

Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan Analisis KLT Bioautografi

Khildah Khaerati¹⁾ dan Ihwan²⁾

¹⁾Prodi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Tadulako.

²⁾Prodi Ilmu Keperawatan, STIK Indonesia Jaya

E.mail:

ABSTRACT

This research divided into two stage which are the inhibition growth capacity test using agar diffusion method with the incubator period 1 x 24 jam hours as the first stage and second stage testing the TLC-Bioautographic. Sample made with the concentration 0,5%, 1 %, 2% and 4% w/v. The capacity of growth inhibited showed on *Staphylococcus aureus* and than. The TLC-Bioautographic test to the chromatogram of fractionation result with Chloroform : Metanol (15 : 6) on *Escherichia coli* 1 active stains with Rf value 0,32, for *Staphylococcus aureus* resulted 2 active stains with Rf value in a row 0,88 and 0,32

Key words: Antibacteri, Apium graveolens, bioautographic.

PENDAHULUAN

Sejak ribuan tahun yang lalu, obat dan pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan menggunakan obat modern yang dikenal oleh masyarakat. Pengobatan dan pendayagunaan obat tradisional tersebut merupakan salah satu komponen program pelayanan kesehatan dasar, serta merupakan suatu alternatif untuk memenuhi kebutuhan dasar penduduk dibidang kesehatan (Wijayakusumah, 1992).

Upaya peningkatan penggunaan obat tradisional agar dapat diterima pelayanan kesehatan formal sedang digalakkan oleh pemerintah dan mendorong pelayanan penelitian yang diperlukan untuk mendorong data klinis sehingga mendapat kinerja yang

secara ilmiah dapat dipertanggungjawabkan dalam rangka perluasan dan pemerataan pelayanan kesehatan (Tjokronegoro, 1993). Umumnya obat tradisional merupakan salah satu ramuan dari tumbuhan yang berkhasiat obat, salah satu diantaranya yang digunakan adalah herba seledri (*Apium graveolens* Linn.) suku *umbelliferae* tumbuhan ini mengandung apiin, apiol, tanin, saponin dan flavanoid selain itu juga mengandung vitamin A, B, dan C serta mengandung kalsium dan besi. Seledri merupakan tanaman setahun atau dua tahun yang berbentuk semak atau rumput yang sering digunakan sebagai bumbu masak karena selain cita rasanya segar dan renyah, juga mengandung gizi cukup tinggi dan berkhasiat sebagai penyembuh beberapa jenis penyakit, diantaranya rematik, diare, tekanan darah tinggi, masuk angin, obat peluruh keringat, bronchitis (Dalimartha, 1999; Hariani, 2006).

Berdasarkan uraian tersebut diatas, maka telah dilakukan penelitian tentang uji daya hambat dan analisis KLT – Bioautografi ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolens* Linn) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolens* Linn.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan mengetahui jumlah komponen kimia yang bersifat antibakteri setelah dilakukan pengujian KLT-Bioautografi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melengkapi data antibakteri dari Tumbuhan Herba Seledri (*Apium graveolins* Linn.).

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel

Sampel berupa herba seledri (*Apium graveolens* Linn) diambil di Kelurahan Patapang, Kecamatan Tinggimoncong, Kabupaten Gowa Malino, Sulawesi Selatan.

Pengolahan sampel

Herba seledri yang sudah diambil dibersihkan dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran atau benda asing yang melekat, dipotong-potong kecil lalu diangin-anginkan, terlindung dari sinar matahari langsung. Setelah kering lalu diserbukkan dengan ukuran 34/40 dan diekstraksi dengan metode maserasi.

Sterilisasi Alat

Semua alat yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu. Khususnya untuk alat-alat yang tahan panas seperti alat kaca dibungkus dengan kertas perkamen lalu disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat yang tidak tahan panas kering

disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sementara ose dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan langsung pada nyala api bunsen sampai merah pijar.

Pembuatan Medium

1 Medium Nutrien Agar (NA)

Komposisi :

Ekstrak Beef	3 g
Pepton	5 g
Agar	15 g
Air suling hingga	1.000 ml.

Cara membuat:

Semua bahan-bahan yang digunakan ditimbang sesuai perhitungan kemudian dilarutkan dengan air suling dan dipanaskan hingga semua bahan larut. Diatur pH-nya sampai 7,0 disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, tekanan 1 atm.

2 Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA)

Komposisi :

Glukosa	10 g
Ekstrak khamir	5 g
Pepton	10 g
Natrium klorida	2,5 g
Agar	15 g
Air suling hingga	1.000 ml.

Cara membuat :

Semua bahan-bahan yang digunakan ditimbang sesuai perhitungan kemudian dilarutkan dengan air suling dan dipanaskan sehingga semua bahan larut, diatur pH-nya sampai 7,0. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit, tekanan 2 atm.

Penyiapan Bakteri Uji

1 Peremajaan Kultur Murni

Bakteri uji yaitu bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diambil dari biakan murni masing-masing 1 ose kemudian diokulasikan dengan cara menggoreskan pada medium Nutrien Agar (NA) miring, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

2 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji hasil peremajaan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% sampai diperoleh transmittan 25% T yang diukur pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

Pembuatan Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.)

Daun seledri yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 500 g dengan pelarut etanol sebanyak 3750 ml pada perbandingan 1 : 7,5. Lalu dibasahkan sebanyak 1000 ml pelarut 15 menit kemudian ditambahkan sisa pelarut sebanyak 2750. Maserasi dilakukan 3 x 5 hari terlindung dari sinar matahari langsung dan sesekali diaduk, ekstrak yang diperoleh disaring dan diuapkan dengan menggunakan rotavapor menghasilkan ekstrak etanol kental sebanyak 35 gram.

Ekstrak kental yang diperoleh dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, 2%, dan 4%. Untuk 0,5% ditimbang 0,5 gram ekstrak kental yang dilarutkan dalam 100 ml air suling. Dilakukan cara yang sama untuk konsentrasi 1%, 2% dan 4%.

Pengujian Ekstrak Etanol Herba Seledri

Medium GNA steril dicairkan lalu dimasukkan masing-masing sebanyak 15 ml ke dalam cawan petri steril, medium tersebut dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar (Based layer), setelah itu medium GNA steril cair suhu 40°C sebanyak 5 ml yang sudah dicampurkan dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan, dituang ke dalam cawan petri yang sudah berisi *based layer* lalu dibiarkan memadat sebagai lapisan atas (Seed layer). Lalu diletakkan pencadangan sebanyak 5 buah pencadangan. Kemudian diisi ekstrak etanol herba seledri sebanyak 0,2 ml

secara aseptis dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2% dan 4% dan kontrol dimasukkan kedalam pencadangan secara aseptis hingga penuh, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam setelah itu dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambatan yang terbentuk.

Pemisahan senyawa secara kromatografi lapis tipis (KLT)

Dari kelima konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan diambil satu konsentrasi yang menghasilkan zona hambatan terbesar. Kemudian lempeng KLT yang akan digunakan diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Ekstrak etanol tersebut ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 10 x 10 cm menggunakan pipa kapiler, dibiarkan beberapa menit hingga kering dan dimasukkan ke dalam chamber (bejana kromatografi) yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (15 : 6 : 1). Dibiarkan terelusi sampai batang lempeng kromatogram. Lempeng dikeluarkan dari bejana, setelah itu noda yang nampak pada kromatogram diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm, kemudian dihitung nilai Rf-nya.

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Medium GNA steril dituang ke dalam cawan petri steril secara aseptis sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar (*based layer*) setelah itu medium GNA steril sebanyak 5 ml yang sudah dicampurkan 1 ml suspensi bakteri uji yang telah disiapkan dituang ke dalam cawan petri yang sudah berisi *based layer* lalu dibiarkan memadat sebagai lapisan atas (*Seed layer*), setelah medium memadat lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas lapisan atas (*Seed layer*). Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam lalu diamati zona hambatan yang terbentuk. Zona hambatan

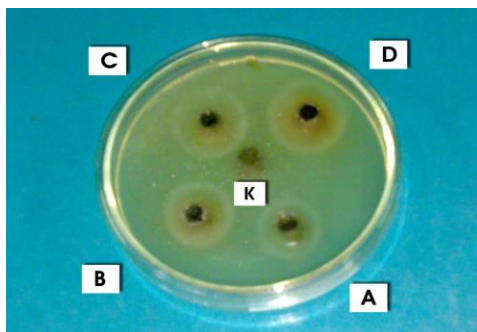
yang ditampakkan pada medium, dibandingkan dengan kromatogram dan hasil penelitian KLT.

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Daerah Hambatan

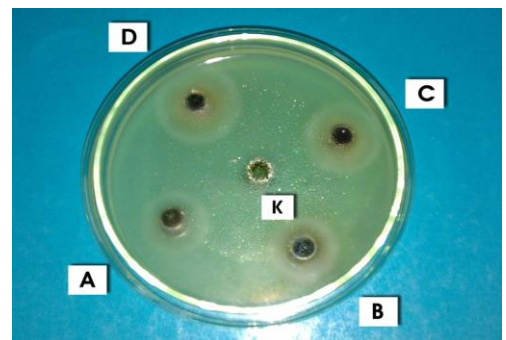
Pengamatan dan pengukuran diameter daerah hambatan dilakukan setelah masa inkubasi 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam.

Tabel. 1. Hasil pengamatan diameter zona hambatan (mm) ekstrak etanol herba seledri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada masa inkubasi 1 x 24 jam

Bakteri Uji	Ekstrak (%)	Ulangan			Rata-rata (mm)
		1	2	3	
<i>Escherichia coli</i>	0,5	15,1	15,3	15,2	15,2
	1	17,3	17,2	17,4	17,3
	2	19,2	19,4	19,6	19,4
	4	20,1	20,2	22,2	20,83
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5	18,4	18,5	18,6	18,5
	1	20,3	20,3	20,3	20,3
	2	21,2	21,6	21,2	21,3
	4	22,2	22,1	22,3	22,2



Gambar 1. Diameter Zona Hambatan Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.) Terhadap Bakteri *E. coli* inkubasi 24 jam.



Gambar 2. Diameter Zona Hambatan Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* inkubasi 24 jam.

Keterangan :

- A: Ekstrak dengan konsentrasi 0,5%
- B: Ekstrak dengan konsentrasi 1%
- C: Ekstrak dengan konsentrasi 2%
- D: Ekstrak dengan konsentrasi 4%
- K: Air suling

Keterangan :

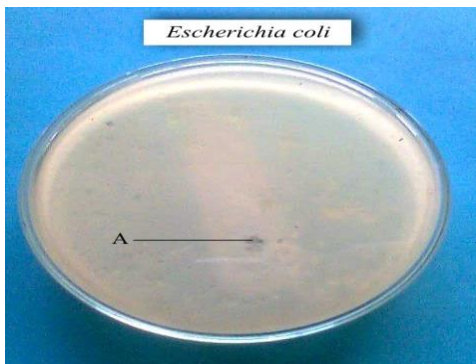
- A: Ekstrak dengan konsentrasi 0,5%
- B: Ekstrak dengan konsentrasi 1%
- C: Ekstrak dengan konsentrasi 2%
- D: Ekstrak dengan konsentrasi 4%
- K: Air suling

Tabel 2. Daftar Nilai Rf dan Warna Kromatogram Hasil KLT - Bioautografi pada penampak noda Lampu UV 366 nm.

Noda ke-	Penampak Noda Lampu UV 366 nm	
	Rf	Warna
1	0,88	Ungu muda
2	0,61	Ungu muda
3	0,32	Ungu muda

Tabel 3. Hasil KLT – Bioautografi

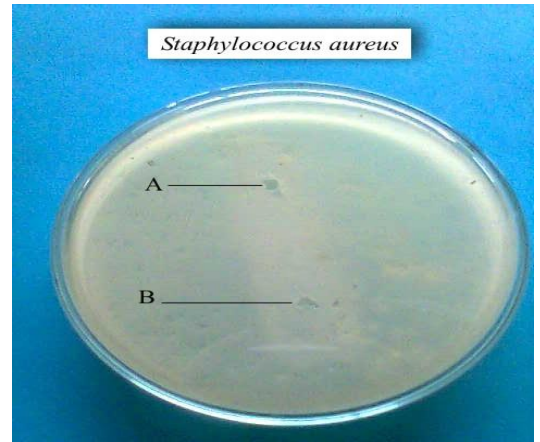
Bakteri	Noda yang menghambat	
	Noda ke-	Rf
<i>Escherichia coli</i>	3	0,32
<i>S. aureus</i>	1	0,88
	3	0,32



Gambar 3. Foto Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Herba Seledri Terhadap Bakteri *E. coli* Terhadap Medium GNA (Glukosa Nutrien Agar) inkubasi 24 jam.

Keterangan :

A : Noda 1 dengan Rf = 0,32

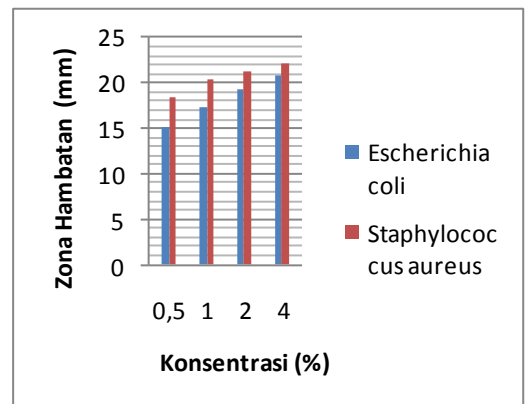


Gambar 4. Foto Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.) Terhadap Bakteri *S. aureus* Terhadap Medium GNA inkubasi 24 jam.

Keterangan :

A : Noda 1 dengan Rf = 0,88

B : Noda 2 dengan Rf = 0,32



Gambar 5. Histogram Zona Hambatan Rata-rata Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens* Linn.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol herba seledri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan mengetahui jumlah komponen kimia yang bersifat antibakteri. Setelah dilakukan pengujian KLT-Bioautografi dan tujuannya untuk melengkapi data antibakteri dari tumbuhan herba seledri.

Escherichia coli sebagai bakteri uji karena *Escherichia coli* terdapat didalam pencernaan manusia yang dapat menyebabkan diare & infeksi dan *Staphylococcus aureus* banyak terdapat pada kulit yang menyebabkan bisul yang berat dan juga menghasilkan toksin yang dapat menyebabkan keracunan pada makanan yang pada akhirnya menyebabkan penyakit gastroenteritis atau inflamasi pada saluran usus. Di samping itu *Escherichia coli* dari golongan bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif.

Penyarian zat aktif herba seledri dilakukan secara maserasi karena menggunakan alat sederhana, murah dan mudah didapatkan, dapat digunakan untuk sampel bertekstur lunak dan tidak tahan pemanasan serta pengerjaannya mudah. Konsentrasi yang digunakan yaitu 0,5%, 1%, 2% dan 4% b/v. Tujuan dari variasi ini adalah untuk melihat jumlah maksimum dan minimum yang dapat memberikan efek antibakteri.

Hasil penelitian memperlihatkan ekstrak etanol herba seledri pada konsentrasi 0,5%, 1%, 2% dan 4% b/v masa inkubasi 24 jam terhadap *Escherichia coli* dengan rata-rata diameter zona hambatan masing-masing 15,2 mm, 17,3 mm, 19,4 mm dan 20,83 mm sedangkan terhadap *Staphylococcus aureus* rata-rata diameter zona hambatan masing-

masing 18,5 mm, 20,3 mm, 21,33 mm, dan 22,2 mm. Dari hasil grafik hubungan konsentrasi (%) dengan diameter zona hambatan rata-rata pertumbuhan bakteri uji (mm) dapat dilihat bahwa kemampuan menghambat lebih besar pada bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil pengukuran diameter zona hambatan rata-rata yang diamati menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etanol meningkat dengan tingginya konsentrasi. Dari keempat konsentrasi tersebut konsentrasi 4% yang memberikan diameter daerah hambatan pertumbuhan yang terbesar yaitu *Escherichia coli* adalah 20,83 mm sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 22,2 mm. Peningkatan konsentrasi dapat memberikan efek toksik semakin besar dengan ditandai oleh zona hambatan yang semakin meningkat, hal ini dikarenakan zat aktif berfungsi sebagai antibakteri diantaranya minyak atsiri, flavanoid, tanin, dan saponin (Indriani, 2005). Dengan demikian berarti semakin besar konsentrasi suatu ekstrak maka akan memberikan efek toksik yang semakin besar pula dimana ditandai dengan semakin besarnya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji dan efek toksik tersebut akan menurun pada konsentrasi tertentu akibat dari kekentalan ekstrak tersebut yang membuat antibakteri yang terdapat dalam ekstrak sulit untuk dilepas dan terdifusi pada medium sehingga daya hambat serta efek toksik yang dihasilkan pun semakin kecil.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan konsentrasi terhadap diameter zona hambatan pertumbuhan mikroba uji. Hal ini dapat dilihat dari F hitung (805,87) yang lebih besar dari F tabel pada taraf 1% (5,29) dan pada taraf 5% (3,24). Dari hasil analisis tersebut menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi terhadap pertumbuhan mikroba uji. Pada uji lanjut

dengan metode Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% dan 1% memperlihatkan adanya pengaruh yang nyata antara konsentrasi ekstrak etanol. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kandungan zat aktif yang berefek sebagai antibakteri, sehingga semakin besar pula diameter zona hambatan yang terbentuk.

Hasil pengujian mikrobiologis dengan pengukuran diameter zona hambatan keempat konsentrasi ekstrak etanol herba seledri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memperlihatkan suatu penurunan daya hambat setelah masa inkubasi 48 jam. Penurunan ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba seledri hanya bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1991), yang menyatakan bahwa bila zona hambatan yang terjadi tetap bening setelah 48 jam menunjukkan bahwa antimikroba yang digunakan adalah bakterisid yang artinya senyawa tersebut dapat membunuh bakteri. Sedangkan apabila selama 24 jam masa inkubasi zona hambatan bening kemudian menjadi keruh setelah masa inkubasi 48 jam menunjukkan bahwa antimikroba tersebut bersifat bakteriostatik.

Pengujian senyawa antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode KLT-Bioautografi, dipilih metode bioautografi kontak karena lebih mudah, sederhana dan paling sering digunakan. Dengan bioautografi kontak diperoleh proses perpindahan senyawa aktif ke dalam medium agar yang dapat menghasilkan zona hambatan yang lebih besar dengan berkurangnya sensitifitas dan kemampuan membedakan antara senyawa aktif dengan nilai Rf yang sama. Dibandingkan dengan bioautografi langsung dimana penyebaran bakteri

pada lempeng sering tidak merata dan kemungkinan terjadinya kontaminasi lebih besar, begitu pula halnya dengan bioautografi pencelupan dimana zona hambatannya agak sulit diamati, maka dengan bioautografi kontak ketersebaran bakteri dapat dijamin serta zona hambatan dapat langsung diamati pada medium agar.

Pengujian secara KLT-Bioautografi dilakukan terhadap senyawa hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis yang terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen yang sesuai. Ekstrak Etanol Herba Seledri dilarutkan dengan eluen yang digunakan dan ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (15 : 6 : 1) untuk pemisahan. Noda yang dihasilkan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm, diperoleh 3 noda yang berfluoresensi dengan nilai Rf 0,88, 0,61, 0,32 (tabel 2 dan gambar 3 dan 4) pada penampak noda sinar UV 366 nm.

Hasil KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa tidak semua noda hasil pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji yang digunakan. Noda-noda yang mampu menghambat dengan nilai Rf 0,88 dan 0,32 pada bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan pada *Escherichia coli* hanya pada Rf 0,32.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba seledri mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) maupun bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*). Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Indriani (2005) yang melakukan penelitian terhadap bakteri yang berbeda (bakteri gram positif dan bakteri gram negatif) dengan menggunakan ekstrak etanol herba seledri hasilnya positif menghambat pertumbuhan bakteri.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap herba seledri (*Apium graveolins* Linn), maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolins* Linn) konsentrasi 0,5%, 1%, 2% dan 4% mempunyai efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus* dan bersifat bakteriostatik serta hambatan lebih besar pada *Staphylococcus aureus* dibanding *Escherichia coli*.
2. Konsentrasi ekstrak 4% mempunyai diameter zona hambatan yang lebih besar dibandingkan 3 konsentrasi lainnya baik terhadap *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*.
3. Terdapat 1 noda yang bersifat antibakteri terhadap *Escherichia coli* yaitu noda pada Rf 0,32 sedangkan pada *Staphylococcus aureus* terdapat 2 noda pada Rf 0,88 dan 0,32.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan. Edisi I. Penerbit Andi. Yogyakarta. Hal. 2, 9, 14, 17.
- Dalimartha S., 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Trubus Agriiwidya. Jakarta 150-151. 173-173.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 8-10.
- Djide, M. N. dan Sartini. 2005. *Analisa Mikrobiologi Farmasi*. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal 295-301.
- E. Merk, Darmstadt. 1980. *Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography*. Federal Republik of Germany. Hal. 1,39,220,329.
- Ganiswara, S., dkk. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. (572-573).
- Gritter R.J., Bobbot J.M. Schawarting E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi Kedua Penerbit ITB. Bandung, hal 107-115.
- Harbone, J.G. 1987. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Edisi II. Institut Teknologi Bandung Press. Bandung, hal. 1-38 dan 90-112.
- Hariani A., 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri III. Penerbit Swaday. Jakarta 119.
- Indriani, N., 2005. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Herba Seledri (Apium graveolins Linn) Terhadap Beberapa Bakteri*. Makassar. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pancasakti.
- Karsinah. 1993. *Mikrobiologi Kedokteran*. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta, hal. 165-167.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid II. Universitas Indonesia, Jakarta. Hal. 949, 954,959.
- Rukmana, Rahmat. 1995. *Bertanam Seledri*. Jakarta. 14-18.

- Sastrohamidjoyo. H., 1985. *Kromatografi Liberty*. Yogyakarta. Hal 26, 30, 34, 36.
- Wijayakusuma, H., 1992. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid III. Kartini Jakarta 1
- Sujudi, dkk. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Binarupa Aksara. Jakarta, hal. 220.
- Siswoyo, P., 2004. *Tumbuhan Berkhasiat Obat dengan Penyakit dan Gejalanya*. Penerbit Absolut. Yogyakarta. Hal. 100-101.
- Steenis, C.G.G.J., 1997. *Flora*. Pradya Paramitha. Jakarta.
- Sulaeman, dkk. 2002. *Fitokimia dalam Praktek*. Laboratorium Farmakognosi/Fitokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pancasakti. Universitas Pancasakti. Makassar, hal. 16.
- Smith, Conan, dan Overman. 1964. *Microbiology 13th Edition*. Meredith Publishing Company. New York. 613, 614, 629.
- Thomas., 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Cetakan Pertama. Penerbit Karnisius. Yogyakarta. Hal 22-23.
- Tjay, H.T, Raharja, K., 1978. *Obat-obat penting*. Edisi IV. Dirjen POM. Departemen Kesehatan RI. Jakarta 5-13.
- Tjokronegoro, A., 1993. *Etik Penelitian Obat Tradisional*. Balai penerbit Fakultas Kedokteran UI. Jakarta 9.
- Wattimena J.R. 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, hal. 56-57.