

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KAYU NANGKA (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) TERHADAP *Bacillus subtilis* DAN *Escherichia coli*

Refriana Setya Pratiwi, Tjiptasurasa, Retno Wahyuningrum

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuhwaluh, PO BOX 202, Purwokerto 53182

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu nangka (*A. heterophylla* Lmk.) terhadap pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* secara in vitro. Ekstraksi kayu nangka dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Ada 5 kelompok yang diujikan, yaitu konsentrasi 1%, konsentrasi 10%, konsentrasi 100%, kontrol positif (tetrasiklin HCl) dan kontrol pelarut/ kontrol negatif *Dimetilsulfoksida* (DMSO 10%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu nangka tidak memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri uji sampai dengan kadar tertinggi. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu nangka mengandung flavonoid dan alkaloid.

Kata kunci: antibakteri, ekstrak etanol kayu nangka (*A. heterophylla* Lmk.), *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Research on antibacterial activity of jackfruit wood (A. heterophylla Lmk.) ethanolic extract to B. subtilis and E. coli in vitro have been done. Jackfruit wood extraction was done with maceration method using ethanolic solvent 70%. Antibacterial activity test used agar diffusion method. There were tested 5 groups of serial extract concentration 1%, 10% and 100%; positive control (tetracycline HCl) and solvent control/ negative control Dimethylsulfoxide (DMSO 10%). The result showed that ethanolic extract of jackfruit wood didn't have antibacterial activity until the highest concentration. Thin Layer Chromatography (TLC) test showed that ethanolic extract of jackfruit wood contain flavonoid and alkaloid.

Keywords: antibacterial, ethanolic extract of jackfruit wood (A. heterophylla Lmk.), Bacillus subtilis, Escherichia coli.

Pendahuluan

Nira aren adalah hasil utama dari pohon aren yang akan diolah untuk aneka macam produk, utamanya adalah

diolah menjadi gula. Mutu nira sangat menentukan mutu dari gula. Gula aren adalah produk utama yang paling menguntungkan dari pengolahan nira

aren. Nira aren dihasilkan dari penyadapan atau pengirisan tandan buah jantan ataupun tandan betina dari pohon aren. Untuk diolah menjadi gula, maka nira aren harus berkualitas baik, berasa manis dan tidak berubah sifat (Kusumanto, 2010).

Nira aren sangat cepat mengalami perubahan menjadi masam karena proses fermentasi. Proses fermentasi mulai terjadi pada saat nira keluar dari tandan pohon aren atau bagian yang teriris lainnya. Nira yang memiliki kandungan zat makanan atau gizi yang sangat tinggi, berpotensi sangat digemari dan menghidupkan mikroba berupa jamur atau bakteri yang ada di sekitarnya. Setelah nira menetes dan keluar dari tandan bunga, nira langsung berhubungan dengan udara bebas di luar bekas sayatan. Nira kemudian akan menetes jatuh atau bersinggungan dengan wadah penampung nira. Apabila udara dan wadah penampung nira ini sudah ada mikroba yang melakukan fermentasi, maka fermentasi mulai terjadi. Jenis-jenis bakteri yang dapat tumbuh pada nira yaitu seperti *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Kusumanto, 2010).

Salah satu bahan alam yang secara tradisional ditambahkan untuk

menghambat terjadinya fermentasi pada nira yaitu kayu nangka. Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) merupakan tumbuhan lokal yang terdapat di berbagai daerah di Indonesia. Pohon nangka ini biasanya dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Kandungan kimia dalam kayu nangka antara lain morin, sianomaklurin (zat samak), flavon. Selain itu, dibagian kulit kayu nangka juga terdapat senyawa flavonoid yang baru, yakni morusin, artokarpin, artonin E, sikloartobilosanton, dan artonol B. Bioaktivitas senyawa flavonoid tersebut terbukti secara empirik sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik, dan antihipertensi (Ersam T, 2001).

Dengan demikian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol kayu nangka (*A. heterophylla* Lmk) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* dan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

Metode Penelitian

Bahan

Etanol 70% (Bratachem), simplisia kayu nangka, medium NA (*Nutrien Agar*), medium NB (*Nutrien Broth*), bakteri *B. subtilis* (*Food Nutrition Culture Collection 0059*), bakteri *E. coli* (*America Type Culture Collection 35218*), aquadest, tetrasiklin HCl, DMSO 10%, NaCl 0,9%.

Determinasi Tanaman

Determinasi dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman nangka dengan kepustakaan Flora of Java Vol.II (Backer & Van Den Brink, 1965).

Penyiapan Simplisia

Batang atau cabang kayu nangka dicuci menggunakan air bersih, kemudian dipotong kecil atau diserut setelah dikelupas kulitnya. Lalu dikeringkan di bawah sinar matahari, dengan ditutup kain hitam. Proses pengeringan dilakukan selama 5 hari. Setelah itu dilakukan pengecilan ukuran menjadi serbuk.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kayu Nangka

Ekstraksi kayu nangka dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk kering

kayu nangka dimasukkan ke dalam maserator kemudian ditambahkan penyari etanol 70% sebanyak 10 kali dari bobot serbuk, diaduk, dan biarkan termaserasi selama 5 hari dalam maserator tertutup dengan pengadukan setiap hari 30 menit. Kemudian disaring dan maserat diterapkan 2 hari, pisahkan maserat dari enapannya dan maserat diuapkan dalam cawan porselen di atas penangas air sampai memperoleh ekstrak dengan konsistensi kental.

Pembuatan Konsentrasi Larutan Ekstrak Etanol Kayu Nangka

Konsentrasi ekstrak etanol kayu nangka ditentukan secara orientasi, dari konsentrasi kecil, sedang, dan tinggi yaitu 1%, 10%, dan 100%. Konsentrasi dibuat dengan cara melarutkan ekstrak pada pelarut DMSO 10%. Konsentrasi 100% dari 1 gram ekstrak dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%, konsentrasi 10% dari 0,1 gram ekstrak dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%, dan konsentrasi 1% dari 0,1 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 ml DMSO 10%.

Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *B. subtilis* dan *E. coli* dengan Metode Difusi

Media NA yang telah di cairkan dituang ke dalam cawan petri. Kemudian mengambil sebanyak 0,5 ml suspensi bakteri dari hasil pengenceran biakan uji,

masukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media NA. Lalu homogenkan dengan digoyang. Setelah mengeras media ini digunakan untuk uji zona hambat. Pada cawan petri diletakkan 5 cakram kertas yang telah diberi perlakuan yaitu satu cakram kertas adalah kontrol negatif yang diberi pelarut DMSO 10%, satu cakram kertas diberi antibiotik tetrasiklin HCl sebagai kontrol positif, dan tiga cakram kertas diberi perlakuan yang diuji dengan ekstrak etanol kayu nangka, dengan cara meneteskan sebanyak 10 µl pada masing-masing cakram kertas. Penentuan konsentrasi ekstrak etanol kayu nangka dibuat secara orientasi dari konsentrasi kecil, sedang, dan tinggi yaitu 1%, 10%, dan 100% yang telah dilarutkan dengan DMSO 10%. Konsentrasi yang digunakan hingga diperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian zona hambat bakteri diukur.

Pengukuran Zona Hambat Bakteri

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur area bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas. Pengukuran zona hambat ini dilakukan menggunakan jangka sorong. Semakin

besar atau luas zona hambat maka semakin besar aktivitas antibakterinya.

Identifikasi dengan Kromatografi Lapis Tipis

a. Identifikasi flavonoid

Deteksi senyawa flavonoid dilakukan sebagai berikut: Fase diam: selulosa, Fase gerak: asam asetat 50%, Pereaksi semprot : uap ammonia, Pembanding: rutin (Harborne, 1987).

b. Identifikasi alkaloid

Deteksi senyawa alkaloid dilakukan sebagai berikut: Fase diam: Silika gel F 254, Fase gerak: toluen : etil asetat : trietilamin (7:2:1), Pereaksi semprot: Pereaksi dragendorff, Positif : bercak coklat jingga, berlatar belakang kuning (Harborne, 1987)

Hasil dan pembahasan

Perhitungan Jumlah Koloni

Perhitungan jumlah koloni menggunakan metode hitungan cawan (*Total Plate Counts*). Prinsip dari metode hitungan cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz, 1992). Perhitungan dilakukan dengan

menggunakan alat perhitungan jumlah koloni bakteri (*Colony Counter SCS*). Menurut standart Mc Farland jumlah yang dipersyaratkan adalah 10^8 , meskipun tidak memenuhi standart

namun jumlah koloni yang ada masih dapat dihitung sesuai yang dipersyaratkan yaitu 30-300 koloni (Lay, 1994).

Tabel 1. Perhitungan jumlah koloni *B. subtilis*

| Pengenceran | Jumlah koloni tiap cawan petri | | Jumlah bakteri (CFU/ml) |
|-------------|--------------------------------|----------|-------------------------|
| | I | II | |
| 10^{-4} | Spreader | Spreader | - |
| 10^{-5} | 247 | 255 | $0,25 \times 10^8$ |
| 10^{-6} | 105 | 95 | $1,00 \times 10^8$ |

Tabel 2. Perhitungan jumlah koloni *E. coli*

| Pengenceran | Jumlah koloni tiap cawan petri | | Jumlah bakteri (CFU/ml) |
|-------------|--------------------------------|-----|-------------------------|
| | I | II | |
| 10^{-4} | 302 | 359 | $0,03 \times 10^8$ |
| 10^{-5} | 231 | 175 | $0,20 \times 10^8$ |
| 10^{-6} | 66 | 197 | $1,31 \times 10^8$ |

Tabel 1 dan tabel 2 menunjukkan kultur bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* yang memenuhi syarat adalah hasil pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} . Berdasarkan perhitungan pengenceran tertinggi dibagi pengenceran terendah menunjukkan hasil yang lebih dari 2, sehingga dipakai pengenceran sebelumnya yaitu 10^{-5} . Jumlah bakteri per mililiter ialah jumlah koloni dikalikan faktor pengencernya (Lay, 1994). Jumlah bakteri yang digunakan untuk inokulum adalah $0,25 \times 10^8$ CFU/ml dan $0,20 \times 10^8$ CFU/ml. Jumlah tersebut telah memenuhi syarat koloni bisa dihitung,

berdasarkan jumlah inokulum yang telah memenuhi standar Mc. Farland. Selanjutnya pengenceran 10^{-5} tersebut dipakai sebagai suspensi bakteri untuk uji aktivitas antibakteri.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol kayu nangka memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*. Pada penelitian ini digunakan dua jenis bakteri yang masing-masing mewakili bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yaitu *B. subtilis*

FNCC 0059 dan *E. coli ATTC 35218*. Uji ini dilakukan dengan mengamati zona hambat, yaitu ditandai dengan daerah bening yang terbentuk disekitar cakram kertas. Metode pengujian menggunakan metode difusi agar menurut Kirby dan Bauer dalam Pratiwi (2008) yaitu menentukan aktivitas agen antimikroba, dengan cara piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Kelebihan dari metode ini adalah jumlah zat yang digunakan dapat diatur (Jawetz, 1986).

Langkah pertama yang harus dilakukan terlebih dahulu adalah sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf yang bertujuan untuk membunuh mikroorganisme pada alat dan bahan. Autoklaf merupakan sterilisasi basah dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu 121°C selama 15 menit. Panas lembab sangat efektif meskipun pada suhu yang tidak begitu tinggi, karena uap air berkondensasi pada bahan-bahan yang

disterilkan, dilepaskan panas sebanyak 686 kalori per gram uap air pada suhu 121°C. Panas ini mendenaturasikan atau mengkoagulasi protein pada organisme hidup dan dengan demikian mematikannya (Hadioetomo, 1993). Setiap pengerjaan dilakukan didalam *Laminar Air Flow* (LAF), dimana ruang LAF disemprot terlebih dahulu dengan etanol 70% dan disinari UV selama 2 jam sebelum digunakan, sehingga dapat menghindari kontaminasi dari mikroba lain yang tidak diinginkan.

Terdapat 5 perlakuan pada cakram kertas yaitu kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 1%, konsentrasi 10%, dan konsentrasi 100%. Penentuan ekstrak dilakukan secara orientasi, karena belum diketahui pada konsentrasi berapa ekstrak etanol kayu nangka tersebut dapat menghambat, yaitu dari konsentrasi kecil, sedang, dan tinggi. Kontrol positif menggunakan tetrasiklin HCl. Tetrasiklin adalah suatu antibiotika yang mempunyai spektrum luas dengan toksisitas rendah. Kontrol negatif menggunakan pelarut dari ekstrak yaitu DMSO 10%. DMSO (dimetilsulfoksida) pada konsentrasi 10% terbukti tidak menghambat pertumbuhan bakteri.

Setelah medium agar yang telah ditanami bakteri memadat, cakram kertas diletakkan diatas permukaan medium tersebut. Lalu tetesi cakram kertas untuk masing-masing perlakuan sebanyak 10 µm.

Data hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu nangka terhadap *B. subtilis* dan *E. coli* diperoleh data berdasarkan diameter zona hambat (tabel 3 dan tabel 4)

Tabel 3. Diameter zona hambat bakteri *B. subtilis*

| Replikasi | Zona hambat (mm) | | | | |
|----------------|------------------|----------|-----------|-----------------|----------|
| | Kons 1% | Kons 10% | Kons 100% | Tetrasiklin HCl | DMSO 10% |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 29,00 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 33,27 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 34,75 | 0 |
| Rata-rata ± SD | 0 | 0 | 0 | 32,34 ± 2,98 | 0 |

Tabel 4. Diameter zona hambat bakteri *E. coli*

| Replikasi | Zona hambat (mm) | | | | |
|----------------|------------------|----------|-----------|-----------------|----------|
| | Kons 1% | Kons 10% | Kons 100% | Tetrasiklin HCl | DMSO 10% |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 27,05 | 0 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 31,10 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 28,02 | 0 |
| Rata-rata ± SD | 0 | 0 | 0 | 28,72 ± 2,11 | 0 |

Dari hasil tabel diatas dapat dilihat, hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu nangka menunjukkan bahwa ekstrak pada konsentrasi 1%, 10% dan 100%, serta DMSO 10% sebagai kontrol negatif tidak memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *B. subtilis* dan bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*, dimana tidak adanya daerah bening di sekitar kertas

cakram. Dan yang memberikan zona hambat hanya kontrol positif yaitu tetrasiklin HCl, dimana adanya daerah bening di sekitar kertas cakram. Dari hasil KLT terbukti ekstrak mengandung senyawa golongan flavonoid dan alkaloid, tetapi pada uji yang telah dilakukan ekstrak tidak terbukti memberikan aktivitas pada bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*, hal ini kemungkinan

disebabkan kandungan senyawa metabolit sekunder telah mengalami kerusakan selama proses pengeringan, penguapan dan penyimpanan. Menurut (Kusumanto, 2010) dalam artikelnya, kayu nangka merupakan salah satu bahan alam yang secara tradisional ditambahkan untuk menghambat terjadinya fermentasi pada nira. Dari artikel tersebut memungkinkan perbedaan pengambilan sampel pada masyarakat dengan sampel pada penelitian. Asumsi masyarakat tentang kayu nangka adalah kayu, kulit kayu dan getah yang terdapat pada kayu nangka tersebut. Sedangkan dalam penelitian, mengarah pada buku Cara Pembuatan Simplisia menyebutkan bahwa cara pengumpulan kayu yaitu dari batang atau cabang, dipotong kecil atau diserut

(disugu) setelah dikelupas kulitnya. Perbedaan tersebut menyebabkan kandungan senyawa yang terdapat dalam sampel berbeda, dimungkinkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri terdapat pada kulit kayu atau getah dari kayu nangka. Tetrasiklin dapat memberikan aktivitas terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* karena tetrasiklin merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas dan bersifat bakteriostatik. Mekanisme kerjanya berdasarkan diganggunya sintesis protein bakteri (Tjay, 2007).

Identifikasi senyawa golongan flavonoid dengan menggunakan fase gerak asam asetat 50%, fase diam selulosa dengan detektor UV 366 nm dan dideteksi dengan amonia.

Tabel 5. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid

| Larutan uji | Nilai hRf | UV 366nm | +Uap amonia (UV 366nm) | Hasil |
|-------------|-----------|---------------|------------------------|-------------|
| Pembanding | 81,25 | Coklat kuning | Hijau coklat tua | + Flavonoid |
| Bercak 1 | 18,75 | Kuning | Kuning terang | + Flavonoid |
| Bercak II | 28,75 | Kuning | Kuning terang | + Flavonoid |
| Bercak III | 38,75 | Kuning | Kuning terang | + Flavonoid |
| Bercak IV | 55,00 | Kuning | Kuning terang | + Flavonoid |
| Bercak V | 85,00 | Kuning | Kuning terang | + Flavonoid |

Indikasi flavonoid bila menunjukkan warna jingga redup, coklat tua atau hitam, hijau kuning, coklat tua, atau biru lemah jika dilihat dibawah sinar UV

(Harborne, 1987). Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia. Warna yang terbentuk seperti

biru, coklat tua atau coklat hitam, merah tua, kuning terang, coklat kuning, coklat lemah, biru kuat, hijau kuning, atau kuning pucat, jika dilihat dibawah sinar UV (Harborne, 1987).

Terlihat pada Gambar 1 warna yang terbentuk setelah disemprot dengan uap amonia yaitu warna kuning terang untuk ekstrak dan hijau coklat tua untuk pembanding, dengan nilai hRf ekstrak pada bercak ke V (85,00) hampir sebanding dengan hRf rutin (81,25). Hasil

identifikasi tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol kayu nangka yang diekstraksi dengan metode maserasi positif mengandung golongan senyawa flavonoid.

Identifikasi senyawa golongan alkaloid dengan menggunakan fase gerak toluen : etil asetat : trietilamin (7:2:1), fase diam silika gel F 254, detektor UV 366 nm dan sinar tampak, dan dideteksi dengan pereaksi dragendorff.

Tabel 6. Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid

| Larutan uji | Nilai hRf | UV 366 | + dragendorff (UV 366) | +dragendorff (sinar tampak) | Hasil |
|-------------|-----------|--------|------------------------|-----------------------------|------------|
| Bercak I | 13,70 | Kuning | Kuning | Jingga | + alkaloid |
| Bercak II | 22,50 | Kuning | Kuning | Jingga | + alkaloid |
| Bercak III | 81,25 | Kuning | Kuning | Kuning | - alkaloid |

Untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi dragendorff ditunjukkan dengan warna bercak coklat jingga berlatar belakang kuning (Harbone, 1987). Nilai hRf yang diperoleh yaitu 13,70 dan 22,50 dengan warna jingga setelah disemprot dragendorff dilihat disinar tampak. Hasil identifikasi tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol kayu nangka yang diekstraksi dengan metode maserasi positif mengandung golongan senyawa alkaloid.

Kesimpulan

Ekstrak etanol kayu nangka (*A. heterophylla* Lmk.) tidak terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis* dan *E. coli*. Flavonoid dan alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kayu nangka (*A. heterophylla* Lmk.).

Daftar Pustaka

Amelia, R. 2010. *Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Lengkuas (Alpinia galanga) Terhadap Pseudomonas*

- aeruginosa dan Bacillus subtilis* [Skripsi]. Purwokerto : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto
- Backer, Bakhuizen Van Den Brink. 1965. *Flora of Java*. Vol II. Voordhoff Groniyen. The Netherlands
- Ersam, T. 2001. *Senyawa Kimia Makromolekul Beberapa Tumbuhan Artocarpus Hutan Tropika Sumatera Barat*. Bandung : Disertasi ITB
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, edisi II*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Jawetz, E. Melnick, J.L. Adelberg, E.A., 1986. *Mirobiologi Untuk Profesi Kesehatan, Edisi XVI*, diterjemahkan oleh dr. Bonang, G., Jakarta : EGC Press
- Kusumanto. 2010. *Mencari Pengawet Alami Nira Aren untuk Produksi Gula Organik*. http://kebunaren.blogspot.com/2010/02/01_archive.html diakses pada 31 Oktober 2010
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta : Raja Grafindo Persada
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga
- Sastrohamidjojo. 2001. *Kromatografi*. Jakarta: Penerbit Liberty.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudira. Bandung : ITB
- Tjay, T. H. dkk. 2007. *Obat-Obat Penting*. Jakarta : Gramedia