

Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (*Antibacterial Activity of Manalagi Apple Peel (Malus sylvestris* Mill.) Extract on The Growth of *Streptococcus mutans*)

Rabbani Hafidata Jannata, Achmad Gunadi, Tantin Ermawati
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: gunphd@telkom.net

Abstract

Apple is a popular fruit which is consumed by many people in Indonesia. Manalagi apple's peel contains polyphenols that have antibacterial effects. *Streptococcus mutans* is the normal flora that can cause oral disease. One of alternative medications to prevent the disease by using natural products as antibacterial. This research is aimed to determine the antibacterial activity manalagi apple's peel extract on the growth of *S. mutans* and minimum concentration to inhibit growth. The method of this research is well diffusion method with 8 samples for each treatment. Samples consisted of five treatment groups which is manalagi apple's peel extract with concentration of 100%, 50%, 25%, positive control group (chlorhexidine 0.2%), and negative control group (aquadest sterile). Data were analyzed using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test. The results of this research showed that manalagi apple's peel extract at all concentrations have antibacterial activity against the growth of *S. mutans*. Minimum inhibition concentration of manalagi apple's peel extract is 25%. The conclusion of this research proves that manalagi apple's peel extract has antibacterial activity against *S. mutans* growth.

Keywords: Antibacterial activity, manalagi apple's peels, *Streptococcus mutans*, well diffusion method.

Abstrak

Apel merupakan buah yang populer dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Kulit apel manalagi mengandung polifenol yang mempunyai efek antibakteri. *Streptococcus mutans* merupakan flora normal yang dapat menyebabkan penyakit gigi dan mulut. Salah satu alternatif untuk mencegah penyakit tersebut dengan menggunakan produk alami sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri dan konsentrasi terendah ekstrak kulit apel manalagi dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran dengan menggunakan 8 sampel pada setiap kelompok perlakuan. Sampel terdiri dari 5 kelompok perlakuan yaitu ekstrak kulit apel manalagi konsentrasi 100%, 50%, 25%, kelompok kontrol positif (*chlorhexidine* 0,2%), dan kelompok kontrol negatif (aquades steril). Analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit apel manalagi pada semua konsentrasi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans* adalah 25%. Kesimpulan dari penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak kulit apel manalagi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Kata Kunci: Daya antibakteri, kulit apel manalagi, metode difusi sumuran, *Streptococcus mutans*

Pendahuluan

Indonesia sebagai daerah tropis memiliki berbagai macam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif alami. Apel selain populer dikonsumsi juga memiliki nilai gizi tinggi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Kulit apel bermanfaat sebagai antibakteri, antioksidan dan antiproliferatif [1]. Kulit buah apel mengandung senyawa polifenol lebih banyak daripada daging buahnya [2]. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia, antara lain kuersetin, katekin, *phloridzin*, dan asam klorogenik [3]. Ekstrak kulit apel juga telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853[4].

S. mutans merupakan flora normal yang dapat menyebabkan penyakit gigi dan mulut. *S.mutans* banyak terdapat pada plak [5]. Pada awal pembentukan plak, kokus gram positif merupakan jenis yang paling banyak dijumpai seperti *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius* dan beberapa strain lainnya [6]. Pencegahan penyakit gigi dan mulut salah satunya dengan cara pengendalian plak. Plak dapat dikendalikan dengan cara berkumur menggunakan obat kumur [7].

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti ingin mengetahui daya antibakteri dan konsentrasi terendah ekstrak kulit apel manalagi dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakannya ekstrak kulit apel manalagi sebagai alternatif bahan obat kumur.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design* yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan ekstrak kulit apel Manalagi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. *S.mutans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A), *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B), aquades steril (Kimia

Farma, Indonesia), obat kumur *chlorhexidine* 0,2% (Minosep, Indonesia), etanol 70% (Kimia Farma, Indonesia), alkohol 70% (Kimia Farma, Indonesia), galur murni bakteri *S. mutans* strain CJ2 (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga), dan kulit apel manalagi yang diperoleh dari perkebunan apel manalagi Kecamatan Bumiaji Kota Batu.

Pembuatan ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) diawali dengan mencuci 6 kg buah apel manalagi kemudian diambil kulitnya menggunakan *multi purpose knife*. Setelah itu dilakukan pengerokan menggunakan pisau biasa untuk menghindari iktunya daging buah pada kulit dan menghasilkan kulit apel manalagi sebanyak 198 g. Selanjutnya dipotong kecil-kecil, diangin-anginkan pada suhu kamar selama dua hari, dan dioven pada suhu 40⁰C selama 17 jam hingga diperoleh kulit apel manalagi kering sebanyak 100 g. Kulit apel manalagi kering kemudian diblender dan diayak sampai menjadi bubuk halus sebanyak 84,8 g. Bubuk halus tersebut selanjutnya dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 636 ml selama 48 jam dan disaring menggunakan kertas saring. Maserat kemudian diuapkan sampai bebas dari pelarut etanol menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45⁰-50⁰C. Setelah itu dioven kembali pada suhu 40⁰C selama 12 jam, sehingga didapatkan ekstrak konsentrasi 100% sebanyak 20 ml konsistensi *semi solid* dan berwarna coklat pekat dengan rendemen 23,6% (b/b).

Pembuatan ekstrak kulit apel manalagi dalam berbagai konsentrasi menggunakan metode *serial dilution*. Sediaan ekstrak konsentrasi 50% dilakukan dengan mengambil 1 ml sediaan 100% yang dicampur dengan 1 ml aquades steril. Sediaan ekstrak konsentrasi 25% dilakukan dengan mengambil 1 ml sediaan 50% yang dicampur dengan 1 ml aquades steril.

Pembuatan suspensi *S. mutans* dengan mencampur 2 ml larutan BHI-B steril kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *S. mutans*. Setelah itu, tabung reaksi ditutup kapas, dimasukkan dalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi *S. mutans* dalam tabung reaksi tersebut dikocok menggunakan *thermolyne*. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dengan larutan standar Mc Farland

0,5 dan panjang gelombang 560 nm menggunakan spektrofotometer.

Selanjutnya mempersiapkan *petridish*, pada bagian bawah dibagi menjadi 6 daerah. Masing-masing *petridish* diberi kertas label nomorurut *petridish* 1 sampai 8, kemudian kertas label bertuliskan M100 untuk ekstrak konsentrasi 100%, M50 untuk ekstrak konsentrasi 50%, dan M25 untuk ekstrak konsentrasi 25%. Sedangkan untuk obat kumur *chlorhexidine* (kontrol positif) diberi kode K(+) dan untuk aquades steril (kontrol negatif) diberikan kode K(-).

Uji daya antibakteri menggunakan metode difusi sumuran (*Well diffusion method*). Media BHI-A sebanyak 25 ml dituang ke dalam masing-masing *petridish* steril dan ditunggu sampai hangat sekitar 37°C. Kemudian menginokulasi 0,5 ml suspensi *S. mutans* pada media BHI-A hangat dan diaduk dengan gigaskrin, lalu ditunggu hingga padat sekitar 15 menit. Pada setiap tersebut dibuat 5 lubang sumuran menggunakan sedotan plastik steril berdiameter 5 mm dengan kedalaman lubang sumuran 4 mm. Kemudian dilakukan pemberian 5 µl ekstrak kulit apel manalagi konsentrasi 100%, 50%, 25%, kontrol positif, dan negatif pada setiap lubang sumuran.

Media BHI-A yang telah diinokulasi *S. mutans* dan diberi perlakuan, selanjutnya dimasukkan ke dalam desikator untuk menciptakan suasana anaerob, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. Daerah zona hambat diukur dengan mengukur diameter keseluruhan daerah transparan dikurangi diameter lubang sumuran. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh orang berbeda dan diambil rata – rata.

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas dengan uji Levene. Apabila kedua uji menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji statistik parametrik. Tetapi jika datanya tidak terdistribusi normal atau tidak homogen dapat dilakukan dengan uji statistik non parametrik.

Hasil

Hasil penelitian tentang daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan *S. mutans* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penghitungan rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S. mutans*.

Kelompok	N	\bar{x} (mm)	SD
M100	8	21,5038	1,85096
M50	8	12,2354	1,56609
M25	8	6,7821	1,34758
K(+)	8	5,2935	3,10100
K(-)	8	0,0000	0,00000

N : jumlah sampel

\bar{x} : nilai rata-rata zona hambat

SD : standar deviasi (simpang baku) zona hambat

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata - rata diameter zona hambat yang paling besar adalah pada kelompok M100 yaitu sebesar 21,5038 mm. Kemudian berturut - turut kelompok M50 sebesar 12,2354 mm, kelompok M25 sebesar 6,7821 mm, kelompok K(+) sebesar 5,2935 mm. Sedangkan kelompok K(-) yaitu aquades steril mempunyai nilai rata-rata 0,0000 mm yaitu tidak mempunyai diameter zona hambat.

Data hasil penghitungan kemudian dilakukan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data pada masing – masing kelompok terdistribusi normal. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang diperoleh lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Setelah data dikatakan normal kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene yang bertujuan untuk menguji ragam populasi, apakah setiap varian penelitian ini homogen atau tidak homogen. Hasil uji menunjukkan nilai signifikasinya lebih kecil dari 0,05 berarti data tidak homogen.

Data selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada seluruh kelompok sampel dilakukan. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan diperoleh nilai $\alpha < 0,05$ yang berarti daya hambat terhadap *S. mutans* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan mempunyai perbedaan yang bermakna. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda bermakna maka dilakukan uji Mann-Whitney. Hasil uji Mann-Whitney pada menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok M100 dengan M50, kelompok M100 dengan M25, kelompok M100 dengan K(+), kelompok M100 dengan K(-), kelompok M50 dengan M25, kelompok M50 dengan K(+), kelompok M50 dengan K(-), kelompok M25 dengan K(-), dan kelompok K(+) dengan K(-).

Terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok M25 dengan K(+).

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan tujuan untuk mengetahui daya antibakteri dan konsentrasi minimal ekstrak kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Berdasarkan hasil penelitian yang menggunakan metode difusi sumuran (*Well diffusion method*) ini didapatkan zona hambat. Zona hambat merupakan daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling lubang sumuran. Semakin besar diameter zonanya, berarti semakin besar daya antibakterinya. Menurut Davis dan Stout, kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut, diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat [8].

Secara analisis menyatakan bahwa ekstrak kulit apel manalagi konsentrasi 100%, 50%, dan 25% mempunyai zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penghitungan rata-rata diameter zona hambat pada kelompok perlakuan M100 mempunyai diameter zona hambat yang termasuk kategori sangat kuat. Kemudian kelompok perlakuan M50 mempunyai diameter zona hambat yang termasuk kategori kuat dan kelompok perlakuan M25 mempunyai diameter zona hambat yang termasuk kategori sedang. Sedangkan kelompok perlakuan K(+) obat kumur *chlorhexidine* mempunyai diameter zona hambat yang juga masuk dalam kategori sedang. Pada kelompok perlakuan K(-) aquades steril tidak memiliki daya antibakteri.

Kandungan dalam kulit apel manalagi yang menjadi zat antibakteri adalah polifenol. Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik [3]. Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrigallol dan gugus galloil. Katekin ini mampu menghambat pembentukan plak gigi dengan mencegah pembentukan *extracellular glucan* yang berfungsi sebagai perlekatan bakteri *S. mutans* pada permukaan gigi [9]. Katekin menghambat bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya nutrisi yang

diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian [10].

Kuersetin juga salah satu zat aktif golongan flavonoid. Aktivitas antibakteri kuersetin mengikat sub unit GyrB DNA girase dan menghambat aktivitas enzim ATPase. Dalam penelitian Mirzoeva, menunjukkan bahwa kuersetin menyebabkan peningkatan permeabilitas membran bakteri. Kuersetin juga secara signifikan menghambat motilitas bakteri [11].

Phloridzin termasuk dalam kelompok *dihydrochalcones*, sejenis flavonoid. Flavonoid merusak dinding sel bakteri melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid, sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri [12]. Asam klorogenik juga mempunyai sifat antibakteri. Asam klorogenik menghambat enzim tertentu yang terlibat dalam sintesis asam lemak bakteri. Asam klorogenik juga secara signifikan meningkatkan permeabilitas membran plasma bakteri yang mengakibatkan kebocoran isi sitoplasma termasuk nukleotida [13].

Obat kumur pada penelitian ini merupakan kontrol positif mengandung *chlorhexidine* 0,2% sebagai zat antibakteri, mempunyai daya hambat terhadap *S. mutans*. *Chlorhexidine* mengandung fenol yang memberikan efek bakteristatik pada kadar 0,2-1%, bersifat bakterisid pada kadar 0,4-1,6%, dan bersifat fungisidal pada kadar diatas 1,3%. Kandungan bahan dasar *chlorine* merupakan desinfektan tingkat tinggi karena sangat aktif pada semua bakteri, virus, fungi, parasit, dan beberapa spora [14]. *Chlorhexidine* merupakan bisbiguanida bermuatan positif yang dapat menyerap ke tempat yang bermuatan negatif, seperti beberapa komponen dari biofilm pada permukaan gigi, misalnya, bakteri, polisakarida ekstraseluler, dan glikoprotein. Interaksi ini akan meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri yang menyebabkan terjadinya penetrasi ke dalam sitoplasma yang menyebabkan kematian mikroorganisme [15].

Struktur dinding sel bakteri juga menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri. Bakteri *S. mutans* merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang

berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Kulit apel banyak mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar pada dinding sel bakteri [16]. Senyawa antibakteri yang masuk tersebut akan mengakibatkan tekanan osmotik di dalam sel lebih besar, sehingga menyebabkan lisis [17].

Ekstrak kulit apel manalagi konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang mempunyai daya antibakteri paling efektif terhadap pertumbuhan *S.mutans* daripada konsentrasi yang lain. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit apel manalagi, semakin besar diameter zona hambatnya, begitu pula sebaliknya. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit apel manalagi maka semakin tinggi dan kuat daya antibakterinya [18]. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi konsentrasi 100% ini tergolong besar dan sangat kuat kemungkinan disebabkan banyaknya senyawa antibakteri yang aktif dalam ekstrak kulit apel manalagi. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan *S.mutans* adalah 25% karena diameter zona hambat terbukti signifikan lebih besar dari kontrol negatif.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit apel manalagi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan konsentrasi terendah dari ekstrak kulit apel manalagi dalam penelitian ini yang masih mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S.mutans* adalah konsentrasi 25 %.

Beberapa saran yang mungkin bermanfaat bagi penelitian selanjutnya yaitu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit apel manalagi dalam menghambat pertumbuhan mikroflora lain yang patogen dalam rongga mulut.

Daftar Pustaka

[1] Boyer, J. & Liu, R. H. "Apple phytochemicals and their health benefits". *Nutr. J.* Vol.3(5) (2004)1-15.

- [2] Khanizadeh, Li ding, Tsao, Rekika, Yang, Charles, Vigneault, & Rupasinghe. "Phytochemical Distribution among selected Advanced Apple Genotypes Development for fresh Market and Processing". *Agricultur. Food, & Environment. Sci.* Vol I (2) (2007) 1-13.
- [3] Charde, M. S., Ahmed A., & Chakole, R. D. "Apple Phytochemicals for Human Benefits". *Int. J. Pharm. Res.* Vol. 1 (2) (2011) 1-8.
- [4] Alberto, M. R., Canavosio, M. A. R., & de Nadra, M. C. M. "Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens". *Elect. J. Biotech.* Vol.9(3) (2006) 205-209.
- [5] Deng, Urch, Cate, Rao, Aalten, & Crielaard. "Streptococcus mutans SMU.623c Codes for a Functional, Metal-Dependent Polysaccharide Deacetylase That Modulates Interactions with Salivary Agglutinin". *J. Bacteriol.* Vol.191 (1) (2009) 394-402.
- [6] Pintauli, S. dan Hamada, T. *Menuju Gigi dan edan*: USU Press (2008).
- [7] Dewi, R. A. "Pengaruh Pasta Gigi Dengan Mpila, D., Fatimawali, dan Wijoyono, W. "Uji Wijaya, A. B. "Perbandingan Efek Antibakteri Dari Jus Pir (*Pyrus bretschneideri*) Terhadap Streptococcus mutans pada Waktu Kontak dan Konsentrasi yang Berbeda". *Skripsi.* 08).
- [10] Rustanti, E. "Uji Efektivitas Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Katekin Hasil Isolasi dari Daun Teh (*Camellia sinensis* L. var. *Assamica*". Skripsi. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Malang (2009).
- [11] Chusnie, T. P. T. & Lamb, A. J. "Antimicrobial Activity of Flavonoid". *Int. J. Antimicrob. Agent.* Vol. 26 (2005) 343-356.
- [12] Gunawan, I.W.A. "Potensi Buah Pare (*Momordica Charantia* L) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*". Skripsi. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati (2009).
- [13] Karunanindhi, A., Thomas, R., Belkum, A., & Neela, V. "In vitro anti-bacterial and anti-biofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX) resistant strain". *BioMed Research Int.* Vol. 2013 (2012) 1-24.

- [14] Agusmawanti, P. "Perbandingan Daya Antibakteri Kumur Rebusan Gambir (*Uncasia gambir*) dengan *Chlorhexidine* 0,2% Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Saliva". *J. Maj. Ilmiah Sultan Agung*. Vol. 49 (2007) 1-9.
- [15] Prijantojo. "Peranan Chlorhexidine terhadap Kelainan Gigi dan Rongga Mulut". *Cermin Dunia Kedokteran* No. 113 (1996) 33-37.
- [16] Dewi, F. K. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Molinda citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar". Skripsi. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret (2010).
- [17] Kusmiyati dan Agustini, N. "Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*". *Biodiversitas* Vol. 8 (1) (2007) 48-53.
- [18] Darjono, U. N. "Analisis Minyak Atsiri Serai (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi dengan Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*". *J. Maj. Ilmiah Sultan Agung* Vol. 49 (125) (2011).