

Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* secara *In Vitro*

The Effect of Kenikir Leaves (*Cosmos caudatus*) Extract on *In Vitro* Growth of *Bacillus cereus*

Wariska Dwiyanti *, Muslimin Ibrahim, Guntur Trimulyono

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: gladerizukawa@gmail.com

ABSTRAK

Kenikir merupakan tanaman obat yang daunnya sering dikonsumsi sebagai sayuran. Daun kenikir mengandung senyawa aktif flavonoid, polifenol, saponin, tanin, alkaloid dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa tersebut diduga mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, yakni bakteri yang mengkontaminasi makanan serta menghasilkan racun penyebab diare. Tujuan penelitian ini untuk mendeskripsikan pengaruh ekstrak daun kenikir terhadap pertumbuhan *B. cereus* FNCC 0057 serta menentukan konsentrasi ekstrak daun kenikir yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* FNCC 0057. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 10 perlakuan dan 3 pengulangan, yaitu pemberian kontrol negatif (campuran akuades steril dengan DMSO), kontrol positif (tetrasiklin konsentrasi 0,25%) serta ekstrak daun kenikir konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat, dianalisis menggunakan Analisis Varian (Anava) satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir pada semua konsentrasi berpengaruh pada pertumbuhan *B. cereus* FNCC 0057 dengan konsentrasi paling optimal yaitu 90% dan 100% yang masing-masing menghasilkan diameter zona hambat sebesar $11,5 \pm 3,5$ mm dan $11,7 \pm 2,8$ mm. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kenikir, maka daya hambatnya terhadap pertumbuhan *B. cereus* FNCC 0057 juga semakin tinggi.

Kata kunci: *Bacillus cereus*; ekstrak daun kenikir; zona hambat

ABSTRACT

Kenikir is herb that commonly consumed as vegetables. Kenikir leaves had active compounds such as flavonoid, polifenol, saponin, tannin, alkaloid and volatile oil. Those active compounds supposed able to inhibit *Bacillus cereus*, bacteria that contaminated food and produced toxin caused diarrhea. The aims of this study were to describe the effect of kenikir leaves extract on growth of *B. cereus* FNCC 0057 and determine the optimum concentration of kenikir leaves extract on growth inhibitory of *B. cereus* FNCC 0057. This study using completely randomized design with 10 assays and all assays were carried out in triplicate. The assays were negative control (combination of aquades and DMSO), positive control (tetracycline 0,25%) and kenikir leaves extract at 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100% (w/v) concentration. Data was diameter of inhibition zone analysed using one way analysis of variance and followed by Duncan's test. This study significantly showed that all assays with kenikir leaves extract affected on growth inhibitory of *B. cereus* FNCC 0057. Kenikir leaves extract at 90% and 100% concentration were optimum concentration with diameter of inhibition zone $11,5 \pm 3,5$ mm and $11,7 \pm 2,8$ mm, respectively. This study also showed that increasing the concentration of kenikir leaves extract was also followed by increasing the inhibitory activity on tested bacteria.

Key words: *Bacillus cereus*; kenikir leaves extract; inhibition zone

PENDAHULUAN

Penggunaan tumbuhan obat di Indonesia semakin meningkat sejak 1998 berkat anjuran oleh Menteri Kesehatan F.A. Moeloek untuk menggunakan obat tradisional dalam perawatan kesehatan (Moeloek, 2006). Perkembangan hal tersebut didukung dengan adanya pengetahuan masyarakat tentang tumbuhan obat secara turun temurun (Yuharmen dkk., 2002) serta kondisi

Indonesia dengan sumber daya alam hayati yang melimpah. Indonesia memiliki sekitar 30.000 spesies tumbuhan, ± 9.600 spesies di antaranya diketahui sebagai tumbuhan obat (Suara Pembaruan, 2012).

Salah satu tumbuhan obat yang umum dijumpai sebagai tanaman liar ialah kenikir. Daun kenikir dapat dikonsumsi sebagai sayuran, untuk obat penambah nafsu makan, penguat tulang dan

mengobati gastritis (Heyne, 1987; Pebriana dkk., 2008; Uyub dkk., 2010). Studi pendahuluan mengenai fitokimia daun kenikir yang diekstrak menggunakan etanol dan pelarut lain menunjukkan adanya senyawa aktif flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang berpotensi sebagai antimikroba (Harborne, 1998 dalam Rasdi dkk., 2010). Senyawa aktif tersebut dapat mengganggu permeabilitas membran sel, mengganggu pembentukan peptidoglikan (dinding sel), mendenaturasi protein dan inaktivasi enzim pada sel bakteri (Harborne, 1987; Robinson, 1995; Ajizah, 2004; Parhusip, 2006).

Berdasarkan kandungan senyawa aktif yang dimiliki, ekstrak daun kenikir diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* yang sering mengkontaminasi beras, daging, susu, sayuran dan ikan serta dapat menghasilkan racun *Cereulide* penyebab diare (Badan Standardisasi Nasional, 2009; Drobniewski, 1993). *Bacillus cereus* menempati urutan kedua setelah *Staphylococcus aureus* sebagai mikroba patogen penyebab Kejadian Luar Biasa (KLB) keracunan pangan di Indonesia pada tahun 2007-2011 (Sentra Informasi Keracunan BPOM RI, 2012). Sebagai salah satu mikroba patogen yang meracuni makanan, pertumbuhan *B. cereus* perlu dihambat sebab apabila jumlahnya melebihi 10^6 cfu/gram makanan, jumlah tersebut dinyatakan sebagai dosis infeksius dan dapat berisiko terhadap kesehatan (Badan Standardisasi Nasional, 2009). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mendeskripsikan pengaruh ekstrak daun kenikir serta menentukan konsentrasi ekstrak daun kenikir yang daya hambatnya paling optimal terhadap pertumbuhan *B. cereus* FNCC 0057.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari-Juli 2013. Bahan-bahan yang digunakan ialah media *Nutrient Broth* dan *Nutrient Agar*, etanol 96% untuk maserasi simplisia, tetrasiklin untuk kontrol positif, *Dimethylsulfoxide* (DMSO) untuk melarutkan ekstrak, daun kenikir (diperoleh dari pasar Porong Sidoarjo) serta bakteri *B. cereus* FNCC 0057 (diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta). Pembuatan ekstrak daun kenikir dilakukan di Laboratorium Mikroteknik sedangkan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir terhadap bakteri *B. cereus* FNCC 0057 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Prosedur kerja meliputi pembuatan ekstrak daun kenikir,

peremajaan kultur bakteri uji dan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kenikir terhadap bakteri *B. cereus* FNCC 0057.

Pembuatan ekstrak daun kenikir dilakukan dengan cara mencuci bersih daun kenikir segar sebanyak 10 kg lalu dikeringanginkan dan dibolak-balik secara berkala. Daun kenikir kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk halus (simplisia). Simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sampai 3 kali masing-masing selama 24 jam. Perbandingan antara simplisia dan pelarut yaitu 1:3 (untuk maserasi I) dan 1:2 (untuk maserasi II dan III). Filtrat dan ampas dipisahkan. Filtrat dikumpulkan untuk dievaporasi menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* (RVE). Ekstrak yang didapat diambil sebanyak 10 gram dilarutkan dengan 1 ml DMSO dan ditambah akuades steril hingga volume akhir 10 ml untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Ekstrak dengan konsentrasi 100% diencerkan dengan akuades steril untuk mendapatkan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% (b/v) (Fachrudini dkk., 2008; Septianingsih dkk., 2012).

Kultur bakteri uji diremajakan dengan cara membuka kultur kering (лиофил) *B. cereus* FNCC 0057 secara aseptik lalu dimasukkan ke dalam 10 ml NB steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur bakteri diremajakan kembali dengan cara memasukkan 1 ml kultur bakteri berumur 24 jam tersebut ke dalam 9 ml NB steril. Biakan bakteri diinkubasi lagi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Kultur bakteri uji yang telah diinkubasi selama 24 jam, diuji aktivitas antibakterinya dengan cara mengisi cawan Petri dengan 1 ml kultur uji dan 20 ml media NA steril (*pour plate*) secara aseptik. Media dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Pada media yang telah memadat selanjutnya dibuat 4 sumuran dengan diameter 6 mm. Keempat sumuran dalam setiap cawan diisi 4 larutan yang berbeda yaitu larutan kontrol positif (tetrasiklin 0,25%), larutan kontrol negatif (campuran akuades steril dan DMSO) dan larutan ekstrak daun kenikir dengan 2 konsentrasi berbeda (misal konsentrasi 30% dan 40%) masing-masing sebanyak 50 µL. Media selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Karlina dkk., 2013), kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang dinyatakan dalam satuan milimeter. Data yang diperoleh diuji normalitasnya melalui Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov, dilanjutkan dengan Analisis Varian (Anava) satu arah serta uji Duncan menggunakan program SPSS 16.0 *for Windows*.

HASIL

Hasil pengujian pengaruh ekstrak daun kenikir terhadap pertumbuhan bakteri *B. cereus* FNCC 0057 secara *in vitro* berupa diameter zona hambat tersaji dalam Tabel 1 dan Gambar 1. Data dalam Tabel 1 terlebih dahulu diuji dengan Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui normalitas distribusi data. Uji normalitas dengan $p \geq \alpha$, (p) = 0,902; 0,065 dan α = 0,05, menunjukkan data tersebut berdistribusi normal. Data kemudian diuji menggunakan Anava satu arah dengan $p < \alpha$ (0,00 < 0,05). Hasil Anava satu arah menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antarperlakuan sehingga analisis data dapat dilanjutkan dengan uji Duncan dengan α = 0,05 untuk mengetahui

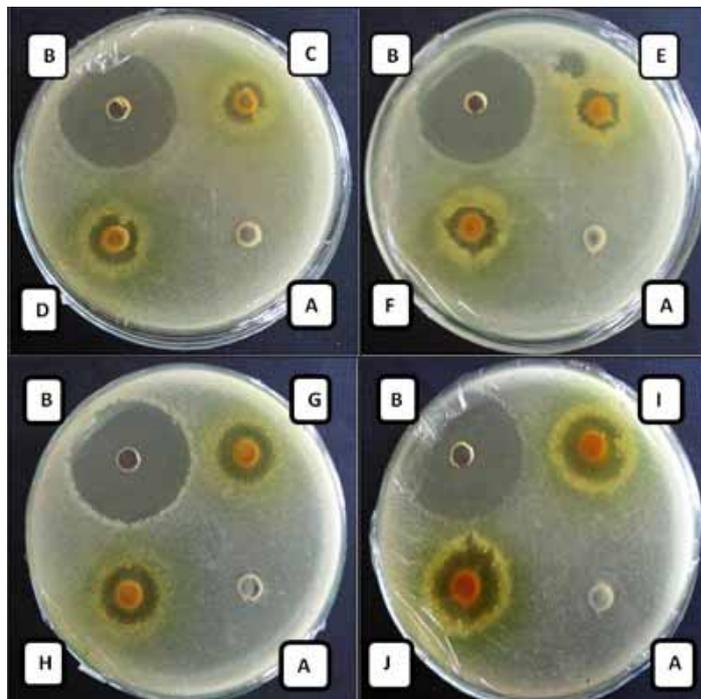
perlakuan yang terbaik. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan dengan ekstrak daun kenikir yang paling optimal yakni pada konsentrasi 90% dan 100%.

Sebagaimana pada Tabel 1 dan Gambar 1, perlakuan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat sedangkan perlakuan kontrol positif dan perlakuan dengan ekstrak daun kenikir pada semua konsentrasi (30% hingga 100%) menghasilkan zona hambat. Pada perlakuan dengan ekstrak daun kenikir, rata-rata diameter zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 30% yaitu sebesar $6,7 \pm 1,6$ mm sedangkan rata-rata diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 100% sebesar $11,7 \pm 2,8$ mm.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada semua perlakuan

Perlakuan	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm) \pm Standar Deviasi	Respons Hambatan Pertumbuhan (Rao dkk., 2013)
Kontrol negatif (tetrasiiklin 0,25%)	0 ^a	tidak ada
Kontrol positif (campuran akuades steril dan DMSO)	$30,5 \pm 4,1^d$	kuat
Ekstrak konsentrasi 30%	$6,7 \pm 1,6^b$	lemah
Ekstrak konsentrasi 40%	$8,5 \pm 2,0^{bc}$	lemah
Ekstrak konsentrasi 50%	$8,5 \pm 1,7^{bc}$	lemah
Ekstrak konsentrasi 60%	$9,7 \pm 0,6^{bc}$	lemah
Ekstrak konsentrasi 70%	$10,3 \pm 2,5^{bc}$	lemah
Ekstrak konsentrasi 80%	$10,8 \pm 2,8^{bc}$	lemah
Ekstrak konsentrasi 90%	$11,5 \pm 3,5^c$	lemah
Ekstrak konsentrasi 100%	$11,7 \pm 2,8^c$	lemah

Keterangan: Nilai rata-rata diameter zona hambat yang memiliki notasi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata



Gambar 1. Hasil pengujian pengaruh ekstrak daun kenikir terhadap *Bacillus cereus* FNCC 0057 (A = zona hambat kontrol negatif, B = zona hambat kontrol positif, C = zona hambat pada konsentrasi 30%, D = zona hambat pada konsentrasi 40%, E = zona hambat pada konsentrasi 50%, F = zona hambat pada konsentrasi 60%, G = zona hambat pada konsentrasi 70%, H = zona hambat pada konsentrasi 80%, I = zona hambat pada konsentrasi 90%, J = zona hambat pada konsentrasi 100%)

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, kontrol positif digunakan untuk membandingkan potensi ekstrak daun kenikir dengan tetrasiklin konsentrasi 0,25%. Tetrasiklin dipilih karena bersifat bakteriostatik dan aktif terhadap bakteri Gram positif maupun negatif (Tortora dkk., 2010). Tetrasiklin dapat berikatan dengan sub unit 30S ribosom bakteri dan menghalangi pelekatan tRNA-aminoasil sehingga penambahan gugus asam amino baru pada rantai peptida (sintesis protein) menjadi terhambat (Parhusip, 2006). Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui adanya potensi menghambat bakteri uji dari pelarut ekstrak (DMSO). Hasil pengujian menunjukkan bahwa perlakuan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat sehingga terbukti bahwa zona hambat yang terbentuk pada perlakuan dengan ekstrak daun kenikir bukan berasal dari pelarut ekstrak, melainkan memang berasal dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kenikir.

Penghambatan pertumbuhan bakteri disebabkan oleh interaksi senyawa aktif melalui pelekatan ataupun difusi zat antimikroba dengan bakteri (Gilbert, 1984 dan Kanazawa dkk., 1995 dalam Parhusip, 2006). Interaksi tersebut menyebabkan gangguan atau kerusakan pada protein, membran dan dinding sel, perubahan permeabilitas membran sel dan penghambatan kerja enzim (Pelczar dan Chan, 1988). Ekstrak daun kenikir mengandung minyak atsiri, alkaloid dan saponin. Minyak atsiri dalam ekstrak daun kenikir dapat mengganggu terbentuknya membran atau dinding sel (Ajizah, 2004). Gangguan tersebut diakibatkan oleh terpenoid dari minyak atsiri akan mengikat protein, lipid ataupun karbohidrat pada membran maupun dinding sel (Harborne, 1987). Alkaloid dalam ekstrak daun kenikir mengganggu penyusunan peptidoglikan melalui reaksi antara gugus basa dari alkaloid dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh (Robinson, 1995), sementara saponin akan membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Cannell, 1998 dalam Rinawati, 2011).

Selain senyawa-senyawa tersebut, ekstrak daun kenikir juga mengandung flavonoid, polifenol dan tanin yang dapat mengakibatkan gangguan metabolisme pada sel bakteri. Gugus fenol dari senyawa flavonoid dan polifenol

berikatan dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen, mengakibatkan struktur protein menjadi rusak dan enzim menjadi inaktif (Harborne, 1987). Pada kerusakan membran sel, ion H^+ dari senyawa fenol akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid terurai menjadi asam fosfat, gliserol dan asam karboksilat. Kondisi ini menyebabkan membran sel akan bocor (Volk dan Wheeler, 1993 dalam Mukhlisoh, 2010). Gugus hidroksil dari tanin akan membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karboksil dari ikatan peptida pada membran atau dinding sel bakteri sehingga terjadi koagulasi protein (Robinson, 1995; Ummah, 2010). Tanin juga dapat mengerutkan membran sel sehingga permeabilitas sel bakteri terganggu (Ajizah, 2004).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun kenikir, maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Hal ini diakibatkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kenikir, maka jumlah zat antimikroba yang terlarut juga semakin banyak sehingga daya hambat terhadap bakteri akan semakin tinggi (Pelczar dan Chan, 1988). Klasifikasi daya hambat dari ekstrak daun kenikir termasuk kategori lemah (zona hambat ≤ 12 mm), sedangkan daya hambat tetrasiklin 0,25% termasuk kategori kuat (zona hambat ≥ 18 mm) (Rao dkk., 2013). Dengan demikian ekstrak daun kenikir tetap memiliki potensi sebagai senyawa antimikroba namun potensinya masih di bawah potensi tetrasiklin 0,25%. Faktor penyebabnya diduga karena jumlah ekstrak yang dilarutkan masih terlalu sedikit sehingga kandungan zat antimikroba yang terkandung di dalamnya juga sedikit, akibatnya daya hambat terhadap bakteri uji juga rendah (Pelczar dan Chan, 1988). Selain itu, ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar, yang di dalamnya mengandung berbagai senyawa aktif yang masing-masing memberikan efek berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut bukan berarti menyebabkan terjadinya sinergisme ketika berbagai senyawa aktif bercampur (Miksusanti dkk., 2011) namun kemungkinan menyebabkan daya kerja senyawa aktifnya menjadi kurang optimal (Rinawati, 2011).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kenikir berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* FNCC 0057 secara *in vitro* dan konsentrasi ekstrak daun

kenikir yang daya hambatnya paling optimal ialah konsentrasi 90% dan 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah A, 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*, 1(1): 31-38.
- Badan Standardisasi Nasional, 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan: Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388.
- Drobniewski FA, 1993. *Bacillus cereus* and Related Species. *Clinical Microbiology Reviews*, 6(4): 324-338.
- Fachrudini VSD, Sulaeha & Lari I, 2008. Uji Ekstrak Lapisan Eksokarp Kulit Buah Kakao (*Theobroma cocoa* L.) terhadap Rata-Rata Bobot Larva, Total Bobot Daun yang Dimakan dan Rata-Rata Lama Hidup Larva Instar III *Spodoptera exigua* Hubner. *Makalah*. Disampaikan pada Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI PFI XIX Komisariat Daerah, Sulawesi Selatan 5 Nopember 2008.
- Harborne JB, 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Karlina CY, Ibrahim M & Trimulyono G, 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*, 2(1): 87-93.
- Miksusanti, Fitriya & Marfinda N, 2011. Aktivitas Campuran Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Bacillus cereus*. *Jurnal Penelitian Sains*, 14(3C): 41-47.
- Moeloek FA, 2006. Herbal and Traditional Medicine: National Perspective and Policies in Indonesia (Obat Herbal dan Tradisional: Perspektif dan Kebijakan Nasional Indonesia). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 5(1): 293-297.
- Mukhlisoh W, 2010. Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) terhadap Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Parhusip AJN, 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* D.C.) terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Disertasi*. Tidak Dipublikasikan. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Pebriana, Wardhani, Widayanti, Wijayanti NL, Wijayanti TR, Riyanto S & Meiyanto E, 2008. Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmakon*, 9(1): 21-26.
- Pelczar MJ & Chan ECS, 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi II*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Rao PV, Ravindhranath K & Kumar KR, 2013. Antibacterial Activity of Novel Substituted Mercaptopurine Derivatives. *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research*, 4(2): 127-131.
- Rasdi NHM, Samah OA, Sule A & Ahmed QU, 2010. Antimicrobial Studies of *Cosmos caudatus* Kunth. (Compositae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(8): 669-673.
- Rinawati ND, 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Surabaya: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November.
- Robinson T, 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sentra Informasi Keracunan BPOM RI, 2012. Jumlah Kejadian Luar Biasa (KLB) Keracunan Pangan Terlaporkan dan Agen Mikroba Penyebab KLB Keracunan Pangan Periode 2007-2011.
- Septianingsih U, Susanti H & Widyaningsih W, 2012. Penghambatan Aktivitas Xanthine Oxidase oleh Ekstrak Etanol Akar Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(2): 153 - 163.
- Suara Pembaruan, 2012. *Hampir 60% Masyarakat Indonesia Gunakan Herbal*. Online melalui <http://www.suarapembaruan.com/gayahidup/hampir-60-masyarakat-indonesia-gunakan-herbal/22237.htm> diakses pada 19 Mei 2013.
- Tortora GJ, Funke BR & Case CL, 2010. *Microbiology an Introduction 10th Edition*. New York: Benjamin Cumming.
- Ummah MK, 2010. Ekstraksi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Kajian Variasi Pelarut). *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Uyub AM, Nwachukwu IN, Azlan AA & Fariza SS, 2010. *In-vitro* Antibacterial Activity and Cytotoxicity of Selected Medicinal Plant Extracts from Penang Island Malaysia on Metronidazole-Resistant *Helicobacter pylori* and Some Pathogenic Bacteria. *Ethnobotany Research & Applications*, 8: 95-106.
- Yuharmen YI, Eryanti & Nurbalatif, 2002. Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*). *Jurnal Natur Indonesia: Wacana Sains Indonesia*, 4(2): 105-111.