

# AKTIVITAS ANTIJAMUR MINYAK ATSIRI DAUN KETEPENG CINA (*Senna alata* (L.) Roxb) TERHADAP JAMUR OPORTUNISTIK

Nilda Lely<sup>1\*</sup>, Dini Elinda<sup>2</sup>, Lasmaryana Sirumapea<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi; Jl Ariodillah III 22 A Palembang, 082178818063

<sup>2</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi, Jln Ariodillah III No 22 A

Email : <sup>1\*</sup>[nildalely@gmail.com](mailto:nildalely@gmail.com)

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas antijamur dari minyak atsiri daun *Senna alata* (L.) Roxb terhadap jamur penyebab infeksi oportunistik. Pengujian dilakukan dengan metode difusi agar terhadap jamur *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffeii*. Hasil destilasi uap air dari daun *Senna alata* diperoleh rendemen sebesar 0,125%. Pengujian dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 25%, 20%, 15%, 10% dan 5% dari hasil pengamatan diperoleh diameter hambat rata-rata dari jamur *Aspergillus fumigatus* sebesar 17.48 mm, 15.18 mm, 13.28 mm, 11.33 mm dan 9.80 mm, *Candida albicans* sebesar 12.86 mm dan *Penicillium marneffeii* sebesar 19.46 mm, 16.06 mm, 14.48 mm, 13.16 mm, 12.23 mm. Analisa komponen kimia minyak atsiri menggunakan alat GCMS. Komponen terbesar dari minyak atsiri daun *Senna alata* (L.) Roxb yaitu 1,8 cineole (48.97%),  $\alpha$ - pinene (24.96%), 1,4 cyclohexadine (9.53%), Trans-  $\beta$ - ocimene (7.48%) dan P-cymene (4.53%).

**Kata kunci** : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, minyak atsiri, *Penicillium marneffeii*, *Senna alata* L.

## ABSTRACT

A research of antifungal activity from the essential oil of *Senna alata* (L.) Roxb against fungus that causes opportunistic infections. This research was conducted by agar diffusion method to test fungus *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* and *Penicillium marneffeii*. The result of water vapor distillation of the leaves *Senna alata* obtained rendemen by 0,125%. The research had done in variation concentrations respectively 25%, 20%, 15%, 10% and 5% obtained from observations of the average diameter of inhibitions on fungus *Aspergillus fumigatus* by 17.48 mm, 15.18 mm, 13.28 mm, 11.33 mm and 9.80 mm, *Candida albicans* by 12.86 mm and the *Penicillium marneffeii* 19.46 mm, 16.06 mm, 14.48 mm, 13.16 mm, 12.23 mm. Analyzed for essential oil constituents by GCMS. The quantitatively significant constituents of the leaf essential oil of *Senna alata* (L.) Roxb were 1,8 cineole (48.97%),  $\alpha$ - pinene (24.96%), 1,4 cyclohexadine (9.53%), Trans-  $\beta$ - ocimene (7.48%) and P-cymene (4.53%).

**Keywords** : *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, essential oil, *Penicillium marneffeii*, *Senna alata*,

## PENDAHULUAN

Infeksi jamur oportunistik adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur non patogen yang berubah menjadi patogen bila imunitas tubuh melemah. Infeksi oportunistik lebih sering terjadi dibandingkan infeksi jamur patogen sistemik. (Purba, 2002; Sukamto, 2004).

Infeksi oportunistik dapat disebabkan oleh jamur *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium marneffeii*, *Phycomycetes*, *Geotrichum candidum*, *Pneumocystis jiroveci*. Obat yang dapat digunakan dalam infeksi jamur ini adalah amfoterisin B, golongan imidazol dan triazol, dan kelompok antijamur antimetabolit yakni fluositosin, namun penggunaan antijamur ini tidak

sedikit yang memberikan efek samping seperti iritasi, kulit panas dan penggunaan pada jangka panjang dapat menyebabkan penurunan fungsi ginjal, penurunan fungsi hati dan menyebabkan kerusakan hati (Irianto, 2013; Setiabudy & Bahry, 2012).

Untuk mengatasi masalah-masalah tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menemukan senyawa-senyawa baru dari hasil metabolisme sekunder tumbuhan. Salah satu tanaman obat yang sering digunakan masyarakat untuk pengobatan tradisional adalah ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb). Ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) secara tradisional digunakan untuk mengobati cacing kremi, infeksi jamur kulit seperti panu, kurap, eksim, sariawan dan gatal-gatal (Hariana, 2012).

Berdasarkan penelitian Ogunwande *et al.* (2010), kandungan minyak atsiri daun ketepeng cina yang berasal dari Nigeria mengandung minyak atsiri (*E*)-2-hexenal (3.3%), limonene (5.2%),  $\alpha$  - phellandrene (3.7%), 1,8-cineole (39,8%),  $\beta$ -caryophyllene (19,1%), germacrene D (5.5%),  $\alpha$ -selinene (5.4%),  $\alpha$ -bulnesene (1.0%), caryophyllene oxide (12.7%) dan  $\alpha$ -cadinol (4.2%). Sedangkan hasil penelitian Agnani *et al.* (2005), menunjukkan bahwa daun ketepeng cina yang tumbuh dan berasal dari Gabon mengandung minyak atsiri dengan komponen tertinggi yakni, linalool (23,0%), borneol (8.6%) dan pentadecana (9.3%).

Pada penelitian Owoyale *et al.* (2005), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ketepeng cina dengan konsentrasi 0.125 g/ml mempunyai aktivitas terhadap jamur *Aspergillus niger*, *Saccharomyces* dan *Rhizopus sp.* Sedangkan penelitian yang dilakukan Ajayi *et al.* (2008), dalam pengujian minyak atsiri daun ketepeng cina tidak mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, tetapi dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichordema sp.* dan *Aspergillus niger*.

Menurut Ketaren (1985), perbedaan tempat hidup, kondisi iklim, tanah tempat tumbuh, umur panen dan perbedaan metode ekstraksi dan cara penyimpanan membuat variasi komposisi minyak atsiri yang berbeda. Sehingga peneliti tertarik untuk menganalisa komponen minyak atsiri daun ketepeng cina yang tumbuh di Indonesia dan untuk menguji aktivitas antijamur minyak atsiri pada beberapa jamur oportunistik seperti *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffeii*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) yang berasal dari desa Sebokor kabupaten Banyuasin provinsi Sumatera Selatan. Untuk uji antifungi

menggunakan bahan media *Potato Dextrose Agar* (PDA), aquadest, etanol destilat sebagai kontrol negatif, antifungi diberikan ketokonazol sebagai kontrol positif, aquadest, Natrium sulfat anhidrat, Natrium Klorida 0,9 % *b/v* dan biakan jamur *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffeii*.

### Alat

Alat destilasi uap air, corong pisah, corong, vial, lampu spritus, cawan petri, timbangan analitik, batang pengaduk, gelas ukur, pipet tetes, pipet mikro, pipet volume, tabung reaksi, baker gelas, pinset, erlemeyer, kain monel 180, jarum ose, kertas saring, kapas, kassa steril, benang, gunting, spatel, jangka sorong ketelitian 0.05, autoklaf, kertas cakram, laminar air flow, spektrometer UV-Vis dan kromatografi gas - spektrometri massa QP2010S SHIMADZU.

### Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) yang berasal dari desa Sebokor kabupaten Banyuasin provinsi Sumatera Selatan. Biakan jamur *Aspergillus fumigatus* dan *Penicillium marneffeii* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari hasil biakan yang ada di laboratorium parasitologi FKUI Universitas Indonesia dan jamur *Candida albicans* diperoleh dari balai laboratorium kesehatan Yogyakarta.

### Klarifikasi Tanaman Daun Ketepeng Cina

Klarifikasi tanaman ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dilakukan di Herbarium ANDA Universitas Andalas, Sumatera Barat.

### Isolasi Minyak Atsiri Daun Ketepeng Cina

Daun ketepeng cina segar dibersihkan dari pengotor kemudian dirajang dan dikering anginkan, timbang 10 kg dan didestilasi uap air lebih kurang 4 jam sampai minyak atsiri didestilasi sempurna. Minyak atsiri yang di dapat dipisahkan menggunakan corong pisah dan kain monel kerapatan 180. Lalu

tambahkan Natrium Sulfat anhidrat kedalam minyak atsiri. mengikat air yang masih bercampur dengan minyak atsiri sehingga diperoleh minyak atsiri yang murni. Ukur volume minyak atsiri dengan gelas ukur yang dan hitung persen rendemennya.

### **Pemeriksaan Organoleptis**

Pemeriksaan ini meliputi pemeriksaan warna, bau dan rasa dari minyak atsiri yang didapat dari proses isolasi (Djamal, 2009).

#### a. Pemeriksaan warna

Pemeriksaan warna dilakukan dengan cara melihat langsung minyak atsiri hasil destilasi secara visual.

#### b. Pemeriksaan bau

Pemeriksaan bau dilakukan dengan cara mencium bau minyak atsiri yang menguap diatas kertas saring.

#### c. Pemeriksaan rasa

Pemeriksaan rasa dilakukan dengan meneteskan minyak atsiri pada ujung lidah kemudian dibuang.

### **Pemeriksaan Tetapan Fisika**

#### **Kelarutan Minyak Atsiri Daun Ketepeng Cina**

Minyak daun ketepeng cina diuji kelarutannya dengan etanol destilat, masukan 1 ml minyak atsiri dalam tabung reaksi bertutup tambahkan secara perlahan-lahan sejumlah kecil etanol destilat. Catat jumlah mililiter alkohol yang ditambahkan. kocok dan lihat kejernihannya (Ketaren, 1985).

#### **Penentuan Bobot Jenis (BJ)**

Piknometer yang telah dibersihkan dan dikeringkan ditimbang pada neraca analitik. Piknometer masing-masing diisi minyak atsiri daun ketepeng cina, ditutup lalu ditimbang. Kemudian timbang piknometer yang berisi air. Berat jenis minyak atsiri didapat dengan membagikan berat

minyak didalam pinometer dengan berat air didalam piknometer (Guenther, 2006).

### **Analisa Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Ketepeng Cina dengan GC-MS**

Penentuan komponen kimia minyak atsiri dari daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan menggunakan seperangkat alat kromatografi gas spektrometer massa.

### **Larutan Uji**

Larutan uji minyak atsiri daun ketepeng cina dibuat dengan berbagai konsentrasi yakni pada konsentrasi 25%, 20%, 15%, 10%, dan 5% v/v yang dilarutkan kedalam etanol destilat.

### **Kontrol Positif dan Kontrol negatif**

Kontrol positif (+) yang digunakan yaitu ketokonazol 0,1% dalam etanol destilat dan larutan kontrol negatif (-) yang digunakan yaitu etanol destilat.

### **Medium Pembenihan *Potato Dextrose Agar***

PDA sebanyak 39 g dilarutkan dalam 1 (satu) liter air suling dan dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. (Alex& Jarett, 1980).

### **Peremajaan Jamur Uji**

Peremajaan jamur uji dilakukan dengan cara menginokulasikan 1-2 ose biakan murni dari stok ke medium Agar miring *Potato Dextrose Agar* (PDA), inkubasi pada suhu 25°C - 27°C selama 3-5 hari hingga diperoleh pertumbuhan yang normal (Jawet *set al.*, 1989).

### **Pembuatan Suspensi Jamur Uji**

Koloni jamur dari agar miring *Potato Dextrose Agar* (PDA), disuspensikan ke dalam pelarut NaCl 0,9% sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi dan dikocok homogen. Kekeuhan suspensi jamur uji diukur

dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 530 nm dengan transmittansi 90% untuk jamur (Depkes,1995).

### Uji Penghambatan Pertumbuhan Jamur

Suspensi jamur diteteskan sebanyak 0,1 ml ke tabung reaksi yang berisi 10 ml media agar, homogenkan, tuang dalam cawan petri yang berisi 10 ml media agar yang memadat kemudian diratakan dengan cara cawan petri diputar beberapa kali secara horizontal agar suspensi jamur ini merata pada seluruh permukaan agar. Biarkan pada suhu kamar selama 15 menit, setiap jamur uji ditempatkan pada 3 cawan petri untuk tiap larutan uji dan pengujian dilakukan sebanyak tiga kali. Cakram kertas yang telah disterilkan dicelupkan kedalam masing - masing konsentrasi zat uji yang telah disiapkan kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan jamur. Kemudian semua cawan petri diinkubasi kedalam inkubator pada suhu 25 - 27°C selama 3 sampai 5 hari. Kemudian diukur diameter zona bening (*clear zone*) yang terbentuk dengan menggunakan jangka (Cappuccino, 2009).

### Analisis Data

Pengumpulan data dilakukan dengan cara mengukur zona bening (*clear zone*) pada setiap konsentrasi, data hambatan yang diperoleh dari berbagai konsentrasi zat dirata-ratakan dan dibuat perbandingan aktivitas untuk setiap jamur uji yang digunakan. Hasil pengukuran daya hambat yang terbentuk pada uji aktivitas tersebut ditampilkan dalam bentuk **Tabel**. Analisa komponen minyak atsiri daun ketepeng cina menggunakan GC-MS ditampilkan dalam bentuk **Tabel**.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Penelitian

1. Hasil destilasi uap air daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) sebanyak 10 kg diperoleh minyak atsiri sebanyak 12,5 ml dengan rendemen sebesar 0,125% (v/b).
2. Hasil uji pendahuluan terhadap minyak atsiri daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) sebagai berikut:
  - a. Hasil pemeriksaan organoleptis

**Tabel 1.** Pemeriksaan organoleptis minyak atsiri ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb)

No	Pengamatan	Hasil
1.	Warna	Tidak berwarna
2.	Bau	Khas ketepeng cina
3.	Rasa	Sedikit pahit

- b. Hasil pemeriksaan tetapan fisika

**Tabel 2.** Kelarutan dan bobot jenis

No	Pengamatan	Hasil
1.	Kelarutan dengan etanol destilat	Larut
2.	Bobot jenis	0,946 g/ml

3. Hasil analisa komponen kimia minyak atsiri daun ketepeng cina dengan kromatografi gas spektrometer massa.

**Tabel 3.** Hasil analisa komponen kimia minyak atsiri daun ketepeng cina dengan kromatografi gas spektrometer massa.

NO	Daun Ketepeng Cina			
	Time Retensi	Senyawa Kimia	(%)	R. Molekul
1	11.241	$\alpha$ - pinene	24.96	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
2	12.683	$\beta$ - pinene	1.94	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
3	13.236	$\beta$ -myrcene	0.98	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
4	13.696	$\alpha$ - phellandrene	0.75	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
5	13.994	Trans- $\beta$ - ocimene	7.48	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
6	14.289	P-cymene	4.53	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
7	14.632	1,8-cineole	48.97	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
8	15.634	1,4-cyclohexadine	9.53	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
9	16.663	$\alpha$ -terpinene	0.86	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
<b>TOTAL (%)</b>			<b>100</b>	

4. Hasil uji daya hambat minyak atsiri daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) pada konsentrasi 5%, 10%, 15% , 20% dan 25% dapat dilihat pada **Tabel** berikut:

**Tabel 4.** Rata-rata diameter hambat minyak atsiri daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) terhadap jamur *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffeii*.

Jamur Uji	C atau [ ]	Diameter Hambat Ketepeng Cina (mm)			Rata-rata (mm) $\pm$ SD
		cawan 1	cawan 2	cawan 3	
<i>A. fumigatus</i>	K (+)	23,75	23,50	23,40	23,55 $\pm$ 0,18
	K (-)	0	0	0	0 $\pm$ 0
	25%	17,50	17,30	17,65	17,48 $\pm$ 0,17
	20%	15,25	15,39	14,90	15,18 $\pm$ 0,25
	15%	13,35	13,40	13,10	13,28 $\pm$ 0,16
	10%	11,25	11,40	11,35	11,33 $\pm$ 0,08
	5%	9,60	10,05	9,75	9,80 $\pm$ 0,23
<i>C. albicans</i>	K (+)	21,30	20,65	20,80	20,91 $\pm$ 0,35
	K (-)	0	0	0	0 $\pm$ 0
	25%	13,15	12,80	12,65	12,86 $\pm$ 0,26
	20%	0	0	0	0 $\pm$ 0
	15%	0	0	0	0 $\pm$ 0
	10%	0	0	0	0 $\pm$ 0
	5%	0	0	0	0 $\pm$ 0

<i>P. Marneffe</i>	K(+)	24,30	24,10	24,25	24,21±0,10
	K(-)	0	0	0	0±0
	25%	19,35	19,65	19,40	19,46±0,16
	20%	16,20	16,30	15,70	16,06±0,32
	15%	14,50	14,65	14,30	14,48±0,18
	10%	13,10	13,25	13,15	13,16±0,08
	5%	12,20	12,15	12,35	12,23±0,10

Hasil uji aktivitas antijamur minyak atsiri daun ketepeng cina terhadap jamur *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffe* menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat (*clear zone*) pada konsentrasi 25%, 20%, 15% ,10% dan 5%. Hasil pengamatan diperoleh diameter hambat rata-rata dari jamur *Aspergillus fumigatus* berturut-turut yaitu, 17.48 mm, 15.18 mm, 13.28 mm, 11.33 mm dan 9.80 mm, *Candida albicans* pada konsentrasi 25% sebesar 12.86 mm dan *Penicillium marneffe* berturut-turut sebesar 19.46 mm, 16.06 mm, 14.48 mm, 13.16 mm, 12.23 mm. Pada konsentrasi terbesar dari pengujian minyak atsiri daun ketepeng cina terhadap tiga jamur uji menunjukan aktivitas antijamur kategori kuat berkisar antara (10-20 mm) (Davis & Stout, 1971).

Dari penelitian ini memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri daun ketepeng cina maka semakin besar zona hambat yang terbentuk, adanya perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi disebabkan karena perbedaan besarnya zat aktif yang terkandung dalam konsentrasi tersebut. Dari ketiga jamur diatas zona hambat terbesar terlihat pada jamur *Penicillium marneffe*.

## SIMPULAN

1. Minyak atsiri daun ketepeng cina memiliki aktivitas antijamur terhadap jamur *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffe*.

2. Secara deskriptif, pada konsentrasi terbesar dari pengujian minyak atsiri daun ketepeng cina terhadap jamur *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* dan *Penicillium marneffe* menunjukan aktifitas antijamur kategori kuat yaitu berkisar 10-20 mm.
3. Berdasarkan hasil GC-MS ada 9 komponen senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri daun ketepeng cina yaitu,  $\alpha$ -pinene (24,96%),  $\beta$ -pinene (1,94%),  $\beta$ -myrcene (0,98%),  $\alpha$ -phellandrene (0.75%), Trans- $\beta$ -ocimene (7.48%), P-cymene (4.53%), 1,8 cineole (48,97%),  $\alpha$ -terpinene (0.86%). Serta 5 komponen utamanya yaitu 1,8 cineole (48,97%),  $\alpha$ - pinene (24,96%), 1,4-cyclohexadine (9,53%), Trans-  $\beta$ - ocimene (7,48%) dan P-cymene (4,53%).

## SARAN

Untuk memisahkan komponen aktif dari minyak atsiri ketepeng cina dan dilanjutkan dengan uji aktifitas antijamur

## DAFTAR PUSTAKA

- Purba. J. 2002. *Pengelolaan Lingkungan Sosial*, Yayasan Obor Indonesia Jakarta.
- Sukanto. 2004. *Pemeriksaan Jamur Bilasan pada Penderita Bekas Tuberkulosa Paru*. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Irianto, Koes. 2013. *Parasitologi*. Bandung: Penerbit Alfabeta, 67-79

- Setiabudy, Rianto & Bahry, B. 2012. *Obat Jamur Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapan Universitas Indonesia 575-576.
- Hariana, Arief. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya, 51-52.
- Ogunwande, I.A., Flamini, G., Cioni L.P., Omikorede, O., Azzez, A.R., Ayodele A.A., & Kamil, O.Y. 2010. *Aromatic Plants growing in Nigeria: Essential Oil Constituents of Cassia alata (Linn.) Roxb. And Helianthus annuus L.* Journal Published by Academy of Chemistry of Globe Publications.4(4):211-217.
- Agnaniet, H., Bikanga, R., Bessiere, J.M., & Menut, C. 2005. *Aromatic Plants of Tropical Central Africa part XLVI: Essential Oil Constituents of Cassia alata (L.) from Gabon.* Journal of Essential Oil Research, 17(4):410-41.
- Owoyale, J.A., Olatunji, G.A., & Oguntoye, S.O. 2005. *Antifungal and Antibacterial Activities of an Alcoholic Extract of Senna alata Leaves.* Journal Sci. Environ. Department of Chemistry, University of Ilorin Nigeria. (3):105-107.
- Ajayi, I.A., Jonathan, S.G., Adewuyi, A., & Oderinde, R.A. 2008. *Antimicrobial Screening of the Essential Oil of Some Herbal Plants from Western Nigeria.* World Applied Sciences Journal 3(1) :79-81.
- Ketaren. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai Pustaka,27,47-76,111,145.
- Djamil, Rusdi. 2009. *Kimia Bahan Alam: Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi Dan Identifikasi*. Padang: Universitas Baiturahman, 199-200.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. (Jilid I) Penerjemah: S. Ketaren. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Alex, C.S., & Jarett, L. 1980. *Grodwhol's Clinical Laboratory Methods anddiagnosis*. (Volume 2) CV. Mosby Company ST, Louis Toronto London, 1391-1470.
- Jawets, E, Melnick, J. L dan E. Adelberg. 1989. *Mikrobiologi untuk ProfesiKesehatan* (Edisi 14) Penerjemah: G. Borang. Jakarta: ECG Buku Kedokteran,256-428.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia* (Edisi IV). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.855,1030.
- Cappuccino, James G. 2009. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC Medical Publisher.
- Davis, W.W. & Stout, T.R. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological antibiotic assay*. Journal Microbiology. 22 (4): 666-670.