



Efektifitas Ekstrak Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons dan Karang Lunak sebagai Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung

Hendrianto Tinambunan, Melki dan Isnaini

Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya,
Indralaya-Indonesia

*Email: lutotinambunan@yahoo.co.id

Received 10 Februari 2012; received in revised form 25 Maret 2012;
accepted 08 Mei 2012

ABSTRACT

Research on Screening Extracts of Bacteria Associating with Sponges and Corals Soft as an antibacterial and antifungal from Tegal Island Lampung was held in March to May 2011. Resistance of pathogenic bacteria has become a problem to health and the need to search for new antibacterials which inhibit pathogenic bacteria. The potential of antibiotics have been found from marine resources, especially sponges and soft corals. This study aims to determine the effectiveness test and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of extracts of bacteria associated with sponges and soft corals against bacteria *E.coli*, *S.aureus* and *C.albicans* yeast. This research was conducted by the method of extraction of the sponge bacterial isolates (A2³, A2⁵) and soft corals (D1¹, D2²). The next phase of testing the extract as an antibacterial against *E.coli*, *S.aureus* and *C.albicans* fungi in concentrations 100% and continued to Determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) with a concentration of 10%, 5%, 1%, and 0.05%. The results of screening for bacterial extracts from four types of bacterial isolates namely, A2³, A2⁵, D1¹ and D2² are known best antibacterial activity found in concentrations of 10% extract of *E. coli* A2³ for 17.67±5.89 mm and against *S.aureus* by 18±3.00 mm. This study showed extracts of bacterial isolates *Sarcophyton* sp and *Aplysina* sp potential as an antibacterial against *E. coli* and *S. aureus*. Screening extracts of four species of bacteria isolates showed no antifungal activity against *C.albicans*.

Key words: Screening, extract, antibacterial, *E.coli*, *S.aureus*, *C.albicans* Minimum Inhibitory Concentration.

ABSTRAK

Penelitian tentang Efektifitas Ekstrak Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons dan Karang lunak sebagai Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2011. Resistensi bakteri patogen telah menjadi masalah terhadap kesehatan dan perlunya melakukan pencarian antibakteri baru untuk menghambat bakteri patogen. Potensi antibiotik telah banyak ditemukan dari sumber daya laut khususnya spons dan karang lunak. Penelitian ini bertujuan menguji efektifitas dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak bakteri yang berasosiasi dengan spons dan karang lunak terhadap bakteri *E.coli*, *S.aureus* dan jamur *C.albicans*. Penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²). Tahap selanjutnya melakukan pengujian ekstrak sebagai antibakteri terhadap *E.coli*, *S.aureus* dan jamur *C.albicans* dalam konsentrasi 100% dan dilanjutkan dengan Penetapan Nilai KHM dengan konsentrasi 10%, 5%, 1%, dan 0.05%. Hasil Efektifitas ekstrak bakteri dari isolat bakteri yaitu, A2³, A2⁵, D1¹ dan D2² menunjukkan aktivitas antibakteri paling besar terdapat pada konsentrasi 10% ekstrak isolat A2³ terhadap *S.aureus* sebesar 18±3,00 mm dan sebesar 17,66±5,89 mm terhadap *E.coli*. Konsentrasi Hambat Minimum masih menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi 0.05% yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar pada ekstrak isolat D2² terhadap *S.aureus* sebesar 11±1,00 mm dan ekstrak isolat A2³ terhadap *E.coli* sebesar 11,33 ± 2,31 mm. Penelitian ini menunjukkan ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S. aureus*.

Kata kunci:, Ekstrak, antibakteri, *Aplysina* sp, *Sarcophyton* sp, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

I. PENDAHULUAN

Resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik-antibiotik yang ditemukan telah menjadi masalah besar bagi kesehatan. Pencarian suatu antibakteri sangat perlu dilakukan untuk menghambat dan membunuh bakteri-bakteri patogen. Untuk menemukan antibakteri yang mampu menghambat dan membunuh bakteri patogen maka perlu diadakan suatu penelitian tentang pencarian bahan bioaktif yang baru.

Potensi antibiotik tersebut telah banyak diketahui terdapat pada sumber daya laut. Banyak peneliti yang mencurahkan perhatiannya pada laut karena selain sebagai sumber pangan, laut juga sebagai sumber obat-obatan. Sumber daya laut yang mempunyai potensi terhadap bahan-bahan aktif antimikroba diantaranya spons, karang lunak, alga merah dan lain-lain. Baru-baru ini spons dan karang lunak banyak menjadi perhatian para peneliti produk alam karena terbukti mengandung senyawa-senyawa aktif (Murniasih dan Satari, 1998).

Spons dan karang lunak yang dimanfaatkan sebagai senyawa bioaktif ini berasal dari alam sehingga perlu upaya budidaya untuk mencegah eksploitasi organisme tersebut (*over fishing*). Salah satu upaya yang dilakukan untuk memenuhi kebutuhan baku obat tanpa mengambil dari alam adalah melakukan pembiakan bakteri yang dihasilkan dari spons dan karang lunak.

Huda (2011) telah melakukan penelitian tentang penapisan bakteri terhadap karang lunak *Sarcophyton* sp. Penapisan tersebut memperoleh isolat bakteri D1¹ yang mampu menghambat bakteri *Escherichia coli* dan isolat D2² yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Pastra (2011) juga telah melakukan penelitian tentang penapisan bakteri terhadap spons *Alpysina* sp. Penapisan bakteri tersebut menghasilkan isolat A2³ yang mampu menghambat *E.coli* dan *S.aureus*. Satu isolat lainnya yaitu isolat A2⁵ hanya mampu menghambat pertumbuhan *E.coli*.

Penapisan bakteri dilakukan Huda (2011) dan Pastra (2011) dengan menginokulasi suspensi bakteri berasosiasi dengan spons dan karang lunak pada media NA yang telah

ditumbuhi bakteri uji. Metode tersebut bersifat kualitatif dan hanya mampu mengetahui bakteri tersebut menghambat bakteri *E.coli* dan *S.aureus* tanpa mengetahui efektifitas bakteri tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektifitas ekstrak bakteri yang berasosiasi dengan spons dan karang lunak dari perairan pulau Tegal Lampung terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan jamur *C. albicans*. Dan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bakteri yang berasosiasi dengan spons dan karang lunak dari perairan pulau Tegal Lampung terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan jamur *C. albicans*.

II. METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2011. Ekstraksi dan uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Gelas Erlenmeyer (ml), Volume pipet (ml), Pipet Filler (ml), Tabung reaksi (ml), Autoklaf (°C), Timbangan (gr), Kertas cakram (mm), Jangka sorong (mm), Jarum ose (µl), Inkubator (°C), Hotplate (gr), *Petri dish* (ml), Kapas (gr), Bunsen (ml), Botol Semprot (ml), Rak tabung reaksi (buah), Bilik Laminar (°C), *Rotary evaporator* (°C), Kamera (pixel). Bahan yang digunakan meliputi medium NA (Nutrien Agar) (gr), medium NB (Nutrien Broth) (gr), air laut steril (ml), biakan bakteri *E.coli* (µl), *S.aureus* (µl), jamur *C. albicans* (µl), metanol (ml), medium Sabouraud Dextrose Agar (gr), medium Sabouraud Dextrose Broth (gr), biakan Bakteri (A2³, A2⁵) dan (D1¹, D2²) (µl).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi bakteri *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp

Bakteri yang berasosiasi *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²) ditumbuhkan pada media NA dengan air laut dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Media NA yang telah ditumbuhi bakteri dipotong-potong kecil dan siap untuk dimaserasi. Maserasi dilakukan dengan

merendam potongan-potongan kecil media NA kedalam pelarut metanol 70 % sampai terendam seluruhnya selama 3 hari, kemudian disaring dengan kertas penyaring. Ekstrak hasil maserasi yang dihasilkan ditampung dan diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan Rotary evaporator pada suhu 45-50 °C, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental bakteri. (Quinn 1988 diacu dalam Gunawan 2007).

Pengenceran Ekstrak dalam berbagai konsentrasi

Pengenceran ekstrak bakteri yang berasosiasi dengan *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp dilakukan dengan mengencerkan ekstrak dari 100%, menjadi 10%, 5%, 1%, 0,05% dan 0,05%.

Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Kultur bakteri yang digunakan adalah *E. coli* dan *S.aureus*. Biakan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* sebanyak satu ose diinokulasikan ke dalam 9 ml medium NB secara terpisah dan aseptik kemudian diinkubasi selama 24 jam. (Lay, 1994).

Kultur jamur yang digunakan adalah *C. albicans*. Biakan *C. albicans* sebanyak satu ose diinokulasikan ke dalam medium SDB (Sabouraud Dextrose Broth) secara terpisah dan aseptik kemudian diinkubasi selama 24 jam. (Lay, 1994).

Pengujian Ekstrak sebagai Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap *E.coli*, *S.aureus*, dan jamur *C. albicans*. Kertas cakram 6 mm dimasukkan kedalam medium bakteri dan ditetesi dengan larutan ekstrak pada konsentrasi 100%. Kemudian disimpan didalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C dan diukur diameter hambatan yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan mm. (Salni, 2003).

Penetapan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Larutan ekstrak dengan konsentrasi 100% bertujuan untuk mengetahui kadar terendah dari sampel ekstrak yang masih memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Metode yang dilakukan adalah dengan metode agar padat. Pembuatan seri konsentrasi mulai dari 10%, 5%, 1%, dan 0,05%. Pelarut yang digunakan adalah metanol (Salni, 2003).

Pengamatan Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambatan yang terbentuk karena adanya daya antibakteri dari hasil ekstraksi *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp. Bagian yang diukur dari sisi sebelah kiri sampai sisi sebelah kanan dengan menggunakan jangka sorong dalam ukuran mm (Salni, 2003).

Analisis Data

Analisis Data yang digunakan dalam penelitian ini ialah menggunakan analisis deskriptif. Hasil ekstrak kental bakteri dari hasil ekstraksi isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²) di uji lanjut pada uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Nilai KHM ditentukan dengan menentukan konsentrasi terendah dalam mengetahui isolat bakteri yang masih mampu menghambat bakteri *E.coli*, *S.aureus* dan *C.albicans*. Kemudian dilanjutkan dengan penentuan Standar deviasi dengan menggunakan *microsoft excel 2007*. Perhitungan standar deviasi untuk mengetahui seberapa luas penyimpangan nilai data tersebut dari nilai rata-rata zona hambatan yang terbentuk.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi isolat bakteri *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp

Ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp yang dihasilkan dari proses maserasi yang diuapkan dengan menggunakan *Rotary Evaporator* berupa ekstrak kental (Gambar 1).



Gambar 1. Ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp dengan menggunakan pelarut metanol

Uji antibakteri

Hasil uji antibakteri dengan menggunakan 100% ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³,A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹,D2²) terhadap bakteri *E.coli*, *S.aureus*, dan jamur *C.albicans* menunjukkan adanya antibakteri dari ekstrak tersebut. Adanya antibakteri tersebut ditandai dengan adanya zona hambat disekitar paper dish yang telah diberi ekstrak antibakteri tersebut yang diujikan pada bakteri *E.coli*, *S.aureus*, dan jamur *C.albicans* (Tabel 1).

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak 100 % isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³,A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹,D2²) terhadap bakteri *E.coli*, *S.aureus*, dan jamur *C.albicans*

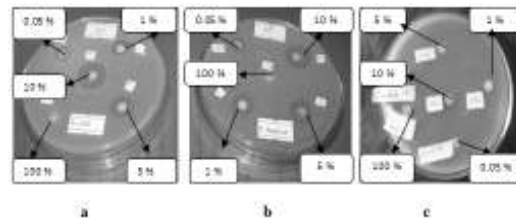
Isolat bakteri	Zona hambat (mm)			Kekuatan antibiotik (Davidstout, 1971)
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>	Kategori
A2 ³	9 ± 2,65	8 ± 1,00	-	Sedang
A2 ⁵	8,67 ± 2,52	8,67 ± 2,52	-	Sedang
D1 ¹	7,67 ± 1,55	7 ± 1,00	-	Sedang
D2 ²	8,33 ± 1,52	9 ± 1,73	-	sedang

Keterangan: (-) = tidak ada zona hambat

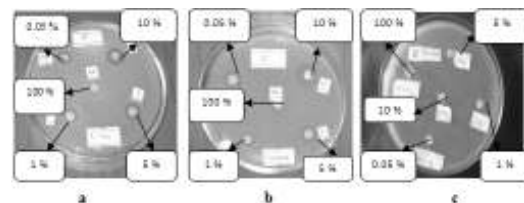
Menurut Davidstout (1971) aktivitas antibakteri pada konsentrasi 0.05% ekstrak isolat D2² terhadap *S aureus* dan ekstrak isolat A2³ terhadap *E.coli* tergolong sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan daerah hambatan (5-10 mm).

Uji KHM ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²) terhadap bakteri *E.coli*, *S. aureus* dan jamur *C.albicans*

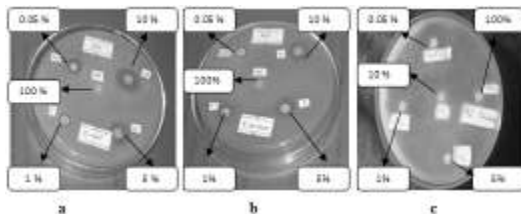
Hasil pengamatan pada ekstrak isolat bakteri A2³, A2⁵, D1¹ dan D2² menunjukkan konsentrasi hambat minimum pada konsentrasi terendah yaitu pada konsentrasi 0.05 % masih menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Hasil ekstrak isolat bakteri A2³, A2⁵, D1¹ dan D2² pada konsentrasi 0.05% yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar terdapat pada ekstrak isolat D2² terhadap *S.aureus* sebesar 11±1,00 mm dan pada ekstrak isolat A2³ terhadap *E.coli* sebesar 11,33 ± 2,31 mm (Gambar 2,3,4,5 dan Tabel 2).



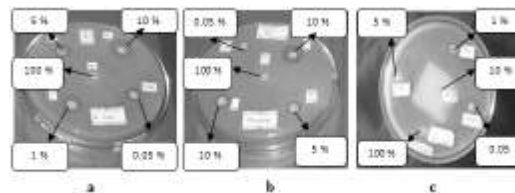
Gambar 2. Hasil uji KHM ekstrak A2³ terhadap a. *E.coli* b.*S.aureus* dan c. *C.albicans*



Gambar 3. Hasil uji KHM ekstrak A2⁵ terhadap a. *E.coli* b.*S.aureus* dan c. *C.albicans*



Gambar 4. Hasil uji KHM ekstrak D1¹ terhadap a. *E.coli* b.*S.aureus* dan c. *C.albicans*



Gambar 5. Hasil uji KHM ekstrak D2² terhadap a. *E.coli* b.*S.aureus* dan c. *C.albicans*

Tabel 2. KHM ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²) terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan jamur *C. albicans*

Isolat Bakteri	Bakteri & Jamur Uji	Konsentrasi Hambat Minimum (mm)			
		10%	5%	1%	0.05%
A2 ³	<i>E.coli</i>	17,66 ± 5,89	13,67 ± 3,79	10 ± 4,35	11,33 ± 2,31
	<i>S.aureus</i>	18 ± 3,00	13,33 ± 4,04	11 ± 1,73	9 ± 1,73
	<i>C.albicans</i>	-	-	-	-
A2 ⁵	<i>E.coli</i>	15±4,36	13±3,60	9,33±1,15	9,33±3,21
	<i>S.aureus</i>	14,67±3,52	12±1	10±1,73	10±1
	<i>C.albicans</i>	-	-	-	-
D1 ¹	<i>E.coli</i>	15,33±3,05	11,33±1,53	9±1	9±2
	<i>S.aureus</i>	15±1,73	11,67±2,08	10±1	9,33±3,21
	<i>C.albicans</i>	-	-	-	-
D2 ²	<i>E.coli</i>	16±2,65	11±1,73	12,33±3,21	9,67±2,52
	<i>S.aureus</i>	15,33±3	12,33±3	9±2	11±1
	<i>C.albicans</i>	-	-	-	-

Keterangan: (-) = Tidak terbentuk zona hambat

Hasil pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling besar pada ekstrak isolat A2³ terdapat pada konsentrasi 10% terhadap *S.aureus* sebesar 18±3,00 mm dan terhadap *E.coli* sebesar 17,67±5,89 mm. Pada Tabel 2 dapat dilihat pada konsentrasi 10% memiliki zona hambat paling besar. Hal ini disebabkan besar kecilnya nilai standar deviasi dari masing-masing isolat mempengaruhi besar kecilnya nilai zona hambat pada Tabel 6. Hal lain yang mempengaruhi besarnya daerah hambatan pada masing-masing konsentrasi ditentukan dari besarnya konsentrasi pada isolat bakteri. Menurut ketentuan kekuatan antibiotik Davidstout (1971), konsentrasi 10% ekstrak isolat A2³ tergolong memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat dengan daerah hambatan (10-20 mm). Konsentrasi Hambat Minimum yang masih menunjukkan

aktivitas antibakteri terdapat pada konsentrasi 0.05 % terhadap *E.coli* sebesar 11,33±2,31 mm dan terhadap *S.aureus* sebesar 9±1,73 mm. Nilai konsentrasi hambat minimum diketahui dengan melihat pada konsentrasi terendah masih menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

Antibakteri dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap mikroba apabila nilai konsentrasi hambat minimumnya rendah tetapi mempunyai daya hambat yang besar. Suatu bahan dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri apabila diameter hambat yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm (Iskandar *et al.*, 2009). Menurut Davidstout (1971), kekuatan antibiotik ekstrak isolat A2³ pada konsentrasi 0.05 % termasuk dalam kategori sedang untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat minimum pada konsentrasi 0.05 % merupakan petunjuk konsentrasi antibakteri yang mampu

menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan juga memberi petunjuk mengenai dosis yang diperlukan dalam pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Konsentrasi hambat minimum ekstrak isolat A2⁵ terhadap jamur *C.albicans* pada konsentrasi (10, 5, 1, dan 0,05) % tidak menunjukkan adanya aktivitas antijamur.

IV. KESIMPULAN

Ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* karena memiliki daerah hambatan dalam kategori kuat (10-20 mm) dan sedang (5-10 mm) sesuai dengan ketentuan kekuatan antibiotik oleh Davidstout (1971) tetapi tidak efektif menghambat pertumbuhan jamur *C.albicans*. Berdasarkan hasil pengamatan, Konsentrasi Hambat Minimum dari ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp (A2³, A2⁵) dan *Sarcophyton* sp (D1¹, D2²) memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar terdapat pada konsentrasi 10% ekstrak isolat A2³ terhadap *S.aureus* sebesar 18 ± 3,00 mm dan 17,66 ± 5,89 mm terhadap *E.coli* dan masih menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada konsentrasi 0.05% yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar pada ekstrak isolat D2² terhadap *S.aureus* sebesar 11 ± 1,00 mm dan ekstrak isolat A2³ terhadap *E.coli* sebesar 11,33 ± 2,31 mm sehingga ekstrak isolat bakteri *Aplysina* sp dan *Sarcophyton* sp berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S. aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan, 1998.
- Fardias, S.1992. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT. Rajawali Grafindo Persada: Jakarta.
- Gunawan, I. 2007. *Penampiasan Awal Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antibakteri serta Uji Toksisitas dan Uji Minimum Inhibitor Concentration (MIC) dari Karang Lunak Asal Perairan Pulau Panggang, Kepulauan seribu [skripsi]*. Fakultas perikanan dan Ilmu kelautan, IPB. Bogor.
- Huda. C. 2011. *Penapisan Aktivitas dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Karang Lunak Sarcophyton sp [Skripsi]*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
- Jawetz. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba medika. Jakarta.
- Lay B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. P.T. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Manuputy. A. 1998. *Beberapa Karang Lunak (Alcyonaria) Penghasil Substansi Bioaktif*. Seminar Potensi Farmatik dan Bioaktif Sumberdaya Hayati Terumbu Karang .Manado.
- Murniasih, T dan Satari, R. 1998. *Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu*. Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia. Laboratorium Produk Alam Laut, Puslitbang Oseanologi LIPI.
- Nofiani R, Nurbetty S, dan Sapar A. *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis, Vol. 1, No.2, Hal. 33-41, Desember 2009.
- Pastra. D. A. 2011. *Penapisan bakteri yang bersimbiosis dengan spons jenis Aplysina sp sebagai penghasil antibakteri dari perairan pulau tegal lampung [Skripsi]*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
- Salni.2003. *Karakterisasi dan Uji Aktifitas Topikal Senyawa Antibakteri dari Daun Karamunting*. [Tesis]. ITB. Bandung.
- Stout, R. T. and Davis, W.W. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. Applied microbiology, oct. 1971, p. 666-670 vol. 22, no. 4 The Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Co., Indianapolis, Indiana 46206 Received for publication 7 june 1971.