

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,
Escherichia coli ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408**

Maulita Cut Nuria*, Arvin Faizatun*, Sumantri**

Staf Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang*,
Staf Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta**.

Abstract

Jatropha curcas L is a plant species that can be used for curing, since it contains flavonoid, saponin, and tanin. *Jatropha multifida* L is proved to have antibacterial activities (Sisunandar, et al., 2002). This research was intended to find out the antibacterial activities of ethanol extracts of *Jatropha curcas* L leaves on bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhi*, find out the effectiveness of those antibacterial activities and identify the compound groups contained in the ethanol extracts, the result of antibacterial activity of ethanol extracts of *Jatropha curcas* L was analyzed by statistic.

Employing a maceration method, *Jatropha curcas* L leaves were extracted using ethanol 70% for five days. Employing an agar-diffusion method aided by disk papers and in order to find out the inhibitory area diameters of the extracts, the extracts were then tested for their antibacterial activities. Qualitative analysis on the chemical contents of the extracts were conducted employing TLC method aided by silica-gel stationary phases for saponin and tanin and cellulose phases for flavonoid. The motion phases used ethyl acetat-acidformiat-acid acetat-water for flavonoid, chloroform-methanol for saponin and buthanol-acid acetat-water for tanin. The result of the test on antibacterial activities were analyzed statistically using Kruskall Wallis and Mann & Whitney tests.

The analysis showed that ethanol extracts of the *Jatropha curcas* L leaves inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* but not the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. The testing concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% b/v produced inhibitory area diameters averaging 8.25, 9.25, 11.00, 13.25, and 19.00 mm respectively. The positive control of Ampicillin produced an average inhibitory area diameters of 40.00 mm while the solvent control did not produce any inhibitory area diameters. Statistical test showed that there were significant differences among the different concentrations of the extracts. Thin

Layer Chromatography tests produced yellow color showing the existence of flavonoid, bluish violet color showing the existence of saponin, and grayish green color showing the existence of tanin.

Keyword : ethanol extracts of Jatropha curcas L leaves, inhibitory area diameters, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, and Salmonella typhi

Pendahuluan

Pemanfaatan bahan alam yang berasal dari tumbuhan sebagai obat tradisional telah lama dilakukan oleh masyarakat Indonesia untuk menangani berbagai masalah kesehatan. Hal ini cukup menguntungkan karena bahan bakunya mudah didapat atau dapat ditanam di pekarangan sendiri, relatif murah dan dapat diramu sendiri di rumah.

Salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat adalah jarak pagar. Tanaman jarak pagar yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae, genus *Jatropha* (Backer dan Brink, 1965) mempunyai daun yang berkhasiat sebagai obat gatal-gatal, eksim, dan jamur di sela-sela kaki (Syamsuhidayat, 2000)

Telah ada penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak cina yang dilakukan oleh Sisunandar, dkk., (2002). Hasil dari penelitian tersebut adalah ekstrak etanol daun jarak cina mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan konsentrasi 8% dan bakteri *E.coli* dengan konsentrasi 5%. Daun jarak cina dan daun jarak pagar mempunyai kandungan senyawa kimia yang sama yaitu flavonoid, saponin, dan tanin (Syamsuhidayat, 2000).

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka penelitian ini dimaksudkan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap bakteri *S.aureus*, *E.coli*, dan *S.typhi* menggunakan metode difusi agar. Uji kualitatif golongan senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun jarak pagar dilakukan menggunakan metode KLT. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat melengkapi data ilmiah mengenai daun jarak pagar agar dapat ditingkatkan menjadi ekstrak terstandar.

Bahan dan Metode

A. Alat Dan Bahan

Alat

Seperangkat alat maserasi dan corong pemisah, blender, kawat ose, kertas cakram, incubator (Memert), autoklaf (Hirayama), LAF (*Laminar Air Flow*) (Biosafety BH 2000), mikropipet, bejana pengembang, lampu UV_{254 nm}, rotary evaporator (Buchi).

Bahan

- a. Bahan utama : daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L)
- b. Cairan penyari : etanol 70%
- c. Bahan untuk uji KLT :
 - 1). Fase diam : silika gel GF₂₅₄ (E.Merck) untuk saponin dan tanin
Sellulose (E.Merck) untuk flavonoid
 - 2). Fase gerak :
 - a). Flavonoid : etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (pro analisis)
 - b). Saponin : kloroform-metanol (pro analisis)
 - c). Tanin : butanol-asam asetat-air (pro analisis)
 - 3). Penampak bercak :
 - a). Flavonoid : ammonia, AlCl₃ 1%, etanol (pro analisis)
 - b). Saponin : anisaldehyd-H₂SO₄(pekat) (pro analisis)
 - c). Tanin : FeCl₃ 10% (pro analisis)
 - 4). Perbandingan :
 - a). Flavonoid : rutin (Kuersetin 3-rutinosid) (Sigma Aldrich)
 - b). Saponin : saponin (Sigma Aldrich)
 - c). Tanin : asam tanat (Sigma Aldrich)
- d. Bahan untuk uji aktivitas antibakteri :
 - 1). Bakteri : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* ATCC 1408.
 - 2). Media : BHI (Broth Heart Infusion) (E.Merck), agar darah (E.Merck), Mc.Conkey (E.Merck), Mueller Hinton Agar (E.Merck)

- 3). Kontrol positif : kertas cakram berisi Ampisilin 10 μg untuk bakteri *S.aureus* (Oxoid), kertas cakram berisi Kloramfenikol 30 μg untuk *E.coli* (Oxoid)
- 4). Kontrol negatif : aquadest steril

B. Jalannya penelitian

1. Determinasi tanaman

Daun jarak pagar dideterminasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang.

2. Pembuatan simplisia

Daun muda dari tanaman jarak pagar yang telah dipetik kemudian dikumpulkan, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan. Daun jarak pagar kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Daun yang sudah kering kemudian diserbuk menggunakan blender.

3. Pembuatan ekstrak etanol daun jarak pagar

Dua ratus gram (200 gram) serbuk daun jarak pagar dimaserasi menggunakan 1350 ml etanol 70% selama lima hari, ditutup dan dibiarkan terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk. Setelah lima hari sari dikerai, ampas diperas kemudian ditambah 450 ml etanol 70%, diaduk dan dikerai, sehingga didapat seluruh sari sebanyak seratus bagian. Kemudian wadah ditutup, dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama dua hari, setelah itu endapan dipisahkan. Ekstrak etanol kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator (Depkes RI, 1986).

4. Uji aktivitas antibakteri

a. Pembuatan biakan

Strain murni *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Salmonella typhi* disuspensikan pada media BHI, lalu media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya bakteri *S. aureus* ditanam pada media agar darah, sedangkan bakteri *E. coli* dan *S. typhi* ditanam pada media Mc.Conkey pada suhu 37°C selama 24 jam. Satu ose koloni bakteri diambil dari media agar darah dan media Mc.Conkey disuspensikan ke dalam tabung berisi 1 ml media BHI dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi bakteri tersebut diencerkan

menggunakan NaCl 0,9% steril sampai mempunyai kekeruhan $10^7 - 10^8$ CFU/ml sesuai standar 0,5 Mc.Farland I ($10^7 - 10^8$ CFU/ml) (Depkes RI, 1991).

b. Uji aktivitas antibakteri dengan metode Kirby Bauer

Kapas lidi steril dimasukkan ke dalam tabung yang berisi suspensi bakteri, kemudian kapas lidi steril tersebut digoreskan merata pada media Mueller Hinton Agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kertas cakram (disk) diletakkan diatas media MHA yang telah mengandung bakteri uji, lalu diteteskan 5 μl ekstrak etanol daun jarak pagar dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% b/v, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Depkes RI, 1991). Diameter Daerah Hambat (DDH) diamati dan dihitung menggunakan penggaris atau jangka sorong.

5. Uji kualitatif senyawa aktif dari ekstrak etanol daun jarak pagar dengan metode KLT

Bejana pengembang dijenuhi dengan fase gerak yang sesuai untuk masing-masing golongan senyawa aktif. Fase gerak untuk flavonoid adalah etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27), untuk saponin adalah kloroform-metanol (95:5), dan untuk tanin adalah butanol-asam asetat-air (3:1:1) (Wagner, dkk., 1984). Lempeng KLT direndam dalam bejana pengembang tersebut, kemudian ekstrak kental daun jarak pagar ditotolkan pada lempeng KLT tersebut. Setelah itu lempeng KLT dielusi, dikeringkan, kemudian dideteksi dengan penampak bercak yang sesuai untuk masing-masing golongan senyawa yang ada dalam ekstrak kental daun jarak pagar. Penampak bercak untuk flavonoid adalah uap ammonia dilanjutkan dengan AlCl_3 1%, untuk saponin adalah campuran anisaldehyd dengan H_2SO_4 (pekat), dan untuk tanin adalah FeCl_3 10% (Wagner, dkk., 1984) . Kemudian diamati pada sinar tampak dan dihitung Rf-nya.

C. Analisis Data

Data yang diperoleh adalah diameter daerah hambat (DDH) yang ditimbulkan oleh berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun jarak pagar. Aktivitas antibakteri dianalisis secara statistika dengan uji Shapiro Wilk untuk mengetahui normalitas dan homogenitas data (Santoso, 2005)

Hasil yang diperoleh adalah data tidak terdistribusi normal, sehingga analisis yang digunakan adalah statistik non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 100% b/v terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan uji Mann & Whitney.

Hasil dan Pembahasan

A. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L) dilakukan di laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro Semarang. Determinasi dilakukan dengan tujuan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri.

B. Pembuatan simplisia daun jarak pagar

Pembuatan simplisia daun jarak pagar diawali dengan memetik daun segar, dikumpulkan, lalu dicuci menggunakan air mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun, lalu ditiriskan. Daun jarak pagar dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam sampai kering. Tujuan dari pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan tidak ditumbuhi jamur dalam penyimpanan jangka lama, menghemat tempat penyimpanan, serta menghentikan proses enzimatik sehingga metabolisme golongan senyawa yang ada dalam daun jarak pagar dapat dihentikan. Fungsi dari kain hitam adalah untuk menyerap sinar ultraviolet yang bersifat merusak, memberikan penyebaran panas yang merata pada proses pengeringan sehingga kerusakan dan dekomposisi kandungan golongan senyawa dalam daun jarak pagar karena paparan sinar matahari dapat dicegah.

Daun yang sudah kering diserbuk menggunakan blender, tujuannya adalah untuk memperbesar luas permukaan kontak antara daun jarak pagar dengan cairan penyari, sehingga golongan senyawa yang ada dalam daun jarak pagar dapat tersari sempurna.

C. Pembuatan ekstrak etanol daun jarak pagar

Pembuatan ekstrak dilakukan menggunakan metode maserasi dengan cairan penyari etanol 70% selama lima hari. Maserasi dilakukan untuk menarik senyawa-

senyawa yang berkhasiat, baik yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Pemilihan metode maserasi karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Penggunaan etanol 70% sebagai cairan penyari karena bersifat netral, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, selektif dalam menghasilkan jumlah senyawa aktif yang optimal, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI, 1986).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam 200 g serbuk simplisia ke dalam 1800 ml etanol selama 5 hari sambil sesekali diaduk, tujuan pengadukan adalah agar dapat terjadi keseimbangan konsentrasi golongan senyawa aktif yang lebih cepat di dalam cairan. Cairan penyari dibagi menjadi 2 bagian, bagian pertama sebanyak 75% kurang lebih 1350 ml, bagian kedua sebanyak 25 % kurang lebih 450 ml, dengan tujuan agar golongan senyawa aktif dapat tertarik secara sempurna dan didapat jumlah maserat sesuai yang dikehendaki.

Pemekatan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan putaran 60 rpm, tujuannya adalah agar golongan senyawa yang ada dalam daun jarak pagar tidak mudah rusak. Dari proses maserasi didapatkan rendemen 21,5 %.

D. Uji aktivitas antibakteri

Metode yang dipilih pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar adalah metode difusi agar / Kirby Bauer. Dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Prinsip dari metode Kirby Bauer adalah zat uji (ekstrak etanol daun jarak pagar) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% b/v yang diteteskan pada kertas cakram dapat berdifusi dengan baik pada permukaan media padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Sebagai kontrol positif digunakan kertas cakram yang berisi Ampisilin 10 µg untuk bakteri *S.aureus* dan kertas cakram yang berisi Kloramfenikol 30 µg untuk bakteri *E.coli*, sedangkan untuk bakteri *S.typhi* tidak diberi kontrol positif karena hanya untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun jarak pagar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif yang lain selain *E.coli*. Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji (ekstrak etanol daun jarak pagar), dengan

membandingkan diameter daerah hambat (DDH) yang terbentuk. Kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest steril, kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus*, *E.coli*, dan *S.typhi*, sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jarak pagar dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.typhi*, hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel I.

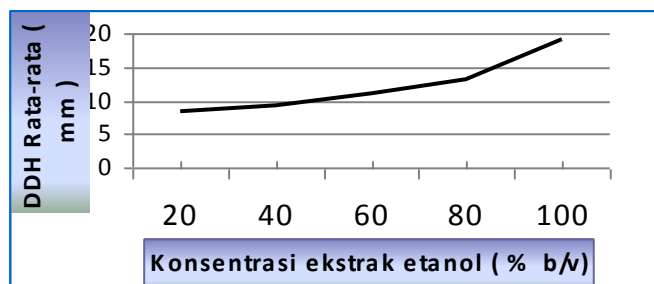
Tabel I. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap bakteri *S.aureus*, *E.coli*, dan *S.typhi*

Perlakuan	Diameter Daerah Hambat rata-rata (mm)		
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.typhi</i>
EEJP 20	8,25	0	0
EEJP 40	9,25	0	0
EEJP 60	11	0	0
EEJP 80	13,25	0	0
EEJP 100	19	0	0
Kontrol Ampisilin	40	0	0
Kontrol Kloramfenikol	*	30	*
Kontrol Aquadest	0	0	0

Keterangan : EEJP = ekstrak etanol daun jarak pagar

* = tidak dilakukan uji

Berdasarkan hasil pada tabel 1 maka dibuat grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap DDH yang ditimbulkan pada bakteri *S.aureus*:



Gambar 1. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap DDH pada bakteri *S.aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar dianalisa menggunakan statistika. DDH yang diperoleh terlebih dahulu diolah menggunakan Shapiro Wilk, hal ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen.

Uji normalitas data menurut Shapiro Wilk menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal dan homogen karena ada tiga tingkat konsentrasi (20%, 40%, dan 80% b/v) yang memiliki nilai signifikansi 0,001 ($<0,05$) sehingga analisis statistik dilakukan secara non parametrik menggunakan uji Kruskal Wallis.

Uji Kruskal Wallis menunjukkan angka chi-square sebesar 22,476 dan probability sebesar 0,000 ($<0,05$), sehingga minimal ada satu pasang kelompok yang berbeda secara bermakna. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna, dilanjutkan dengan uji Mann & Whitney. Hasil uji Mann & Whitney menunjukkan adanya perbedaan bermakna diantara masing-masing konsentrasi.

Ekstrak etanol daun jarak pagar tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.typhi*, kemungkinan karena susunan dinding sel bakteri Gram negatif yang kompleks. Sebagian besar bakteri Gram negatif mempunyai kompleks lipopolisakarida pada dinding selnya. Zat tersebut adalah endotoksin, susunan endotoksin lipopolisakarida pada dinding sel yaitu, polisakarida-O-spesifik yang merupakan antigen somatik dari koloni halus yang menginduksi kekebalan spesifik, inti polisakarida umum (antigen koloni kasar) yang menginduksi beberapa resistensi tidak spesifik terhadap sepsis Gram negatif, lipid A dengan KDO (asam-2-keto-3-deoksi-oktanoat) yang bertanggung jawab untuk

keracunan primer (Jawetz, dkk., 1986). Berbeda halnya dengan susunan dinding sel bakteri Gram positif yang tidak terlalu rumit atau kompleks, sehingga masih dapat ditembus oleh ekstrak etanol daun jarak pagar.

E. Hasil uji kualitatif senyawa yang ada dalam daun jarak pagar menggunakan metode KLT

Hasil uji kualitatif golongan senyawa kimia yang ada dalam ekstrak etanol daun jarak pagar menunjukkan positif mengandung flavonoid, saponin, dan tanin, dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil KLT golongan senyawa yang ada dalam ekstrak etanol daun jarak pagar

No.	Golongan senyawa	Rf	Pembanding	Rf
1	Flavonoid	0,98	Rutin	0,63
2	Saponin	0,26	Saponin	0,32
3	Tanin	0,90	Asam tanat	0,71

Hasil uji kualitatif golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun jarak pagar secara KLT menunjukkan positif mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Tetapi kemungkinan besar golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun jarak pagar bukan merupakan senyawa yang sama dengan pembanding. Hal ini dapat dilihat dari nilai Rf yang berbeda. Hasil KLT golongan senyawa flavonoid dengan fase diam selulose dan fase gerak etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:15:27) menghasilkan bercak berwarna kuning dengan nilai Rf 0,98, untuk golongan senyawa saponin dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform-metanol (95:5) menghasilkan bercak berwarna biru-biru violet dengan nilai Rf 0,26, dan untuk golongan senyawa tanin dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol-asam asetat-air (3:1:1) menghasilkan bercak berwarna hijau kelabu dengan nilai Rf 0,90.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (IndoBIC, 2005). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim

reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995).

Kesimpulan dan Saran

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol daun jarak pagar mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, tetapi tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408.
2. Ekstrak etanol daun jarak pagar dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% b/v memiliki aktivitas antibakteri dan hasil uji statistik dengan uji Mann & Whitney menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna diantara konsentrasi tersebut.
3. Ekstrak etanol daun jarak pagar mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diharapkan dapat dilakukan pengujian lebih lanjut, yaitu :

1. Pengujian terhadap masing-masing kandungan senyawa flavonoid, saponin dan tanin yang memiliki aktivitas antibakteri.
2. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar menggunakan metode dilusi untuk mengetahui KHM.
3. Pengujian secara bioautografi terhadap ekstrak etanol daun jarak pagar.

Daftar Pustaka

- Backer, C.A., dan Brink, R.C.B.V.D., 1965, *Flora of Java*, Vol.II, N.V.P. Norrdhoff, Gonogen, Netherlands.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenik*, 5-17, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1991, *Petunjuk Pemeriksaan Mikrobiologi Makanan Dan Minuman*, 20, 33, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Indonesian Biotechnology Information Centre (IndoBIC), 2005, *Senyawa Antimikroba Dari Tanaman*, http://indobic.or.id/berita_detail.php?id_berita=124 diakses pada tanggal 21 Januari 2008.
- Jawetz, E., Melnick, L.J., dan Adelberg, A.E., 1986, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, diterjemahkan oleh Tonang, Edisi 16, Jilid 2, 288, EGC, Jakarta.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih, P., Edisi Keenam, 72, 157, 198, ITB, Bandung.
- Santoso, S., 2005, *Menguasai Statistik di Era Informasi dengan SPSS 12*, 332, 409, 430, 451, PT.Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Sisunandar, Julianto, T., dan Yulia, D., 2002, *Senyawa Antibakteri Pada Jarak Cina dalam Proceeding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXII*, Purwokerto.
- Syamsuhidayat, 2000, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Edisi Pertama, 134-140, Departemen Kesehatan RI dan Kesejahteraan Sosial, Jakarta.
- Wagner, H., Bladt, S., dan Zgainski, E.M., 1984, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, 164, 195, 226, Heidelberg, Berlin.