

Daya Anti *Staphylococcus aureus* dari Fermentasi Daun Beberapa Jenis Tumbuhan Obat ¹⁾

Ernawati Kasim [✉], T. Yulinery, R. Hardiningsih, E. Triana, & R.N.R. Napitupulu
Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor

ABSTRACT

Anti *Staphylococcus aureus* of the Fermented Leaves of Several Medicinal Plants. This research tried to enhance the antimicrobial activity especially against *Staphylococcus aureus* by fermenting the leaves with *Acetobacter-Saccharomyces*. The result showed that the suspension of the leaves of *Psidium guajava*, *Hibiscus rosasinensis*, *Daucus carota*, *Morinda citrifolia*, *Pyrus malus*, *Apium graveolens* and *Piper betle* could inhibit the growth of *S.aureus*, while *Persea gratissima*, *Amaranthus caudatus* and *Nothopanax scutellaria* did not.

Keywords : *Staphylococcus aureus*, medicinal plants, antimicrobial

PENDAHULUAN

Bahan alam yang terdapat di Indonesia terutama yang berasal dari tumbuhan masih banyak yang belum dimanfaatkan secara optimal. Untuk itu perlu dilakukan penelitian fitokimia dan farmakologi secara berkesinambungan. Hal inilah yang mendasari para peneliti untuk melakukan penelitian aktivitas farmakologi, uji klinis, dan uji anti mikroba dari tumbuhan tropis Indonesia yang dinilai memiliki beragam bahan kimia yang mungkin dapat dijadikan bahan baku obat.

Anti bakteri merupakan salah satu fenomena antagonisme yang menggambarkan matinya, rusaknya, atau terhambatnya pertumbuhan mikroba oleh pengaruh mikroba lain. Pengaruhnya bisa

langsung maupun tidak langsung. Bahan anti bakteri ini didapatkan dengan cara fermentasi beberapa jenis daun dari tumbuhan obat menggunakan *Acetobacter xylinum* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentasi dengan *Acetobacter xylinum-Saccharomyces cerevisiae* merupakan teknik bioekstraksi "Se" yang berfungsi sebagai pendegradasi. Fermentasi ini dikenal dengan nama fermentasi kombucha. Pada fermentasi ini juga ditambahkan senyawa lain yang mendukung pertumbuhan mikroba tersebut, yaitu glukosa dan asam asetat. Glukosa akan difermentasi oleh *S. cerevisiae* menjadi etanol dan CO₂. Etanol ini kemudian akan dioksidasi oleh *A. xylinum* menjadi asam asetat (Puspitasari, 2001).

Genus *Acetobacter* yang lazim disebut sebagai bakteri asam asetat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu kelompok spesies *Acetobacter* yang dapat

¹⁾ Telah dipresentasikan pada Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI di Bandung, 29-30 Agustus 2003

[✉] Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16122

mengoksidasi asam asetat menjadi karbondioksida dan air, contohnya *A. aceti* dan kelompok kedua yaitu jenis atau kelompok yang tidak dapat mengoksidasi asam asetat menjadi karbondioksida dan air, contohnya *A. xylinum* (Prescott *et al.*, 1959). *Saccharomyces cerevisiae* mampu memfermentasi sejumlah senyawa gula, oleh sebab itu jenis khamir ini sering digunakan dalam industri Farmasi (Susmandari, 2002).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen gram positif yang mudah tumbuh pada kebanyakan medium bakteriologis dalam keadaan aerob maupun anaerob fakultatif. *S. aureus* banyak ditemukan di sekitar lingkungan hidup manusia penyebab penyakit infeksi di dunia. Hal ini disebabkan oleh kemampuan *S. aureus* mudah beradaptasi dengan lingkungannya melalui ketahanannya terhadap antimikrobia yang dimilikinya. Bakteri ini terutama ditemukan pada kulit, kelenjar kulit, selaput lendir, luka, umumnya merupakan penyebab radang tenggorokan serta infeksi kulit (bisul), infeksi sistem syaraf pusat dan paru-paru (Tally, 1993).

Berdasarkan hal di atas dilakukan penelitian untuk mendapatkan jenis-jenis tumbuhan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* setelah fermentasi dengan *Acetobacter xylinum-Saccharomyces cerevisiae*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah biakan murni *Acetobacter xylinum* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Biakan murni *Staphylococcus aureus* digunakan sebagai bakteri pengujian, yang merupakan salah satu koleksi dari

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor. Untuk fermentasi ekstrak tumbuhan obat digunakan 10 jenis tumbuhan, yaitu daun jambu biji lokal (*Psidium guajava*), daun kembang sepatu (*Hibiscus rosasinensis*), wortel (*Daucus carota*), daun mangkokan (*Nothopanax scutellaria*), daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), buah apel (*Pyrus malus*), daun alpukat (*Persea gratissima*), daun bayam (*Amaranthus caudatus*), daun seledri (*Apium graveolens*), daun sirih (*Piper betle*) yang telah dikeringkan, gula pasir, dan akuades.

Pembuatan starter *Acetobacter xylinum-Saccharomyces cerevisiae*

Media untuk starter yang dipilih untuk pertumbuhan *A. xylinum-S. cerevisiae* ialah ekstrak nanas. Nanas yang telah dikupas kulitnya, dipotong kecil-kecil, lalu diblender. Setelah halus, disaring dengan kain saring. Ekstrak nanas kemudian ditambah akuades dengan perbandingan ekstrak nanas : air = 30% : 70%. Ekstrak nanas ini kemudian dimasukkan ke dalam botol-botol jar besar dan ditambahkan gula pasir sebanyak 5% lalu ditutup dengan kain kasa lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 10% biakan konsorsium *A. xylinum-S. cerevisiae* lalu diinkubasi selama 3-4 hari.

Fermentasi daun

Daun yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan ke dalam botol jar 100 ml. Lalu ditambahkan 10 g gula pasir dan 50 ml akuades. Botol ditutup dengan kain kasa, Semua botol berisi sampel disterilisasi

dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit, lalu ditambahkan starter *A. xylinum-S. cerevisiae* sebanyak 5 ml (10% dari larutan contoh) lalu diinkubasi selama 6 hari.

Pengambilan ekstrak hasil fermentasi dan pengukuran pH

Larutan ekstrak hasil fermentasi dimasukkan ke dalam tabung eppendorf steril. Ekstrak tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatannya diambil untuk pengujian zona hambat. Sisa ekstrak hasil fermentasi dan ekstrak kontrol diukur pHnya. pH kontrol sebagai pH awal dan pH ulangan sebagai pH akhir.

Uji daya hambat ekstrak tumbuhan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*

Media NA agar padat yang telah disteril dan masih dalam keadaan panas dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml. Media NA agar diinokulasi dengan *S. aureus* yang telah berusia 24 jam. Kertas cakram steril direndam ke dalam supernatan ekstrak tumbuhan selama 5 menit, lalu diambil dengan pinset steril dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah diolesi bakteri *S. aureus*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Setelah 3 hari dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang berupa zona bening disekeliling kertas cakram. Oleh karena suatu diameter zona hambat tidak berbentuk lingkaran sempurna, maka pengukuran dilakukan 3 kali dengan mengambil sisi yang berbeda atau diukur pada ketiga titik beratnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Starter *Acetobacter xylinum-Saccharomyces cerevisiae*

Pertumbuhan konsorsium *A. xylinum-S. cerevisiae* pada starter sangat dipengaruhi oleh pH media, jumlah oksigen, waktu inkubasi, dan komposisi media. Untuk mendapatkan kondisi yang baik bagi pertumbuhan konsorsium tersebut, maka biakan tersebut ditumbuhkan pada media cair yang sesuai, yaitu yang memiliki pH asam. Hal ini sesuai dengan sifat *A. xylinum* yang merupakan bakteri asam asetat dan bakteri acidofilik (bakteri yang hidup pada suasana asam).

Ekstrak nanas digunakan sebagai media cair, dengan alasan bahwa ekstrak ini memiliki pH yang rendah. *A. xylinum* dan *S. cerevisiae* merupakan mikroba yang bersifat aerob, sehingga pada pertumbuhannya, jumlah oksigen yang ada harus cukup. Oleh karena itu, saat inkubasi, botol hanya ditutup dengan kain kasa dan plastik yang dilubangi. Untuk pertumbuhannya, *A. xylinum* dan *S. cerevisiae* lebih baik diinkubasi dalam ruangan, sebab kedua mikroba ini termasuk mikroba mesofilik, yaitu mikroba yang dapat tumbuh dengan baik pada suhu ruang. Waktu inkubasi yang diperlukan untuk pertumbuhan konsorsium *A. xylinum-S. cerevisiae* yaitu selama 3–4 hari. Hal ini diperkirakan telah mencapai fase log, yaitu periode pertumbuhan biakan pada waktu sel-selnya membelah diri secara mantap dengan laju yang konstan, sehingga diperoleh starter yang baik. Komposisi media juga harus diperhatikan, terutama komposisi gula pasir yang berfungsi sebagai sumber karbon bagi *S. cerevisiae* untuk

memproduksi etanol dan CO₂. Etanol ini kemudian dioksidasi oleh *A. xylinum* menjadi selulosa. Selulosa dapat dijadikan indikator bahwa *A. xylinum* sedang dalam masa produktifnya (Zaar, 1977). Selain keempat faktor tersebut, pembuatan starter ini juga harus pada kondisi steril, guna menghindari kontaminasi.

Fermentasi daun

Daun yang telah dikeringkan, berupa potongan-potongan kecil diekstrak dengan akuades, lalu difermentasi dengan *A. xylinum-S. cerevisiae* selama 6 hari

guna menarik senyawa aktif dari tumbuhan tersebut. Fermentasi oleh *A. xylinum-S. cerevisiae* ini akan menurunkan pH dari ekstrak-ekstrak tumbuhan, karena *A. xylinum* akan mengoksidasi etanol menjadi asam organik, yaitu asam asetat. Hal ini terlihat dari perbandingan pH ekstrak hasil fermentasi oleh *A. xylinum-s. cerevisiae* dengan pH ekstrak yang tidak difermentasi *A. xylinum-S. cerevisiae* sebagai kontrol. Pada Tabel 1 terlihat bahwa pH kontrol berkisar antara 4,8 dan 5,9, sedangkan pH ekstrak hasil fermentasi oleh *A. xylinum-S. cerevisiae* berkisar antara 2,4 dan 3,3.

Tabel 1. Nilai pH rata-rata beberapa ekstrak tumbuhan dengan dan tanpa fermentasi *A. xylinum-S. Cerevisiae*

Jenis tumbuhan	pH	
	Dengan fermentasi <i>A. xylinum - S. cerevisiae</i>	Tanpa fermentasi <i>A.xylinum - S.cerevisiae</i>
Daun jambu biji lokal	2,718	5,608
Daunkembang sepatu	2,837	5,133
Wortel	2,937	5,067
Daun mangkogan	2,953	5,409
Daun mengkudu	2,604	4,812
Apel	2,374	4,835
Daun alpukat	2,544	5,056
Daun bayam	2,996	5,923
Daun seledri	3,299	5,660
Daun sirih	2,731	5,036

Uji daya hambat

Pada pengujian aktivitas antibakteri, potensi ekstrak tumbuhan sebagai antibakteri sebanding dengan diameter zona hambat yang dihasilkan. Dari 10 jenis tumbuhan yang diuji, diperoleh diameter zona hambat yang bervariasi atau tidak berupa lingkaran sempurna. Hal ini terutama disebabkan adanya variasi difusi ekstrak tumbuhan, ketebalan medium agar yang tidak seragam, waktu inkubasi, sensitivitas bakteri uji terhadap senyawa

anti bakteri dalam ekstrak, serta konsentrasi senyawa anti bakteri dalam ekstrak dan konsentrasi bakteri uji.

Variasi difusi ekstrak tumbuhan disebabkan oleh komposisi serat kertas cakram yang heterogen, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk, yang merupakan penampakan aktivitas anti bakteri juga tidak merata. Ketebalan medium agar yang tidak seragam merupakan faktor yang sulit dihindari, karena pada saat pengecoran media agar

ke setiap cawan petri tidak persis sama banyaknya, sehingga ketebalannya berbeda. Oleh karena diameter zona hambat merupakan fungsi dari ketebalan lempeng agar, maka variasi ketebalan lempeng agar juga mempengaruhi diameter zona hambat. Waktu inkubasi yang digunakan bukan merupakan waktu minimal untuk pertumbuhan normal bakteri uji, *S. aureus*, yaitu 24 jam. Waktu inkubasi yang digunakan adalah 3 hari, sebab diperkirakan dengan waktu tersebut akan diperoleh aktivitas antibakteri dari tumbuhan yang optimal. Oleh karena adanya beberapa faktor ini, maka diameter zona hambat yang diperoleh akan bervariasi.

Faktor sensitivitas bakteri uji terhadap senyawa antibakteri dalam ekstrak tumbuhan juga mempengaruhi lebar atau sempitnya diameter zona hambat. Oleh karena bakteri *S. aureus* merupakan bakteri yang memiliki resistensi cukup tinggi terhadap lingkungannya, maka diperlukan senyawa antibakteri dengan konsentrasi yang cukup tinggi untuk menghambat pertumbuhannya. Hal ini juga berarti bahwa konsentrasi senyawa antibakteri dan konsentrasi bakteri yang diuji juga memegang peranan dalam variasi diameter zona hambat. Apabila konsentrasi bakteri uji pada media tinggi, maka diperlukan senyawa antibakteri dengan konsentrasi yang tinggi pula. Jika konsentrasi antara keduanya tidak sebanding, maka dapat terbentuk zona bening yang lebar, sempit, bahkan tidak ada sama sekali.

Dari hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan, terlihat bahwa ekstrak tanpa fermentasi oleh *A. xylinum-S. cerevisiae* (kontrol) tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Berbeda dengan

ekstrak tumbuhan dengan fermentasi *A. xylinum-S. cerevisiae*, ekstrak ini ada yang menunjukkan aktivitas antibakteri, yaitu daun jambu biji lokal, wortel, daun mengkudu, apel, daun alpukat, daun seledri, dan daun sirih, yang ditunjukkan dengan adanya zona bening. Sedangkan daun kembang sepatu, daun mangkokan, dan daun bayam tidak menunjukkan aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen *S. aureus*.

Perbedaan antara ekstrak tumbuhan dengan dan tanpa fermentasi *A. xylinum-S. cerevisiae* ini kemungkinan disebabkan adanya interaksi antara *A. xylinum-S. cerevisiae* dengan ekstrak tumbuhan, sehingga dilepaskan suatu senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Senyawa ini diperkirakan merupakan hasil fermentasi ekstrak tumbuhan oleh *A. xylinum-S. cerevisiae*. Penelitian terdahulu mengenai "Analisis kandungan selenium pada tumbuhan yang potensial untuk dimanfaatkan sebagai antiketombe" memberikan informasi mengenai adanya selenoprotein yang terekstraksi dari tumbuhan obat melalui sistem fermentasi kombucha. Selenoprotein tersebut dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh mikroba sehingga diperoleh asam amino yang mengikat selenium, yaitu metionin dan sistein (Puspitasari, 2001). Jadi, dengan sistem kombucha tersebut dapat dihasilkan selenium yang merupakan unsur esensial untuk pertumbuhan hewan dan manusia (Demirci *et al.*, 1999). Hal ini dapat ditunjukkan dengan aktiivitasnya sebagai anti kanker, bahkan menurut Demirci *et al.* (1999) bahwa selenium sangat besar pengaruhnya bagi kelangsungan hidup pasien yang terjangkit infeksi HIV. Oleh karena itu diperkirakan unsur selenium yang berperan sebagai senyawa antibakteri terhadap *S. aureus*.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa ekstrak daun seledri hasil fermentasi oleh *A. xylinum-S. cerevisiae* memiliki diameter zona hambat yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak tumbuhan lainnya. Hal ini menandakan bahwa senyawa aktif dari daun seledri yang terekstrak lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Sebaliknya, ekstrak tumbuhan yang memiliki aktivitas menghambat yang paling kecil adalah pada ekstrak daun jambu biji lokal.

Terhambatnya pertumbuhan bakteri *S. aureus* kemungkinan disebabkan oleh terhambatnya sintesis asam nukleat oleh senyawa antibakteri dari ekstrak tumbuhan hasil fermentasi dengan *A. xylinum-S. cerevisiae*, sehingga sintesis protein juga terhambat. Apabila sintesis protein terhambat, maka akan menghambat pertumbuhan bakteri uji tersebut. Senyawa antibakteri ini akan berdifusi keluar dari koloni ke dalam media agar dan mengakibatkan pembentukan cincin-cincin hambatan (diameter zona bening) di dalam

media pertumbuhan bakteri yang padat tersebut (Schlegel, et al., 1994). Hasil uji daya hambat pertumbuhan bakteri *Saureus* oleh ekstrak tumbuhan yang dilakukan memiliki beberapa ketidaksesuaian terhadap literatur acuan yang ada. Oleh karena bakteri *S. aureus* merupakan penyebab bisul, infeksi kulit, infeksi sistem syaraf pusat, dan paru-paru, maka diasumsikan bahwa ekstrak tumbuhan yang diuji memiliki khasiat dalam mengobati penyakit-penyakit tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Hasil uji *in vitro* daun jambu biji lokal, wortel, dan daun sirih positif menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Hal ini sesuai dengan khasiat dari tumbuhan tersebut dalam mengobati penyakit bisul dan infeksi kulit lainnya yang disebabkan oleh *S. aureus*. Pada daun kembang sepatu dan daun mangkokan hasil uji daya hambat terhadap pertumbuhan *S. aureus*, memberikan hasil negatif dan hasil ini tidak sesuai dengan khasiat pada

Tabel 2. Zona hambat pertumbuhan *S. aureus* oleh beberapa ekstrak tumbuhan

Jenis tumbuhan	Perlakuan ¹⁾					
	1	2	3	4	Rata-rata	Kontrol ²⁾
Daun jambu biji lokal	1,03	0,97	0,97	1,03	1,0	-
Daun kembang sepatu	-	-	-	-	-	-
Wortel	1,63	1,47	1,47	1,67	1,56	-
Daun mangkokan	-	-	-	-	-	-
Daun mengkudu	1,40	1,57	1,53	1,67	1,54	-
Apel	1,37	1,43	1,47	1,40	1,42	-
Daun alpukat	1,23	1,03	1,33	1,17	1,19	-
Daun bayam	-	-	-	-	-	-
Daun seledri	1,57	1,53	1,63	1,57	1,57	-
Daun sirih	1,13	1,10	1,17	1,03	1,10	-

¹⁾ dengan fermentasi *A. xylinum-S. cerevisiae*

²⁾ tanpa fermentasi *A. xylinum-S. cerevisiae*

literatur acuan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh besarnya konsentrasi senyawa aktif dari ekstrak sampel tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut, atau dengan kata lain konsentrasi senyawa antibakteri pada sampel lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi bakteri uji. Selain itu, dapat juga disebabkan oleh senyawa aktif dari daun telah rusak atau hilang saat pengeringan daun atau saat pemanasan dalam proses sterilisasi. Daun mengkudu, daun seledri, dan apel memberikan hasil positif sebagai antibakteri, walaupun belum ada catatan bahwa ketiga tumbuhan tersebut memiliki khasiat untuk mengobati penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus*. Daun bayam yang memang belum terbukti dapat mengobati penyakit-penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus*, pada uji ini tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Sedangkan daun alpukat, walaupun belum diketahui memiliki khasiat untuk mengobati infeksi-infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus*, tetapi ekstrak daun ini telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. aureus* (Ognulans *et al.*, 1975, dalam Wijayakusuma *et al.*, 1999).

Sampel diekstraksi menggunakan air (melalui pemanasan pada autoklaf) dan konsorsium *A. xylinum-S. cerevisiae*. Oleh karena air merupakan senyawa polar, maka air dan pemanasan akan mengekstrak senyawa-senyawa polar pada tumbuhan yang memiliki kestabilan pada suhu tinggi. Contoh senyawa polar pada tumbuhan obat yang diuji ialah flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Flavonoid dan polifenol merupakan golongan senyawa fenol yang diduga dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*, selain unsur selenium. Sedangkan alkaloid merupakan senyawa dengan kegiatan fisiologis yang menonjol

sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne, 1987).

Konsentrasi senyawa-senyawa yang diduga aktif sebagai antibakteri ini dalam tiap jenis tumbuhan obat berbeda-beda sehingga dapat memberikan hasil uji yang berbeda-beda pula. Walaupun semua sampel tumbuhan yang diuji mengandung flavonoid, dan beberapa sampel mengandung polifenol dan alkaloid, tetapi ketiga senyawa ini tidak dapat disimpulkan sebagai senyawa aktif yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan *S. aureus*. Hal ini terlihat dari hasil uji daya hambat yang memberikan hasil negatif pada beberapa sampel tumbuhan yang mengandung senyawa-senyawa tersebut. Contohnya daun kembang sepatu yang mengandung flavonid dan polifenol, namun memberikan hasil uji yang negatif. Selain daun kembang sepatu, daun mangkakan yang mengandung flavonid serta alkaloid dan daun bayam yang mengandung flavonoid juga memberikan hasil uji yang negatif.

KESIMPULAN

Ekstrak daun jambu biji lokal, wortel, daun mengkudu, apel, daun alpukat, daun seledri, dan daun sirih hasil fermentasi oleh *Acetobacter xylinum-Saccharomyces cerevisiae* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sebaliknya, aktivitas antibakteri ini tidak ditunjukkan oleh ekstrak daun kembang sepatu, daun mangkakan, dan daun bayam. Pengaruh fermentasi *Acetobacter xylinum-Saccharomyces cerevisiae* pada uji antibakteri ini ialah untuk menarik senyawa aktif dari tumbuhan dan aktivitasnya pada fermentasi menyebabkan turunnya pH ekstrak tumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Demicri, A., P. Anthony, & C. Donald. 1999. Enhanced organically bound selenium yeast production by fed-batch fermentation. *J. Agric. Food. Chem.* 47 : 2496-2000.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed. ke-2. Terjemahan Padmawinata, K. & I. Soediro. Penerbit ITB, Bandung.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, & S.T. Williams. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th Ed. Williams and Wilkins, Baltimore. USA.
- Puspitasari, T. I. 2001. Analisis kandungan selenium pada tanaman yang potensial untuk dimanfaatkan sebagai antiketombe. Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Schlegel, H. G. & K. Schmid. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Ed. ke-6. Terjemahan R. M. Tedjo Baskoro. UGM Press, Yogyakarta.
- Susmandiri, M. 2002. Asam glukuronat antioksidan dalam fermentasi daun benalu teh oleh konsorsium *Acetobacter - Saccharomyces*. [Skripsi]. Bogor. Jurusan Kimia FMIPA Institute Pertanian Bogor.
- Tally, F. P. 1993. *Staphylococci: abscesses and other diseases*. Dalam : Schaechter, M. (ed.) *Mechanisms of Microbial Diseases*. 2nd Ed. Williams and Wilkins, USA. h. 187-197.
- Wijayakusuma, H.M., S. Dalimartha, & A.S. Wirian. 1999. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*. Jilid IV. Pustaka Kartini, Jakarta.
- Zaar, K. 1977. Biogenesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. *J. Cytobiol.* 16 : 1-16.