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^2$
60	$2,8 \cdot 10^{11}$	$2,7 \cdot 10^9$	$1,6 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^2$
63	$2,8 \cdot 10^{12}$	$2,8 \cdot 10^9$	$1,7 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^2$
66	$2,9 \cdot 10^{12}$	$2,8 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^2$
69	$2,9 \cdot 10^{12}$	$2,9 \cdot 10^{10}$	$1,8 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^2$
72	$2,9 \cdot 10^{12}$	$2,9 \cdot 10^{10}$	$1,9 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^2$

Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi infus semakin rendah kecepatan tumbuh bakteri. Konsentrasi 25% mengalami sedikit penurunan jika dibandingkan dengan kontrol (0%). Berbeda dengan konsentrasi 50% dan 75% penambahan jumlah bakteri makin sedikit yang ditandai dengan kecepatan tumbuh yang semakin lambat. Hal ini mengindikasikan bahwa infus daun sambiloto mampu menghambat, sehingga dapat menurunkan kecepatan tumbuh *S. aureus* tetapi bersifat bakteriostatik. Hal tersebut akan menghasilkan pola pertumbuhan yang cukup variatif, seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik pertumbuhan *S. aureus* pada medium Nutrient Broth yang mengandung variasi infus daun sambiloto inkubasi 0-72 jam

Gambar 1 menunjukkan bahwa antara 4 variasi konsentrasi terdapat perbedaan pada fase adaptasi. Konsentrasi 0% fase adaptasi pertumbuhan bakteri berada pada jam ke-0 hingga jam ke-3, Konsentrasi 25% fase adaptasi pertumbuhan bakteri berada pada jam ke-0 hingga jam ke-3, Konsentrasi 50% fase adaptasi pertumbuhan bakteri berada pada jam ke-0 hingga jam ke-15, Konsentrasi 75% fase adaptasi pertumbuhan bakteri berada pada jam ke-0 hingga jam ke-33.

Penurunan kemampuan tumbuh ditunjukkan pada data kecepatan tumbuh spesifik dan waktu generasi yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu Generasi dan Kecepatan Tumbuh Spesifik *S. aureus* pada Variasi Konsentrasi Infus Daun Sambiloto

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan	
	Kecepatan tumbuh spesifik μ (/jam)	Waktu generasi (g) (jam)
0	0,362	1,92
25	0,260	2,66
50	0,169	4,09
75	0,074	9,29

Data waktu generasi dan kecepatan tumbuh spesifik menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi infus daun sambiloto semakin besar efek penghambatannya terhadap pertumbuhan *S. aureus*, terbukti bahwa waktu generasi yang ditempuh oleh *S. aureus* mencapai 9,29 jam pada konsentrasi 75% dibandingkan kontrol 1,92 jam. Sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan kemampuan tumbuh *S. aureus* pada variasi konsentrasi infus daun sambiloto yang ditunjukkan dengan perbedaan jumlah bakteri pada masing-masing konsentrasi selama 72 jam inkubasi.

Pembahasan

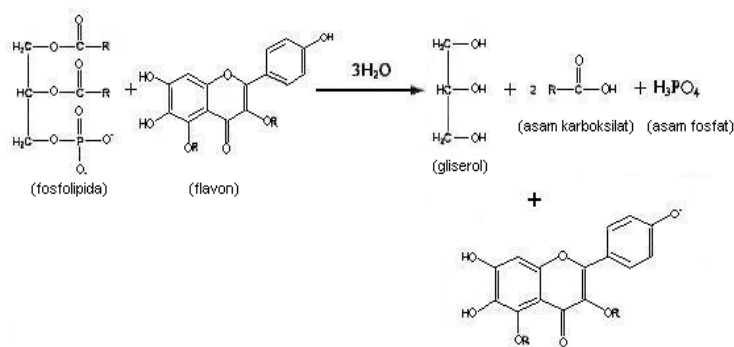
Pertumbuhan merupakan penambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Hal ini sejalan dengan yang dikatakan Jawetz dkk, (1996) bahwa "Pertumbuhan adalah peningkatan jumlah semua komponen dari suatu organisme secara teratur". Pertumbuhan organisme pada suatu lingkungan sangat dipengaruhi berbagai faktor lingkungan, meliputi faktor fisik dan faktor kimia yang dapat menyebabkan penurunan kecepatan tumbuh suatu organisme.

S. aureus selama pertumbuhan pada medium yang diekspos dengan infus daun sambiloto menunjukkan respon yang berbeda pada tiap konsentrasi infus. Respon tersebut ditunjukkan dengan perbedaan masa fase adaptasi pada awal pertumbuhan. Fase adaptasi merupakan fase dimana bakteri menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungannya. Semakin lama atau panjang masa adaptasi mikroba pada lingkungan yang diekspos senyawa kimia tersebut menunjukkan bahwa senyawa kimia tersebut memiliki efek penghambatan pertumbuhan mikroba.

Medium pertumbuhan *S. aureus* yang terekspose oleh infus daun sambiloto menunjukkan adanya efek bakteristatik yang disebabkan oleh kandungan kimia infus daun sambiloto. Efek bakteristatik dari senyawa kimia sambiloto berbeda pada tiap konsentrasi

dimana semakin tinggi konsentrasi efek bakteristatiknya semakin besar, yang ditunjukkan oleh peningkatan waktu generasi atau penurunan kecepatan tumbuh spesifik.

Efek bakteristatik yang ditimbulkan oleh infus daun sambiloto dipengaruhi oleh adanya senyawa kimia yang terkandung dalam infus daun sambiloto yang mempunyai efek sebagai anti bakteri, meliputi flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Terjadinya penghambatan bakteri tersebut karena adanya reaksi suatu senyawa kimia sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam sambiloto yang bersifat bakteristatik. Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Volk dan Wheeler (1988) dalam Prajitno (2007) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon ditunjukkan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon (Prajitno, 2007)

Selain flavonoid senyawa lain yang terkandung dalam sambiloto adalah saponin, alkaloid dan tanin. Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma (Robinson 2005 dalam Aulia, 2008). Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak

terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Purnamawati, dkk).

Sedangkan alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Menurut Sumarsih (2003) dalam Lamapaha (2008) rangka dasar dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan. Peptidoglikan tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil asam muramat, yang terikat melalui ikatan 1,4-glikosida. Pada N-asetil asam muramat terdapat rantai pendek asam amino: alanin, glutamat, diaminopimelat, lisin dan alanin, yang terikat melalui ikatan peptida. Peranan ikatan peptida ini sangat penting dalam menghubungkan antara rantai satu dengan rantai yang lain. Mekanisme kerusakan dinding bakteri terjadi karena proses perakitan dinding sel bakteri yang diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakut sempurna. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel. *S. aureus* merupakan gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal. Sehingga lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa yang punya potensi merusak atau menghambat sintesis dinding sel. Diduga kerja alkaloid terlebih dahulu merusak dinding sel dan dilanjutkan kerja flavonoid yang merusak membrane sel bakteri. Menurut Ajizah (2007) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel.

Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri, dan pada akhirnya bakteri akan mati. Secara umum adanya kerja suatu bahan kimia sebagai zat antibakteri dapat mengakibatkan terjadinya perubahan-perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya pertumbuhan sel bakteri tersebut.

SIMPULAN

Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menunjukkan respon yang berbeda pada masing-masing konsentrasi infus daun sambiloto yang ditunjukkan dengan kecepatan tumbuh spesifik

pada konsentrasi 0 %, 25 %, 50 % dan 75 % adalah 0,362, 0,260, 0,169 dan 0,974 /jam dan waktu generasi berturut-turut adalah 1,92, 2,66, 4,09 dan 9,29 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, Aulia; Thihana; Mirhanuddin. 2007. *Potensi Ekstrak Kayu Ulin (Eusideroxylon zwageri) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. On_line. Tersedia di: http://bioscientiae.unlam.ac.id/v4n1/v4n1_ajizah.pdf. Skripsi (Diakses, 5 januari 2010)
- Ati, Adem. 2009. *Apa Itu Tanaman Obat*. On_line. Tersedia di: <http://www.ademati.org/2009/03/apa-itu-tanaman-obat.html> (Diakses, 14 April 2009)
- Aulia, Ismi Arsyi. 2008. *Uji aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (duchesnea indica (andr.) Focke) Terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. On_line. Tersedia di: <http://etd.eprints.ums.ac.id/1517/1/K100040115.pdf>. Skripsi (Diakses, 5 januari 2010)
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Jawetz; Melnick; Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Lamapaha, Yulia F. 2008. *Potensi Lengkuas (Lenguas Galanga) Sebagai Antimikroba*. On_line. Tersedia di: <http://www.scribd.com/doc/16898626/POTENSI-LENGKUAS>. Skripsi (Diakses, 4 November 2010)
- Novalina, 2003. *Penggunaan Tanaman Obat Sebagai Upaya Alternatif Dalam Terapi Kanker*. On_line. Tersedia di: http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/58_10_ZatZatToksikAlamiah.pdf/58_10_ZatZatToksikAlamiah.html (Diakses, 14 April 2009)
- Pelzar dan Chan, 1996. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Prajitno, Arief. 2007. *Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (Eucheuma Cottoni) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri Vibrio Harveyi*. Skripsi. Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya
- Pratama, Rachdie. M. 2005. *Pengaruh Ekstrak Kayu Siwak (Salvadora persica) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus mutans dan Staphylococcus aureus Dengan Metode Difusi Agar*. On_line. Tersedia di: <http://skripsi.blogsome.com/Skripsi/> (Diakses, 5 januari 2010)