

**Aktivitas Senyawa Bioaktif Ekstrak Bunga Teratai Putih
(*Nymphaea alba* L) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan
Staphylococcus aureus dengan Metode Bioautografi**

**The Activity of Bioactive Compounds from Flower Extract of Teratai
Putih (*Nymphaea alba* L) to *Pseudomonas aeruginosa* and
Staphylococcus aureus on Bioautography Method**

Ningsih Samsy Dhuha¹, Abdul Wahid²

¹ Jurusan Farmasi, Universitas Indonesia Timur, Makassar

² Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky Makassar

Submitted : 23 Juni 2020 Reviewed : 9 Agustus 2020 Accepted: 7 September 2020

ABSTRACT

Teratai putih (*Nymphaea alba* L) adalah tanaman yang memiliki banyak kandungan senyawa kimia sehingga banyak masyarakat menjadikannya sebagai obat tradisional. Salah satunya adalah antibakteri, tetapi belum ada yang melakukan penelitian tentang senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol Bunga Teratai Putih terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* secara bioautografi kontak. Berdasarkan hasil KLT diperoleh bercak noda yang tidak begitu jelas, tetapi setelah diamati dibawah sinar UV 366 nm diketahui bahwa pada ekstrak eter Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* memperlihatkan aktivitas menghambat dengan diameter hambatan 8,33 mm. Sedangkan pada *Staphylococcus aureus* memperlihatkan aktivitas menghambat dengan diameter hambatan 8,45 mm sedangkan pada ekstrak n-butanol Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* tidak didapatkan senyawa yang dapat menghambat *Staphylococcus aureus*. Dari hasil KLT yang telah dilakukan senyawa bioaktif dari ekstrak Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) yang bertindak sebagai antibakteri yaitu senyawa karotenoid. Hal ini dilihat dari bercak dengan nilai Rf dan noda dari senyawa.

Kata kunci : Aktivitas Senyawa Aktif, Bunga teratai putih, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, Bioautografi

ABSTRAK

Teratai putih (*Nymphaea alba* L) is a plant with a lot of chemical compounds that many people make it as traditional medicine. One of them is antibacterial, but there are no studies that have researched compounds that can be as antibacterial. It has researched Antibacterial Activity of Teratai putih Extracts (*Nymphaea alba* L) to *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on bioautografi method. This study aimed to determine the antibacterial activity from Ekstrak flowers of Teratai putih on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in bioautografi contact. Based on the results of the TLC resulted from staining is not so obvious, but once observed under UV 366 nm is known that the ether extract Teratai putih (*Nymphaea alba* L) shows activity against *Pseudomonas*

aeruginosa inhibit with 8,33 mm diameter barriers. While on *Staphylococcus aureus* showed inhibiting activity with a diameter barrier of 8.45 mm. While the n-butanol extract of Teratai putih (*Nymphaea alba* L) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* not obtained compounds that can inhibit *Staphylococcus aureus*. From the results of the TLC that has been done bioactive compounds from the extracts of Teratai putih (*Nymphaea alba* L), which acts as an antibacterial that carotenoid compound. It could see from spots with Rf values and stains from a compound.

Keywords: Activity of Bioactive Compounds, Teratai putih flower, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, Bioautografi method

Penulis korespondensi:

Abdul Wahid

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky Makassar

Email : wahid26061991@gmail.com/085346587599

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional merupakan warisan dari nenek moyang kita dari generasi yang satu ke generasi berikutnya, sehingga keberadaannya terkait dengan budaya bangsa Indonesia. Bangsa Indonesia telah banyak berkreasi dan berkarya nyata pada berbagai bidang, termasuk dalam mempersiapkan ramuan obat dan melakukan pengobatan secara tradisional. (Parwata, 2016). Salah satu tanaman yang telah lama digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah Teratai Putih (*Nymphaea alba* L), Ajaibnya, hampir seluruh bagian dari tanaman teratai ini bisa digunakan sebagai obat herbal. Salah satunya adalah bunganya. Tanaman ini terkandung beberapa senyawa yang berkhasiat bagi kesehatan. Diantaranya protein, lemak, karbohidrat, karoten, asam nikotinat, vitamin B1, B7, dan C. Ada juga kandungan kalsium, fosfor, dan zat besi (Budiwati dan Kriswiyanti, 2014).

Mikroorganisme atau mikroba adalah organisme hidup yang hanya dapat diamati dengan menggunakan mikroskop karena memiliki ukuran kurang dari 0,1 mm (Padoli, 2016). Beberapa jenis mikroorganisme bersifat patogen. Mikroorganisme alami dalam tubuh manusia disebut mikroorganisme normal atau flora normal. Meskipun flora normal ini tidak patogen, namun dalam keadaan tertentu dapat bersifat patogen dan menimbulkan penyakit infeksi. Contoh mikroorganisme patogen tersebut adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Pratiwi, 2010).

Bioautografi merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau kapang. Bioautografi dapat digunakan untuk mencari antibakteri atau antikapang baru, Kontrol kualitas antimikroba, dan mendeteksi golongan senyawa (Colorado *et al.*, 2007). Metode ini bertujuan untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Lukman, 2016).

Sebagian besar agen antimikroba lebih cenderung pada pelarut yang relatif non polar (Suleiman dkk, 2010). Hal ini karena pelarut yang bersifat non polar lebih cenderung memisahkan lebih banyak senyawa yang aktif terhadap mikroorganisme (Masoko dan Eloff, 2006). Selain itu, jenis pelarut dapat mempengaruhi keberhasilan dalam menarik senyawa aktif. Sebagian besar senyawa diekstraksi dengan pelarut metanol (polaritas tinggi), aseton (polaritas menengah), dan heksan (polaritas rendah) (Masoko dan Eloff, 2006). Pada penelitian ini digunakan eluen polar dan non polar untuk menentukan apakah pelarut polar juga terdapat senyawa yang dapat sebagai agen antimikroba.

Telah dilakukan penelitian sebelumnya oleh Nuraini (2007) tentang Ekstraksi komponen antibakteri dan antioksidan dari tanaman teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) dan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa diameter penghambatan pertumbuhan oleh ekstrak etilasetat teratai pada konsentrasi 10% terhadap *Eschericia coli* adalah 23.00 ± 0.00 mm, *Bacillus cereus* 11.40 ± 0.30 mm, *Staphylococcus aureus* 12.81 ± 0.16 mm, dan *Pseudomonas aeruginosa* 12.85 ± 0.25 mm. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antibakteri meski lebih rendah dari diameter penghambatan oleh ekstrak etilasetat. Berdasarkan hasil dari pengujian dengan metode DPPH *free radical scavenging activity* menunjukkan nilai IC_{50} dari ekstrak etilasetat teratai adalah 671.6 mg/ml sedangkan IC_{50} asam askorbat sebesar 0.6331 mg/ml.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka Ekstrak Bunga Teratai putih (*Nymphaea alba*. L) dapat dijadikan sebagai agen antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol Bunga Teratai Putih serta pengaruh jenis eluen terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* secara bioautografi kontak

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah autoklaf, alat maserasi, batang pengaduk, botol semprot, cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, chamber, kaca penutup, gelas ukur 100 ml, gunting, inkubator, labu ukur, lempeng ose bulat, oven, pinset, pipet volume, rak tabung, rotavapor, spuit, tabung reaksi, lempeng sintetik, dan timbangan analitik..

Bahan yang digunakan Aquadest, Aluminium foil, etanol 96%, ekstrak Etanol Bunga Teratai Putih, biakan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, swab steril, kapas, label, kloroform, media *Nutrien Agar* (NA), etanol, benzene, etil asetat.

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Bunga Teratai Putih
Bahan Uji Bunga Teratai Putih yang telah dikeringkan kemudian, ditimbang 250 gram dan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara merendam sampel dengan etanol 96% sebanyak 1875 ml, kemudian tutup dan simpan selama 5 hari sambil sesekali diaduk selanjutnya disaring. Ampasnya dimasukkan kembali ke dalam alat maserasi dan dilakukan seperti semula sampai cairan penyari tak berwarna atau di ulangi hingga 3 kali. Hasil ekstraksi dipisahkan dengan rotavapor kemudian diuapkan di atas penangas air hingga diperoleh ekstrak kental.
2. Pembuatan Media *Nutrien Agar* (NA)
Ditimbang 2,3 gram Medium *Nutrien Agar* dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer lalu dilarutkan dengan air suling sedikit demi sedikit dibantu dengan sedikit pemanasan agar semua bahan larut, diatur pada pH 7,0 dan dicukupkan volumenya dengan air suling 100 ml disterilkan dalam autoklaf pada suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit dengan tekanan 1 atmosfer.
3. Identifikasi Komponen Kimia Secara Kromatografi Lapis Tipis
 - a. Penyiapan cairan pengelusi
Ekstrak Etanol Bunga Teratai Putih yang diperoleh diidentifikasi secara KLT dengan menggunakan cairan pengelusi Asetat : Metanol : Air (40: 5 : 1) (Polar); Benzen : Ethanol : Air (18: 2: 1) (Non-polar) (Kotze dan Eloff, 2002).
 - b. Penjenuhan camber
Cairan pengelusi Asetat : Metanol : Air (40: 5 : 1) (Polar); Benzen : Ethanol : Air (18: 2: 1) (Non-polar) yang akan digunakan sebagai fase gerak dimasukkan kedalam chamber yang tertutup. Kedalam eluen tersebut kemudian dimasukkan potongan kertas saring yang berlebih sampai keluar dari chamber. Jika bagian dari luar kertas saring sudah basa menunjukkan bahwa camber sudah jenuh dan siap digunakan.
 - c. Penotolan ekstrak Etanol Bunga Teratai Putih

Diambil lempeng sintetik yang berukuran 7 x 3 cm lalu dibuat garis lurus pada lempeng sintetik dengan menggunakan pensil pada jarak 1,5 untuk batas bawah dan 0,5 untuk batas atas, kemudian ekstrak kental Bunga Teratai Putih ditotolkan pada bagian bawah lempeng dengan menggunakan pipa kapiler secara tegak lurus sehingga diperoleh penotolan yang sempurna. Dengan menggunakan pingset lempeng tersebut kemudian diangin anginkan lalu dimasukkan kedalam chamber yg telah dijenuhkan. Posisi lempeng berdiri dengan kemiringankira-kira 80 derajat dari dinding chamber. Chamber ditutup dan biarkan lempeng terelusi sampai batas tanda bagian atas lempeng. Kemudian noda noda yang muncul diamati di bawah lampu sinar UV 254/366 nm

4. Pengujian Bioautografi

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui nilai Rf senyawa aktif antibakteri dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Prosedur uji bioautografi adalah sebagai berikut : masing-masing cawan petri dituang medium NA sebanyak 20 ml dan 0,02 ml masing-masing suspensi *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* di dalam cawan petri lalu lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan media agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan kemudian medium yang telah ditemplei lempeng KLT diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 x 24 jam, diamati zona hambatan yang terbentuk dengan mistar sorong.

Analisis Data

Metode analisis data yang digunakan adalah metode eksperimental yaitu berupa data kuantitatif. Data disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran diameter zona hambatan (mm) aktivitas senyawa bioaktif ekstrak bunga teratai putih (*Nymphaea alba L*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.

Tabel I. Hasil pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Butanol Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba L*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara Bioautografi dengan menggunakan eluen Kloroform : metanol : air (10:6:1)

Sampel	Jumlah Noda	Penampakan Noda UV	Nilai Rf (cm)	Zona hambatan (mm)
		(Rf)		
			0,90	-
Ekstrak N-Butanol Bunga Teratai Putih	4	1. Biru	0,78	-
		2. Merah muda		
		3. Biru	0,67	-
		4. Merah muda	0,60	-

Tabel II. Hasil pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Butanol Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba L*) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara Bioautografi dengan menggunakan eluen Kloroform : metanol : air (10:6:1)

Sampel	Jumlah Noda	Penampakan Noda UV	Nilai Rf (cm)	Zona hambatan (mm)
		(Rf)		
Ekstrak N-Butanol Bunga Teratai Putih	4	1. Biru	0,90	-
		2. Merah Muda	0,78	-
		3. Biru	0,67	-
		4. Merah Muda	0,60	-

Tabel III. Hasil pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Eter Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba L*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara Bioautografi dengan menggunakan eluen heksan : etil asetat (7:3)

Sampel	Jumlah Noda	Penampakan Noda UV	Nilai Rf (cm)	Zona hambatan (mm)
		(Rf)		
Ekstrak Eter Bunga Teratai Putih	6		0,90	-
		1. Hijau	0,81	8,33
		2. Coklat	0,72	-
		3. Hijau Muda	0,63	-
		5. Merah Muda	0,49	-
		6. Kuning	0,27	-

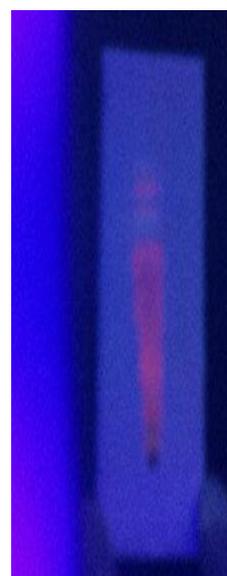
Tabel IV. Hasil pengujian Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak Eter Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba L*) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara Bioautografi dengan menggunakan eluen heksan : etil asetat (7:3)

Sampel	Jumlah	Penampakan Noda UV	Nilai Rf	Zona hambatan
--------	--------	--------------------	----------	---------------

	Noda	(Rf)	(cm)	(mm)
Ekstrak Eter Bunga Teratai Putih	5	1. Hijau	0,94	-
		2. Merah Muda	0,82	-
		3. Jingga	0,58	8,45
		4. Ungu	0,40	-
		5. Biru	0,23	-



1



2

Gambar 1. Hasil Penampakan Noda pada Lampu UV

Keterangan :

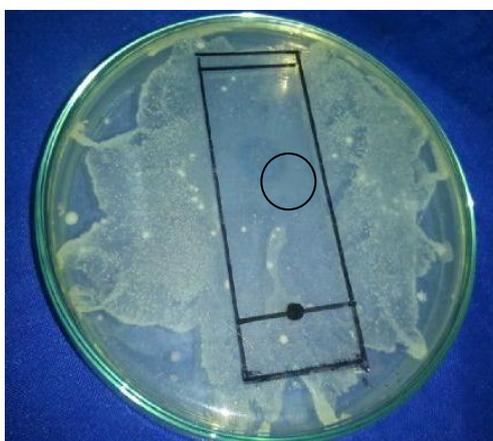
1. Gambar penampakan noda ekstrak eter dengan menggunakan eluen heksan : etil asetat (7:3)
2. Gambar penampakan noda ekstrak N-butanol dengan menggunakan eluen kloroform : methanol : air (10:6:1)

Bioautografi adalah suatu metode pendekatan untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini memanfaatkan pengerjaan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada penelitian ini digunakan sampel berupa Bunga Teratai Putih yang diambil disekitar kota Makassar yang di petik pada pagi hari sekitar jam 07.00-10.00

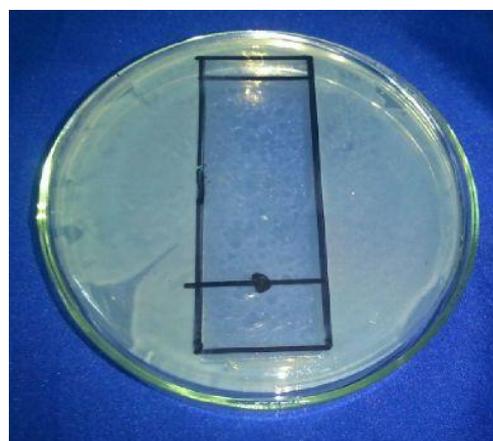
WITA. Pada pembuatan simplisia, Bunga Teratai Putih yang telah dikumpulkan, dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung.

Tahapan selanjutnya yaitu Bunga Teratai Putih yang telah dikeringkan kemudian, diekstraksi dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi dipekatkan dengan rotavapor kemudian diuapkan di atas penangas air hingga diperoleh ekstrak kental dan diuapkan di atas *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kering. Kemudian dilakukan partisi ekstrak eter dan n-butanol, selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa kimia dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

Senyawa yang telah berpisah selanjutnya akan nampak sebagai noda atau bercak pada permukaan lempeng KLT dan masing-masing noda memiliki nilai Rf yang berbeda pula. Tiap bercak atau noda dengan masing-masing Rf mempunyai warna noda tertentu (senyawa kimia) dalam kromatogram dengan warna terbentuknya noda dengan nilai Rf yang berbeda pada pemisahan senyawa dengan metode KLT disebabkan oleh adanya daya elusi dari eluen yang digunakan. Partisi dilakukan terhadap ekstrak metanol Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) dilakukan untuk membandingkan daya hambat ekstrak berdasarkan kelarutannya pada cairan penyari dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Pada penelitian ini digunakan eluen Kloroform : metanol : air (10:6:1) untuk eluen polar dan heksan : etil asetat (7:3) untuk eluen nonpolar.



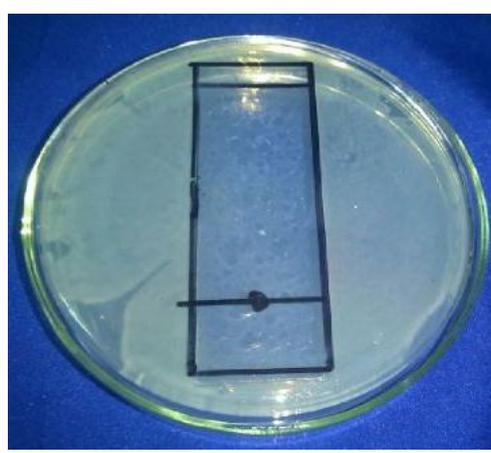
1



2



3



4

Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri secara Bioautografi

Keterangan :

1. Pengujian Bioautografi ekstrak eter dengan menggunakan eluen heksan : etil asetat (7:3) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sesudah diinkubasi 1x24 jam
2. Pengujian Bioautografi ekstrak N-butanol dengan menggunakan eluen Kloroform : metanol : air (10:6:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sesudah diinkubasi 1x24 jam
3. Pengujian Bioautografi ekstrak eter dengan menggunakan eluen heksan : etil asetat (7:3) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sesudah diinkubasi 1x24 jam
4. Pengujian Bioautografi ekstrak N-butanol dengan menggunakan eluen Kloroform : metanol : air (10:6:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sesudah diinkubasi 1x24 jam

Pada penelitian ini menggunakan dua bakteri yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* untuk melihat efek antibakteri gram positif dan negatif dari masing-masing ekstrak Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang secara luas dapat ditemukan di alam, contohnya di tanah, air, tanaman, dan hewan. Bakteri ini merupakan penyebab utama infeksi pneumonia nosokomial. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang pada kulit, selaput lendir, bisul, luka, saluran pencernaan. Sifat khas infeksi bakteri ini bersifat patogen adalah penahanan lokal seperti meningitis, endokarditis, periikarditis dan bisul. Infeksi disertai penahanan dan akan sembuh bila nanah dikeluarkan.

Berdasarkan hasil KLT diperoleh bercak noda yang tidak begitu jelas, tetapi setelah diamati dibawah sinar UV 366 nm diketahui bahwa pada ekstrak eter Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* memperlihatkan 6 bercak noda dengan nilai Rf_2 0,81 (noda berwarna coklat) yang dapat menghambat *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter hambatan 8,33 mm. Sedangkan pada ekstrak eter Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) terhadap *Staphylococcus aureus* memperlihatkan 5 bercak noda dengan nilai Rf_3 0,58 (noda berwarna jingga) yang dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambatan 8,45 mm, sedangkan pada ekstrak n-butanol Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* memperlihatkan 4 bercak noda dengan tidak didapatkan senyawa yang dapat menghambat *Pseudomonas aeruginosa*, begitupun juga dengan ekstrak n-butanol Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) terhadap *Staphylococcus aureus* memperlihatkan 4 bercak noda tapi tidak didapatkan senyawa yang dapat menghambat *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian ini eluen non polar yang dapat sebagai agen antimikroba yaitu heksan : etil asetat (7:3). Hal ini sesuai dengan yang dikatakan Suleiman dkk, 2010 bahwa perbedaan polaritas mempengaruhi nilai Rf dari senyawa antimikroba dan sebagian besar agen antimikroba lebih cenderung pada pelarut yang relatif non polar. Faktor penting dalam penentuan senyawa bioaktif suatu tanaman adalah sifat kandungan kimia yang terkandung didalam tanaman tersebut. Sebagian besar senyawa antimikroba yang terdeteksi dalam penelitian adalah senyawa yang bersifat non polar, sehingga pelarut dan eluen yang bersifat sama akan cenderung lebih aktif dalam menghambat aktivitas antibakteri. Aktivitas ini ditandai dengan adanya zona bening disekitar sumuran media bakteri uji (Schlegel dan Schmidt, 1994). Berdasarkan hasil uji KLT yang telah dilakukan kedua senyawa bioaktif dari ekstrak Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) yang bertindak sebagai antibakteri yaitu senyawa karotenoid. Hal ini dilihat dari bercak dengan nilai Rf dan noda dari senyawa. Mekanisme kerja karotenoid

sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan menyebabkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Cowan, 1999). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995).

KESIMPULAN

Pada ekstrak eter Bunga Teratai Putih (*Nymphaea alba* L) memperlihatkan aktivitas menghambat *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter hambatan 8,33 mm dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambatan 8,45 mm, sedangkan pada ekstrak n-Butanol tidak didapatkan senyawa yang dapat menghambat *Staphylococcus aureus*. Jenis eluen yang dapat bertindak sebagai antibakteri yaitu eluen non polar heksan : etil asetat (7:3).

DAFTAR PUSTAKA

- Budiwati, G. A. Y., Kriswiyanti, E., 2014., Manfaat Tanaman Teratai (*Nymphaea* sp., Nymphaeaceae) di Desa Adat Sumampan, Kecamatan Sukawati, Kabupaten Gianyar, Bali., Jurnal Simbiosis II (1): 122-134, ISSN: 2337-7224
- Colorado, JR, Galeano EJ, Martinez AM. 2007. Development of direct bioautography as reference method for testing antimicrobial activity of gentamicin against *Escherichia coli*. *Vitae*. 14(1): 67-71.
- Nuraini, A. D., 2007. *Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (Nymphaea pubescens Willd)*. Bogor: IPB
- Hariana A.H, 2013, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*.,Seri III, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta
- Kotze M, Eloff JN. 2002. *Extraction of antibacterial compounds from Combretum microphyllum (Combretaceae)*. S. Afr. J. Bot. 68:62-67
- Masoko, P., Eloff, J.N. 2006. *Bioautography indicates the multiplicity of antifungal compounds from twenty-four southern African Combretum species (Combretaceae)*. Afr. J. Biotechnol. 5: 1625-1647
- Lukman, A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap PH saliva dan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) (in vitro). Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Padoli., 2016, *Mikrobiologi dan Parasitologi Keperawatan*. Pusdik SDM Kesehatan. Kebayoran Baru, Jakarta Selatan
- Parwata, I. M. O. A., 2016. *Obat Tradisional*, Jurusan Kimia, Universitas Udayana, Bali.
- Pratiwi, S. T., 2010, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit PT. Erlangga, Jakarta
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih, P., Edisi Keenam, 72, 157, 198, ITB, Bandung
- Schlegel, H.G dan Schmidt, K., 1994. *Mikrobiologi umum edisi ke enam*. Alih Bahasa: Baskoro T. Yogyakarta:UGM-Presss
- Suleiman, M.M, dkk, 2010. *Detection Of Antimicrobial Compounds By Bioautography Of Different Extracts Of Leaves Of Selected South African Tree Species*, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria.
- Siswadi, 2012, *Bertanam Sayuran secara Vertikultur*, PT. Citra Aji Parama, Yogyakarta.

