

ARTIKEL ILMIAH

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*
DENGAN METODE DIFUSI DISK**



Oleh

ANANG HERMAWAN
060213089

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli* DENGAN METODE DIFUSI DISK**

**INFLUENCE OF LEAF EXTRACT OF SIRIH (*Piper betle* L.) TO GROWTH *Staphylococcus aureus*
AND *Escherichia coli* WITH DISK DIFFUSION METHOD**

Anang Hermawan ¹⁾, Hana Eliyani ²⁾, Wiwiek Tyasningsih ³⁾

¹⁾ Mahasiswa, ²⁾ Bagian Anatomi Veteriner, ³⁾ Bagian Mikrobiologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRACT

Bakterisidal effect had been known in sirih plant (*Piper betle* L.). This research was to know bakterisidal effect and the effectivity of leaf extract of sirih (*Piper Betle* L.) based on in-vitro test to bacteria of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This Research had used diffusion methode that sensitivity knowledgeable Kirby-Bauer test with five treatment and seven times restating. Five treatment were consisted of negatif control 10 % DMSO, leaf extract of sirih was 2,5; 5, 10% and antibiotic as positif control. Paper disk sterile soaked in 10% DMSO and in leaf extract of sirih with concentration of 2,5; 5 and 10% respectively. Paper disk have been soaked to be evaporated in incubator till the disk to dry, then put down at media *Mueller Hinton Agar* that has been inoculated *Staphylococcus aureus*. At the sametime oxacillin was also lied on the surface of media *Mueller Hinton Agar*, this procedure was used to *Escherichia coli* wich sulfonamide as antibiotic then incubation at temperature of 37°C for 24 hours. The result of research shown at concentration 2,5; 5 and 10% of leaf extract of sirih and also antibiotic can inhibited growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Based on double distance test of Duncan, indicate that highest result of antibacterial effect of leaf extract of sirih to *Staphylococcus aureus* is concentration at 10% that not different significant with concentration of 2,5 and 5%, while antibiotic of oxacillin show lower result than third concentration of leaf extract of sirih. Highest result *Escherichia coli* shown by sulphonamide antibiotic, comparated with third concentration of leaf extract of sirih. Control 10% DMSO don't have effect to both bacteria.

Key word : Extract leaf of sirih, *Staphylococcus aureus* bacteria, *Escherichia coli* bacteria, Disk diffusion method

Surabaya, 02 Agustus 2007

Mahasiswa

Menyetujui
Dosen Pembimbing I

Menyetujui
Dosen Pembimbing II

(Anang Hermawan)
NIM. 060213089
Menyetujui
Dosen Terkait I

(Hana Eliyani, M.Kes., drh.)
NIP. 131 475 862
Menyetujui
Dosen Terkait II

(Wiwiek Tyasningsih, M.Kes., drh.)
NIP. 131 760 369
Menyetujui
Dosen Terkait III

(Rochmah Kurnijasanti, M.Si., drh.)
NIP. 132 149 139

(Suryanie Sarudji, M.Kes., drh.)
NIP. 131 576 467

(Hj. Lilik Maslachah, M.Kes., drh.)
NIP. 132 061 818

PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* DENGAN METODE DIFUSI DISK

INFLUENCE OF LEAF EXTRACT OF SIRIH (*Piper betle* L.) TO GROWTH *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* WITH DISK DIFFUSION METHOD

Anang Hermawan ¹⁾, Hana Eliyani ²⁾, Wiwiek Tyasningsih ³⁾

¹⁾ Mahasiswa, ²⁾ Bagian Anatomi Veteriner, ³⁾ Bagian Mikrobiologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRACT

Bakterisidal effect had been known in sirih plant (*Piper betle* L.). This research was to know bakterisidal effect and the effectivity of leaf extract of sirih (*Piper Betle* L.) based on in-vitro test to bacteria of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This Research had used diffusion methode that sensitivity knowledgeable Kirby-Bauer test with five treatment and seven times restating. Five treatment were consisted of negatif control 10 % DMSO, leaf extract of sirih was 2,5; 5, 10% and antibiotic as positif control. Paper disk sterile soaked in 10% DMSO and in leaf extract of sirih with concentration of 2,5; 5 and 10% respectively. Paper disk have been soaked to be evaporated in incubator till the disk to dry, then put down at media *Mueller Hinton Agar* that has been inoculated *Staphylococcus aureus* with oxacillin and also *Escherichia coli* with sulfonamide, then incubation at temperature of 37°C for 24 hours. The result of research shown at concentration 2,5; 5 and 10% of leaf extract of sirih and also antibiotic can inhibited growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. With double distance test of Duncan indicate that highest result of antibacterial effect of leaf extract of sirih to *Staphylococcus aureus* is by concentration at 10% that not different significant with concentration of 2,5 and 5%, while antibiotic of Oxacillin show lower result than third concentration of leaf extract of sirih. Highest result *Escherichia coli* shown by sulphonamide antibiotic, comparated with third concentration of leaf extract of sirih. Control 10% DMSO don't have effect to both bacteria.

Key word : Extract leaf of sirih, *Staphylococcus aureus* bacteria, *Escherichia coli* bacteria, Disk diffusion method

Pendahuluan

Menurut Sastroamidjojo (1997), Indonesia memiliki jenis tanaman obat yang banyak ragamnya. Jenis tanaman yang termasuk dalam kelompok tanaman obat mencapai lebih dari 1000 jenis, salah satunya yaitu sirih (*Piper betle* L.). Daun sirih dapat digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit diantaranya obat sakit gigi dan mulut, sariawan, abses rongga mulut, luka bekas cabut gigi, penghilang bau mulut, batuk dan

serak, hidung berdarah, keputihan, wasir, tetes mata, gangguan lambung, gatal-gatal, kepala pusing, jantung berdebar dan trachoma (Syukur dan Hernani, 1999).

Kriteria agen obat kimia yang digunakan sebagai kemoterapi adalah sebagai berikut toksisitas obat terhadap sel inang harus rendah dalam memusnahkan atau menghambat agen penyakit, inang tidak menjadi alergi (sangat peka) terhadap obat, organisme tidak mudah

resisten terhadap obat yang digunakan dan obat itu harus mencapai tempat infeksi (Schlegel, 1994).

Daun sirih dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *betephenol* yang merupakan isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methyl euganol*, *Caryophyllen* (siskuitерpen), *kavikol*, *kavibekol*, *estragol* dan *terpinen* (Sastroamidjojo, 1997).

Hasil uji farmakologi menunjukkan bahwa infusa daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab pneumonia dan *Gaseus gangrene*.

Air rebusan daun sirih dapat digunakan untuk mengobati batuk maupun berfungsi sebagai bakteriosid terutama terhadap *Haemophylus influenzae*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus haemoliticus* (Mursito, 2002).

Pada uji antibakteri dengan metode dilusi air rebusan daun sirih jawa dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60% (Irmasari, 2002).

Keberhasilan dalam penanganan penyakit yang menyerang ternak merupakan kunci utama keberhasilan suatu peternakan. Penyakit yang menyerang ternak dapat disebabkan oleh virus, jamur, parasit dan juga bakteri (Subronto, 1989).

Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada ternak antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi supuratif pada hewan maupun manusia dan sering menimbulkan mastitis pada sapi dan kambing, pioderma pada anjing maupun kucing serta menimbulkan abses pada semua spesies hewan termasuk unggas sedangkan *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit pada pedet antara lain *Calf disentri*, *White scours* (mencret putih) atau Colibacillosis. Pada babi, *Escherichia coli* yang tergolong dalam haemolitik strain merupakan penyebab penyakit Oedema yang ditunjukkan dengan adanya penebalan dinding lambung dan saluran pencernaan. Pada sapi menunjukkan *pyelonephritis*, infeksi

tali pusat, infeksi persendian, cervicitis, mastitis dan metritis sedangkan pada ayam dapat menimbulkan penyakit seperti *Hjarre's disease*, *Omphalitis*, *air sac disease*, *Peritonitis*, *Salpingitis* dan *Colibacillosis* (Quinn, 2002).

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan uji sensitifitas ekstrak daun sirih pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Pada prinsipnya terdapat tiga metode uji sensitifitas terhadap bakteri yaitu *Tube dilution test*, *Agar plate dilution test* dan *Disk diffusion test*. Hasil ekstraksi tersebut diuji dengan metode *Disk diffusion test* atau uji difusi disk dengan mengukur diameter zona terang (*Clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak daun sirih.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2006 di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Proses ekstraksi daun sirih (*Piper betle* L.) dilakukan di Laboratorium Fitokimia Bagian Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : daun sirih jawa (*Piper betle* L.), Isolat kuman *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923, *Escherichia coli* strain ATCC 25922, media MHA dan NA, antibiotik disk, kertas disk kosong, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), aquades dan PZ steril, alkohol 70 dan 96 %.

Tahap pelaksanaan penelitian Ekstraksi daun sirih

Daun sirih dicuci bersih lalu diangin-anginkan, kemudian dikeringkan dengan oven dengan suhu 40°C sampai kering, kemudian diremas dan dihaluskan sampai menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk kemudian dimaserasi dengan larutan metanol dan diambil filtratnya dengan penyaringan. Hasil saringan diuapkan dalam *rotary vacuum*

evaporator dengan suhu 40°C. Pada akhir proses ini didapatkan ekstrak murni dengan cairan kental, berwarna coklat, dengan bau khas aromatik. Ekstrak dari daun diencerkan dengan DMSO (Dimethyl Sulfoxide) 10 % sesuai dengan konsentrasi yang diharapkan (Poeloengan dan Soeripto, 1998).

Pembuatan beberapa stok konsentrasi ekstrak daun sirih dan pengisian kertas disk.

Stok konsentrasi ekstrak daun sirih yang akan divariasikan adalah mulai dari 2,5, 5 dan 10% dengan cara:

1. Konsentrasi 10 % : 0,5 ml ekstrak daun sirih + 4,5 ml DMSO 10 %
2. Konsentrasi 5 % : 0,25 ml ekstrak daun sirih + 4,75 ml DMSO 10%
3. Konsentrasi 2,5 % : 0,125 ml ekstrak daun sirih + 4,875 ml DMSO 10 %
4. Kontrol pelarut : 0 ml ekstrak daun sirih + 5 ml DMSO 10 %

Setelah larutan di vortex dibiarkan selama 30 menit kemudian dituangkan dalam cawan petri yang telah diberi kertas disk steril (1 cawan petri berisi 20 kertas disk kosong) yang direndam selama 10 menit atau sampai menjadi jenuh lalu pindahkan kertas disk dalam cawan petri steril sesuai variabel konsentrasi masing-masing kemudian inkubasi selama 18 jam dengan suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$. (Capuccino and Sherman, 2001).

Pembuatan Suspensi Bakteri

1. *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S.aureus* dibiakkan terlebih dahulu pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Empat sampai lima koloni *S.aureus* hasil biakan diambil dengan ose steril dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi lima mililiter PBS . Inkubasi pada suhu 37°C selama dua jam, maka terbentuklah

kekeruhan yang setara dengan standart Mc Farland 1 dengan konsentrasi bakteri 3×10^8 / ml. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu : $10^5 - 10^8$ / ml (Biesher, 1983; Kingscote, 1989; Carter dan Cole, 1990).

2. *Escherichia coli*

Bakteri *E.coli* dibiakkan terlebih dahulu pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Empat sampai lima koloni *E.coli* hasil biakan diambil dengan ose steril kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi lima mililiter PBS. Inkubasi pada suhu 37°C selama dua jam, maka terbentuklah kekeruhan yang setara dengan standart Mc Farland 1 dengan konsentrasi bakteri 3×10^8 / ml. Jumlah bakteri telah memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu : $10^5 - 10^8$ / ml (Biesher, 1983; Kingscote, 1989; Carter dan Cole, 1990).

Peubah yang diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini yaitu terbentuknya daerah hambatan pertumbuhan bakteri yang ada di sekeliling kertas disk berupa ukuran diameter daerah jernih. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mistar palstik. Interpretasi daerah hambatan pertumbuhan bakteri mengacu pada standart umum obat asal tanaman yakni diameter daya hambat berukuran 12 - 24 mm (Departemen Kesehatan, 1988).

Analisis Data

Data hasil penelitian pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang terdiri dari lima perlakuan yaitu kontrol pelarut, ekstrak daun sirih konsentrasi 2,5%; 5%, 10% dan antibiotik uji dengan tujuh kali ulangan dianalisis secara statistik dengan *One Way Anova* dengan menggunakan program SPSS 12.0 (Santoso, 2001) bila terdapat perbedaan atau pengaruh

pada tiap perlakuan dilanjutkan dengan Uji *Duncan multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf kepercayaan satu persen untuk melihat perlakuan yang memberikan hasil tertinggi.

Hasil dan Pembahasan

1. *Staphylococcus aureus*

Data hasil penelitian bakteri *S.aureus* yang dianalisis secara statistik dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rataan dan simpangan baku diameter daya hambat ekstrak daun sirih terhadap bakteri *S. aureus*.

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang

	Perlakuan	Rataan \pm SD
1	P ₀	0,00 ^c \pm 0,00
2	P ₁	27,14 ^a \pm 3,72
3	P ₂	28,28 ^a \pm 3,87
4	P ₃	29,28 ^a \pm 3,41
5	P ₄	20,50 ^b \pm 0,91

sangat nyata ($p < 1\%$)

Hasil analisis statistik dengan *One Way Anava* menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan ($P < 0,01$), dari uji *Duncan Multiple Range Test* dapat diketahui bahwa diameter daya hambat tertinggi diperoleh pada perlakuan P₃ yang tidak berbeda nyata dengan P₁ dan P₂ dan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan perlakuan P₄ dan P₀. Hasil terendah diperoleh pada perlakuan P₀ sebagai kontrol pelarut yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan perlakuan P₁, P₂, P₃ dan P₄.

2. *Escherichia coli*

Data hasil penelitian bakteri *E.coli* yang dianalisis secara statistik dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rataan dan simpangan baku diameter daya hambat ekstrak daun sirih terhadap bakteri *E. coli*

	Perlakuan	Rata-rata \pm SD
1	P ₀	0,00 ^c \pm 0,00
2	P ₁	10,00 ^b \pm 0,50
3	P ₂	9,420 ^b \pm 1,17
4	P ₃	10,57 ^b \pm 0,61
5	P ₄	26,21 ^a \pm 3,15

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 1\%$)

Hasil analisis statistik dengan *One Way Anava* menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan ($P < 0,01$), dari uji *Duncan Multiple Range Test* dapat diketahui bahwa diameter daya hambat tertinggi diperoleh pada perlakuan P₄ yang menunjukkan perbedaan sangat nyata dengan perlakuan P₁, P₂, P₃ dan P₀. Hasil terendah diperoleh pada perlakuan P₀ sebagai kontrol yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan perlakuan P₁, P₂, P₃ dan P₄.

Hasil uji antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tampak bahwa perlakuan P₁, P₂ maupun P₃ menghasilkan diameter daya hambat masing-masing sebesar 27,14; 28,28 dan 29,28 mm. Sedangkan diameter daya hambat P₄ adalah 20,29 mm namun pada perlakuan P₀ tidak menunjukkan respon penghambatan. Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi ekstrak daun sirih 2,5; 5 dan 10 % dapat digunakan sebagai bahan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Mengacu pada standart umum yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan (1988) disebutkan bahwa mikroba dinyatakan peka terhadap antimikroba asal tanaman apabila mempunyai ukuran diameter daya hambatannya 12 - 24 mm. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun

sirih berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter daya hambat yang dihasilkan lebih dari standart yang ditentukan oleh Departemen Kesehatan yaitu berdiameter 12 sampai 24 milimeter.

Hasil uji antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* tampak bahwa perlakuan P4 (antibiotika Sulfonamide) menghasilkan diameter daya hambat sebesar 26,21 milimeter, sedangkan pada perlakuan P1, P2 maupun P3 menghasilkan diameter daya hambat masing-masing sebesar 10,00; 9,420 dan 10,57 mm namun pada perlakuan P0 tidak menunjukkan respon penghambatan. Kemampuan menghambat dari ekstrak daun sirih terhadap *Escherichia coli* tampaknya lebih lemah dibandingkan dengan antibiotika Sulfonamide. Namun demikian berdasarkan standart umum yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan (1988) angka diameter daya hambat yang ditunjukkan kurang memenuhi standart minimal yang ditentukan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih berpengaruh terhadap bakteri *Escherichia coli* meskipun diameter daya hambat yang dihasilkan kurang dari standart yang ditentukan oleh Departemen Kesehatan yaitu berdiameter 12 sampai 24 milimeter.

Daun sirih (*Piper betle* L.) secara umum telah dikenal masyarakat sebagai bahan obat tradisional. Seperti halnya dengan antibiotika, daun sirih juga mempunyai daya antibakteri. Kemampuan tersebut karena adanya berbagai zat yang terkandung didalamnya. Daun sirih mengandung 4,2 % minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *Chavicol paraallyphenol* turunan dari *Chavica betel*. Isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methil euganol* dan *Caryophyllen*, kavikol, kavibekol, estragol, terpinen (Sastroamidjogo, 1997).

Karvakol bersifat sebagai desinfektan dan antijamur sehingga bisa digunakan sebagai antiseptik, euganol dan *methyl-euganol* dapat digunakan untuk mengurangi sakit gigi

(Syukur dan Hernani, 1997). Selain itu didalam daun sirih juga terdapat flavanoid, saponin, dan tannin. Menurut Mursito (2002) saponin dan tannin bersifat sebagai antiseptik pada luka permukaan, bekerja sebagai bakteristatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka. Flavanoid selain berfungsi sebagai bakteristatik juga berfungsi sebagai anti inflamasi. Kartasapoetra (1992) menyatakan daun sirih antara lain mengandung kavikol dan kavibetol yang merupakan turunan dari fenol yang mempunyai daya antibakteri lima kali lipat dari fenol biasa terhadap *Staphylococcus aureus*.

Cara kerja fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel (Pelczar dan Chan, 1981). Dengan terdenaturasinya protein sel, maka semua aktivitas metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang merupakan suatu protein (Lawrence dan Block, 1968).

Perbedaan diameter daya hambat yang ditunjukkan daun sirih pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* karena perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing – masing bakteri. Diameter daya hambat ekstrak daun sirih pada *S. aureus* lebih lebar daripada *E. coli* karena dinding sel *S. aureus* hanya terdiri dari beberapa lapis peptidoglikan tanpa adanya tiga polimer pembungkus yang terletak diluar lapisan peptidoglikan yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida seperti yang dimiliki oleh *E. coli* karena *S.aureus* hanya memiliki lapisan peptidoglikan maka selnya akan mudah terdenaturasi oleh *bethel phenol* yang terkandung dalam ekstrak daun sirih sehingga diameter daya hambatnya lebih lebar (Jawetz et al., 1986)

Berdasarkan uraian diatas, membuktikan bahwa daun sirih mempunyai dasar kuat digunakan sebagai bahan obat karena mengandung minyak atsiri dengan komponen fenol alamnya yang dapat memepengaruhi pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* .

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan adanya daerah jernih (*clear zona*) yang terbentuk pada media uji.

Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi disk, maka disarankan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dapat dijadikan bahan alternatif dalam pengobatan penyakit pada ternak yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Biesher. 1983. Microbiology in Practice. Individualized Introduction for The Allied Health Science. 3rd ed. Harper and Row Publisher. New York
- Breed, R.S., E.G.D Murray and N.R Smith. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7th ed. Williams and Walkins.
- Capucinno, J.G and N. Sherman. 2001. Microbiology: A Laboratory Manual. 6th ed. Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Carter, G.R. and J.R. Cole, Jr. 1990. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology. 5th ed. Academic Press. Inc. San Diego California. 108-123
- Departemen Kesehatan. 1988. Inventaris Obat Indonesia Jilid I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Duguid, J.P., B.P. Marmion and R.H.A. Swain. 1987. Medical Microbiology Vol I Microbial Infection Thirteenth Edition. ELBS/ Churchill Livingstone Edinburgh. 327-331
- Dalimartha, S. 2000. 36 resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kolesterol, PT.Penebar Swadaya, Jakarta
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. PT. Rapi Grafindo Persada. Jakarta
- Greenwood.1995. Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemoterapy.
- Heyne, K. 1987. Pertumbuhan Berguna Indonesia. Jilid II. Cetakan I. Yayasan Sarana Wana Jaya Jakarta: 622-627.
- Holt, J.G., N.R. Kreig., P.H.A. Sneath., J.T. Staley and St. Williams. 1994. Bergeys Manual Of Determination Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins. Maryland.
- Irmasari, A.2002. Perbandingan Daya Antibakteri Antara Gerusan Daun Sirih Hitam, Sirih Jawa Dengan Oksitetrasiklin Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya
- Jawetz. E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1984. Edisi XVI. Microbiology Untuk Profesi Kesehatan. Penertbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jawetz. E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1986. Edisi XVI. Microbiology Untuk Kesehatan. Penertbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jhonson, T.R. and C.L. Case. 1989. Laboratory Experiments in Microbiology. 2nd ed.

- The Benjamin/coming Publishing Company California. 151-156.
- Kartasapoetra, G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*, Rineka Cipta, Jakarta. 25-26
- Kingscote, B. 1989. *Veterinary Microbiology Introduction to Bacteria and Virology*. 7th ed. The Iowa State University Press. Ames. Iowa. USA.
- Kelser, R.A and H.W. Scoening. 1948. *Manual of Veterinary Bacteriology*. 5th ed. Bailliere Tindall Cox. London. 273-277
- Lawrence, C.A. and S.S. Block. 1968. *Desinfection, Sterilization and Preservation*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Mursito, B. 2002. *Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Malaria*. PT. Penebar Swadaya, Jakarta
- Merchant. I. A. and R. A. Packer. 1971. *Veterinari Bacteriology and Vorology*. 7th ed. The Iowa University Press. Ames. Iowa. USA.
- Pelczar, M. J., dan E. S. Chan. 1988. *Dasardasar Mikrobiologi*. Edisi ke-2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Poeloengan dan Soeripto. 1998. *Pengaruh Putih Telur Terhadap Pertumbuhan Gram Positif Dan Gram Negatif Secara In Vitro*. Media kedokteran Hewan Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Quinn, P.J. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell Publishing Company. USA
- Ratnasari, R., Sudarno dan S. Suryanie. 1993. *Diktat Ilmu Penyakit Bakterial*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 28-37.
- Sastroamidjojo, S. 1997. *Obat Asli Indonesia*, Dian Rakyat, Jakarta
- Santoso, S. 2001. *Mengolah Data Statistik Secara Profesional dengan SPSS*. PT Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta
- Schlegel, H.G., 1994. *Mikrobiologi Umum*, Edisi keenam, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Subronto. 1989. *Ilmu Penyakit Ternak 1*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Syukur, C. dan Hernani. 1999. *Budidaya Tanaman Obat Tradisional*. PT.Penebar Swadaya, Jakarta
- Todar, K. 2005. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. University of Winconsin - Madison Department of Bacteriology. <http://www.who.int>. [19-04-2007]
- Tortora, G.J. 2002, *Microbiology an Introduction*, Addison Wesley Longman Inc., San Fransisco, USA.
- Volk, W.A., 1992. *Basic Microbiology*. 7th ed. Harper Collins Publisher Inc. New York.
- Volk, W.A. 1993. *Mikrobiologi Dasar*, Edisi kelima, Jilid I, Penerbit Erlangga, Jakarta.