

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SEBAGAI ANTIDIARE

THE TESTS OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BITTER HERB (Andrographis paniculata (Burm f.) Nees) EXTRACT ON THE GROWTH OF Escherichia coli BACTERIA AS ANTIDIARHEA

,Mochamad Anugrah Firzatullah¹, Hari Widada, M.Sc., Apt²

¹Pharmacy Student in Pharmacy Study Program, Faculty of Medical and Health Sciences, Muhammadiyah University of Yogyakarta

²Lecture in Pharmacy Study Program, Faculty of Medical and Health Sciences, Muhammadiyah University of Yogyakarta

anugrahfirza@gmail.com

INTISARI

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) merupakan tanaman obat yang memiliki berbagai khasiat, salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas daya hambat ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebagai antidiare.

Ekstraksi herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95%. Kemampuan ekstrak etanol herba sambiloto untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 diuji menggunakan metode difusi. Penelitian dilakukan dengan dibuat 5 variasi konsentrasi (12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%), kontrol positif Siprofloksasin, kontrol negatif DMSO dengan 3 kali ulangan.

Hasil uji efektivitas daya hambat ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) memiliki daya hambat kategori lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan nilai KHM terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 70% b/v

Kata Kunci: *Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees, *Escherichia coli*, Aktivitas Antibakteri.

ABSTRACT

The bitter (Andrographis paniculata (Burm f.) Nees) is a medicinal plant that have various benefits, such as an antibacterial. The purpose of this study was to find out the ability of bitter herb (Andrographis paniculata (Burm f.) Nees) extract to inhibit the growth of Echerichia coli bacterial as antidiarrheal.

The extraction of bitter herb (Andrographis paniculata (Burm f.) Nees) was done by maceration method with 95% ethanol solvent. The ability of ethanol extract of bitter herb to inhibit the growth of Escherichia coli ATCC 35218 using diffusion method. This study was conducted with 5 variation of concentration (12,5%, 25%, 50%, 75% and 100%), positive control (Ciprofloxacin), negative control (DMSO) with 3 replication.

The result of study antibacterial activity of ethanol extract bitter herb (Andrographis paniculata (Burm f.) Nees) has a weak inhibit category on the Escherichia coli with MIC at Escherichia coli at 70% w/v

Keyword : *Andrographis paniculata (Burm f.) Nees, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Antibacterial Activity.*

Pendahuluan

Penyakit diare di Indonesia merupakan penyakit endemis dan masih menimbulkan kejadian luar biasa (KLB) di masyarakat oleh karena sering terjadi peningkatan kasus-kasus pada saat atau musim-musim tertentu yaitu pada musim kemarau dan puncak musim hujan (Sunoto,1990). Penyebab penyakit ini dapat dikelompokkan dalam 6 golongan besar, yaitu infeksi (disebabkan oleh bakteri, virus atau parasit), malabsorpsi, alergi, keracunan, immunodefisiensi dan sebab-sebab lainnya. Penyebab tersering yang menyebabkan penyakit ini adalah infeksi bakteri. Secara umum infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati dengan menggunakan antibiotik. Permasalahan pokok dari penggunaan antibiotik adalah terjadinya resistensi

beberapa bakteri terhadap antibiotik yang digunakan. (Direktorat Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2011).

Oleh karena itu perlu adanya alternatif pengobatan untuk mengatasi resistensi penggunaan antibiotik. Pengobatan menggunakan tanaman herbal merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi hal tersebut. Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan adalah sambiloto.

Metode

Alat

Alat-alat gelas (Pyrex), lampu UV 254 nm (Laboratorium Teknologi Farmasi UMY), timbangan analitik (Sartorius), aluminium foil (Giant), vortex (Labinco), *Laminar Air Flow* (Mettler Toledo), mikropipet (Gilson), propipet (Strumo), *Rotary Evaporator* (IKA RV10),

Thermostatic Waterbath (Memmert), autoklaf (All American), (pinset, kapas lidi steril, ose steril Laboratorium Mikrobiologi UMY), bejana KLT (Camag).

Bahan

Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) yang berasal dari Desa Mayungan, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta, etanol 95% (Bratacho), aquades (Bratacho), Silica Gel 60 F₂₅₄ (Merck), pereaksi semprot vanilin asetat (Bratacho), pereaksi Dragendorf (Bratacho), pereaksi Mayer (Bratacho), HCl 2N (Merck), HCl pekat (Merck), infus steril NaCl 0,9%, bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 (Laboratorium Mikrobiologi UGM, siprofloksasin (Hexpharm), kloroform (Bratacho), HCl, aseton (Bratacho), eter P (Bratacho).

Cara Kerja

Ekstraksi

Herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Ness) yang sudah bersih dan kering diayak dan dimasukkan kedalam wadah tertutup. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Simplisia yang telah diayak diambil 1 kg dan dimaserasi dengan menggunakan etanol 95% pada perbandingan bahan baku-pelarut 1:5 b/v. Setelah itu dilakukan penyarian selama 5 hari. Remaserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 95%

perbandingan bahan baku dan pelarut 1:2 b/v. Remaserasi dilakukan selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kain flanel dan dilakukan penyaringan ulang menggunakan kertas saring sehingga didapatkan maserat. Maserat yang sudah didapat, dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga terbentuk ekstrak kental.

Uji Fitokimia

1. Identifikasi alkaloid

Sejumlah ekstrak sebanyak 2 mg dilarutkan etanol 5 mL lalu diuapkan diatas *waterbath*. Residu yang terbentuk dilarutkan dengan 6mL HCl 2N. Larutan dibagi menjadi 2 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi *Dragendorf*, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi *Mayer*. Terbentuk endapan jingga pada tabung dan endapan kuning pada tabung dua menunjukkan adanya alkaloid.

2. Identifikasi saponin

Sejumlah ekstrak sebanyak 2 mg dilarutkan etanol 5 mL, ditambahkan 10 mL air panas, dipanaskan diatas *waterbath* selama 5 menit, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit, terbentuknya busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama 10 menit dalam tabung reaksi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin.

Uji Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 170⁰C selama 2 jam, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Ose dan pinset disterilkan bunsen. *Luminar Air Flow* dibersihkan menggunakan alkohol 70%, lalu disterilkan lampu UV selama 15 menit.

2. Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan untuk pengujian adalah sediaan infus siprofloksasin 2mg/mL yang diubah konsentrasinya menjadi 1mg/mL. Larutan kontrol positif dibuat dengan cara 1 mL larutan siprofloksasin ditambahkan 1 mL *Aqua Pro Injection*.

3. Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO.

4. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat variasi konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara pengenceran. Ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata (Burm f.) Nees*) dibuat larutan induk dengan konsentrasi 100% dengan cara melarutkan 2 gram ekstrak dengan 2 mL DMSO. Untuk membuat konsentrasi 50%, diambil 1 mL konsentrasi 100% ditambahkan DMSO sampai 2 mL. Konsentrasi 25%, diambil 1 mL konsentrasi 50% ditambahkan DMSO sampai 2 mL. Konsentrasi 12,5%, diambil 1 mL konsentrasi 25% ditambahkan DMSO sampai 2mL. Konsentrasi

12,5%, diambil 1 mL konsentrasi 25% ditambahkan DMSO sampai 2 mL. Konsentrasi 75% dibuat dengan cara melarutkan 0,75 gram ekstrak dengan 1 mL DMSO.

5. Media Pertumbuhan Bakteri

Media agar yang digunakan berasal dari Mac Conkey Agar (MCA).

6. Preparasi Bakteri

Sebanyak 2 koloni bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 diambil dan dimasukkan ke dalam NaCl 0,9% steril. Selanjutnya diinkubasi selama 2 hingga 4 jam pada suhu 37⁰C. Larutan suspensi bakteri diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan BHI dengan perbandingan 1:9 dihomogenkan menggunakan *vortex*.

7. Uji Aktivitas Antibakteri

Suspensi bakteri diusap secara merata menggunakan kapas lidi pada cawan petri yang telah berisi media Agar. Kemudian rendam tujuh buah cakram kertas berdiameter 5mm selama 10-15 menit. Lima cakram kertas untuk setiap konsentrasi bahan uji (12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%), satu cakram kertas untuk DMSO sebagai kontrol negatif dan satu cakram kertas untuk siprofloksasin 1mg/mL. Cakram kertas yang sudah direndam ditempelkan pada permukaan media. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C didalam inkubator. Perlakuan ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Hasil dari uji dapat dilihat dengan terbentuknya diameter zona

hambatan (DZI) disekitar cakram. DZI diukur menggunakan penggaris/jangka sorong.

Analisis Data

Data dari hasil pengujian ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata (Burm f.) Nees*) diolah secara statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* pada program SPSS dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95% atau $\alpha=0,05$.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16 – 20 mm	Sedang
< 15 mm	Lemah

(Greenwood, 1995).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Determinasi Tanaman

Hasil determinasi sampel tanaman yang dilakukan di Labolatorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada menyatakan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar *Andrographis paniculata (Burm f.) Nees* dari Suku *Acanthaceae*.

Tabel 1. Hasil analisis penapisan fitokimia ekstrak etanol 95% *Andrographis paniculata (Burm f.) Nees*.

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Dragendorf	(+)	Terbentuk endapan berwarna jingga
Saponin	Aquades	(+)	Terbentuk busa stabil

Tabel 2. Hasil pemeriksaan karakteristik ekstrak etanol herba sambiloto.

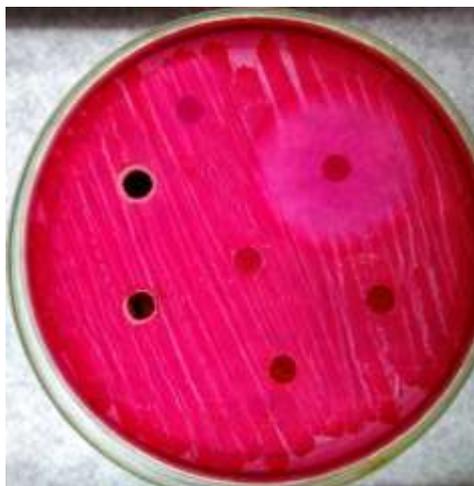
Karakteristik ekstrak	Ekstrak etanol herba sambiloto
a. Organoleptik	
• Konsistensi	Ekstrak kental
• Warna	Hijau pekat
• Bau	Khas
• Rasa	Pahit
b. Rendemen	6,75%

Hasil Uji Fitokimia

Analisis kandungan kimia yang terkandung dalam herba *Andrographis paniculata (Burm f.) Nees* pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif. Analisis kandungan yang terdapat di dalam ekstrak *Andrographis paniculata (Burm f.) Nees* dengan menggunakan pereaksi untuk golongan Alkaloid, Saponin.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Andrographis paniculata* (Burm f.) *Nees* dilakukan menggunakan metode difusi. Pengujian dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak yaitu 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin dan kontrol negatif adalah DMSO.



Gambar 2. DZI ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) *Nees*) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Analisis Data

Pengujian statistik hasil daya hambat ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) *Nees*) terlebih dahulu dilakukan uji normalitas sebagai syarat untuk menggunakan uji hipotesis selanjutnya. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel pada penelitian ini kurang dari 50 sampel.

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak etanol 95% *Andrographis paniculata* (Burm f.) *Nees* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Sampel	DZI (mm)			
	<i>Escherichia Coli</i>			Rata-rata
EEHS				
12,5%	0	0	0	0
25%	0	0	0	0
50%	0	0	0	0
75%	6	7	6	6,3
100%	7	8	8	7,6
Kontrol(+)	28,3	28,3	29,6	28,7
Kontrol(-)	0	0	0	0

Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$) pada kedua bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa data memiliki distribusi data yang tidak normal. Analisis data dilanjutkan dengan analisis non parametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji pada bakteri *Escherichia coli* didapatkan nilai signifikansi kontrol positif sebesar 0,005 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan antara kontrol positif dengan konsentrasi uji, dari hasil uji juga didapatkan nilai signifikansi masing-masing konsentrasi uji sebesar 0,008 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara masing-masing konsentrasi uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Pembahasan

Identifikasi fitokimia memberi gambaran golongan senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak. Uji alkaloid ekstrak dilakukan dengan 2 pereaksi yaitu *Dragendorff* dan *Mayer*. Hasil uji dinyatakan apabila ekstrak direaksikan dengan pereaksi *Dragendorff* ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga, sedangkan apabila direaksikan dengan pereaksi *Mayer* akan membentuk endapan berwarna kuning. Setelah di uji pereaksi *Dragendorff* dan pereaksi *Mayer* ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (*Burm f.*) *Nees*) menghasilkan endapan berwarna jingga yang menunjukkan bahwa ekstrak terdapat kandungan alkaloid. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendorff*, nitrogen (N) digunakan untuk mengikat ikatan kovalen dengan K^+ yang merupakan ion logam.

Uji Saponin ekstrak dilakukan menggunakan uji *Forth*. Saponin yang terbentuk diduga merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula/glikon dan non gula/aglikon. Pengujian saponin dengan uji *Forth* akan menghasilkan busa/buih yang bisa bertahan selama 5 menit maka ekstrak positif mengandung saponin (Rusdi, 1990). Timbulnya busa pada uji *Forth*

diduga merupakan glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Merliana, *et al.*, 2005).

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (*Burm f.*) *Nees*) mengandung senyawa alkaloid, saponin. Senyawa kimia dari tumbuhan adalah hasil dari metabolit sekunder yang berupa alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, tanin dan saponin. Senyawa ini salah satunya berfungsi sebagai antibiotik (Prapanza & Marianto, 2003).

Kandungan Alkaloid yang terdapat dalam ekstrak etanol herba sambiloto dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Robinson, 1995). Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkalator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou, *et al.*, 2005).

Kandungan lain yang terdapat dalam herba sambiloto adalah saponin. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Alseason, 2003). Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan

tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Harborne, 1987).

Aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat lebih efektif dibandingkan dengan daya kerja masing-masing senyawa (Jawetz, *et al.*, 2005). Masing-masing senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal tersebut belum bisa dipastikan karena belum ada kejelasan berapa kadar masing-masing senyawa yang terkandung dalam ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) didapatkan hasil KHM untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 75% dengan DZI rata-rata sebesar $\pm 6,3$ mm. Selain KHM dari pengujian didapatkan hasil DZI

ekstrak etanol herba sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tertinggi sebesar $\pm 7,6$ mm. Hasil pengujian aktivitas antibakteri diketahui bahwa DZI rata-rata siprofloksasin untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* sebesar $\pm 28,7$ mm. Menurut Tabel 1. Ekstrak etanol herba sambiloto dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dikatakan lemah karena kurang dari 15 mm. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

Menurut standar yang dimuat di *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), antibiotik Siprofloksasin dikatakan sensitif apabila memiliki DZI lebih dari 21 mm. Berdasarkan penelitian antibiotik siprofloksasin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar $\pm 28,7$ mm. Dari hasil penelitian yang dilakukan, siprofloksasin yang digunakan masih dikategorikan sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Pada penelitian ini menggunakan uji analisis data *Kruskal-Wallis*, uji ini dipilih karena lebih dari 2 kelompok sampel yang diujikan tidak memenuhi asumsi normalitas data. Analisis data *Kruskal Wallis* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok uji. Dari

hasil analisis yang dilakukan bisa dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dengan kontrol positif siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, serta terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing konsentrasi ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi ekstrak meningkat maka kadar bahan aktif antibakterinya semakin besar sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Kemampuan suatu bahan antimikroba dalam menghambat maupun membunuh mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antimikroba (Schlegel & Schmidt, 1994).

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) mengandung senyawa alkaloid dan saponin.
2. Ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) dikategorikan lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
3. Ekstrak etanol sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm f.) Nees) mempunyai aktivitas

antibakteri dengan nilai KHM terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 70% b/v.

Daftar Pustaka

- Sunoto. 1990, *Buku Ajar Diare*, Departemen Kesehatan RI Ditjen PPM & PLP, Jakarta.
- Direktorat Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, 2011, *Pedoman Pengendalian Penyakit Diare*, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Rusdi, 1990, *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang
- Marliana, Venty S. & Suyono., 2005, *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*, Jurnal Kimia FMIPA
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Ciulei, J., 1984, *Methodology for Analysis of vegetable and Drugs*.B Faculty of Pharmacy. pp 11-26.
- Siadi. K, 2012, *Ekstrak bungkil biji jarak pagar (Jatropha curcas) sebagai biopeptisida yang efektif dengan penambahan larutan NaCl*. Jurnal Mipa 35(2): 77-83
- Halim, V.S., Soegiharjo C.J., Rizal D.M., 2004, *Pengaruh ekstrak etanol herba sambiloto *Andrographis paniculata* Nees terhadap spermatogenesis mencit jantan dewasa dan uji kualitas kromatografi lapis*

- tipis*. Majalah Farmasi Indonesia, 15(3), 136-143.
- Prapanza, I. & Marianto, L.A., 2003, *Khasiat & Manfaat Sambilo: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*, 3-9, AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Robinson T., 1995, *The Organic Constituents of Higher Plant bed, Diterjemahkan oleh Padmawinata K., Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564–582.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., and Adelberg, E.A., 1995, *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 20*, 238 – 240, EGC. Kedokteran, Jakarta.
- Schlegel, H.G. Schmidt, K, 1994, *Mikrobiologi Umum*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.