

## AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETIL ASETAT BUAH DAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* Linn) TERHADAP MIKROBA *Salmonella thypimurium* dan *Aspergillus flavus*

Ana Suliani<sup>\*1</sup> Madyawati Latief<sup>2</sup> Silvi Leila Rahmi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jambi, <sup>2,3</sup>Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi \*1  
e-mail: [madya246@yahoo.co.id](mailto:madya246@yahoo.co.id)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas senyawa antimikroba ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) terhadap mikroba *Salmonella thypimurium* dan *Aspergillus flavus*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi ekstrak 0%, 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% dengan 3 x ulangan. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella thypimurium*, tetapi tidak dapat menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Aspergillus flavus*. Konsentrasi 6% pada ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Salmonella thypimurium* dengan diameter zona hambat 2,83 mm pada buah dan 2 mm pada daun.

**Kata kunci** : antimikroba, ekstrak, etil asetat

### Abstract

This research aims to study the antimicrobial activity of the ethyl acetate extract from *Averrhoa bilimbi* Linn fruits and leaves against *Salmonella thypimurium* and *Aspergillus flavus*. The experiment use a completely randomized design, with extract concentration 0%, 2%, 4%, 6%, 8%, and 10% respectively, with three repetition. Antimicrobial test was performed by disc diffusion method. The result show that the ethyl acetate extract from *Averrhoa bilimbi* Linn has antimicrobial activity against *Salmonella thypimurium*, but the both extract don't have antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. The ethyl acetate extract from *Averrhoa bilimbi* Linn, with 6% concentrate, show antimicrobial activity against *Salmonella thypimurium* with inhibitory zone diameter, respectively at 2,83 mm of the fruits and 2 mm of the leaves.

Keyword: ethyl acetate extract of the fruits and leaves of the *Averrhoa bilimbi* Linn, *Salmonella thypimurium*, *Aspergillus flavus*, and antimicrobial.

### PENDAHULUAN

Bahan pangan mengandung gizi tinggi sehingga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan berbagai mikroba. Selain ada yang menguntungkan, keberadaan mikroba merugikan kerap terjadi sehingga sering menimbulkan kerusakan pada bahan pangan. Penyebab utama kerusakan pada bahan pangan oleh mikroba berasal dari bakteri, kapang, dan khamir. Bahan pangan yang telah tercemar menyebabkan penurunan pH, penyimpangan bau dan rasa, bahkan dapat menimbulkan toksin/racun yang berbahaya bagi manusia, seperti racun yang dihasilkan oleh mikroba patogen *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*. Kapang penghasil racun seperti *Aspergillus flavus* yang menghasilkan aflatoksin.

Keracunan pangan yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella sp* yang umum adalah *Salmonella typhimurium* dan *Salmonella enteritidis*. Infeksi bakteri *Salmonella* baru akan menyebabkan serangan akut apabila jumlahnya signifikan sekitar  $10^6$  koloni/g atau lebih. Sumber infeksi terjadi akibat kontaminasi silang misalnya pencemaran makanan oleh tikus, kecoa, lalat dan serangga lainnya. Salmonellosis dicirikan oleh diare hebat disertai darah setelah 12 – 24 jam masa inkubasi dan dapat membawa kematian. *Salmonella thypimurium* sering dijumpai pada daging unggas dan daging sapi serta produk olahannya seperti karkas ayam, bakso ayam, sosis, cornet dan lain-lain. Berdasarkan SNI 01-3820-1995, cemaran *Salmonella* pada sosis daging harus negatif, *Clostridium perfringens* negatif, dan *S. aureus* maksimal  $10^2$  koloni/g (Albiner, 2002).

Selain bakteri, produk pangan juga rentan terjadinya kontaminasi dari mikroba jamur. Salah satunya adalah *Aspergillus flavus* yang sering mengkontaminasi produk olahan dari bahan serelia dan kacang-kacangan, seperti bumbu pecel dan petis udang. *Aspergillus flavus* menghasilkan aflatoksin yang dapat menyebabkan kegagalan fungsi hati dan kanker hati pada manusia. Kadar aflatoksin yang diizinkan di Indonesia adalah 20 mikrogram per kg, sedangkan masyarakat Eropa 10 mikrogram per kg (Anonim, 2010).

Penggunaan senyawa antimikroba khususnya yang alami secara umum mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Senyawa antimikroba yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun pembusuk. Senyawa antimikroba tersebut dapat berasal dari bagian tumbuhan seperti bunga, biji, buah, rimpang, batang, daun dan umbi (Rahayu, 2000).

Indonesia memiliki berbagai spesies tanaman yang sebenarnya dapat memberikan banyak manfaat, terutama dari senyawa bioaktif ekstrak tanaman tersebut. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) adalah tanaman yang belum banyak dimanfaatkan sebagai antimikroba pada bahan pangan.

Berdasarkan hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh yang dilakukan Herlih (1993) dalam Hayati (2009) menunjukkan bahwa buah belimbing wuluh mengandung golongan senyawa oksalat, minyak menguap, fenol, flavonoid dan pektin. Sedangkan kandungan senyawa aktif dalam daun belimbing wuluh adalah tanin, sulfur, asam format, dan flavonoid (Wijayakusuma, 2006).

Beberapa penelitian tentang aktivitas antimikroba belimbing wuluh telah dilakukan, diantaranya penelitian Lathifah (2008), hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah belimbing wuluh yang menggunakan pelarut etanol berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Selanjutnya dalam penelitian Ummah (2010) yang menguji aktivitas antimikroba senyawa tanin dari daun belimbing wuluh pelarut aseton : air berpotensi menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa jenis pelarut untuk ekstraksi mempengaruhi kemampuan aktivitas antimikroba. Sampai saat ini penggunaan pelarut

etil asetat untuk ekstraksi senyawa bioaktif antimikroba pada buah dan daun belimbing wuluh belum ada, begitu juga terhadap mikroba uji *Salmonella thypimurium* dan *Aspergillus flavus* belum dilakukan. Etil asetat merupakan pelarut semi polar mudah menguap, tidak beracun, berwujud cairan tak berwarna, dan memiliki aroma khas. Etil asetat memiliki nilai polaritas ( $\epsilon$ ) 0,38 dan titik didih 77,1. Pemilihan etil asetat untuk ekstraksi karena kemampuannya dalam melarutkan komponen dari golongan steroid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, dan glikosida (Laksmijenie *et al.*, 2005).

## **METODOLOGI**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan yaitu buah dan daun belimbing wuluh, etil asetat, media MHA (*Muller Hilton Agar*), PDA (*Potato Dextrose Agar*), NB (*Nutrien Broth*), DMSO (*Dimethylsulfoksida*), serta biakan murni bakteri *Salmonella thypimurium* dan jamur *Aspergillus flavus*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penangas air, autoklaf, kertas kopi, oven, *rotary vacuum evaporator*, inkubator, cawan petri, erlemeyer, jarum ose, timbangan, pinset, tabung reaksi, lampu bunsen, penggaris dan gelas piala.

### **Rancangan Percobaan**

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dengan perlakuan konsentrasi ekstrak etil asetat (b/v) pada buah (B) dan daun (D) belimbing wuluh. Adapun perlakuannya adalah 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%. Masing-masing perlakuan diulang 3x sehingga di dapat 18 satuan percobaan buah dan daun belimbing wuluh.

### **Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Buah dan Daun Belimbing Wuluh (Modifikasi dari Muchlisoh, 2010)**

Tanaman segar buah belimbing wuluh diekstraksi menggunakan metode partisi. Dilakukan dengan cara buah segar ditimbang sebanyak 600 gram dicuci bersih dan dipotong-potong kemudian diblender menggunakan 100 ml aquadest, setelah diblender selanjutnya disaring menggunakan kain saring. Ampas dibuang dan filtrat dipartisi menggunakan etil asetat sebanyak 100 ml. Campuran dikocok dan didiamkan selama 24 jam untuk kemudian dipisahkan fraksi etil asetat buah belimbing wuluh dengan air. Filtrat ekstrak buah belimbing dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50° C sehingga diperoleh ekstrak pekat.

Daun belimbing wuluh masing-masing sebanyak 250 g yang sudah kering diblender sampai menjadi serbuk selanjutnya dimaserasi dengan etil asetat 2000 ml selama 2 x 24 jam dan dilakukan pengadukan beberapa kali kemudian disaring. Filtrat dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50 °C sehingga akan diperoleh ekstrak pekat.

Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dihitung rendemennya, untuk uji senyawa metabolit sekunder, uji antimikroba untuk mengetahui daya hambat, dan uji MIC. Untuk uji antimikroba dan uji MIC menggunakan metode difusi cakram dengan menggunakan media MHA untuk *Salmonella thypimurium* dan media PDA untuk *Aspergillus flavus*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen

Rendemen yang diperoleh dari ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh disajikan pada Tabel 1 berikut.

**Tabel 1.** Rendemen ekstrak buah dan daun belimbing wuluh

Bahan	Berat sampel (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Buah	600	4,1	0,68
Daun	250	24,33	9,73

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa ekstrak pekat etil asetat pada buah dan daun belimbing wuluh menghasilkan rendemen yang berbeda. Perbedaan rendemen tiap ekstrak karena perbedaan kandungan air yang terdapat pada masing-masing bahan. Ekstraksi buah menggunakan buah segar sebagai sampel dimana kandungan airnya cukup tinggi sehingga ekstrak yang dihasilkan rendah. Ekstraksi daun menggunakan serbuk kering sehingga menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dari pada ekstrak buah. Perbedaan rendemen juga diduga karena perbedaan proses ekstraksi, dimana proses ekstraksi buah belimbing wuluh menggunakan metode ekstraksi partisi sedangkan pada proses ekstraksi daun belimbing wuluh menggunakan metode ekstraksi maserasi.

Ekstraksi partisi/ekstraksi cair-cair pada buah belimbing wuluh dilakukan dengan cara memisahkan zat yang berbeda kepolarannya dengan corong pisah, kemudian dilakukan pengocokan sehingga terjadi distribusi zat terlarut di antara kedua pelarut. Menurut Harvey (2000) syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah setelah pengocokan. Sebagian besar senyawa yang ada pada buah belimbing wuluh bersifat polar, seperti flavonoid sehingga sedikit larut dalam pelarut etil asetat yang memiliki kepolaran yang rendah, yaitu 0,38. Hal ini menyebabkan rendemen yang didapat juga rendah. Menurut Naidu (2000) dalam Pandiangan (2003) menyatakan bahwa pelarut dengan polaritas rendah seperti etil asetat hanya mampu mencuci atau membilas sampel, sehingga komponen aktif di dalam sel tumbuhan hanya sedikit yang dapat terekstrak.

Proses ekstraksi daun belimbing wuluh dilakukan dengan cara maserasi. Maserasi merupakan proses pengambilan komponen target yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia ke dalam pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu. Isi sel akan

larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (Sudjadi 1986 *dalam* Dewi (2010) ).

### Senyawa Metabolit Sekunder

**Tabel 2.** Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh

Metabolit sekunder	Buah	Daun
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	-
Fenol	+	-
Tanin	-	+
Saponin	-	-
Terpenoid	-	-
Steroid	+	+

Keterangan: + : senyawa terdapat pada ekstrak

- : senyawa tidak ada pada ekstrak

Berdasarkan Tabel 2, dapat diketahui bahwa ekstrak etil asetat pada buah dan daun belimbing wuluh positif dapat melarutkan komponen senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan steroid. Diduga komponen tersebut aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba.

Senyawa alkaloid bekerja dengan cara mengganggu lapisan dinding sel mikroba, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan dapat menyebabkan pertumbuhan sel terhambat bahkan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1998).

Senyawa fenol dan flavonoid merupakan salah satu antimikroba yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma yang tersusun oleh 60% protein dan 40% lipid yang umumnya berupa fosfolipid. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim mikroba, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk dan Wheller, 1993).

Mekanisme kerja tanin sebagai antimikroba menurut Naim (2004) berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel.

Senyawa steroid bekerja dengan merusak struktural membran sel mikroba. Menurut Nursal, *et al* (2006) *dalam* Mahfud (2011) senyawa steroid dapat berikatan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel dan dapat menimbulkan lisis pada sel.

### **Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Buah dan Daun Belimbing Wuluh terhadap *Salmonella thypimurium***

Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari nilai diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu zona bening disekitar kertas cakram dikurangi diameter kertas cakram. Menurut Ardiansah (2005) menyatakan bahwa diameter daerah hambat 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan 5 mm atau kurang berarti lemah. Hasil uji antimikroba ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh terhadap *Salmonella thypimurium* dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

**Tabel 3.** Diameter daerah hambat ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh terhadap *Salmonella thypimurium*

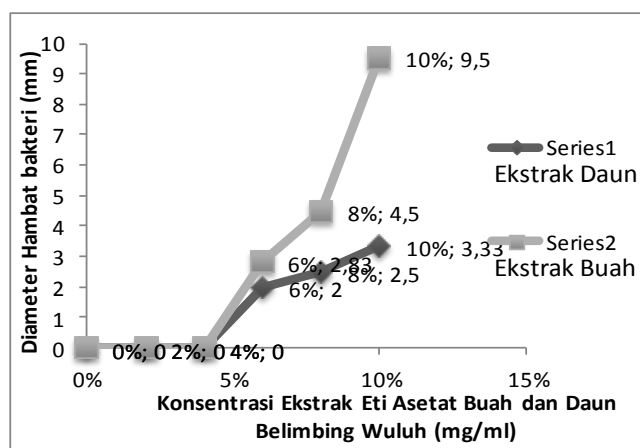
Konsentrasi ekstrak	Diameter hambat (mm)	
	ekstrak buah	ekstrak daun
10%	9,5a	3,33a
8%	4,5b	2,5b
6%	2,83c	2b
4%	0d	0c
2%	0d	0c
0%	0d	0c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang tidak sama berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

Dari Tabel 3 terlihat bahwa ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba yaitu bakteri *Salmonella thypimurium*. Ekstrak etil asetat buah belimbing wuluh pada konsentrasi 10% menghasilkan diameter daerah hambat paling tinggi yaitu 9,5 mm termasuk dalam kategori diameter daerah hambat sedang, diikuti oleh konsentrasi 8% (4,5 mm) dan 6% (2,83 mm) dalam kategori diameter daerah hambat lemah, sedangkan pada konsentrasi 4%, 2%, dan 0% tidak terbentuk daerah hambat. Ekstrak etil asetat daun belimbing wuluh pada konsentrasi 10% menghasilkan diameter daerah hambat 3,33 mm, diikuti 8% (2,5 mm) dan 6% (2 mm), ke tiga konsentrasi ini masuk dalam kategori diameter daerah hambat lemah, sedangkan pada konsentrasi 4%, 2%, dan 0% tidak terbentuk daerah hambat. Kemampuan ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella thypimurium* karena adanya senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hasil uji fitokimia ekstrak etil asetat buah belimbing wuluh terkandung berbagai senyawa aktif, yaitu fenol, flavonoid, steroid dan alkaloid. Hal ini diperkuat dari hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh yang dilakukan Herlih (1993) dalam Lathifah (2008) yang menunjukkan bahwa buah belimbing wuluh mengandung golongan senyawa oksalat, fenol, flavonoid dan pektin.

Kemampuan ekstrak etil asetat daun belimbing wuluh dalam menghambat *Salmonella thypimurium* karena pada daun belimbing wuluh terdapat senyawa aktif seperti

tanin, steroid, dan alkaloid. Hal ini diperkuat oleh penelitian Lidyawati (2006) bahwa penapisan fitokimia ekstrak metanol daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Dimana senyawa-senyawa ini aktif dalam menghambat beberapa pertumbuhan mikroba. Perubahan diameter zona hambat ekstrak etil asetat buah belimbing wuluh disajikan pada gambar 1.



**Gambar 1.** Aktivitas ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh terhadap *Salmonella thymurium*

#### **Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Buah dan Daun Belimbing Wuluh terhadap *Aspergillus flavus***

Hasil pengamatan aktivitas antimikroba ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh tidak menunjukkan adanya diameter daerah hambat. Hal ini diketahui dari tidak terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Ketidak aktifan ini diduga karena pada ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh tidak terdapat senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan jamur tersebut, seperti sineol, karanol, sinamaldehyd, dan eugenol. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Handajani dan Tjahjadi (2003) bahwa sineol dan karanol dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus sp* dan Thomas (1984) menyatakan bahwa sinamaldehyd dan eugenol yang terdapat pada cengkeh dan kayu manis memperlihatkan keaktifannya dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus*.

**Tabel 4.** Diameter daerah hambat ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh terhadap *Aspergillus flavus*

Konsentrasi ekstrak	Diameter hambat (mm) ekstrak buah	Diameter hambat (mm) ekstrak daun
10%	0	0
8%	0	0



6%	0	0
4%	0	0
2%	0	0
0%	0	0

### Nilai MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*)

Uji bakteri yang telah dilakukan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypimurium* pada buah dan daun adalah pada konsentrasi 6% sehingga untuk menentukan nilai MIC dipilih konsentrasi antara 4,5%, 5%, dan 5,5%. Penentuan MIC dilakukan dengan metode difusi cakram dengan menggunakan kertas cakram berdiameter 5 mm.

**Tabel 5.** Nilai MIC *Salmonella thypimurium* terhadap ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh

Konsentrasi (%)	Kemampuan Menghambat	
	Ekstrak buah (mm)	Ekstrak daun (mm)
4,5	0	0
5	0	0
5,5	0	0
6	2,83	2

Dari Tabel 5 dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 4,5%, 5%, dan 5,5% ekstrak etil asetat pada buah dan daun belimbing wuluh tidak memiliki daya hambat karena bakteri tidak dapat tumbuh disekitar kertas cakram yang dilihat dari tidak terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Sedangkan pada konsentrasi 6%, bakteri sudah dapat dihambat pertumbuhannya. Dalam hal ini maka dapat disimpulkan bahwa nilai MIC untuk *Salmonella thypimurium* ekstrak etil asetat buah belimbing wuluh adalah pada konsentrasi 6% dengan diameter zona hambat yaitu 2,83 mm, sedangkan ekstrak etil asetat daun belimbing wuluh nilai MIC-nya juga pada konsentrasi 6% dengan diameter zona hambat 2 mm. Menurut Lathifah (2008) kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri tergantung dari konsentrasi dan jenis senyawa yang terlarut dalam ekstrak. Konsentrasi ekstrak yang semakin besar menghasilkan daya hambat yang besar pula pada mikroba uji (Thomas, 1984). Diduga jenis senyawa yang ada pada ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh tidak mampu menghambat bakteri pada konsentrasi yang rendah. Dalam penelitian Mahfud (2011) menyatakan bahwa ekstrak jahe mampu menghambat pertumbuhan *Samonella thypimurium* pada konsentrasi 5%.



## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Penggunaan ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypimurium*, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus*.
2. Pemberian ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh 6% telah dapat menekan pertumbuhan *Salmonella thypimurium*.

### Saran

Dari penelitian ini dapat disarankan untuk melakukan pengujian ekstrak etil asetat buah dan daun belimbing wuluh lebih lanjut dengan mengaplikasikan langsung pada bahan pangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albiner. 2002. Mikroba Patogen pada Makanan dan Sumber Pencemarannya. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara.
- Anonim. 2010. Cemaran-Aflatoksin. <http://www.smartani.com>. Diakses tanggal 22 Januari 2012.
- Ardiansyah. 2005. Antimikroba dari Tumbuhan (Bagian Kedua). <http://www.beritaiptek.com.=berita=beritaiptek=2007-06-03-antimikroba-dari-tumbuhan>. Diakses tanggal 30 Juli 2011.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Handajani dan Tjahjadi Purwoko. 2003. Aktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus sp* Penghasil aflatoksin dan *Fusarium moniliforme*. Biodiversitas. Fakultas MIPA. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Harvey, 2000. Modern Analytical Chemistry, McGraw- Hill Companies Inc., New York
- Hayati. E.K. 2009. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh. Jurnal Kimia 4 (2) Juli 2010:193-200.ISSN 1907-0850.
- Laksmijenie, B.S., Feri kurnandar, Mirnawati, dan Herastuti Rukmini. 2005. Aktivitas Antibakteri Bunga Kecombrang Terhadap bakteri Patogen dan Perusak Pangan. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol.XVI No. 2 Th. 2005.
- Lathifah. 2008. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L*) dengan Variasi Pelarut. Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang.
- Lidyawati. 2006. Karakterisasi Simplisia dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>. Diakses tanggal 2 Agustus 2011.

- Mahfud. 2011. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* roxb) terhadap Hambatan Pertumbuhan Koloni Bakteri *Samonella thypimurium*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Muchlisoh. 2010. Pengaruh Ekstrak Kasar dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh terhadap Aktivitas Antibakteri secara In Vitro. Skripsi. Universitas Islam Maulana Malik. Malang.
- Naim. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tumbuhan. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Pandiangan. 2003. Stabilitas Antimikroba Temulawak (*Curcuma xantoriza* Roxb) terhadap Mikroba Patogen. Jurnal. Media Unika Tahun 20 Nomor 73 Edisi ke 4.
- Poeloengan dan Praptiwi (2010). Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). Artikel . Media Litbang Kesehatan volume xx Nomor 2 Tahun 2010.
- Rahayu, P.W. 2000. Aktivitas Bumbu Masakan Tradisional Terhadap Bakteri Patogen. Buletin Teknologi dan Industri Pangan. Vol XI no 2 Th. 2000.
- Robinson. 1995. Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan oleh Prof.Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung.
- Thomas, P.R. 1984. Pempelajari Pengaruh Bubuk Rempah-rempah terhadap Kapang *Aspergillus flavus* Link. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Ummah.2010. Ekstraksi dan Pengujian aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi* L) (kajian Variasi Pelarut). Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang.
- Volk, W.A. dan Wheeler (1993). Mikrobiologi Dasar Jilid 1. Alih bahasa Markham. PT Gelora Aksara. Jakarta
- Wijayakusuma. 2006. Ramuan Tradisional. <http://www.emlab.comssamplingery-report.html>. Diakses tanggal 27 Juli 2011.