

Ekstrak buah Laban (*Vitex pubescens* Vahl) sebagai penghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*

Eva Ulina Sirait¹, Siti Khotimah¹, Masnur Turnip¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
Email korespondensi : evaulinasirait@gmail.com

Abstract

Laban (*V. pubescens*) is a bushy plant which has an herb stem. People, who live in the villages in West Borneo, use it to heal lower back pain and diarrhea. The aim of this research were to understand the secondary metabolites contained Laban fruit extract, which represented three different levels of its ripeness (raw, half-ripe, and ripe), and the antibacterial activity in Laban fruit extract to inhibit the *S. thypi* and *S. aureus* growth. This research was done by using diffusion method. It confirmed the presence of secondary metabolites such as flavonoid, alkaloid, polyphenol, and terpenoid in Laban fruit extract. The antibacterial testing after an incubation of 48 hours showed that 100% concentration of half-ripe Laban fruit extract produced an inhibition zone diameter of 2,21 cm toward *S. thypi*, whereas the ripe Laban fruit extract produced inhibition zone diameter of 2,46 cm toward *S. aureus*, which categorized as very strong inhibition activity.

Keywords: fruit, *Vitex pubescens* Vahl, *S. thypi*, *S. aureus*, metanol extract

PENDAHULUAN

Tumbuhan hutan sering digunakan sebagai bahan obat tradisional oleh masyarakat Kalimantan Barat. Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Kalimantan Barat adalah Laban (*Vitex pubescens*). Daun laban digunakan oleh masyarakat di perkampungan untuk mengobati sakit pinggang dan diare.

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun laban terdiri dari golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid (Marliana dan Pasaribu, 2007). Beberapa golongan senyawa tersebut berkhasiat sebagai antimikroba dan berperan penting dalam menyembuhkan berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi (Hutapea, 1999).

Bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen penyebab keracunan yang masuk kedalam tubuh melalui makanan dan minuman yang tercemar. Keracunan disebabkan kontaminasi enterotoksin dari bakteri *S. thypi* dan *S. aureus*. Gejalanya yaitu ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah kemudian diare hebat disertai demam (Jawetz, *et al.*, 2005). Bakteri *S. thypi* dan *S. aureus* bersifat resisten terhadap antibiotik dan resistensi sering terjadi

karena penggunaan antibakteri yang tidak sesuai aturan, sehingga antibakteri yang digunakan menjadi tidak efektif.

Kemampuan ekstrak tumbuhan laban secara tradisional telah terbukti dapat mengobati penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen. Buah laban dengan tiga tingkat kematangan yang berbeda antaralain yaitu buah mentah, setengah masak dan masak. Pemanfaatan buah laban dengan tiga jenis tingkat kematangan buah yang berbeda sebagai antibakteri terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif khususnya bakteri *S. thypi* dan *S. aureus* belum pernah dilakukan, sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama tiga bulan dari bulan Januari hingga Maret 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan di Laboratorium Teknologi Kayu Fakultas Kehutanan Universitas Tanjungpura Pontianak.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu buah laban (*V. pubescens*) yang diambil dari sekitar hutan Arboretum Silva Untan, bakteri

biakan murni *S. typhi* dan *S. aureus* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Kota Pontianak.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan ekstrak metanol buah laban (*V. pubescens*) dengan tiga tingkat kematangan buah yaitu (buah mentah, buah setengah masak, dan buah masak) pada taraf konsentrasi yaitu 100% m/v (mg/ml). Kontrol positif menggunakan kloramfenikol sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades dan pelarut *Dimetil Sulfoksida* (DMSO) 10% masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga didapatkan 24 unit percobaan.

Prosedur Kerja

Persiapan sampel V.pubescens

Sampel buah laban disortir dan dipisahkan antara buah yang mentah, setengah masak dan masak. Buah laban mentah memiliki warna buah hijau muda, buah setengah masak berwarna hijau tua sampai kekuning-kuningan dan buah masak berwarna ungu hingga hitam. Buah laban kemudian dicuci dengan air hingga bersih, kemudian dikering anginkan selama kurang lebih 4 hari. Sampel buah yang sudah kering di haluskan dengan *blender* sampai menjadi serbuk (Harbone *et al.*, 2006).

Ekstraksi Sampel

Serbuk buah laban (*V. pubescens*) dari tiga tingkat kematangan buah yang berbeda dimaserasi masing-masing kedalam 1 liter metanol pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya selama 3x24 jam, setiap 1x24 jam ekstrak disaring dan dimaserasi kembali dengan metanol baru sebanyak 500 ml. Ekstrak kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan putaran 90 rpm dan tekanan 0,06-0,08 mpa. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam wadah steril, selanjutnya disimpan dalam desikator silika gel (Harborne, 2006).

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa kimia dari tingkat kematangan buah laban (*V. pubescens*). Senyawa kelompok fitokimia yang akan diuji adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, terpenoid dan steroid.

Peremajaan Kultur Murni Bakteri

Kultur murni bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* masing-masing diinokulasi sebanyak ke dalam media miring NA dengan cara digoreskan secara aseptik kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Satu ose kultur bakteri dari agar miring NA dipindahkan ke dalam media cair NB sebanyak 10ml. Tabungbiakan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Fardiaz, 1993).

Pembuatan Larutan Sampel

Sampel ekstrak metanol buah laban (*V. pubescens*) dari masing-masing tingkat kematangan. Dibuat dengan cara menimbang ekstrak metanol buah laban sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dengan pelarut DMSO 10% sebanyak 1 ml.

Pengujian mikrobiologis

Pengujian daya hambat ekstrak metanol buah laban (*V. pubescens*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* dilakukan dengan metode difusi. Media NA yang telah dipanaskan kemudian didinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, lalu dituang sebanyak 15 ml ke dalam cawan petri yang telah ditambahkan 0,1 ml kultur bakteri uji berumur 24 jam yang telah dihomogenkan dengan menggunakan vorteks. Cawan petri ditutup dan digerakkan dilantai enkas membentuk angka 8 sampai homogen dan ditunggu hingga media membeku. Kertas saring yang telah direndam dalam larutan sampel 15 menit, selanjutnya ditempatkan secara aseptik pada permukaan media yang telah memadat dengan jarak antara satu sama lainnya sebesar 3 cm serta jarak tepi media sebesar 2 cm. Media yang telah berisi bakteri uji kemudian diinkubasikan pada suhu 35-37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat yang berbentuk di koloni bakteri setiap 24 dan 48 jam. Diameter zona hambat diukur untuk mengetahui aktivitas dan sifat antimikroba buah laban (*V. pubescens*). Diameter zona hambat pada waktu 2x24 jam dikategorikan tingkat responnya dengan tabel klasifikasi.

ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dianalisis dengan ANAVA. Analisis data menggunakan program SPSS 17,0. Keadaan yang menunjukkan beda nyata dilanjutkan dengan menggunakan Uji Tukey pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil Analisis Fitokimia

Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak metanol buah laban (*V. pubescens*) dari tiga tingkat kematangan buah yang berbeda mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid (flavonol), alkaloid, terpenoid, polifenol (Tabel 2).

Tabel 1 Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol buah laban (*V. pubescens*) (EBM= ekstrak buah mentah, EBSM= ekstrak buah setengah masak, EBMS= ekstrak buah masak)

Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil Uji		
	EBM	EBSM	EBMS
Flavonoid	+	++	+++
Alkaloid	+	++	+++
Steroid	-	-	-
Terpenoid	+	++	++
Polifenol	+	++	++

Ket: + : Kadar senyawa metabolit sekunder sedikit
++ : Kadar senyawa metabolit sekunder sedang
+++ : Kadar senyawa metabolit sekunder banyak
- : Tidak ditemukan pada ekstrak

Pengaruh Ekstrak Buah Laban (*V. pubescens*) terhadap Bakteri *S. thypi* dan *S. aureus* pada Tingkat Kematangan Buah yang Berbeda

Rerata diameter zona hambat menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak buah laban (*V. pubescens*) pada tingkat kematangan buah yang berbeda memberikan pengaruh beda nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. thypi* untuk masa inkubasi 24 jam ($F_{3,12} = 2,77, p < 0,05$; ANAVA). Hasil yang sama juga ditunjukkan pada masa inkubasi 48 jam ($F_{3,12} = 3,28, p < 0,05$; ANAVA). Hasil uji Tukey untuk masa inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak buah laban setengah masak dengan buah masak tidak menunjukkan perbedaan. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh masa inkubasi 48 jam (Tabel 2).

Analisis data rerata diameter zona hambat pada uji terhadap bakteri *S. aureus* ANAVA menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak buah laban (*V. pubescens*) pada tingkat kematangan buah yang berbeda memberikan pengaruh beda nyata terhadap pertumbuhan bakteri pada masa inkubasi 24 jam ($F_{3,12} = 2,93, p < 0,05$; ANAVA). Hasil yang sama juga ditunjukkan pada masa inkubasi 48 jam ($F_{3,12} = 3,11, p < 0,05$; ANAVA). Hasil uji Tukey untuk masa inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan ekstrak buah laban tidak memberikan pengaruh berbeda nyata sedangkan pada masa inkubasi 48 jam perlakuan buah laban masak memberikan pengaruh berbeda nyata bila

dibandingkan dengan perlakuan buah laban mentah dan buah setengah masak (Tabel 3).

Tabel 2. Pengaruh ekstrak buah laban dengan tingkat kematangan yang berbeda terhadap diameter zona hambat pada bakteri *S. thypi* dengan masa inkubasi 24 dan 48 jam (EBM= ekstrak buah mentah, EBSM= ekstrak buah setengah masak, EBMS= ekstrak buah masak, K+= Kloramfenikol, K-= Akuades)

Perlakuan	Rerata Diameter		Zona Hambat (cm)	
	24 Jam	Respon Hambatan	48 Jam	Respon Hambatan
EBM	1,53 ^b	Kuat	1,68 ^b	Kuat
EBSM	1,06 ^a	Kuat	2,21 ^{ab}	Sangat Kuat
EBMS	1,02 ^a	Kuat	1,83 ^{ab}	Kuat
K+	2,76 ^c	Sangat Kuat	3,66 ^c	Sangat Kuat
K-	-	-	-	-
DMSO	-	-	-	-

Ket: Angka yang ditunjukkan dengan huruf yang sama menunjukkan hasil Uji Tukey yang tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95%

Tabel 3. Pengaruh ekstrak buah laban dengan tingkat kematangan yang berbeda terhadap diameter zona hambat pada bakteri *S. aureus* dengan masa inkubasi 24 dan 48 jam (EBM= ekstrak buah mentah, EBSM= ekstrak buah setengah masak, EBMS= ekstrak buah masak, K+= Kloramfenikol, K-= Akuades)

Ekstrak	Rerata Diameter		Zona Hambat (cm)	
	24 Jam	Respon Hambatan	48 Jam	Respon Hambatan
EBM	1,08 ^a	Kuat	1,20 ^a	Kuat
EBSM	1,08 ^a	Kuat	1,24 ^a	Kuat
EBMS	1,00 ^a	Kuat	2,46 ^b	Sangat Kuat
K+	2,76 ^c	Sangat Kuat	2,96 ^c	Sangat Kuat
K-	-	-	-	-
DMSO	-	-	-	-

Ket: Angka yang ditunjukkan dengan huruf yang sama menunjukkan hasil Uji Tukey yang tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95%

Pembahasan

Hasil uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah laban dari tiga tingkat kematangan yang berbedamengandung senyawa fitokimia yang sama yaitu flavonoid, alkaloid, polifenol, dan terpenoid (Tabel 1). Senyawa metabolit sekunder dari ketiga tingkat kematangan buah yang berbeda memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji dan kadar senyawa metabolit sekunder dari setiap tingkat kematangan buah yang digunakan berbeda, menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda. Penghambatan pertumbuhan *S. thypi* dan *S. aureus* oleh

disebabkan oleh pengaruh adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Ajizah (2004) menyatakan bahwa selain faktor jumlah kadar senyawa metabolit sekunder, golongan dari masing-masing senyawa metabolit sekunder sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba.

Golongan flavonoid yang ditemukan pada ekstrak metanol buah laban dengan tingkat kematangan buah yang berbeda adalah dari golongan flavonol. Menurut Yuli (2008), flavonoid yang sering ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (*Angiospermae*) adalah jenis flavon dan flavonol. Rahayu, *et. al.* (2010) menyatakan bahwa kandungan flavonoid pada buah adas (*Foeniculum vulgare*) mempunyai sifat sebagai antibakteri dengan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Flavonoid juga dapat merusak membran sel bakteri dengan merusak dinding sel bakteri sehingga permeabilitas membran sel bakteri menjadi berkurang. Kerusakan membran sel bakteri dapat mengakibatkan fosfolipid membran sel bakteri menjadi rusak (Kim, *et. al.* 1995).

Kandungan metabolit sekunder alkaloid, polifenol dan terpenoid juga ditemukan pada ekstrak buah laban (*V. pubescens*) pada tingkat kematangan yang berbeda (Tabel 1). Robinson (1998) menyatakan bahwa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mencegah terbentuknya membran sel penyusun peptidoglikan sel bakteri. Menurut Cowan (1999), aktivitas antibakteri dengan berbagai jenis ekstrak yang mengandung metabolit sekunder digunakan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri.

Senyawa polifenol dapat merusak dinding sel bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Mekanisme kerja dari senyawa terpenoid sama dengan mekanisme kerja dari senyawa fenol yaitu bekerja dengan merusak membran sitoplasma, aktivitas yang sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid disekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dengan mudah dapat merusak sel. Terpenoid mampu berikatan dengan lemak dan karbohidrat yang akan menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri terganggu (Kartika, *et. al.* 2013).

Perlakuan dengan menggunakan ekstrak metanol buah laban tiga tingkat kematangan buah yang berbeda ternyata memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai rerata diameter zona hambat yang

berbeda. Hal ini diduga dikarenakan adanya perbedaan kandungan kimia dalam proses pertumbuhan dan pematangan buah (Lienny, 2013).

Diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan hasil yang berbeda. Hal ini dikarenakan ekstrak dari ketiga tingkatan kematangan buah memiliki kadar senyawa metabolit sekunder yang berbeda, serta bakteri yang digunakan juga berbeda yaitu bakteri gram positif (*S. aureus*) dan bakteri gram negatif (*S. thypi*). Diameter zona hambat tertinggi pada inkubasi 48 jam untuk bakteri *S. thypi* yaitu 2,22 cm terdapat pada buah setengah masak dan bakteri *S. aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 2,46 cm pada ekstrak buah masak. Hasil menunjukkan respon hambatan sangat kuat dari kedua bakteri terhadap ekstrak dengan tingkat kematangan buah yang berbeda. Buah setengah masak kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid memiliki kadar yang lebih sedikit jika dilihat dari perbedaan warna pada uji fitokimia yang ditemukan, sedangkan buah masak kadar senyawa flavonoid dan alkaloidnya lebih banyak (Tabel 2 dan Tabel 3).

Ekstrak buah setengah masak pada bakteri *S. thypi* memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat. Bakteri *S. thypi* merupakan bakteri gram negatif dengan dinding sel yang kurang sensitif terhadap antibakteri sehingga senyawa metabolit sekunder yang bekerja sebagai antibakteri sangat sulit untuk menembus dinding sel. Menurut Lienny (2013), flavonoid dalam buah pepaya (*Carica papaya*) setengah masak memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan berbagai mekanisme dalam merusak bakteri uji seperti merusak dinding sel dan menghambat pembentuk enzim. Peptidoglikan pada bakteri gram negatif relatif lebih tipis dan dikelilingi oleh lapisan lipoprotein, lipopolisakarida dan lipid (Jawet, *et. al.* 2005). Lapisan lipid pada bakteri gram negatif melindungi sitoplasma dari lingkungannya dan mempunyai sistem selektif terhadap zat-zat asing pada lapisan lipopolisakarida. Sifat selektif dari bakteri gram negatif memberikan manfaat bagi pertahanan bakteri (Bachir, *et. al.* 2012).

Ekstrak buah laban masak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* lebih besar diameter zona hambatnya dibandingkan dengan *S. thypi*. Berdasarkan hasil uji fitokimia buah laban masak memiliki kadar senyawa flavonoid dan alkaloid yang banyak (Tabel 1). Flavonoid dan alkaloid pada buah masak mempunyai

penghambatan lebih besar terhadap bakteri gram positif (Marliana, *et al.* 2005). Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid dan alkaloid adalah merusak komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga lapisan dari dinding sel tidak dapat terbentuk secara sempurna (Dwidjoseputro, 1994). Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang mengandung senyawa polisakarida dan asam amino pada lapisan peptidoglikan. Senyawa tersebut menyebabkan dinding sel bakteri gram positif menjadi bersifat polar sehingga senyawa-senyawa yang bersifat polar lebih mudah masuk kedalam dinding sel bakteri (Pelczar, *et al.* 2005).

Pengaruh konsentrasi ekstrak perlakuan kontrol kloramfenikol pada bakteri *S. aureus* mengalami peningkatan diameter zona hambat sedangkan untuk bakteri *S. thypi* tidak menunjukkan peningkatan diameter zona hambat melainkan mengalami penurunan pada inkubasi 48 jam (Tabel 2 dan Tabel 3). Hasil rerata diameter kontrol positif kloramfenikol terhadap ekstrak buah laban dengan tingkat kematangan buah yang berbeda inkubasi 48 jam pada bakteri *S. thypi* yaitu 3,66 cm dan 2,96 cm untuk bakteri *S. aureus*. Perlakuan pada kontrol positif menghasilkan aktivitas antibakteri paling besar dibandingkan dengan perlakuan ekstrak buah, sehingga menunjukkan perbedaan hasil yang berbeda.

Sifat antibakteri ekstrak buah laban *V. pubescens* terhadap pertumbuhan bakteri *S. thypi* dan *S. aureus* pada inkubasi 24 jam dan 48 jam menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai efek bakterisida yang ditandai adanya peningkatan diameter zona hambat. Menurut Talaro (2008), sifat toksisitas selektif diantaranya bersifat bakterisida dan bakteriostatik. Sifat bakterisida suatu antibakteri dilihat dari adanya peningkatan zona hambat sejalan dengan semakin lamanya sel yang terpapar zat antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah, A., 2004, Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L., *Bioscientiae*, vol. 1, no.1, hal. 31-38, diakses 1 Januari 2013, <http://biologiscientiae.tripod.com/v1n1/v1_n1_ajizah.PDF>

Bachir, GR & Benali, M, 2011, Antibacterial Activity Of The Essential Oils From The Leaves Of *Eucalyptus globulus* Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Of Tropic Biomedical*, vol. 29, no. 3, hal 277-284, diakses

14 Maret 2014
<<http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/39925.pdf>>

- Cowan, MM, 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents, *American Society for Microbiology, Journal of natural products*, vol 12, no. 4, hal. 564-58, diakses 4 April 2014 <http://www.journalofnaturalproducts.com/volume/RsPpr_Vol12_Otmen_S.pdf>
- Dwidjoseputro, D, 1994, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta
- Fardiaz, S, 1993, *Analisis Mikrobiologi Pangan, PAU Pangan dan Gizi*, Institut Pertanian Bogor, PT. Rapi Grafindo Persada, Jakarta
- Harborne, JB, 2006, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Ed ke-2, Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung
- Hutapea, JR, 1999, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, Jilid II*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta
- Jawetz, E, Melnick, L & Adeberg, EA, 2005, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Terjemahan Huriati dan Hartanto, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Kartika, IPS, Periadnadi & Nasril, N, 2013, Uji Antimikroba Ekstrak Segar Jahe-Jahean (*Zingiberaceae*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*, *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, vol.2, no.1, hal. 20-24, diakses 15 Mei 2014, <<http://jurnalsainunand.com/FilesJurnal/483908103Kartika%20Indah%20Permata%20Sari%20final%2020-24.pdf>>
- Kim, JM, Marshall, MR, Cornell, JA, & Boston, W, 1995, Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral and Geraniols Against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. *Jurnal Food Scient.*, vol.69, no.6, hal. 1365-1366, diakses 08 Agustus 2014, <<http://article//firstpublished//online>>
- Kosala, K, 2009, Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Vitex pinnata* pada *Staphylococcus aureus* dengan Metode Disk Diffusion. *Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Samarinda*, vol. 1, no. 1, hal. 190-198, diakses 14 November 2013, <<http://kopertis11.net/jurnal/KHEMASILI%20KOSALAUJI%20AKTIFITAS%20ANTIBAKTERI.pdf>>
- Lienny, MM, 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa, Universitas Surabaya* no. 2, vol. 2, hal. 1-9, diakses 10 April 2014, <<http://journal.ubaya.ac.id/index.php/jimus/article/download/480/453.pdf>>

- Marliana, SDV, Suryanti dan Suyono, 2005, Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule jacq. Swartz*) dalam Ekstrak Etanol, *Biofarmasi*, vol. 3, no. 1, hal. 26-31 , diakses 10 Januari 2014, <<http://core.kmi.open.ac.uk/download/pdf/12345756.pdf>>
- Marliana, E, dan Pasaribu, M, 2007, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *Vitex pinnata* terhadap Radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, *Jurnal Kimia Mulawarman*, vol. 9, no. 1, hal. 4-6, diakses 15 Februari 2014, <<http://fmipa.unmul.ac.id/pdf/99>>
- Pelczar, MJ & Chan, ECS, 2005, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jakarta, Universitas Indonesia Press
- Rahayu, K, Ludira, S, & Akhmad, TM, 2010, Daya Antibakteri Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare*) Terhadap Bakteri *Micrococcus luteus* Secara In Vitro, *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, vol. 2, no. 1, hal. 31-35, diakses 13 Juni 2014, <<http://journal.lib.unair.ac.id/index.php/JIPK/article/download/607/612>>
- Robinson, T, 1998, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, Penerjemah Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.
- Talaro, K.P, 2008, *Foundation in Microbiology*, Edisi Ke-6, McGraw. Hill, New York, <<http://www.alibris.com/Foundations in Microbiology>>
- Yuli, R, 2008, Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa Scheff Boerl*), Program DIII, Kimia Analisis, FMIPA UIII, Yogyakarta, no.1, vol. 5, hal 1-8, diakses 27 Mei 2014, <<http://dppm.uui.ac.id/datainformasi/uploads/1050101%20Yuli.pdf>>