

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* (L) Presl) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dengan Metode Soxhletasi dan Perkolasi

Antibacterial Activity Test of *Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl. Leaves Ethanolic Extract against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 by Soxhletation and Percolation Method

TINUK WURYANDARI¹, BAMBANG ISKAMTO², ISMI RAHMAWATI^{1,*}

¹ Fakultas Farmasi; ² Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi, Surakarta - Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518
* Korespondensi: ismi.rahmawati@yahoo.com

(Diterima 8 Juli 2010, disetujui 2 Agustus 2010)

Abstrak

Daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) dapat digunakan sebagai obat disentri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi daun sisik naga tersebut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Daun sisik naga dikeringkan kemudian dibuat serbuk dengan cara diblender. Metode penyarian yang digunakan adalah metode soxhletasi dan perkolasi dengan pelarut etanol 70%, setelah didapat ekstrak soxhletasi dan perkolasi diuapkan sampai kental, kemudian dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Uji aktivitas antibakteri antara ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi terhadap bakteri uji *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 tidak ada perbedaan yang ditunjukkan dengan konsentrasi bunuh minimum yang sama yaitu 50%.

Kata kunci: Antibakteri, Daun sisik naga, *Shigella dysenteriae*

Abstract

Leaves of *Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl. were used as dysentery drug. The experiment was aimed to find out whether soxhletation and percolation extracts of *Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl. leaves had antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Leaves were dried and then blended to make powder. The extraction method used was soxhletation and percolation methods using ethanol 70% solvent. The obtained extract was evaporated until it was thick, and then the antibacterial activity test was conducted by dilution method against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. The concentrations of the test solutions were: 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, 0.78%, 0.39%, 0.19%. The result of the experiment showed that soxhletation and percolation extracts had antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 test bacteria. There was no difference in antibacterial activity between soxhletation extract and percolation extract against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 showed by minimum bactericidal concentration i.e. 50% both.

Keywords: Antibacterial, Dragon scales leaf, *Shigella dysenteriae*

Pendahuluan

Disentri basiler adalah penyakit yang endemis di Indonesia, hal ini antara lain disebabkan sanitasi lingkungan yang belum memadai, dan oleh bakteri *Shigella dysenteriae*. Penyebaran kuman *Shigella* adalah dari manusia ke manusia yang lain, dimana *carrier* merupakan *reservoir* kuman (Wibowo & Kusniyo 1988).

Disentri secara klinis mempunyai tanda-tanda yaitu diare, adanya lendir dan darah dalam tinja, sakit perut. Infeksi ditularkan secara oral melalui air, makanan, dan lalat yang tercemar oleh kotoran pasien, makanan yang tercemar oleh lalat dan pembawa hama (Sjaifoellah 1996). Penyakit disentri menyebabkan berak-berak bercampur darah, lendir dan ingus. Penyakit ini menyerang selaput lendir usus dan mudah menular. Masa tunas penyakit disentri kira-kira 1-4 hari bagi disentri basil dan 14-20 hari bagi disentri amubawi (Lingga 2002).

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.). Daun sisik naga secara tradisional dapat digunakan sebagai obat: gondongan (*parotitis*), *Tuberculosis* (TBC) kulit dengan pembesaran kelenjar getah bening (*skrofuloderma*), sakit kuning (*jaundice*), sukar buang air besar (sembelit), sakit perut, disentri, kencing nanah (*gonore*), batuk, abses paru-paru, *Tuber* (TB) paru-paru disertai batuk darah, luka berdarah, mimisan, berak darah, muntah darah, perdarahan pada perempuan, rematik, keputihan (*leukore*), kanker payudara (Dalimartha 2000).

Tanaman sisik naga secara empiris digunakan sebagai obat disentri, tetapi belum dilakukan penelitian aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Penelitian sebelumnya, mengatakan bahwa ekstrak alkohol daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, sedangkan ekstrak alkohol dan ekstrak airnya dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus aureus*.

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan zat pokok dari suatu bahan alam atau hewan menggunakan pelarut

yang sesuai dengan kelarutan dari bahan tersebut. Etanol-air adalah salah satu pelarut yang cukup baik dalam melarutkan zat pokok suatu bahan. Kandungan air dalam pelarut mampu mendesak masuk ke dalam bagian simplisia yang mengering dan mengkerut sehingga memungkinkan bahan pelarut masuk ke dalam membran sel simplisia. Pemilihan metode ekstraksi juga sangat penting untuk mendapatkan zat pokok dari suatu bahan. Metode penyarian yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstraksi dengan soxhletasi dan perkolasi.

Perkolasi merupakan suatu proses penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi dahulu dengan pelarut. Alat yang digunakan adalah perkolator. Keuntungan dari cara perkolasi yaitu sangat baik untuk bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan. Cara perkolasi lebih baik karena aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi, ruang di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari karena kecilnya saluran kapiler tersebut maka kecepatan pelarut dapat mengurangi lapisan batas sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi. Kerugian cara perkolasi ini membutuhkan waktu lama sehingga dalam penggunaan waktu tidak efisien (Depkes RI 1986).

Soxhletasi merupakan proses penyarian yang menggunakan satu setengah kali sirkulasi pelarut. Penyarian terjadi di dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu. Kelebihan metode soxhletasi adalah pelarut yang digunakan lebih sedikit, penyarian zat aktif tumbuhan lebih sempurna, dan tidak memerlukan waktu lama. Kekurangan metode soxhletasi adalah alat yang digunakan lebih rumit, membutuhkan energi yang tinggi dan tidak baik untuk tumbuhan yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI 1986).

Tujuan dari penelitian ini yang pertama untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri *Shigella dysenteriae*. Selain itu, juga untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum

(KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Metode Penelitian

Bahan

Sampel yang digunakan adalah daun dari tanaman daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.), yang diambil dari Balai Penelitian dan Tanaman Obat, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun yang diambil yaitu daun dan seluruh herba segar atau yang telah dikeringkan. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Setia Budi. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah Brain Heart Infusion (BHI), Media Sulfida Indol Motilitas (SIM), Media Kliger Iron Agar (KIA), Media Lysin Iron Agar (LIA), Media Citrat, Mac Conkey Agar. Bahan kimia yang digunakan dalam proses penyarian dan uji aktivitas antibakteri adalah etanol 70%, aquades steril, reagen Erlich, besi (III) chlorida, HCl 2N, amoniak, H₂SO₄, H₂SO₄ 10N, HCl, KOH 5%.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, inkubator, soxhlet, perkolator, cawan petri, jarum ose, kapas lidi steril, pipet mikro, mikroskop, kaca objek, jangka sorong, neraca gram kasar dan halus, blender, gelas ukur, beaker glass, erlenmeyer, tabung reaksi, corong pisah, kertas Whatman, kertas saring, silika gel 60F₂₅₄.

Ekstraksi Daun Sisik Naga

Daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) yang sudah dipetik dicuci, kemudian dikeringanginkan selama 3 hari lalu dioven pada suhu 50°C dan diserbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 60. Serbuk ditentukan kadar air secara destilasi Sterling Bidwell. Serbuk daun sisik naga dilakukan ekstraksi secara perkolasi dan soxhletasi dengan pelarut etanol 70%.

Ekstraksi dengan perkolasi dilakukan dengan cara serbuk daun sisik naga yang dibasahi etanol 70% sampai terendam semua, kemudian dimasukkan ke dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 1 jam. Masa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati, dituangi dengan pelarut secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari. Perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam. Kran dibuka dan dibiarkan cairan penyari berulang-ulang ditambahkan sehingga selalu terdapat selapis cairan penyari di atas simplisia. Perkolasi dihentikan setelah cairan mulai menetes tidak berwarna. Hasil perkolasi ditampung, dan diuapkan.

Ekstraksi dengan soxhletasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk dalam sebuah kantong dari kertas saring yang berbentuk silinder dan diikat dengan tali lalu dimasukkan dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu (soxhlet). Kantong yang berisi bahan diletakkan di antara labu alas bulat dan suatu pendingin aliran balik (kondensor) serta dihubungkan melalui pipa pipet. Larutan penyari etanol 70% dimasukkan dalam alat soxhlet. Labu alas bulat dipanaskan. Ekstraksi dilakukan sampai beberapa kali sirkulasi hingga cairan penyari yang berada di tabung soxhlet tersebut menjadi jernih. Ekstrak yang didapat dipekatkan.

Uji Bioautogram

Pemisahan senyawa pada ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi dilakukan secara kromatografi lapis tipis. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄ dan beberapa fase gerak yang digunakan adalah toluen-etil asetat (9,3:0,7), heksan-etil asetat (1:1) dan kloroform-etil asetat (6:4). Dari ketiga fase gerak itu dipilih salah satu fase gerak yang paling baik dalam memisahkan senyawa pada ekstrak. Bercak atau noda senyawa dilihat pada UV 254 nm dan 366 nm. Kromatogram yang menunjukkan pemisahan senyawa pada ekstrak yang paling baik dilakukan uji bioautogram dengan memotong-motong plat hasil uji KLT dari ekstrak soxhletasi dan perkolasi sesuai dengan penampakan noda yang dihasilkan, kemudian potongan ditempelkan dalam media Mac Conkey yang sudah diolesi dengan bakteri

Shigella dysenteriae ATCC 9361, lalu dinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sisik Naga

Bakteri *Shigella dysenteriae* yang digunakan dalam pengujian ini harus diidentifikasi terlebih dahulu dengan metode cawan gores dan uji biokimia. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sisik naga dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode dilusi. Konsentrasi yang akan dibuat yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%. Tabung pertama dan kedua ditambahkan 0,5 ml sediaan galenik dan dikocok kemudian dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung ketiga, dan dari tabung ketiga diambil 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung keempat dan begitu seterusnya sampai tabung 11 ke dalam tiap-tiap tabung kecuali tabung 12, ditambahkan 0,5 ml suspensi bakteri yang telah disesuaikan dengan standart Brown II dan telah diencerkan 1:1000 kali. Sediaan tersebut diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang 37° C diamati adanya batas tabung yang jernih, selanjutnya diujikan pada media Mac Conkey secara goresan. Cara dilakukan metode ini adalah cawan Petri dituangi Mac Conkey dan dibiarkan memadat, kemudian bagi atau tandai cawan Petri itu menjadi 12 bagian, kemudian dari 12 tabung hasil inkubasi itu digoreskan pada media Mac Conkey yang sudah ditandai. Inkubasi selama 24 jam dalam inkubator.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi Daun Sisik Naga

Daun sisik naga dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dengan air bersih, kemudian dikeringkan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Rendemen simplisia kering yang diperoleh adalah 10,26%. Daun sisik naga yang telah dikeringkan, kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan no. 60 untuk mendapatkan serbuk halus. Pembuatan serbuk

bertujuan untuk memperkecil partikel yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif.

Pemerian daun sisik naga yaitu mempunyai bau lemah, agak anyir, rasanya manis, sedikit pahit, dingin. Hasil pengujian kadar air pada serbuk daun sisik naga yang dilakukan secara destilasi yaitu kadar air rata-rata sebesar 9,90%. Kadar air suatu simplisia yang memenuhi syarat adalah tidak boleh lebih dari 10%. Kadar air yang tinggi menyebabkan bekerjanya enzim dan perubahan kimia sehingga menurunkan mutu serbuk, serta dalam penyimpanan akan ditumbuhi jamur. Jadi, menurut hasil perhitungan kadar air daun sisik naga yang didapat, maka daun sisik naga ini sudah memenuhi syarat.

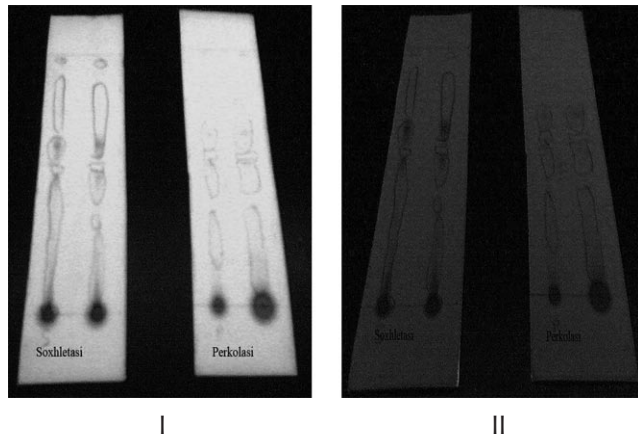
Rendemen ekstrak yang didapat pada metode soxhletasi sebanyak 23,61%, sedangkan pada metode perkolasi 5,02%. Hasil rendemen dari kedua metode terlihat sangat jauh berbeda, hal ini mungkin disebabkan karena proses penyariannya. Ekstrak soxhletasi didapat dengan cara soxhletasi yang menggunakan sirkulasi berkesinambungan jadi senyawa zat aktif mudah ditarik, sehingga hasil ekstrak yang didapatkan juga lebih banyak.

Hasil Uji Bioautogram

Uji KLT digunakan untuk mengetahui pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Sistem KLT yang paling baik dalam memisahkan senyawa pada ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi yaitu menggunakan fase diam silika gel 60F₂₅₄ dan fase gerak toluen: etil asetat (9,7:0,3). Profil kromatogram yang dihasilkan menunjukkan sebanyak 4 bercak (Gambar 1).

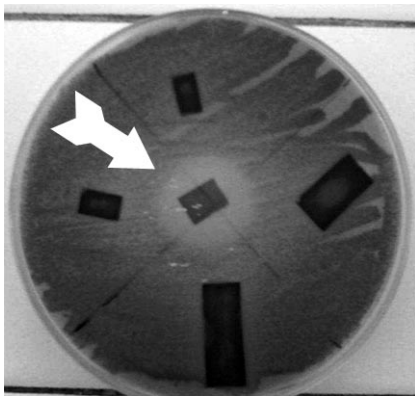
Tabel 1. Data kromatogram pada ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi daun sisik naga

Ekstrak	UV 254 nm	UV 366 nm	hRf
Soxhletasi	Hijau muda	Jingga	44
	Hijau	Merah	58
Perkolasi	Kuning	Merah	44
	Hijau muda	Jingga	60



Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak daun sisik naga secara perkolasi dan sokhletasi dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak toluen: etil asetat (9,7:0,3) dideteksi pada UV 254 nm (I) dan UV 366 nm (II)

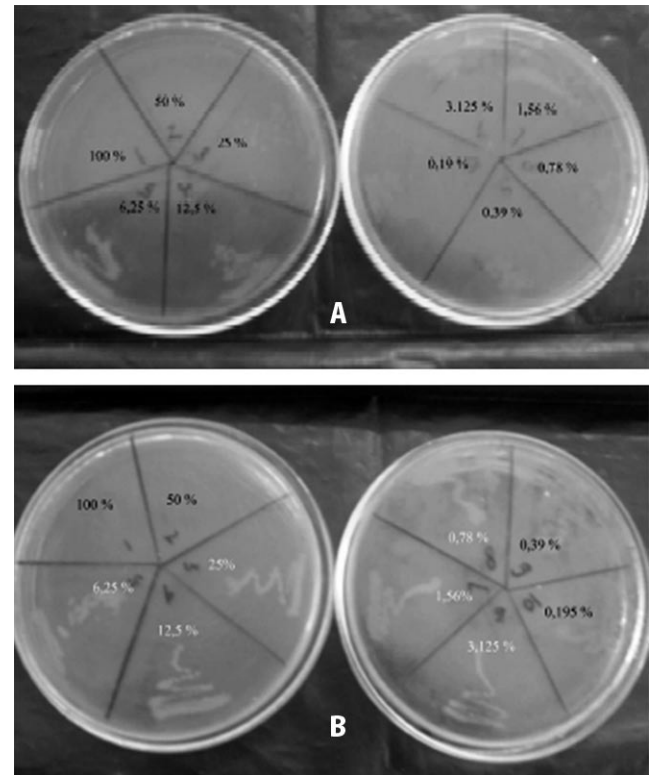
Potongan bercak KLT ditempelkan dalam media Mac Conkey yang sudah diolesi dengan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, lalu dikubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji bioautogram yang dilakukan memberi hasil yaitu hanya ada satu bercak pada plat KLT yang mampu memberikan daerah hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 yaitu bercak pada hRf 58.



Gambar 2. Hasil uji bioautogram ekstrak daun sisik naga secara perkolasi dan sokhletasi pada media media Mac Conkey yang sudah diolesi dengan bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Daerah yang diberi tanda panah mampu memberikan daerah hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri *Shigella Dysenteriae* Ekstrak Soxhletasi dan Perkolasi Daun Sisik Naga

Pengujian aktivitas antibakteri *Shigella dysenteriae* dengan metode perkolasi dan sokhletasi memberikan hasil yang tidak jauh beda. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak sokhletasi mempunyai KBM pada konsentrasi 50%, begitu juga dengan ekstrak perkolasi.



Gambar 3. Foto hasil inkubasi ekstrak perkolasi (A) dan sokhleasi (B) daun sisik naga pada inkubator suhu 37°C selama 24-48 jam

Tabel 2. Hasil inokulasi ekstrak sokhletasi dan perkolasi terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Konsentrasi	<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 9361					
	Ekstrak daaun sirih					
	Ekstrak perkolasi			Ekstrak sokhletasi		
	I	II	III	I	II	III
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-
25	+	-	+	+	+	+
12,5	+	+	+	+	+	+
6,25	+	+	+	+	+	+
3,125	+	+	+	+	+	+
1,56	+	+	+	+	+	+
0,78	+	+	+	+	+	+
0,39	+	+	+	+	+	+
0,19	+	+	+	+	+	+
Kontrol positif	+	+	+	+	+	+

Hasil sediaan galenik ekstrak soxhletasi dan perkolasi daun sisik naga dilakukan pengujian efek antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,5625%; 0,7813%; 0,3906%; 0,1953%; kontrol negatif dan kontrol positif. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dapat diketahui dengan menginokulasi sediaan pada tabung uji pada medium agar diferensial dalam cawan petri. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan pada medium agar diferensial dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri. Penelitian uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 antara metode soxhletasi dan metode perkolasi ini didapatkan hasil yaitu pada ekstrak soxhletasi dari 3 replikasi mempunyai KBM yang bervariasi diantaranya 50%; 25%; 50%, sedang dari ekstrak perkolasi didapatkan hasil KBM yang sama dari 3 replikasi itu yaitu 50%. Perbedaan hasil KBM dari uji aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 dari ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi ini mungkin disebabkan karena dengan metode soxhletasi penyariannya berkesinambungan dan lebih sempurna, sehingga senyawa yang terikat lebih banyak dan lebih sempurna tertarik pada saat penyarian. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak soxhletasi dari tiga kali replikasi pengujian terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 secara dilusi didapatkan hasil yaitu 50%, 25%, 50% sedangkan dari ekstrak perkolasi didapatkan hasil semuanya memiliki KBM pada konsentrasi 50%. Berdasarkan dari hasil penelitian di atas maka dapat disimpulkan bahwa KBM dari ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi sama yaitu pada konsentrasi 50%. Jadi tidak ada beda nyata antara ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi, keduanya baik untuk digunakan dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi dengan pelarut etanol 70% dari daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides*

[L.] Presl.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Ekstrak soxhletasi dan ekstrak perkolasi daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) mempunyai KBM terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 pada konsentrasi yang sama yaitu 50%, ekstrak soxhletasi dan perkolasi daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) mempunyai aktivitas antibakteri yang sama terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Daftar Pustaka

- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Trubus Agriwidya. 178-181.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Depkes RI. 1-2, 5-11.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI. 6, 16, 17.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Depkes Ihlm 184-186.
- Dwijoseputro D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Ed ke-7. Surabaya: Djambatan. 128-129.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya. 9, 13, 106.
- Jawetz E, Melnick JL, Adellerg EA. 1996. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Tonang, penerjemah; Bonang G, editor. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran. Terjemahan dari: *Review of Medical Microbiology*. 303-306.
- Lingga P. 2002. *Resep-Resep Obat Tradisional*. Ed revisi. Jakarta: Penebar Swadaya. 36-37.
- Sjaifoellah M. 1996. *Ilmu Penyakit Dalam*. Ed ke-2. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 458.
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Ed ke-5. Bandung: Angkasa. 60-68.
- Wibowo J, Kusniyo. 1988. *Kursus Singkat Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 1-3, 5-7, 9.