

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK DAUN MALEK (*Litsea graciae Vidal*) TERHADAP BAKTERI *Stapylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Dina Katrin^{1*}, Nora Idiawati¹, Berlian Sitorus

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jln. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124

*e-mail: dinakatrin4560@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan malek (*Litsea graciae Vidal*) merupakan salah satu dari genus *Litsea* yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, pada fraksi metanol, n-heksana dan kloroform terdiri dari alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid, yang dapat berpotensi sebagai antibakteri. Secara empiris masyarakat memanfaatkan biji malek sebagai obat bisul. Metode yang digunakan untuk uji bioaktivitas terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* adalah metode cakram kertas dengan melihat diameter zona hambat yang dihasilkan. Variasi konsentrasi ketiga fraksi tersebut adalah 4, 5, 6, dan 7% (b/v). Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun malek pada konsentrasi terkecil yang diberikan yaitu 4 % memiliki daya hambat terbesar pada fraksi kloroform terhadap bakteri *S.aureus* yaitu sebesar 12,6 mm dan terhadap bakteri *E.coli* sebesar 11 mm. Zona hambat ini menunjukkan bahwa ekstrak daun malek dari berbagai fraksi berpotensi sebagai antibakteri.

Kata Kunci : Antibakteri, *Escherichia coli*, *Litsea graciae vidal*, *Stapylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan salah satu penyakit yang paling banyak diderita oleh masyarakat saat ini, khususnya di negara berkembang seperti halnya Indonesia. Salah satu penyebab dari penyakit infeksi ini adalah bakteri. Menurut Djide dan Sartini (2008) bakteri patogen lebih berbahaya dan menyebabkan infeksi baik secara sporadik maupun endemik, bakteri tersebut diantaranya yaitu *Escherichia coli*, *Stapylococcus aureus*, *Pseudeomonas aeruginosa*

Peningkatan resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotik memberikan peluang besar dalam memanfaatkan potensi alam (Slik, 2006 dalam Ariyani dan Mustikasari, 2010). Menurut Ariyani dan Mustikasari (2010) tumbuhan malek memiliki senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid dan tanin yang berpotensi sebagai antibakteri.

Secara empiris, masyarakat pada umumnya memanfaatkan buah malek ini sebagai pelengkap nasi sedangkan bijinya dimanfaatkan sebagai obat bisul. Adanya aktivitas antibakteri pada biji malek tersebut diduga bahwa biji malek mengandung metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Hal ini

yang ada di Indonesia sebagai antibakteri (Todar, 2002). Selain itu, penggunaan obat tradisional dimanfaatkan masyarakat sebagai salah satu pengobatan tradisional karena harganya murah dan kecilnya efek samping yang ditimbulkan (Darmayasa, 2008).

Tumbuhan malek merupakan salah satu spesies dari genus *Litsea* yang termasuk ke dalam family Lauraceae. Malek dapat hidup di daerah tropis dan subtropis hingga ketinggian 10-25 m. Tumbuhan ini tersebar di Penisular Malaysia, Sumatra, Jawa, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Mollusccas, dan New Guinea didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Ariyani dan Mustikasari (2010) yang menyatakan bahwa kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol biji malek adalah alkaloid dan tanin.

Menurut Mulmawar dan Elfita (2006) ekstrak akar dari *Litsea spathulata* dapat menghambat bakteri *E. coli* dan *S. dysenteriae* selain itu, penelitian dari Mulia (2000) juga menyatakan bahwa genus yang sama yaitu *Litsea cubeba* memiliki aktivitas terhadap beberapa bakteri perusak

makanan dan bakteri patogen. Metode-metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas senyawa antibakteri ini diantaranya adalah metode difusi dan metode dilusi (Pratiwi, 2008 dalam kurniahatudi, 2010).

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah metode difusi agar dengan menggunakan cakram kertas, dimana dalam teknik ini media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri kemudian dimasukan kertas cakram dalam media dan diisi dengan senyawa uji.

Melalui penelitian ini, telah dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun malek, dimana ekstrak dari daun malek tersebut diperoleh melalui teknik ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut metanol kemudian ekstrak yang diperoleh tersebut dipartisi dengan menggunakan *n*-heksana, dan kloroform. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh dari masing-masing fraksi akan dilakukan uji bioaktivitasnya terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan menggunakan metode cakram kertas.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, daun malek (*Litsea graciae vidal*), bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, metanol, media nutrient agar (NA), *n*-heksana, etil asetat, alkohol, nutrient broth (NB), pereaksi mayer, dragendorff, DMSO 10 %, tween 80, pereaksi liberman burchad.

Alat

Adapun alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, aluminium foil, botol vial, blender, bunsen, batang pengaduk, cawan petri, corong pisah, erlenmeyer, evaporator, gelas ukur, hot plate, inkubator, jarum ose, laminar air flow (LAF), micropipet, pinset, pipet volume, tabung reaksi beserta raknya, timbangan analitik, vorteks, kertas saring, dan jangka sorong

Cara Kerja

Ekstraksi Daun Malek

Ekstraksi daun malek (*Litsea graciae vidal*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 500,5 gram serbuk daun malek direndam dengan

menggunakan pelarut metanol selama 3x24 jam kemudian disaring sehingga terpisah antara filtrat dan residunya. Filtrat yang telah didapat dievaporasi sehingga didapat ekstrak kasar metanol (Harlis, 2010).

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode FCC (Fraksinasi cair-cair) dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, kloroform dan metanol secara sinambung dengan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda. Ekstrak metanol dilarutkan dalam metanol sebanyak 200 ml. Selanjutnya dimasukkan kedalam labu pisah, ditambahkan 200 ml *n*-heksana, dikocok secara perlahan-lahan dan didiamkan sampai terjadi pemisahan antara fraksi *n*-heksana dan metanol. Fraksi *n*-heksana dipisahkan, kemudian diulangi beberapa kali sampai larutan berwarna bening. Fraksinasi dilanjutkan dengan menggunakan kloroform dengan perlakuan yang sama seperti *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana dan kloroform yang telah diperoleh diuapkan dengan menggunakan evaporator. Fraksi-fraksi tersebut kemudian dilakukan uji aktivitas antibakterinya.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode Harlis (2010) yang telah dimodifikasi. Suspensi bakteri sebanyak 50 µL dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi nutrient agar steril sebanyak 20 mL yang sudah membeku. Pada media yang sudah memadat dimasukkan cakram kertas dengan diameter 3 mm, masing-masing diisi dengan 20 µL larutan sampel (fraksi metanol, *n*-heksana, dan kloroform) dan didiamkan selama 18 jam pada suhu kamar, kemudian diukur diameter zona hambat pada daerah bening kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas ANTIBAKTERI

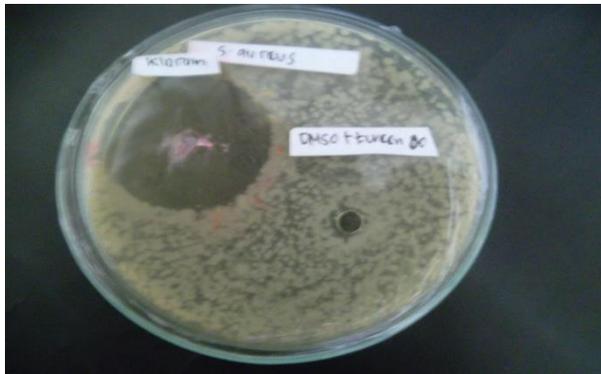
Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun malek dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram kertas, dimana metode ini memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah dan murah karena tidak memiliki alat khusus. Tujuan dilakukan uji aktivitas antibakteri adalah untuk melihat kemampuan dari ekstrak daun malek dari berbagai fraksi yaitu fraksi metanol, *n*-

heksana dan kloroform untuk menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Ekstrak daun malek yang digunakan akan dibuat dengan cara menimbang dari masing-masing ekstrak sebanyak 4, 5, 6 dan 7%. Pengujian antibakteri dengan tingkatan konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk melihat pengaruh setiap konsentrasi ekstrak pada bakteri yang diujikan.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan, bahwa pelarut DMSO 10% dan tween 80 tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri. Selain itu, kedua pelarut ini mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, nonpolar dan semipolar. Berikut merupakan gambar yang menunjukkan pengaruh pelarut DMSO 10% dan tween 80 serta pengaruh pemberian klorampenikol sebagai kontrol positif:

Hal ini juga telah dibuktikan oleh Reapinam (2007) yang menyatakan bahwa hasil diameter penghambatan DMSO terhadap bakteri-bakteri ujinya adalah nol, sehingga pelarut ini, merupakan pelarut ekstrak yang baik karena tidak memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri.



Gambar 1. Daya hambat yang dihasilkan pelarut DMSO 10% dan klorampenikol

Kontrol positif yang digunakan adalah klorampenikol, dimana kontrol positif ini sebagai pembanding terhadap aktivitas antimikroba ekstrak, karena antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang telah dibuat secara standar (Reapinam, 2007). Klorampenikol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri uji dibandingkan ekstrak metanol, fraksi metanol, *n*-heksana dan kloroform pada konsentrasi 4%.

Diameter zona hambat yang dihasilkan antibiotik klorampenikol pada bakteri *S.aureus* sebesar 23,7 mm sedangkan untuk bakteri *E.coli* sebesar 25,6 mm, hal ini menunjukkan bahwa antibiotik klorampenikol berspektrum luas yang aktif dalam menghambat bakteri gram negatif dan positif (Pelczar dan Chan, 1988).

Penentuan Diameter Zona Hambat

Penentuan diameter zona hambat dilakukan dengan cara memasukkan Larutan ekstrak yang telah dibuat, ke dalam cawan petri sebanyak 20 μ L pada setiap kertas cakram. Tujuan perlakuan zona hambat yaitu untuk melihat seberapa besar kemampuan ekstrak daun malek dalam menghambat bakteri.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun malek (*Litsea graciae vidal*) pada beberapa fraksi menunjukkan terjadinya penghambatan terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Pengamatan daya hambat ekstrak terhadap kedua bakteri tersebut memperlihatkan adanya pengaruh konsentrasi ekstrak yang diberikan,

Menurut Ajizah, (2004) Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar. Daya hambat yang dihasilkan dari setiap fraksi menunjukkan seberapa besar pengaruh konsentrasi terhadap kedua bakteri dapat dilihat di Tabel 1.

Besarnya kemampuan daya hambat ekstrak terhadap kedua bakteri yang digunakan dapat dilihat dari besarnya zona bening yang dihasilkan. Hasil uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan pada ekstrak metanol dan masing-masing fraksi memiliki sifat spektrum luas. Hal ini dikarenakan ekstrak daun malek dari masing-masing fraksi dapat menghambat kedua bakteri yang digunakan.

Diameter zona hambat terbesar yang dihasilkan ekstrak daun malek yaitu pada konsentrasi 7 % dari fraksi *n*-heksana terhadap bakteri *S.aureus* adalah 24,4 mm dan untuk bakteri *E.coli* yaitu sebesar 24,2 mm, sedangkan konsentrasi terkecil yang masih bisa menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu dari fraksi kloroform dengan konsentrasi 4% terhadap bakteri *S.aureus* 12,6 mm dan terhadap bakteri *E.coli* sebesar 11 mm. Diameter zona hambat

yang diperoleh dari setiap fraksi terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* menunjukkan bahwa ekstrak daun malek ini memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Menurut Suryawiria, 1978 dalam Indriani 2007 aktivitas antibakteri < 5mm tergolong lemah, 5-10 mm tergolong sedang, 11-20 mm tergolong kuat dan > 20 mm tergolong sangat kuat.

Kemampuan ekstrak daun malek dalam menghambat bakteri disebabkan karena kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun malek seperti alkaloid, tanin, steroid, terpenoid dan flavonoid. Adanya senyawa alkaloid pada ekstrak daun malek ini, mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri yang digunakan. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa alkaloid yaitu dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dapat menyebabkan bakteri menjadi lisis (Trease dan Evans, 1978).

Senyawa tanin pada ekstrak daun malek mampu mengganggu kerja didalam membran sitoplasma mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Davidson, 1993), Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan dapat mendenaturasi protein yang menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti. Hal inilah menyebabkan senyawa ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan keberadaan senyawa steroid dan terpenoid akan menyebabkan bakteri menjadi lisis, yaitu dengan cara mengikat protein, lipid dan karbohidrat yang terdapat pada membran sel (Trease dan Evans, 1978).

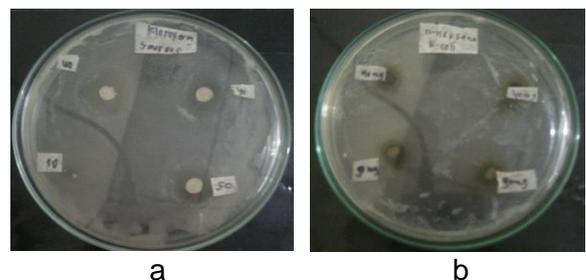
Berikut merupakan tabel diameter zona hambat ekstrak daun malek (*Litsea graciae vidal*) terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Berdasarkan Tabel 1, secara umum diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun malek dengan metode cakram kertas terhadap bakteri *S.aureus* lebih besar, hal ini dikarenakan *S.aureus* merupakan bakteri dari gram positif dimana, jenis dari bakteri ini memiliki dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan bakteri gram negatif sehingga senyawa antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel bakteri.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri Daun Malek (*Litsea graciae vidal*) Terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

Sampel Uji	Bakteri	Diameter Zona Hambat (mm)			
		4%	5%	6%	7%
Ekstrak metanol	<i>E. coli</i>	10,6	12,7	13	14,1
	<i>S. aureus</i>	8	11,6	15,6	16,3
Fraksi kloroform	<i>E. coli</i>	11	12	13	14,1
	<i>S. aureus</i>	12,6	14,3	15	19
Fraksi n-heksana	<i>E. coli</i>	10,3	11	16	24,2
	<i>S. aureus</i>	10,4	12,8	13	24,4
Fraksi metanol	<i>E. coli</i>	9	11,6	13	13,5
	<i>S. aureus</i>	10,1	11,6	14,2	17
Kontrol positif	<i>E. coli</i>	23,7			
	<i>S. aureus</i>	25,6			
Kontrol negatif	<i>E. coli</i>	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-

Menurut Pelczar (1986) menyatakan bahwa bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Kerusakan sel bakteri tersebut akan menyebabkan terhambatnya biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam suatu reaksi metabolisme. Bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan dan memiliki membran luar berupa bilayer yang berfungsi sebagai pertahanan selektif untuk senyawa-senyawa yang keluar dan masuk dalam sel bakteri.

Berikut merupakan zona hambat yang dihasilkan dari fraksi kloroform terhadap bakteri *S.aureus* dan Fraksi *n*-heksana terhadap bakteri *E.coli*.



Gambar 2. (a) daya hambat fraksi kloroform terhadap bakteri *S.aureus* (b) daya hambat fraksi *n*-heksana terhadap bakteri *E.coli*

Struktur dinding sel gram negatif lebih kompleks, bakteri ini memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. Susunan struktur dinding sel yang lebih kompleks tersebut akan menyebabkan suatu senyawa antibakteri untuk masuk dalam sel bakteri ini (Pelczar,1986)

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa

1. Fraksi metanol, *n*-heksana dan kloroform dari daun malek (*Litsea graciae vial*) menunjukkan bahwa ketiga fraksi tersebut memiliki bioaktivitas terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.
2. Diameter zona hambat terbesar yang dihasilkan ekstrak daun malek yaitu pada fraksi kloroform dengan konsentrasi 4% terhadap bakteri *S.aureus* adalah 12,6 mm, sedangkan untuk bakteri *E.coli* yaitu sebesar 11 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyani, D., dan Mustikasari, K., 2010, Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea angulata*), *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 4(2):131-136.
- Bintang, M., 2010, Biokimia Teknik Penelitian, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Chairul, 2006, Aktivitas Antimikroba pada Putih Telur dari Beberapa Jenis terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. (Skripsi).
- Darmayasa I.B.C., 2008, Daya Hambat Fraksinasi Ekstrak Sembung Delan terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Biologi*, X11(2):74-77.
- Dwidjoseputro, 2003, Dasar-Dasar Mikrobiologi, Penerbit Djambatan, Jakarta. Bandung.
- Day, R.A dan Underwood, A.L., 1996, Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi Kelima, Erlangga, Jakarta.
- Djide, M dan Sartini, 2008, Dasar-Dasar Mikrobiologi Lepas, Makasar.
- Davidson, P.M., 1993, Antimikrobia In Foods. Marcel Dekker, Newyork.
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T., 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Erlangga.
- Harbone, J.B., 1987, Metode Fitokimia. Jilid II, Penerbit ITB, Bandung.
- Harlis., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta* L) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jambi.
- Indriani, N., 2007, Aktivitas Antibakteri Daun Senggugu (*Clerodendron serratum [L.] Spr*) .Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor. (Skripsi).
- Kurniatuhadi, R., 2010, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap Pertumbuhan *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Pontianak. (Skripsi).
- Lisnawati., E., Udin Z, dan Mukmilah., Y.L, 2012, Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L) Lamk). *Jurnal Lembaga Pengetahuan Indonesia*, (2)5:548-556.
- Maliana, Y., Khotimah, S., dan Diba, F., 2013, Aktivitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn. terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Coptotermes curvignathus* Holmgren, *Jurnal Protobiont*, 2(1):7-11.
- Marliana, D.S, Suryanti, V, dan Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechicium edule jacq swartz*). *Jurnal Biofarmasi*. Fakultas FMPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Munawar dan Elfita, 2007, Penelusuran Aktivitas Antibakteri Dari Kulit Akar Tumbuhan Medang Seluang (*Litsea spathulata*) terhadap Bakteri Uji *Escherichia coli* dan *Shigella dysentriae*. *Jurnal Biosfera*,24(1):8-10.
- Mulia, L., 2000, Kajian Aktivitas Antimikroba Buah Andaliman (*Zanthoxylum acantopodium*) dan *Antarasa* (*Litsea cubeba*). Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.(Skripsi).

- Nurfadilah, 2013, Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makasar. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makasar. (Skripsi).
- Pelczar MJJR, Chan ECS. 1986, Dasar-Dasar Mikrobiologi. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, Penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: Element of Microbiology.
- Pratiwi, S.U.T., 2010, Mikrobiologi Farmasi, Penerbit Erlangga, Yogyakarta.
- Reapinam E., 2007, Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (*Cryptocaria massoia*) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makanan. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. (Skripsi).
- Robinson, T., 1995, Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan Prof. Dr Kosasih Padmawinata. Bandung.
- Radji, M., 2011, Mikrobiologi : Buku Kedokteran. Jakarta.
- Suriawiria U., 2008, Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis, Penerbit P.T Alumni, Bandung.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J, Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A., 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 24(1): 47-53.
- Sriwahyuni, I., 2010, Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Antin-Anting (*Acalypha indica linn*) dengan Variasi Pelarut dan Uji Brine Shrimp (*Artemia Salina Leach*). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malang. (Skripsi).
- Trease, G.E dan Evans, W.C., 1982, Pharmacognosy, Bailene Tindall, London.
- Todar K., 2002, The Control of Microbial Growth. Wisconsin: University of Wisconsin.
- Voon B.H and Kueh H.S., 1999, The Nutritional Value Of Indigenous Fruit and Vegetables In Sarawak. Sarawak: Departement of Agriculture.
- Verpoorte, R and Alferman, A.W., 2000, Metabolic Engineering Of Plant Secondary Metabolism. Springer. 1-3 pp.