

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK AIR BUNGA KECOMBRANG TERHADAP BAKTERI *E. coli* DAN *S. aureus* SEBAGAI BAHAN PANGAN FUNGSIONAL

Adeng Hudaya^{1*}, Nani Radiastuti¹, Dede Sukandar², Ira Djajanegara³

¹Program Studi Biologi, FST Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta

²Program Studi Kimia, FST Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta

³Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong

*Corresponding author: adeng.hudaya87@gmail.com

Abstract

The testing has been conducted research on the antibacterial activity of aqueous extracts of flowers kecombrang against *E. coli* and *S. Aureus*. This study was aims to provided scientific evidence of excellence kecombrang plants as functional food ingredients. Antibacterial activity assays performed using dispersive method. From the results of antibacterial testing kecombrang flower water extract against *E. coli* concentration of 20% = 0 mm, 40% = 0 mm, 60% = 4.8 mm, 80% = 5.2 mm, 100% = 7.3 mm and the test bacteria *S. aureus* concentration of 20% = 8.67 mm, 40% = 9.11 mm, 60% = 12:33 mm, 80% = 12:44 mm, 100% = 13.89 mm.

Keywords : Antibacterial activity, kecombrang flowe, functional food ingredient

PENDAHULUAN

Seiring dengan makin meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, tuntutan konsumen terhadap bahan pangan juga bergeser. Bahan pangan yang kini banyak diminati konsumen bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasanya menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh, seperti dapat menurunkan tekanan darah, kadar kolesterol dan kadar gula darah, serta meningkatkan penyerapan kalsium (Astawan, 2003). Goldberg (1994) menyebutkan bahwa dasar pertimbangan konsumen di negara-negara maju dalam memilih bahan pangan bukan hanya bertumpu pada kandungan gizi serta kelezatannya, tetapi juga pengaruhnya terhadap kesehatan tubuh.

Tanaman rempah dan obat mempunyai potensi besar sebagai sumber makanan dan minuman fungsional seiring dengan makin tingginya kesadaran masyarakat akan pentingnya menjaga kesehatan. Keberadaan pangan fungsional tidak hanya bermanfaat bagi masyarakat atau konsumen, tetapi juga bagi

pemerintah maupun industri pangan. Bagi konsumen, pangan fungsional bermanfaat untuk mencegah penyakit, meningkatkan imunitas, memperlambat proses penuaan, serta meningkatkan penampilan fisik. Bagi industri pangan, pangan fungsional akan memberikan kesempatan yang tidak terbatas untuk secara inovatif memformulasikan produk-produk yang mempunyai nilai tambah bagi masyarakat. Selanjutnya bagi pemerintah, adanya pangan fungsional akan menurunkan biaya untuk pemeliharaan kesehatan masyarakat (Winarti, 2005).

Salah satu tanaman rempah dan obat yang memiliki potensi sebagai pangan fungsional sebagai antioksidan dan antibakteri adalah kecombrang (*E. elatior*). Kecombrang termasuk dalam golongan Zingiberaceae, satu famili dengan tanaman laos. Naufalin (2005) menjelaskan bahwa pemanfaatan bunga kecombrang adalah sebagai pemberi citarasa pada masakan, seperti urab, pecal, sambal dan masakan lain.

Kecombrang merupakan salah satu jenis tanaman rempah-rempah yang sejak lama dikenal dan dimanfaatkan oleh manusia

sebagai obat-obatan berkaitan dengan khasiatnya, yaitu sebagai penghilang bau badan dan bau mulut (Hidayat & Hutapea, 1991). Menurut Hasbah *et al.*, (2005) tanaman kecombrang dapat dipakai untuk mengobati penyakit-penyakit yang tergolong berat yaitu kanker dan tumor. Menurut Chan *et al.*, (2007) bunga dari tanaman ini bisa digunakan sebagai bahan kosmetik alami, bunganya dipakai untuk campuran cairan pencuci rambut dan daun serta *rhizome* dipakai untuk bahan campuran bedak oleh penduduk lokal.

Berkaitan dengan pangan fungsional, dalam proses ekstraksi rempah-rempah, komposisi, warna, aroma dan rendeman yang dihasilkan akan dipengaruhi oleh jenis, ukuran, tingkat kematangan bahan baku, jenis pelarut, suhu dan waktu ekstraksi serta metode ekstraksi (Farrel, 1990). Persyaratan yang harus dipenuhi oleh pelarut untuk mengekstrak rempah-rempah antara lain tidak berbau dan tidak berasa sehingga tidak mempengaruhi mutu produk akhir (Moyler, 1994). Untuk itu dalam penelitian ini digunakan pelarut air dan bebas dari pelarut organik (alkohol, etil asetat, n-heksan, dll). Produk akhir yang dihasilkan diharapkan tidak tercemar oleh pelarut organik dan dapat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional.

MATERIAL DAN METODE

Alat yang digunakan adalah alat penyaringan dan fraksinasi seperti erlenmeyer ukuran 1000 ml, *micropipet*, timbangan analitik, *grinding mill*, *rotary evaporator*, *hotplate*, *magnetic stirrer*, autoklaf, inkubator, *shaker incubator*, vortex, spektrofotometer, dan cawan petri. Adapun bahan yang digunakan adalah Bunga kecombrang (*E. elatior*) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aromatik (BALITTRO), bakteri Gram positif (*E. coli*) dan Gram negatif (*S. aureus*) diperoleh dari Pusat Laboratorium Terpadu (PLT) Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Medium *Nutrient Agar* (NA), Medium *Nutrient Broth* (NB), Medium *Moeller Hinton Agar* (MHA), Kloramfenikol, *aquabidest*, kertas saring whatman no. 1 dan kertas cakram.

Ekstraksi

Sebanyak 150 gram sampel kecombrang kering dimaserasi dalam 1 liter pelarut akuades selama 3 x 24 jam. Hasil ekstraksi disaring, dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, selanjutnya digunakan pada pengujian antibakteri.

Pembuatan Medium *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 23 gram NA dilarutkan dalam 1 L akuades kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirer sampai homogen. Setelah itu, larutan tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi besar sebanyak 10 ml. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 1,5 atm dan selama 15 menit. Medium ini akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

Pembuatan Medium *Nutrient broth* (NB)

Sebanyak 8 gram bubuk NB dilarutkan dengan 1 liter akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu medium NB disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

Pembuatan Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 38 gram MHA dilarutkan dalam 1 L akuades kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan magnetik stirer sampai homogen. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C, tekanan 1,5 atm dan selama 15 menit. Setelah disterilisasi dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml yang akan digunakan sebagai medium dalam uji antibakteri.

Peremajaan Bakteri Uji dan Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji dibiakkan pada agar miring steril kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Bakteri yang telah dibiakkan pada agar miring ditambahkan NaCl 0,9% steril sebanyak 5 ml kemudian dihomogenkan dengan vortex.

Pembuatan Inokulum bakteri

Suspensi bakteri uji dimasukkan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam medium NB. Selanjutnya medium NB diinkubasi di *shaker incubator* dengan kecepatan shaker 120 rpm sampai bakteri uji mencapai fase

midlog. Fase logaritmik *E. coli* berlangsung dari menit ke-210 sampai menit ke-450. Fase logaritmik *S. aureus* berlangsung dari menit ke-360 sampai menit ke-600. *Midlog* atau titik pertengahan merupakan antara fase log dengan fase stasioner. Titik *midlog* ini digunakan untuk uji antibakteri, pada titik tersebut bakteri berada pada puncak pembelahan sel (Khotimah, 2009).

Pengujian Antibakteri

Pengujian ini dilakukan dengan *metode sebar*. Biakan dalam NB sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam 15 ml MHA yang sudah padat. Ekstrak kecombrang dengan berbagai konsentrasi sebanyak 0,01 ml diambil menggunakan mikropipet 0,01 ml pada kertas cakram steril berdiameter 0,6 cm kemudian ditanam pada medium MHA padat dalam cawan petri. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya dibandingkan zona hambat dengan zona hambat pada kontrol kloramfenikol.

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Ekstrak air bunga kecombrang (konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% untuk *S. aureus*, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, dan 60% untuk *E. coli*) sebanyak 1 ml, medium NB 3,9 ml dan inokulum bakteri 0,1 ml dimasukkan kedalam enam tabung reaksi, selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah larutan (media NB, inokulum bakteri dan ekstrak air bunga kecombrang) homogen kemudian diinkubasi dalam shaker inkubator selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, larutan diambil sebanyak 10 µl untuk ditanam di media NA dengan metode tuang. Setelah larutan ditanam di media NA, kemudian diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi 24 jam dengan cara menghitung jumlah koloni yang tumbuh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Antibakteri

Bakteri uji yang digunakan dalam uji antibakteri ini adalah *E. coli* dan *S. aureus*. Pada uji antibakteri ekstrak air bunga

kecombrang ini tidak menghitung kurva pertumbuhan terlebih dahulu. Kurva pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* mengacu kepada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Khotimah pada tahun 2007.

Menurut Khotimah (2007) *Midlog* atau titik pertengahan antara fase log dengan fase stasioner *E. coli* berada pada menit ke-450. Puncak pertumbuhan *S. aureus* berada pada menit ke-600. Titik *midlog* ini digunakan untuk uji antibakteri, pada titik tersebut bakteri berada pada pertengahan puncak pembelahan sel. Setelah itu, bakteri berada pada fase stasioner dengan jumlah sel yang tumbuh hampir sama dengan jumlah sel yang mati dan akhirnya bakteri mengalami penurunan jumlah sel, hal ini diakibatkan oleh nutrisi yang semakin berkurang atau terakumulasinya limbah metabolisme. Pengujian antibakteri ekstrak air bunga kecombrang telah didapatkan hasil diameter zona hambat yang dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada konsentrasi 20% ekstrak bunga kecombrang (*Etilingera elatior*) sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yaitu dengan terbentuknya zona hambat (zona bening) di sekitar kertas cakram dengan diameter zona hambat 8,76 mm. Pada *E. coli* konsentrasi 20% ekstrak air bunga kecombrang belum mampu menghambat pertumbuhannya. Pertumbuhan *E. coli* terhambat pada konsentrasi 60% dengan rata-rata diameter zona hambat 4,8 mm.

Diameter zona hambat yang didapatkan dari kedua bakteri uji terdapat perbedaan sesuai dengan besarnya konsentrasi yang diberikan. Zona hambat terendah pada *S. aureus* adalah pada konsentrasi 20 % dengan diameter zona hambat 8,7 mm sedangkan zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% yaitu 13,9 mm. Zona hambat terendah pada *E. coli* terdapat pada konsentrasi 60% dengan nilai zona hambat 4,8 mm sedangkan zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 100% yaitu 7,3 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air bunga kecombrang lebih efektif menghambat *S. aureus* daripada *E. coli*.

Penentuan konsentrasi ekstrak air bunga kecombrang sangat berpengaruh terhadap terbentuknya zona hambat yang dihasilkan oleh kedua bakteri uji. Semakin rendah konsentrasi yang diberikan maka semakin kecil diameter zona hambat yang terbentuk oleh bakteri uji, karena semakin kecil konsentrasi maka zat aktif yang terlarut pada ekstrak air bunga kecombrang semakin sedikit pula. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin luas pula diameter zona hambat yang terbentuk oleh bakteri uji.

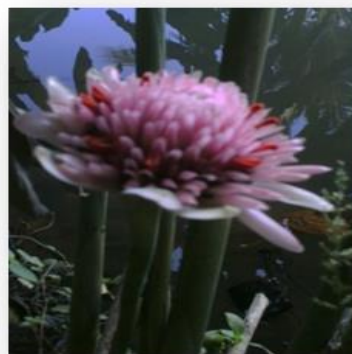
Terbentuknya zona hambat terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 20% sedangkan zona hambat *E. coli* terbentuk pada konsentrasi 60%. Hal ini dikarenakan ada perbedaan golongan bakteri yang diujikan. *S. aureus* merupakan gram positif yang memiliki struktur peptidoglikan lebih kompleks dan kandungan lipid yang lebih rendah, sedangkan *E. coli* merupakan gram negatif yang memiliki kandungan peptidoglikan lebih sedikit dan kandungan lipid lebih banyak, sehingga dinding sel *S. aureus* lebih mudah dirusak oleh senyawa aktif ekstrak air bunga kecombrang daripada *E. coli*.

Air bersifat polar sehingga senyawa aktif yang tersaring relatif bersifat polar. Kepolaran senyawa ini mengakibatkan senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak bunga kecombrang mudah menembus dinding gram positif sehingga terlihat zona hambat pada *S. aureus* lebih besar daripada *E. coli*.

Menurut Kanazawa *et al.*, (1995) dalam Naufalin (2005) suatu senyawa yang mempunyai polaritas optimum akan mempunyai aktivitas antimikroba yang maksimum karena untuk interaksi suatu senyawa antibakteri dengan sel bakteri diperlukan keseimbangan hidrofilik–lipofilik (HLB: *hydrophilic lipophilic balance*). Oleh karena itu polaritas senyawa antibakteri merupakan sifat fisik yang penting. Sifat hidrofilik diperlukan untuk menjamin senyawa antimikroba larut dalam fase air yang merupakan tempat hidup mikroba. Akan tetapi senyawa yang bekerja pada membran sel yang sifatnya hidrofobik memerlukan pula sifat lipofilik.

Berdasarkan hasil analisis GCMS dapat dikelompokkan senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh metabolit sekunder pada bunga kecombrang. Senyawa yang merupakan senyawa antibakteri adalah golongan fenol dan alkohol. Menurut Sasaki *et al.*, (2004) mekanisme kerja komponen bioaktif fenol dapat melisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel. Boyd (1988) menyatakan bahwa mekanisme etanol (alkohol) dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah mendenaturasi protein dan melarutkan lemak yang terdapat pada dinding bakteri.

Berdasarkan hasil ANOVA satu arah menunjukkan bahwa F hitung masing-masing konsentrasi ekstrak air bunga kecombrang lebih besar daripada F_{tabel} 0,05. Artinya bahwa ekstrak air bunga kecombrang memberikan perbedaan yang signifikan terhadap perlakuan yang diberikan. Hal ini menyebabkan ada hubungan antara variasi konsentrasi ekstrak air bunga kecombrang dengan diameter zona hambat bakteri *E. coli*, dan *S. aureus*.



Gambar 1. Bunga kecombrang yang digunakan pada penelitian

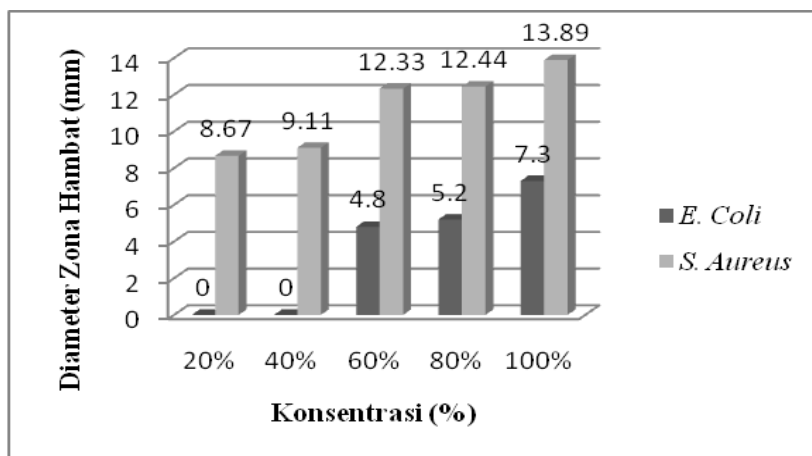
Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Dalam pengujian antibakteri ekstrak air bunga kecombrang (*E. elatior*) digunakan kontrol positif yaitu dengan antibiotik kloramfenikol dalam bentuk tablet 10 µg, hasil yang didapatkan terdapat pada Gambar 3. Pada pengujian antibakteri menggunakan antibiotik kloramfenikol terlihat bahwa

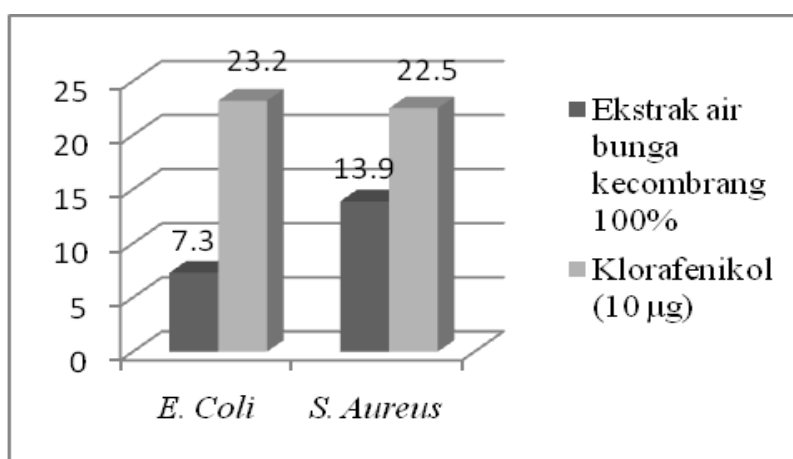
diameter zona hambat yang telah dihasilkan lebih besar dibandingkan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak air bunga kecombrang (*E. elatior*). Zona hambat yang dihasilkan oleh *E. coli* pada antibiotik kloramfenikol dengan nilai rata-rata 23,2 mm dan pada *S. aureus* mencapai 22,5 mm, sedangkan zona hambat yang dihasilkan oleh *S. aureus* pada konsentrasi 100% mencapai 13,9 mm dan pada *E. coli* mencapai 7,3 mm. Besarnya zona hambat yang dihasilkan kloramfenikol tidak sebanding dengan ekstrak air bunga kecombrang disebabkan karena bahan aktif dalam antibiotik kloramfenikol

bersifat murni. Kandungan senyawa aktif dalam ekstrak air bunga kecombrang belum murni sehingga penghambatan terhadap bakteri belum efektif seperti pada antibiotik kloramfenikol.

Antibiotik kloramfenikol memberikan efek dengan cara bereaksi dengan subunit 50S ribosom dan menghalangi aktivitas enzim peptidil transferase. Enzim ini berfungsi untuk membentuk ikatan peptida asam amino baru yang masih melekat pada tRNA dengan asam amino terakhir yang sedang berkembang. Sebagai akibatnya sintesis protein bakteri akan terhenti seketika (Pratiwi, 2008).



Gambar 2. Diameter daerah hambatan (mm) pertumbuhan bakteri oleh ekstrak air bunga kecombrang dan kloramfenikol 10 μ g



Gambar 3. Grafik perbandingan diameter zona hambat kloramfenikol dengan ekstrak air bunga kecombrang 100%

Tabel 1. Nilai KHM ekstrak air bunga kecombrang pada bakteri uji

Jenis bakteri	Konsentrasi Ekstrak (%)	Jumlah bakteri (sel/ml) inkubasi 24 jam (Nt)	% Penghambatan = 100% - (Nt/No x 100%)
<i>S. aureus</i>	5	-	-
	10	2,62 x 10 ⁶	88,41
	15*	1,44 x 10 ⁶	95,63
	20	7,3 x 10 ⁵	96,77
	25	1,23 x 10 ⁵	99,46
	30	1,15 x 10 ⁵	99,50
<i>E.coli</i>	10	-	-
	20	-	-
	30	78,0 x 10 ⁵	51,86
	40	18,9 x 10 ⁵	88,4
	50*	12,3 x 10 ⁵	92,41
	60	Tidak tumbuh	100

*) Nilai KHM = konsentrasi terendah yang dapat menurunkan pertumbuhan bakteri >90%

Dalam pengujian antibakteri ekstrak air bunga kecombrang digunakan kontrol negatif menggunakan akuades steril. Pada pengujian antibakteri terhadap ekstrak air bunga kecombrang tidak didapatkan diameter zona hambat, hal ini dikarenakan akuades tidak dapat menghambat bakteri uji yang digunakan dalam penelitian.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pengujian lebih lanjut setelah penentuan nilai zona hambat bakteri pada ekstrak air bunga kecombrang adalah dilakukan pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM). Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Menurut Cosentio *et al.*, (1999) menyatakan bahwa konsentrasi terendah yang dapat menurunkan pertumbuhan bakteri lebih besar dari 90%. Hasil pengujian KHM ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa nilai konsentrasi hambat minimum *S. aureus* terdapat pada konsentrasi 15% dengan persen penghambatan 95,63%. Nilai konsentrasi hambat minimum *E. coli* terdapat pada konsentrasi 50% dengan persen penghambatan 92,41%. Nilai persen penghambatan bakteri *S. aureus* lebih besar atau konsentrasi ekstrak lebih kecil dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Hal tersebut menunjukkan bahwa *S.*

aureus lebih sensitif dibandingkan *E. coli* terhadap ekstrak air bunga kecombrang. Oleh karena itu, aktivitas antibakteri ekstrak bunga kecombrang memiliki daya hambat yang kuat terhadap *S. aureus*. Namun aktivitas antibakteri tergantung konsentrasi yang diberikan, dan perlu dilakukan KHM dari antibiotika standar kloramfenikol untuk mengetahui kesamaan dari KHM masing-masing.

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang memiliki kandungan peptidoglikan lebih sedikit dan kandungan lipid lebih banyak. Banyaknya kandungan lipid pada *E. coli* menyebabkan ekstrak air bunga kecombrang tidak mudah menyerap ke dalam *E. coli*, sehingga ekstrak air bunga kecombrang tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi rendah.

Pengujian KHM bunga kecombrang sebelumnya sudah dilakukan oleh Naufalin (2005) dengan ekstrak etil asetat dan etanol. Pada hasil penelitian ekstrak etil asetat bunga kecombrang menunjukkan bahwa nilai konsentrasi hambat minimum *E. coli* terdapat pada konsentrasi 5 mg/ml dengan persentase penghambatan 99,99% dan konsentrasi hambat minimum *S. aureus* terdapat pada konsentrasi 12,5 mg/ml dengan persentase penghambatan 99,36%. Hasil penelitian ekstrak etanol bunga kecombrang menunjukkan bahwa nilai

konsentrasi hambat minimum *E. coli* terdapat pada konsentrasi 5 mg/ml dengan nilai persentase penghambatan 99,99% dan *S. aureus* terdapat pada konsentrasi 12,5 mg/ml dengan persentase penghambatan 91,36%.

Nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak air bunga kecombrang terhadap *S. Aureus* dan *E. coli* lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirih merah. Nilai KHM *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing adalah 15% dan 50%, sedangkan nilai KHM ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *S. aureus* dan *E. coli* adalah 6,25%.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak air bunga kecombrang memiliki sifat antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* sehingga dapat dijadikan sebagai bahan pangan fungsional.

DAFTAR PUSTAKA

- Boyd. & Robert, F. (1988). *General Microbiology*. Second Edition. Times Mirror/Mosby College Publishing.
- Chan, E.W.C, Lim, Y. Y., & Omar, M. (2007). Antioxidant and Antibacterial Activity of Leaves of *Etilingera* Species (*Zingiberaceae*) in Peninsular Malay-sia. *Food Chemistry*. 104. 1586-1593.
- Cosentio, S., Tuberoso, C. I. G, Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi E., & Palmas, F. (1999). *In-vitro* Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Sardinian thymus* Essential Oils. *The Society for Applied Microbiology*. 29. 130-135.
- Goldberg, I. (1994). *Functional Foods, Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*. London: Chapman and Hall.
- Habsah, M., Lajis, N. H., Sukari, M. A., Yap Y. H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., & Ali A. M. (2005). Antitumour-Promoting and Cytotoxic Constituents of *Etilingera elatior*. *Malaysian J Medical Sci*. 12. 6-12.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (1996). *Mikrobiologi Kedokteran*. edisi-20. Alih Bahasa Edi Nugroho, R.F. Maulany. Jakarta: EGC.
- Khotimah, F. K. (2009). Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*). *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Kusmiyati & Agustini, N. W. S. (2006). Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. 8. 48-53.
- Naufalin, R. (2005). Kajian Sifat Antimikroba Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan [disertasi]. Bogor: Program Pasca-sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Pelczar, M. J. & Chan. E. C. S. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia (UI Press).
- Supardi & Sukamto. (1999). *Mikrobiologi dalam Pengelolaan dan Keamanan Pangan*. Bandung: ALUMNI.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2002). *Microbiology*. Sthed. New York: Mc Graw Hill.
- Sasaki, H., Matsumoto, M., Tanaka, T., Maeda., M., Nakai, S., Hamada & Ooshima, T. 2004. Antibacterial Activity of Poliphenol Component in Oolong Tea Extract Against *Streptococcus mutans*. *J Caries Research*. 38. 2-8.
- Staf Pengajar FKUI. 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Jakarta. Binarupa Aksara.
- Winarti, C. 2005. Peluang Pengembangan Minuman Fungsional dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.