

POTENSI TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*) SEBAGAI ANTI BAKTERI DAN KANDUNGAN SENYAWA KIMIA

Potential of Temu Putih (Curcuma zedoaria) as an Antibacterial and the Content of Chemical Compounds

Maiyani Hartono^{1*}, Nurlaila¹, Irmanida Batubara²

¹ Program Magister Program Studi Kimia Sekolah Pascasarjana. * e-mail: *maiyani.hartono@gmail.com*

² Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Indonesia is one of the archipelago country which have potential as land for cultivation of curcuma's plant especially temu putih (*Curcuma zedoaria* L). The objective of this research was to find atsiri oil from temu putih with water extract as antibacterial agent. The bacteria were used *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus epidermidis*. Atsiri oil was found by distillation inhibiting *B. subtilis* and *S. epidermidis*. *Staphylococcus epidermidis* is a bacteria living naturally on human skin and mucosa membrane cause the skin diseases, while *B. subtilis* is a bacteria contaminating food but doesn't cause toxication. Temu putih was the most active with minimum inhibitory on concentration (MIC) 500 mg/mL and still wasn't positive minimum bactericidal concentration (MBC) on 2000 mg/mL. The atsiri oil was determined using gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). The main components of volatile oil isolated were camphene; 1-beta-pinene; myrcene; 1,8-cineole; camphor; beta elemene; bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-,exo; borneol L; eremophilene; (+)calarene; valencene; beta-elemenone; germacrone and 2-ethoxy-6-ethyl-4,4,5-trimethyl-1,3-dioxo-4-sila-2-boracyclohex-5-ene. Temu putih will become alternative choice as skin medicine for people.

Keywords: *Curcuma zedoaria*, atsiri oil, antibacterial, camphene, 1-beta-pinene

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan yang memiliki potensi dalam mengembangkan tanaman obat. Pernyataan tersebut didukung oleh pernyataan WHO tentang permintaan produk herbal dimana keseluruhan negara Eropa dalam kurun waktu 1999-2004 mencapai 66% dari permintaan dunia (Wardana *et al.* 2002). Salah satu contoh dari tanaman obat yang khasiatnya telah diketahui dan digunakan secara turun-temurun yaitu tanaman rempah.

Salah satu rempah yang dikenal di Indonesia adalah tanaman temu-temuan (*Zingiberaceae*) yang merupakan tanaman daerah tropis yang sangat berguna. Rimpang dari beberapa jenis tanaman digunakan sebagai rempah-rempah, obat-obatan, bahan kosmetik dan pewarna makanan. Salah satu jenis suku temu-temuan adalah temu putih (*Curcuma zedoria*). Temu putih termasuk divisi Spermatophyta,

subdivisi Angiospermae, kelas Monocotyledoneae, bangsa Zingiberales dan suku Zingiberaceae. Sejak empat tahun terakhir ini temu putih sangat digemari, karena berkhasiat sebagai antikanker dan antivirus.

Tanaman ini digunakan sebagai ramuan obat tradisional dalam bentuk campuran maupun dalam bentuk tunggal. Salah satu penggunaan empiris tanaman ini adalah sebagai obat gangguan perut seperti mual, sebah, sakit perut dan diare. Kandungan kimia yang terdapat dalam rimpang dan daun temu putih adalah curcumin, zedoarin, gum, resin, pati, saponin, flavanoida, polifenol, dan minyak atsiri seperti cineol, camphene, zingiberene, borneol, dan camphor.

Masalah kulit sering kali dijumpai karena adanya bakteri dan terjadi infeksi kulit. Salah satu bakteri yang menyerang kulit adalah *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri ini secara alami hidup pada kulit dan membran mukosa manusia (Wikipedia 2011a). Selain menyerang kulit bakteri lain dapat menkontaminasi makanan, contohnya bakteri *Bacillus subtilis*. Bakteri tersebut jarang sampai menyebabkan keracunan pada makanan. Sporanya dapat tahan terhadap panas tinggi yang sering digunakan pada makanan dan bertanggungjawab terhadap kerusakan pada roti. Bakteri tersebut juga menyebabkan kekentalan yang lengket, akibat memproduksi rantai panjang polisakarida (Setiyono 2011).

Ekstrak minyak atsiri yang diperoleh dari destilasi temu putih akan digunakan dalam uji antibakteri terhadap dua bakteri yaitu *S. epidermidis* dan *B. subtilis*. Minyak atsirinya juga diukur menggunakan GC-MS untuk melihat komponen senyawa penyusunnya.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dari minyak atsiri terhadap aktivitas antibakteri dan memberikan informasi komponen apa saja penyusun dari rimpang temu putih. Berdasarkan adanya senyawa aktif yang dikandung beberapa suku temu-temuan, diharapkan ekstrak minyak atsiri temu putih dapat memiliki potensi dalam melawan bakteri *S. epidermidis* dan *B. subtilis*. Senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri temu putih diidentifikasi dengan menggunakan GC-MS.

METODE PENELITIAN

Metode

Sampel segar temu putih diperoleh dari Balai Perkebunan Bogor. Sampel dibersihkan dan dipotong tipis-tipis, lalu dikeringkan pada terik matahari selama tiga hari hingga sampel berbentuk renyah. Sampel kering dilakukan destilasi dengan menggunakan air suling sebanyak 150 g dalam 2 L aquades. Sampel dipanaskan kurang lebih 200 °C sampai 400 °C, sehingga dihasilkan minyak atsiri. Minyak atsiri ditampung dalam botol vial tertutup rapat. Destilasi dilakukan di Laboratorium Organik, Departemen Kimia, IPB. Penyiapan sampel dilakukan di Laboratorium Terpadu INTP, IPB. Selanjutnya, minyak atsiri diuji aktivitas antibakteri *S. epidermidis* di laboratorium Biofarmaka Bogor, dan uji aktivitas anti bakteri *B. subtilis* di Laboratorium Bioteknologi BPPT. Minyak atsiri juga dianalisa komponen kimia yang dimilikinya dengan menggunakan GC-MS.

Persiapan Sampel

Temu putih yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Balai Perkebunan Cimanggu, Bogor, dicuci hingga bersih untuk menghilangkan tanah yang menempel. Lalu diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan menjemurnya di bawah sinar matahari selama 3 hari.

Destilasi

Sebanyak 150 g sampel kering ditimbang, dimasukkan ke dalam labu bulat destilasi kapasitas 500 g lalu ditambahkan 2 L air suling. Labu diletakkan pada mantel pemanas dan dihubungkan dengan kondensor. Dididihkan selama kurang lebih 4 jam. Tampung air destilat dan ekstrak minyak atsiri dalam wadah terpisah.

Penentuan Senyawa dengan GC-MS

Identifikasi senyawa dalam minyak atsiri dengan GC-MS dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Jakarta. Penentuan senyawa yang dikandung oleh temu putih adalah dengan menginjeksikan senyawa minyak atsirinya ke dalam GC-MS. Dihasilkan spektrum yang didalamnya diberikan informasi kelimpahannya, waktu retensinya, serta dicocokkan dengan sistem data *library Wiley* yang sudah tersedia pada alat.

Uji Antibakteri *S. epidermidis*

Organisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis*. Media yang digunakan yaitu Trypticase Soy Broth (TSB). Sebanyak 100 μL medium steril, 40 μL sampel dilarutkan dalam DMSO 20% atau kontrol dan 5 μL inokulum bakteri dimasukkan ke dalam masing-masing sumur (*96-well plate*). Inokulum telah disiapkan pada konsentrasi 10^2 CFU/mL. *S. epidermidis* diinkubasi dalam media selama 48 jam pada suhu 37 °C. Konsentrasi ekstrak yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri (bening) secara visual dideskripsikan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Batubara *et al.* 2009).

Sebanyak 100 μL dari media yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri diinokulasikan pada 100 μL media baru. Konsentrasi yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah inokulasi kedua dideskripsikan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO dan kontrol positifnya tetrasiklin dan TCC.

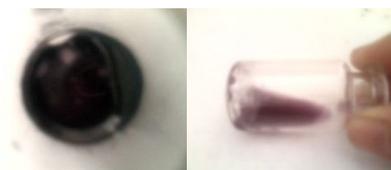
Uji Antibakteri *B. subtilis*

Mikroba *B. subtilis* digoreskan ke permukaan media *nutrient agar* dalam cawan petri yang berbeda. Sebanyak 15 μL sampel diteteskan ke atas *paper disc* dengan diameter 6 mm kemudian dikeringkan. *Paper disc* kemudian diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi media *nutrient agar*. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, kemudian diamati dan diukur diameter daya hambat. Rifampicin 1000 ppm digunakan sebagai kontrol antibiotik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa GC-MS

Dari hasil destilasi didapatkan bahwa minyak atsiri yang dihasilkan temu putih (*Curcuma zedoaria*) memiliki bau khas minyak atsiri. Minyak yang dihasilkan berwarna ungu tua sehingga sekilas akan terlihat berwarna hitam, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 1. Minyak atsiri yang diperoleh dari proses destilasi memiliki rendemen sebesar 0,47% (b/v). Hasil identifikasi senyawa aktif minyak atsiri dengan GC-MS, disajikan dalam Tabel 1.

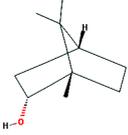
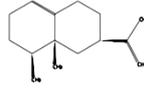
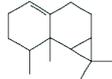
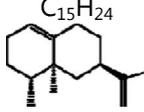
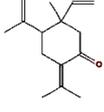
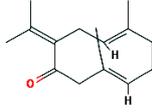


Gambar 1. Minyak atsiri temu putih.

Tabel 1. Senyawa Utama Temu Putih.

No	Senyawa	Waktu retensi (menit)	Kemiripan dengan Library(%)	Struktur Kimia
1	Camphene	4,03	98	 C ₁₀ H ₁₆
2	1-beta-pinene	4,69	97	 C ₁₀ H ₁₆
3	Mycrene	5,64	96	 C ₁₀ H ₁₆
4	1,8-Cineole	6,68	99	 C ₁₀ H ₁₈ O
5	Camphor	15,85	98	 C ₁₀ H ₁₆ O
6	Beta Elemene	20,4	99	 C ₁₅ H ₂₄
7	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-,exo (CAS)	21,23	94	 C ₁₃ H ₂₂ O ₂

Tabel 1. Lanjutan

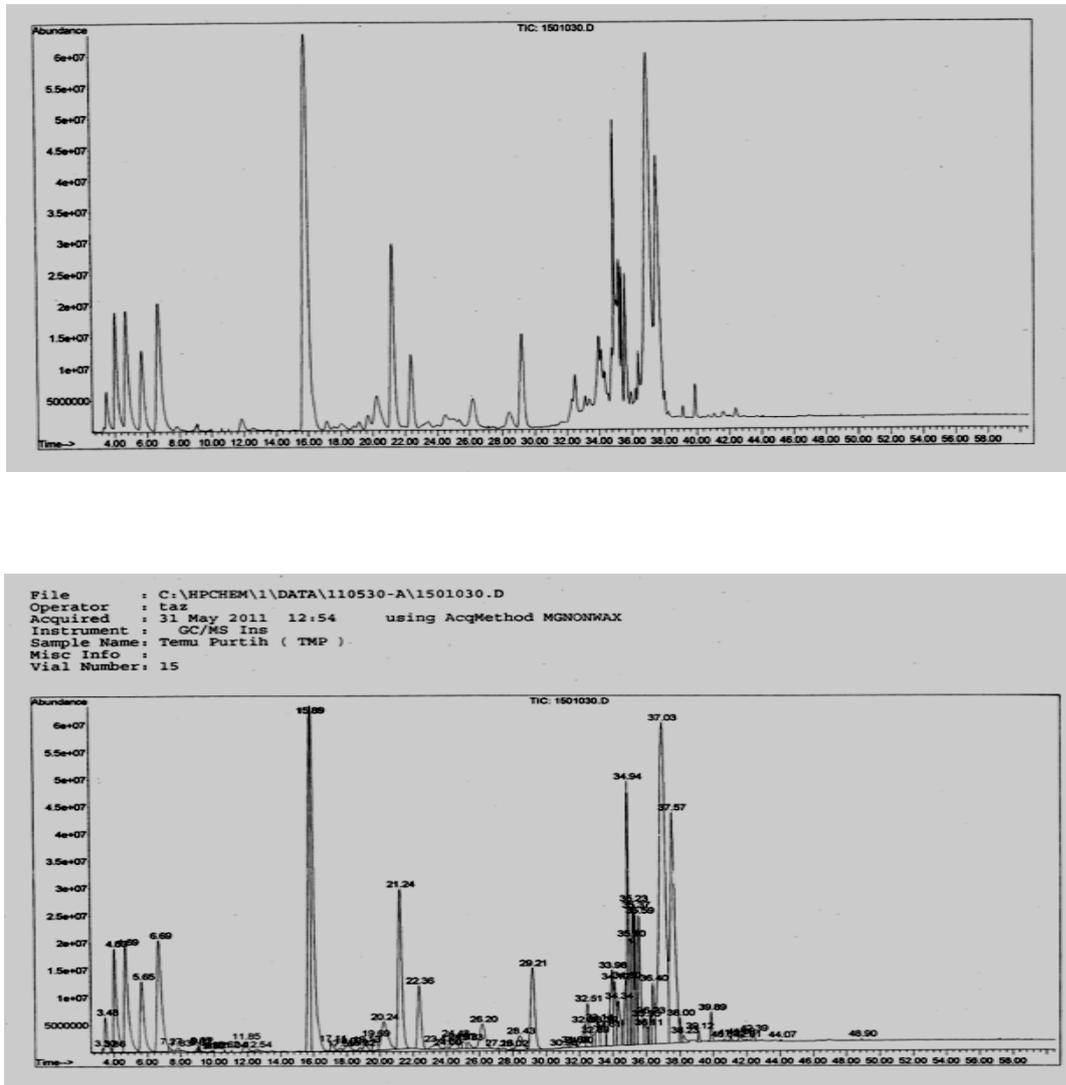
No	Senyawa	Waktu retensi (menit)	Kemiripan dengan Library(%)	Struktur Kimia
8	Borneol L	22,36	94	 $C_{10}H_{18}O$
9	Eremophilene	26,20	93	 $C_{15}H_{24}$
10	(+)Calarene	26,20	93	 $C_{15}H_{24}$
11	Valencene	32,51	91	 $C_{15}H_{24}$
12	Beta-Elementone	34,80	97	 $C_{15}H_{22}O$
13	Germacrone	35,23	90	 $C_{15}H_{22}$
14	2-ethoxy-6-ethyl-4,4,5-trimethyl-1,3-dioxo-4-sila-2-boracyclohex-5-ene	35,59	90	-

Keempat belas senyawa tersebut memiliki persamaan dengan data *libraries DATABASE WILEY275L* yang tersedia pada instrumen GC-MS. Didapatkan komponen utama yang sesuai dengan database dengan kemiripan di atas 90%. Dengan demikian, identifikasi minyak atsiri temu putih mengandung 14 senyawa utama. Namun secara keseluruhan sangat memungkinkan jika selain 14 senyawa utama, ada senyawa baru lain dapat diteliti lebih lanjut. Dengan data spektrum hasil GC-MS, total senyawa teridentifikasi sebanyak 76 senyawa seperti pada Gambar 2.

Pada penelitian ini ekstrak minyak atsiri didapatkan dengan melakukan destilasi air suling saja. Destilasi uap air dipilih karena dapat digunakan untuk bahan campuran senyawa yang memiliki titik didih mencapai 200 °C. Aplikasi destilasi uap adalah digunakan untuk mengekstrak beberapa produk alam (Wikipedia 2011b) seperti salah satunya adalah minyak atsiri yang dihasilkan oleh temu putih.

Temu putih seperti halnya rimpang temu-temuan lainnya memiliki bau yang khas. Bau yang khas mengindikasikan bahwa rimpang memiliki komponen minyak atsiri. Untuk menghasilkan minyak atsiri terdapat empat teknik yang secara luas dipakai dengan menggunakan tanaman bahan baku, yaitu penyulingan uap atau air,

kempa dingin (*cold pressing*), ekstraksi pelarut (*solvent extraction*), ekstraksi dengan gas cair (*liquefied gasses extraction*) (Kahol 1984).



Gambar 2. Spektrum GC-MS temu putih dengan tanpa keterangan waktu retensi (atas), dan menggunakan keterangan waktu retensi (bawah).

Hal yang menjadi pertimbangan bagi pemilihan teknik yang cocok untuk menyuling minyak meliputi sensitifitas minyak atsiri terhadap panas, air dan volatilitas. Kebanyakan minyak atsiri yang diperdagangkan dapat menguap bersama dengan uap air, stabil terhadap panas, dan tidak larut di dalam air hingga cocok diolah dengan penyulingan panas (Kahol 1984).

Rimpang temu putih mengandung 1% sampai 2,5% minyak atsiri yang terdiri dari monoterpen yang berkhasiat sebagai antineoplastik (antikanker) dan telah terbukti dapat menonaktifkan pertumbuhan sel kanker payudara dan seskuiterpen sebagai komponen utamanya. Minyak atsiri tersebut mengandung lebih dari 20 komponen, di antaranya kurzerenon (zedoarin) yang merupakan komponen terbesar, kurkumin yang berkhasiat sebagai anti radang dan antioksidan

yang dapat mencegah kerusakan gen, epikurminol yang berkhasiat sebagai antitumor, kurkuminol yang berkhasiat sebagai hepatoprotektor (pelindung hati), dan zingiberen (Dalimartha & Novalina 2003). Selain minyak atsiri, dalam temu putih juga terkandung zat pati, damar, mineral, lemak, saponin, flavonoid, polifenol, dan triterpenoid (Anonim 2004, Hembing 2005, Syukur 2004). Telah dilaporkan bahwa ekstrak minyak atsiri rimpang mengandung senyawa seperti cineol, camphene, zingiberene, borneol, dan camphor (Nuratmi *et al.* 2002).

Uji Antibakteri Temu Putih

Antibakteri adalah zat yang mampu membasmi mikroba yang bersifat patogen terhadap manusia atau hewan tetapi relatif tidak toksik terhadap inangnya (Gan 1987). Cara kerja antibakteri ada yang bersifat mematikan bakteri (bakterisida) dan ada yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) (Shcunack *et al* 1990). Kerja antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat uji, jumlah bakteri, adanya bahan organik dan pH (Pelzcar & Chan 1986).

Menurut Pelzcar dan Chan (1986) senyawa yang bersifat sebagai antibakteri antara lain adalah etanol, senyawa fenolik, klor, iodin dan etilen oksida. Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai satu atau dua gugus hidroksil. Minyak atsiri yang termasuk senyawa terpenoid diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Yunilawati 2002).

Berdasarkan efektivitas kerjanya terhadap berbagai macam mikroorganisme, zat antibakteri dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antibakteri berspektrum luas yang efektif terhadap berbagai jenis mikroorganisme dan antibakteri berspektrum sempit yang hanya efektif terhadap mikroorganisme tertentu (Pelzcar dan Chan 2007).

Dari hasil maserasi yang telah dilakukan oleh Rita (2010) menunjukkan bahwa temu putih mengandung triterpenoid sebagai anti bakteri, bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pada hasil ekstrak metanol (Nurhayati 2010) pada temu putih, memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*, salah satu penyebab penyakit pneumonia. Senyawa yang dikandung temu putih juga mengandung senyawa fenolik yang telah diketahui berpotensi sebagai antibakteri.

Pemanfaatan temu putih sebagai obat diare dan disentri juga dilaporkan Depkes RI dalam SP. No.383/12.01/1999 (Syukur 2004) dan didukung oleh hasil penelitian Puslitbang Biomedis dan Farmasi yang menunjukkan bahwa jus temu putih mempunyai efek sebagai obat diare, setelah dilakukan uji terhadap tikus putih jantan (Nuratmi *et al.* 2007).

Ekstrak minyak atsiri ditemukan memiliki aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan metode cakram kertas yaitu *Bordetella bronchiseptica*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Pseudomonas pyogenes*, *S. aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia mercenses*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, dan *Mycrosporium gypseum* (Afrida *et al.* 1993).

Uji Aktivitas Bakteri *B. subtilis*

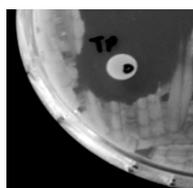
Minyak atsiri TP mampu menghambat bakteri *B. subtilis* dengan diameter hambat berupa zona bening 16,92 mm sedikit lebih kecil dengan kontrol yang memiliki diameter hambat zona bening sebesar 18,84 mm (Tabel 2 dan Gambar 3).

Uji Aktivitas Bakteri *S. epidermidis*

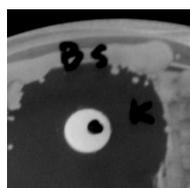
Hasil Uji Nilai hambat minimum sampel TP terhadap bakteri *S. Epidermidis* memperlihatkan bahwa pada konsentrasi 500 ppm minyak atsiri TP mampu menghambat bakteri *S. Epidermidis*. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian konsentrasi bunuh minimum pada beberapa *plate* (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil Uji Antibiotik.

No	Kode Sampel	Diameter Hambatan (mm)
		<i>Bacillus subtilis</i>
1	Temu Putih	16,92
2	Kontrol Rifampicin 1000 ppm	18,84



a



b

Gambar 3. Zona bening temu putih (a) dan Kontrol rifampicin 1000 ppm (b) pada media yang mengandung bakteri *B. subtilis*.

Tabel 3. Konsentrasi Hambat Minimum Sampel Temu Putih.

Plate	Ulangan 1	Ulangan 2	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Konsentrasi (ppm)
A	+	+	+	-	2000
B	+	+	+	-	1000
C	+	+	+	-	500
D	-	-	+	-	250
E	-	-	+	-	125
F	-	-	+	-	62,50
G	-	-	+	-	31,25
H	-	-	+	-	15,63

Sebanyak 100 μ L dari media yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri diinokulasikan pada 100 μ L media baru. Konsentrasi yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah inokulasi kedua dideskripsikan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO dan kontrol positifnya tetrasiklin dan TCC.

Tabel 4. Konsentrasi Bunuh Minimum Sampel Temu Putih.

Plate	Ulangan 1	Ulangan 2	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Konsentrasi (ppm)
A	–	–	+	–	2000
B	–	–	+	–	1000
C	–	–	+	–	500
D	–	–	+	–	250
E	–	–	+	–	125
F	–	–	+	–	62,50
G	–	–	+	–	31,25
H	–	–	+	–	15,63

Pengujian konsentrasi bunuh minimum menghasilkan bahwa ternyata temu putih belum mampu membunuh pada konsentrasi 2000 ppm. Untuk pengujian lebih lanjut bisa diuji kembali dengan menaikkan konsentrasi minyak atsiri TP.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil uji antibakteri tersebut didapatkan bahwa minyak atsiri temu putih memiliki diameter hambat terhadap bakteri *B.Subtilis* sebesar 16,92 mm sedikit lebih kecil dengan kontrol yang memiliki diameter hambat zona bening sebesar 18,84 mm. Sedangkan untuk nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) *S. Epidermidis* sudah bisa menghambat pada konsentrasi 500 ppm, dan tidak memiliki konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada 2000 ppm. Dari hasil pengukuran dengan menggunakan GC-MS minyak atsiri temu putih mengandung beberapa senyawa diantaranya camphene; 1-beta-pinene; mycrene; 1,8-cineole; camphor; beta elemene; bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-,exo; borneol L; eremophilene; (+) calarene; valencene; beta-elemenone; germacrone and 2-ethoxy-6-ethyl-4,4,5-trimethyl-1,3-dioxa-4-sila-2-boracyclohex-5-ene.

Saran

Pengujian lebih lanjut terhadap senyawa kimia temu putih agar dilakukan untuk mengidentifikasi kembali fraksi dan senyawa aktif murni pada minyak atsiri temu putih yang mampu menghambat dan membunuh bakteri *B. subtilis* dan *S. epidermidis*. Untuk konsentrasi bunuh minimum bisa diujikan kembali terhadap konsentrasi di atas 2000 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

Afrida, Elin YS, Asep GS. 1993. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antifungi Minyak Atsiri Empat Jenis Tanaman Suku Zingiberaceae. Bandung: Departemen Farmasi ITB.

- Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. 2009. Screening Antiacne Potency of Indonesia Medicinal Plant: antibacterial, lipase inhibitor and antioxidant activities. *J Wood Sci* 55:230-235.
- Dalimartha S. 2003, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 3, Puspa Swara, Jakarta.
- Gan S. 1987. *Farmakologi dan Terapi*. Ed Ke-3. Jakarta: UI Pr.
- Kahol AP. 1984. Distillation Technology, di dalam Practical Manual On: The Essential Oils Industry. UNIDO, Vienna, Austria.
- Nurhayati N. 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Fenolik dari Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc). Surabaya: Airlangga University Library.
- Nuratmi B, Nugroho YA, Sundari D. 2002. Efek Antidiare Jus Temu Putih dan Temu Mangga pada Tikus Putih. *Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional Badan Litbang Kesehatan*. Depkes. Indonesia.
- Nuratmi B, Nugroho YA, Sundari D. 2007. [terhubung berkala]. <http://digilib.litbang.depkes.go.id/go.php?node=193jpkbpbpk-gdl-jou-2007-budinuratm-2443>. [21 September 2007].
- Pelzcar MJ, Chan ECS. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Pr.
- Rita WS. 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe). *J Kimia* 4:20-26.
- Syukur C, Hernani. 2001. *Budidaya Tanaman Obat Komersial*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Syukur C. 2004. *Temu Putih Tanaman Obat Antikanker*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Schunack W, Mayer K, Haake M. 1990. *Senyawa Obat* Ed. Ke-II. Wattimena JR & Soebito S, penerjemah. Yogyakarta: UGM Pr.
- Setiyono L. 2011. Bacillus subtilis dan Aplikasinya Dalam Dunia Industri. [terhubung berkala] <http://lutfiblurry.blogspot.com/2011/02/bacillus-subtilis-dan-aplikasinya-dalam.html> [24 Juni 2011].
- Wikipedia 2011a. *Staphylococcus epidermidis* [terhubung berkala]. http://id.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis [24 Juni 2011].
- Wikipedia 2011b. Distilasi. [terhubung berkala]. <http://id.wikipedia.org/wiki/Distilasi> [3 Juli 2011].
- Wardana HD, Barwa NS, Kongsjahju A, Iqbal MA, Khalid M, Taryadi RR. 2002. *Budidaya Secara Organik Tanaman Obat Rimpang*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Yunilawati R. 2002. Minyak Atsiri Daun Sirih Sebagai Antibakteri *S. mutans* dalam Pasta Gigi [Skripsi]. Bogor: Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor.