



ACTIVITY TEST OF *Abrus precatorius* L. LEAF EXTRACT AGAINST CLINICAL *Streptococcus pneumoniae* GROWTH*

Misrahanum¹, Cut Intan Annisa Puteri¹, Cut Yulvizar^{2*}

¹Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*E-mail : yunda_mnz@yahoo.com

Abstract. Saga (*Abrus precatorius* L.) have been used by Indonesian community as a traditional medicine. The research aims to determine the activity of the methanol extract of saga leaves to inhibit the growth of clinical *Streptococcus pneumoniae* growth. Inhibition tests was done with casting cup method. The results showed that the methanol extract of saga leaves at a concentration of 37,5; 50; 62,5; 75 and 87,5 mg/mL formed growth inhibition zone of clinical *S. pneumoniae* with consecutive average of 0,5; 1,75; 2,82; 4,00; and 4,82 mm. Based on the results of the research can be concluded that the methanol extract of saga leaves had activity in inhibiting the growth of clinical *S. pneumoniae* isolates with low category.

Key words: *Abrus precatorius* L., Clinical *Streptococcus pneumoniae*, Methanol extract

I PENDAHULUAN

Pneumonia adalah infeksi saluran pernafasan bagian bawah. Penyakit ini merupakan infeksi akut jaringan paru yang disebabkan oleh mikroorganisme yang sebagian besar adalah bakteri [1]. Menurut Azwar menyatakan bahwa pneumonia sering disebabkan oleh bakteri gram positif, yang salah satunya merupakan bakteri *Streptococcus pneumoniae* [2]. Hasil survei kesehatan rumah tangga Depkes pada tahun 2001 menyatakan bahwa penyakit infeksi saluran pernafasan menempati urutan kedua sebagai penyebab kematian di Indonesia. Hal ini terjadi karena disebabkan oleh terbatasnya ketersediaan obat-obatan dan munculnya masalah resistensi akibat pemakaian antibiotik yang luas di masyarakat [3]. Menurut Agung pengobatan tradisional diketahui lebih efektif memberikan penyembuhan dibandingkan dengan menggunakan bahan kimia [4]. Salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan secara empiris oleh masyarakat untuk pengobatan adalah tumbuhan saga (*Abrus precatorius* L.) [5]. Air rebusan daun saga digunakan untuk mengobati sariawan, batuk, dan radang tenggorokan [6].

Biji, batang dan akar saga juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Namun bagian biji saga memiliki sifat beracun sehingga penggunaannya harus dengan hati-hati [7]. Daun saga mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan steroid [8]. Senyawa tersebut mempunyai efek farmakologi salah satunya sebagai antibakteri [9]. Menurut Hariana dan Dalimartha daun saga juga mengandung *glycyrrhismic acid* yang bersifat manis dan netral [9,10]. Hasil penelitian Savitri menyatakan bahwa ekstrak etanol daun saga memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* pada konsentrasi 62,5 mg/mL yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram [11]. Andayani juga membuktikan bahwa ekstrak metanol daun saga juga memiliki daya hambat maksimum terhadap *Streptococcus mutans* dengan membentuk zona hambat sebesar 17,3 mm [9]. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaporkan daun saga terbukti mempunyai efek antibakteri namun penelitian efek antibakteri terhadap bakteri isolat klinis ternyata masih sangat sedikit dilakukan, maka sangat menarik dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas

ekstrak metanol dari daun saga terhadap bakteri *S. Pneumoniae* isolat klinis.

II METODOLOGI

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, kertas saring, erlenmayer, rotary evaporator, tabung, aluminium foil, bejana maserasi, jarum ose, pinset, pipet ependrof, jangka sorong, lampu spiritus, kaca objek, kaca penutup, autoklaf, inkubator, lemari pendingin, dan mikroskop cahaya. Bahan uji yang digunakan adalah daun saga segar yang diperoleh dari Kembang Tanjong, Kabupaten Pidie. Isolat *Streptococcus pneumoniae* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Manitol Salt Agar* (MSA), media cair *Tryptone Soya Broth* (TSB), pelarut metanol, NaCl 0,9%, akuades steril, cakram kertas kosong, cakram antibiotik ampisilin, kapas, cotton bud, alkohol 96%, larutan lugol, larutan iodin, kristal violet, minyak emersi, dan reagen untuk uji fitokimia.

Tahap pembuatan simplisianya, daun saga yang diambil adalah daun yang berwarna hijau muda maupun hijau tua. Selanjutnya daun saga sebanyak 2 kg dibersihkan dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun saga. Kemudian dikeringanginkan selama 1 bulan pada suhu kamar agar tidak terkena sinar matahari langsung karena bagian tumbuhan yang mengandung flavonoid, kuinon, kurkuminoid, karotenoid serta beberapa alkaloid dapat berubah bila terpapar sinar matahari secara langsung [12]. Selanjutnya simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan nomor 40 untuk mendapatkan serbuk kasar dan kemudian ditimbang [13]. Pembuatan ekstraksi dengan cara maserasi, serbuk kasar simplisia sebanyak 270 g dimaserasi dengan menggunakan 2 L pelarut metanol, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari sambil diaduk berulang-ulang dan disaring [14]. Ampas hasil penyaringan dimaserasi kembali dan dibiarkan selama 2 hari sambil diaduk berulang-ulang kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C, sehingga diperoleh ekstrak pekat dan terpisah dari pelarutnya [15]. Ekstrak pekat daun saga selanjutnya diencerkan dengan pelarut metanol sehingga diperoleh konsentrasi 37,5; 50; 62,5; 75; dan 87,5 mg/mL

Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam daun saga. Analisa dilakukan berdasarkan metode [16]. Senyawa yang diidentifikasi adalah alkaloid, saponin dan flavonoid. Uji alkaloid. Ekstrak daun saga sebanyak 3 g ditambah 1 mL ammonia dan 10 mL kloroform. Selanjutnya ditambah asam sulfat pekat 2 N sebanyak 10 mL, dikocok, kemudian larutan didiamkan sampai terpisah antara asam sulfat dan kloroform. Lapisan asam sulfat dibagi dalam 3 tabung lalu diberi 3 pereaksi. Untuk mengetahui adanya alkaloid maka tabung pertama ditambahkan dengan pereaksi Mayer, bila terjadi endapan putih maka positif alkaloid. Bagian tabung kedua ditambahkan dengan pereaksi Wagner, bila terjadi endapan berwarna coklat maka positif terdapat alkaloid. Bagian tabung ketiga ditambahkan dengan pereaksi Dragendroff, bila terjadi endapan berwarna kemerahan maka positif alkaloid [16]. Uji saponin. Ekstrak sebanyak 2 g dilarutkan dalam 10 mL akuades, kemudian dikocok kuat-kuat beberapa saat. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang [17].

Uji flavonoid dilakukan dengan cara: Ekstrak pekat daun saga sebanyak 1 mL ditambahkan dengan larutan 1 mL NaOH encer. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terjadinya perubahan warna yang menjadi kuning [18]. Uji Antibakteri dilakukan dengan pengujian daya hambat ekstrak metanol daun saga. Pengujian dengan menggunakan teknik agar tuang (*pour plate*) yaitu suspensi bakteri diambil menggunakan pipet mikro dan dicampurkan kedalam media MHA yang masih cair [22]. Cawan petri yang sudah berisi MHA dan bakteri tersebut dibagi menjadi 5 bagian yang masing-masing diletakkan kertas cakram yang mengandung ekstrak metanol daun saga dengan konsentrasi 37,5; 50; 62,5; 75; dan 87,5 mg/mL. Kemudian pada bagian permukaan media MHA lainnya dibagi dua bagian yang diletakkan kertas cakram yang mengandung ampisilin sebagai kontrol positif (antibiotik) dan kertas cakram yang mengandung pelarut metanol sebagai kontrol negatif. Uji ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Kemudian media MHA tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi cawan terbalik dan diamati zona hambat pertumbuhan bakteri pada setiap kelompok dengan mengukur diameter zona bening yang

terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Cakram yang berisi ekstrak metanol daun saga sebagai konsentrasi dibuat dengan cara mengambil ekstrak sebanyak 0,1 mL pada masing-masing konsentrasi menggunakan pipet mikro dan ditetaskan pada kertas cakram kosong yang steril.

III HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun saga pada penelitian ini menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, dan saponin, (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan pernyataan Kekuda *et al* yakni ekstrak metanol daun saga menunjukkan hasil yang positif terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid [8].

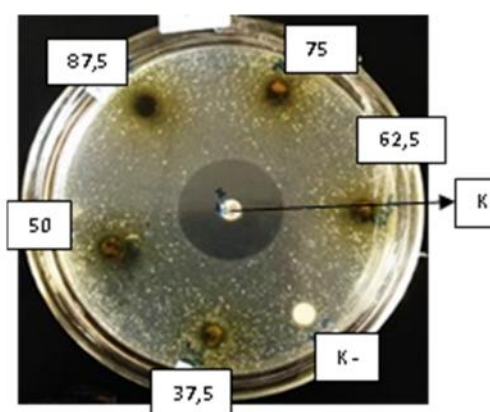
Tabel 1 Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun saga

No	Uji Senyawa	Pereaksi	Hasil
1.	Alkaloid	Mayer	+
		Dragendroff	+
		Wagner	-
2.	Flavonoid	NaOH	+
3.	Saponin	Akuades	+

Keterangan: + (positif), - (negatif)

Menurut Andayani daun saga mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid [9]. Adanya kandungan senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih dengan pereaksi Mayer dan terbentuknya endapan kemerahan dengan pereaksi Dragendroff namun dengan pereaksi Wagner tidak membentuk endapan coklat. Meskipun dengan pereaksi Wagner menunjukkan hasil negatif, daun saga tetap dikatakan positif mengandung alkaloid. Menurut Ditjen POM untuk memastikan adanya kandungan alkaloid dari suatu tumbuhan diperlukan 2 dari 3 pereaksi yang hasilnya positif [23]. Flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning dengan pereaksi NaOH encer [18]. Sedangkan saponin ditandai dengan terbentuknya busa permanen ± 15 menit dan tidak hilang dengan penambahan satu tetes asam klorida [16]. Menurut Lathifah, saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang [17]. Perbedaan hasil kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu tumbuhan diduga disebabkan oleh banyak faktor seperti

perbedaan iklim, ketinggian, jenis tanah serta pengaruh biologis dari cacing, serangga maupun bakteri terhadap tumbuhan [10]. Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak metanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae*. Adanya daya hambat tersebut dapat diketahui dengan terbentuknya zona hambat disekeliling kertas cakram yang dihitung dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan mm [25]. Zona hambat merupakan zona yang terbentuk karena adanya daya antibakteri dari ekstrak yang digunakan [26]. Diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Diameter zona hambat *S. pneumoniae* setelah pemberian ekstrak metanol daun saga (*Abrus precatorius L.*) pada konsentrasi 37,5 mg/mL (Ps-1), 50 mg/mL (Ps-2), 62,5 mg/mL (Ps-3), 75 mg/mL (Ps-4), 87,5 mg/mL (Ps-5), pelarut metanol (Ps-0) dan antibiotik ampisilin (Ps-6).

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa konsentrasi 50 mg/mL sampai dengan konsentrasi 87,5 mg/mL ekstrak metanol daun saga dapat menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae*. Menurut klasifikasi zona hambat Morales *et al*, diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak metanol daun saga pada konsentrasi 50; 62,5; 75; dan 87,5 mg/mL secara berturut-turut: 1,75; 2,82; 4,00 dan 4,82 mm tergolong dalam kategori lemah (< 6 mm) [27]. Namun pada konsentrasi 37,5 mg/mL rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk termasuk dalam kategori tidak ada daya hambat dengan rata-rata diameter zona bening 0,5 mm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brooks *et al* bahwa efektifitas suatu zat antimikroba dipengaruhi oleh konsentrasi zat yang diberikan [20]. Menurut Hamdiyati dan Suprianto, peningkatan

konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin besar jumlah senyawa antimikroba yang berdifusi ke dalam media agar sehingga zona hambat yang terbentuk akan meningkat [28,29].

Tabel 2 Diameter zona hambat pertumbuhan *S. pneumoniae* klinis yang terbentuk pada setiap kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat Pada Tiap Pengulangan (mm)			D _{mean}	Klasifikasi
	A	B	C		
	P-0 kontrol negatif (metanol 0,1 mL)	-	-		
P-1 (37,5 mg/mL)	0,7	0,7	0,1	0,5	Tidak ada
P-2 (50 mg/mL)	1,75	1,75	1,75	1,75	Lemah
P-3(62,5 mg/mL)	2,5	2,25	3,7	2,82	Lemah
P-4 (75 mg/mL)	3,9	3,85	4,25	4,00	Lemah
P-5 (87,5 mg/mL)	5,7	4,1	4,65	4,82	Lemah
P-6 kontrol positif (ampisilin 30 µg)	19	26,2	18,2	21,1	Sangat Kuat

Selain faktor konsentrasi, jenis tanaman yang digunakan sebagai antibakteri dan perbedaan struktur dinding sel suatu bakteri juga dapat menentukan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri [30]. Meningkatnya konsentrasi ekstrak mengakibatkan tingginya kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri sehingga mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri juga semakin besar. Kemampuan senyawa antibakteri seperti flavonoid sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa flavonoid untuk merusak dinding sel bakteri. Penyusun dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan, lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel rusak akibat terjadinya kerusakan struktur DNA bakteri yang pada akhirnya sel bakteri mengalami lisis dan bakteri akan mati [31,32]. Senyawa alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan cara memanfaatkan sifat reaktif gugus basa pada senyawa alkaloid yang mengandung nitrogen. Gugus basa ini apabila berkontak dengan penyusun dinding sel bakteri mengakibatkan perubahan keseimbangan pada penyusun dinding sel bakteri terutama DNA yang merupakan penyusun utama inti sel. Akibatnya inti sel bakteri mengalami kerusakan

dan lisis sehingga bakteri akan mati [32,33]. Selain flavonoid dan alkaloid, saponin juga memiliki peran dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* melalui permeabilitas membran sel bakteri. Saponin bekerja dengan cara berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel dan menimbulkan lisis pada sel. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya [34]. Pada kontrol negatif yang diberikan pelarut metanol tidak terbentuknya zona hambat, hal ini menunjukkan bahwa pelarut metanol tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri yang digunakan. Sedangkan penggunaan cakram antibiotik ampisilin sebagai kontrol positif memberikan diameter zona hambat rata-rata sebesar 26,2 mm yang termasuk kedalam klasifikasi zona hambat dengan kategori sangat kuat (>21-30 mm). Ampisilin merupakan turunan penisilin yang merupakan kelompok antibiotik β -laktam yang memiliki spektrum antimikroba yang luas dan bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri. Ampisilin efektif terhadap mikroba Gram positif dan Gram negatif. Ampisilin sesuai digunakan untuk pengobatan pneumonia karena spektrum kerjanya yang luas [35].

Ekstrak metanol daun saga mempunyai efek antibakteri yang aktif dalam melawan patogen pada manusia. Hal ini serupa dengan hasil Savitri bahwa ekstrak etanol daun saga memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* standar [11]. Hasil penelitian Andayani juga menunjukkan hasil yang serupa terhadap ekstrak metanol daun saga dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* [9]. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun saga dalam penelitian ini menghasilkan zona hambat pada setiap perlakuan. Walaupun dikategorikan dalam klasifikasi lemah, ekstrak daun saga memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* isolat klinis pada konsentrasi: 50; 62,5; 75 dan 87,5 mg/mL.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol daun saga pada konsentrasi 50 mg/mL sampai dengan 87,5 mg/mL memiliki daya hambat terhadap *S. pneumoniae* yang dikategorikan lemah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Corwin, E. J. 2000. *Buku Saku Patofisiologi*. Terjemahan dari Handbook of Pathophysiology, oleh Brahm, EGC, Jakarta.
2. Azwar, A. 2002. *Pengantar Epidemiologi*. Binaputra Aksara, Jakarta Barat.
3. Zampini, I.C., Cuello, S, Alberto, M.R., 2009. Antimicrobial Activity of Selected Plant Species from The Argentine Puna Against Sensitive and Multiresistant Bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 124:499-505.
4. Agung dan Tinton. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat: 431 jenis tanaman pengempur aneka penyakit*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
5. Anand, R.A., Kishore, V.O., Rajkumar, V. *Abrus Precatorius* Linnaeus: A phytopharmacological review. *J Pharm Res*. 2010; 3(11):2585-2587.
6. Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medika, Jakarta.
7. Hariana, A. 2011. *Tumbuhan obat dan khasiatnya seri 3*. Penebar Swadaya, Jakarta.
8. Kekuda, T. R. P., Vinayaka, K. S., Soumya, K. V., Ashwini, S. K., and Kiran, R. 2010. Antibacterial and Antifungal Activity of Methanolic Extract of *Abrus precatorius pulchellus* and *Abrus precatorius* Linn- A Comparative Study. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research* 2(1): 26-29.
9. Andayani, R., Basri, A.G., Wury, H. 2012. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Saga (*Abrus precatorius* Linn) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Cakradonya Dental, Vol 4*, 427.2085-456x
10. Dalimartha, S. 2008. *Atlas Tumbuhan Indonesia Jilid 5*. Pustaka Bunda, Jakarta.
11. Savitri, R. 1994. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol dan Infus Daun Saga terhadap Kuman *Staphylococcus aureus* ATCC 52938, *Streptococcus beta hemoliticus* standar strain WHO dan *Streptococcus pneumonia* standar. *Abstrak*. JF FMIPA UI, Jakarta.
12. Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakologi Indonesia*. Ed ke-4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
13. Direktorat Obat Asli Indonesia. 2013. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. BPOM, Jakarta.
14. Ditjen POM, 1979. *Farmakope Edisi 3*. Penerbit Depkes RI, Jakarta.
15. BPOM 2010. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, BPOM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
16. Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung.
17. Lathifah, Q. 2008. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* L.) Dengan Pereaksi Pelarut. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN), Malang.
18. Gothandam, K. M., Aishwarya, S., Karthikeyan. 2010. Screening of Antimicrobial Properties of Few Medicinal Plants. *Journal of Phytology* 2.(1):06.
19. Dwi, W. C., Nai, L. K., dan Manggarwati, N. T. 2011. Bakteriologi *Streptococcus pneumoniae*. <https://www.scribd.com/document/8529254/Klasifikasi-Bakteri-Streptococcus-Pneumoniae>. Tanggal akses 30 November 2014.
20. Brooks, G. F., Butel, J. S., and Morse, S. A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick dan Adelberg*. Terjemahan dari Huriawati H. Edisi ke-23. EGC, Jakarta.
21. Wande, I. N. 2011. Masalah Resistensi Antibiotika. <http://www.slideshare.net/andreei/rkk22>. Tanggal akses 30 November 2014.
22. Yusuf, A. 2011. Tingkat Komunikasi *Escherichia coli* Pada Susu Segar Di Kawasan Gunung Perak, Kabupaten Sinjai. *Skripsi*. Program Studi Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.
23. Ditjen POM. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
24. Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Sukarta.
25. Junanto, T., Sutarno, dan Supriyadi. 2008. Aktifitas Antimikroba Ekstrak Angsana (*Pterocarpus indicus*) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Bioteknologi* 5 (2): 63-69.
26. Melki, E. P., Ayu, W., dan Kurniati. 2011. Uji Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut

- (*Gracilaria* sp.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tesis. Universitas Sriwijaya, Indralaya-Indonesia.
27. Morales, G., Sierra, P., Manolla, A., Paredes, A., Loyolla, L. A., Gallardo, O and Poorquez, J. 2003. Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile: Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia Salina*. *Journal of the Chilean Chemical Society* 48 (2) : 1-2.
 28. Hamdiyati, Y., Kusnadi., dan Rahadian, I. 2008. Aktivitas Antibakteri Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermis*. *Jurnal Pengajaran MIPA*. 12 (2): 1-10.
 29. Suprianto. 2008. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Sebagai Anti *Streptococcus mutans*. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
 30. Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae* 1 (1) : 31-38.
 31. Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Review*. 12 (4): 564-582.
 32. Gunawan, I. W. A. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*. Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati Denpasar.
 33. Fauzia, L. A. 2008. Uji Efek Air dari Daun Avokad (*Persea gratissima*) terhadap *Streptococcus mutans* dari Saliva dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC) dan konsentrasi Hambat Minimum (MIC). *Majalah Kedokteran Nusantara*. 41 (3): 173-178.
 34. Nursal., Wulandari, S., Juwita, W. S. 2006. Bioaktivitas Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biogenesis*. 2 (2) : 64-66.
 35. Tjay, T. H dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting*. PT Elex Media Komputino, Jakarta