

ANTIBACTERIAL ACTIVITY ESSENTIALS OILS PONTIANAK ORANGE PEELS AGAINST *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK PONTIANAK TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Rafika Sari*, Fitri Nour Aulia Mustari, Sri Wahdaningsih
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura
Jl. Prof Dr Hadari Nawawi Pontianak 78124

ABSTRACT

The infectious diseases can be caused by the pathogenic bacteria among Staphylococcus aureus and Escherichia coli. One of the plants that can be used as antibacterial is essential oils from Pontianak orange peels (Citrus nobilis Lour. var. microcarpa). This research aims to determine the antibacterial activity essential oils Pontianak orange peels againts the pathogenic bacteria by disc diffusion method. This research carried out by using the experimental Completely Randomized Design (CRD) Factorial and outcome data were analyzed using the program CoStat Two Way ANOVA method and continued by using LSD (Least Significant Different). The results showed that the essential oils from Pontianak orange peels contain flavonoids, saponins, and triterpenoids. The essential oils from Pontianak orange peels have antibacterial activity againts Escherichia coli and Staphylococcus aureus, where the average zone of inhibition obtained from the concentrations from 0,5; 1,5; and 2,5 mg/mL respectively are 15; 16; and 19 mm and 16,33; 18; and 21 mm. The concentration that gives the biggest inhibition zone is 2,5 mg/mL.

Key words: antibacterial, essential oils, Pontianak oranges peels, S.aureus, E.coli.

ABSTRAK

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh bakteri patogen diantaranya Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak (Citrus nobilis Lour. var. microcarpa). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan metode disc diffusion. Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial kemudian hasil dianalisis menggunakan program CoStat metode Two Way ANOVA dan diuji lanjut menggunakan LSD (Least Significant Different). Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak mengandung flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Berdasarkan hasil analisis, menunjukkan bahwa minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus, dimana rata-rata zona hambat terhadap bakteri diperoleh dari konsentrasi 0,5; 1,5; dan 2,5 mg/mL secara berurutan 16,33; 18; dan 21 mm dan 15; 16, dan 19 mm. Konsentrasi terbaik yang memberikan zona hambat terbesar terhadap kedua jenis bakteri adalah konsentrasi 2,5 mg/mL.

Kata kunci: antibakteri, minyak atsiri, kulit buah jeruk Pontianak, S.aureus dan E.coli

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis seperti negara Indonesia. Hal tersebut dikarenakan keadaan atau kondisi udara yang berdebu, temperatur yang hangat, dan lembab sehingga mikroba dapat tumbuh subur

(Wattimena, JR., dkk., 1981). Penyakit Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan protozoa. Organisme-organisme tersebut dapat menyerang seluruh bagian tubuh manusia (Gibson., J.M. 1996). Dalam rangka penanggulangan penyakit infeksi tersebut diperlukan pemilihan obat-obatan yang mempunyai daya kerja optimal dan efek samping kecil. Sehingga, perkembangan ilmu pengetahuan dalam pengembangan obat alam perlu dilakukan secara berkelanjutan. Meluasnya resistensi mikroba terhadap obat-obatan yang ada,

Correspondent : Rafika Sari
Pro Farmasi Fak Kedokteran Univ.Tanjungpura
E-mail :

mendorong pentingnya penggalan sumber antimikroba dari bahan alam. Tanaman obat diketahui potensial untuk dapat dikembangkan lebih lanjut pada penyakit infeksi, namun masih banyak yang belum dibuktikan aktivitasnya secara ilmiah (Hertiani, T dkk, 2003).

Penelitian ini mengacu pada kekayaan alam negara Indonesia khususnya Kalimantan Barat yang telah diketahui memiliki hasil alam yang melimpah. Salah satu tanaman endemik yang memiliki potensi adalah tanaman jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa*). Jeruk merupakan tanaman yang populer di Indonesia baik dikonsumsi secara langsung maupun dikonsumsi dalam bentuk olahannya. Selama ini, di daerah Pontianak buah jeruk sebagian besar hanya digunakan sebagai komoditas buah segar, sedangkan kulit buahnya tidak digunakan. Kulit buah jeruk biasanya hanya dibuang sebagai limbah dan saat ini menjadi salah satu masalah di kota-kota besar. Untuk mengatasi masalah tersebut, upaya yang dilakukan yakni dengan memanfaatkan limbah menjadi produk yang berguna salah satunya menjadi bahan obat.

Beberapa penelitian dari tanaman jeruk yang berasal dari famili *Rutaceae* dan genus *Citrus* telah dilakukan (Brock, 1991). Jeruk Pontianak merupakan tanaman dari famili *Rutaceae* dan genus *Citrus* (Prihatman., Kemal., 2000). Adanya persamaan dari segi kelompok famili dan genus tersebut yang melatarbelakangi penelitian ini dilakukan. Selain itu tanaman tersebut juga merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri adalah suatu substansi alami yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri (Agusta, 2000). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak terhadap bakteri patogen uji dengan metode *disc diffusion*.

METODOLOGI

Bahan

kulit buah jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa*) segar, Mc. Farland No. 0,5 (E Merck®), kertas saring Whatman No. 1, Kloramfenikol 30µg/disk (Oxoid®) (antibiotik pembanding, serbuk magnesium (Mg) (Merck®), pereaksi besi (III) klorida 5 % (Merck®), kloroform (CH₃Cl) (Merck®), H₂SO₄ pekat (Merck®) dan Na₂SO₄ anhidrat (Merck®).

Bakteri Uji

Bakteri patogen uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Eschericia coli* ATCC 25922, yang merupakan koleksi dari Unit Laboratorium Kesehatan (ULK) Pontianak.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Bahan baku jeruk yang telah dikumpulkan disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir. Kulit dari buah tersebut dikupas dan dipotong beberapa bagian. Sampel kulit buah jeruk Pontianak dikeringanginkan di udara terbuka dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Selanjutnya disortasi kering dan ditimbang serta sampel disimpan dalam wadah kedap.

Penyulingan Minyak dengan Metode Destilasi Uap-Air

Sebanyak 10 kilogram sampel kulit buah jeruk dimasukkan ke alat destilasi kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas pada alat. Selanjutnya didestilasi kurang lebih selama 3-4 jam yang dihitung setelah destilat pertama turun. Destilat dipisahkan dalam corong pemisah. Minyak akan memisah dari air membentuk lapisan pada permukaan. Air pada bagian bawah dipisahkan dengan membuka kran corong pemisah. Kemudian minyak yang diperoleh disentrifius dan ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat. Minyak kemudian ditampung dalam botol kedap air dan cahaya. Serta disimpan di lemari es pada suhu 4°C.

Skrining Fitokimia

Identifikasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah identifikasi minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, steroid dan triterpenoid.

Uji Aktivitas Antibakteri Metode *disc diffusion*

Bakteri uji masing-masing diinokulasikan pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Cakram kertas ukuran 6 mm ditempatkan diatas permukaan media, kemudian minyak atsiri dengan variasi konsentrasi yang dibuat diteteskan masing-masing sebanyak 20 µL. Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol 30 µg/disk sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 95% diteteskan sebanyak 20 µL di atas cakram kertas. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat yang terbentuk yang diinterpretasikan dengan melihat daerah bening disekitar cakram yang menunjukkan bahwa tidak adanya pertumbuhan bakteri (ICMR. 2009).

Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan program *CoStat* metode Two Way ANOVA dan diuji analisis lanjutan menggunakan cara LSD (*Least Significant Different*).

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Buah jeruk diperoleh dari perkebunan jeruk Pontianak di daerah Tebas, Sambas, Kalimantan Barat. Bahan yang telah dikumpulkan disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir. Sampel kemudian dikeringanginkan di udara terbuka dan tidak terkena cahaya matahari langsung selanjutnya disortasi kering dan disimpan dalam wadah kedap udara.

Penyulingan Minyak Atsiri dengan Metode Destilasi Uap-Air

Proses penyulingan minyak atsiri dilakukan menggunakan metode destilasi uap-air. Sebanyak 10 kilogram sampel dimasukkan ke alat destilasi selama kurang lebih 3-4 jam. Lapisan air pada bagian bawah dipisahkan dengan membuka kran pada corong pemisah. Bagian minyak kemudian disentrifius dan ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat. Endapan putih yang terbentuk disaring sehingga diperoleh minyak yang murni. Minyak yang diperoleh yaitu sebanyak 26 mL dengan rendemen sebesar 0,26%. Minyak kemudian disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C.

Skrining Fitokimia

Hasil pemeriksaan skrining fitokimia menunjukkan bahwa di dalam sampel kulit buah jeruk Pontianak positif mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Adapun hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel I.

Uji Aktivitas Antibakteri Metode *disc diffusion*.

Berdasarkan uji yang telah dilakukan, aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak tersebut dapat diamati dari terbentuknya zona hambat yang diukur. Berikut ini adalah tabel hasil aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak yang diamati berdasarkan perolehan diameter zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi uji maka diameter zona hambat juga semakin besar. Peneliti menduga sifat dari minyak atsiri yang diujikan tersebut merupakan kategori antibakteri berspektrum luas, hal itu diperjelas dalam kelompok berspektrum luas itu dikarenakan mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Brock, 1991).

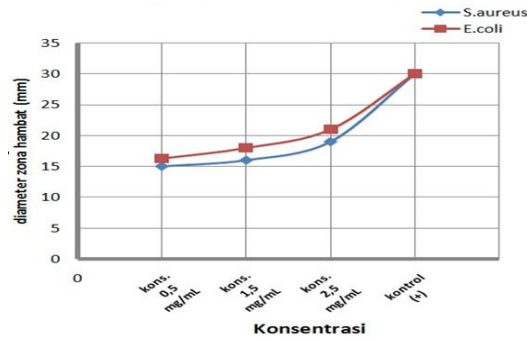
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis terdapat perbedaan nyata pada perlakuan antar bakteri, berbeda sangat nyata pada perlakuan antar konsentrasi, dan tidak terdapat interaksi antar faktor bakteri dan konsentrasi terhadap hasil zona hambat yang diperoleh. Adapun hasil analisis

tersebut dapat dilihat pada Tabel III, Tabel IV dan Tabel V.

Minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak lebih sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut dapat diperoleh berdasarkan dari perolehan nilai pada Tabel III yakni $F_{\text{tab}5\%}(4,49) < F_{\text{hit}}(6,4) < F_{\text{tab}1\%}(8,53)$. F_{tab} umumnya dapat diperoleh dari tabel nilai $F(12)$. Sehingga dapat disimpulkan ada perbedaan nyata pada faktor perlakuan antar bakteri. Penjelasan diperkuat dari bentuk plot *Non-significant ranges* pada Tabel 4, uji analisis lanjutan menggunakan cara LSD sehingga dapat menggambarkan perbedaan notasi plot (a) untuk bakteri *Escherichia coli* dengan nilai *mean* lebih tinggi dibandingkan dengan notasi plot (b) untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Perbedaan aktivitas tersebut diduga karena perbedaan dari struktur dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram negatif lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Pada dinding sel bakteri Gram positif tersusun dari peptidoglikan. Komponen ini memberikan kekuatan yang diperlukan untuk mempertahankan keutuhan sel. Peptidoglikan pada bakteri Gram positif lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif. Peptidoglikan terdiri dari polimer yang dapat larut dalam air. Sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentasi lebih tinggi daripada bakteri Gram positif. Struktur bakteri Gram negatif memiliki membran bagian luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan, struktur luar peptidoglikan ini adalah lapisan yang mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida (LPS). LPS ini terletak pada lapisan luar dan merupakan ciri atau karakteristik bakteri Gram negatif (Pelczar, 1986). Berdasarkan hal tersebut memungkinkan minyak atsiri yang umumnya bersifat lipofilik akan lebih mudah menembus membran pada bakteri Gram negatif dibandingkan Gram positif (Mulyani Sri, dkk, 2009). Perbedaan aktivitas dari bakteri tersebut juga dapat diperjelas berdasarkan grafik pada (gambar.1) berikut ini. Dimana pada grafik dapat terlihat bahwa aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak lebih sensitif pada bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas tersebut diperoleh dari perolehan diameter zona hambat dari masing-masing variasi konsentrasi dan kontrol positif.

Berdasarkan hasil analisis pada faktor perlakuan antar konsentrasi, diperoleh bahwa terdapat perbedaan sangat nyata. Hal tersebut dapat dijelaskan dari perolehan nilai $F_{\text{hit}}(151,2) > F_{\text{tab}1\%}(5,29)$ pada (Tabel III),



Gambar 1. Grafik Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Kulit Buah Jeruk Pontianak

Keterangan : Minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda nyata yakni lebih sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan *Staphylococcus aureus*

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

No	Perlakuan	Hasil
1	Minyak Atsiri	+
2	Alkaloid	-
3	Flavonoid	+
4	Tanin	-
5	Saponin	+
6	Glokosida	-
7	Triterpenoid	+
8	Steroid	-

Keterangan: (+) positif : mengandung golongan senyawa; (-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa

Tabel II. Hasil Diameter Zona Hambat

Bakteri Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
		I	II	III	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5	15	17	13	15
	1,5	16	17	15	16
	2,5	20	19	18	19
	Kontrol (+)	30	30	30	30
	Kontrol (-)	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0,5	17	15	17	16,33
	1,5	19	16	19	18
	2,5	19	22	22	21
	Kontrol (+)	30	30	30	30
	Kontrol (-)	-	-	-	-

Ket : - = tidak terdapat zona hambatan

sehingga dapat diperoleh kesimpulan bahwa pada faktor perlakuan antar konsentrasi terdapat perbedaan sangat nyata. Penjelasan diperkuat kembali dari bentuk plot *Non-significant ranges* pada uji analisis lanjutan menggunakan cara LSD (*Least Significant Different*) yang dapat terlihat pada (Tabel V). Hasil uji lanjut LSD (*Least Significant Different*) pada perlakuan konsentrasi ini dapat menjelaskan adanya perbedaan sangat nyata dengan notasi plot yang

berbeda yakni plot a) untuk kontrol positif, plot (b) untuk konsentrasi 2,5 mg/mL, dan plot (c) untuk konsentrasi 1,5 dan 0,5 mg/mL.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kontrol positif dengan konsentrasi 0,5; 1,5; dan 2,5 mg/mL. Selanjutnya, pada konsentrasi 2,5 mg/mL menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata dengan konsentrasi 1,5 dan 0,5 mg/mL. Sedangkan pada plot antara konsentrasi

Tabel III. Hasil Analisis Two Way ANOVA Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Pontianak terhadap Bakteri Patogen

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hit	F Tabel	
					5 %	1%
Perlakuan						
-Bakteri	1	10.6667	10.6667	6.4*	4.49	8.53
-Konsentrasi	3	756	252	151.2**	3.24	5.29
Interaksi						
Bakteri*Konsentrasi	3	4	1.33333	0.8 ^(tn)	3.24	5.29
Galat	16	26.6667	1.66667			
Total	23	797.333		KK = 6.2467473 %		

Keterangan : perolehan nilai $F_{hit}(151,2) > F_{tab1\%}(5,29)$ menunjukkan bahwa pada faktor perlakuan antar konsentrasi terdapat perbedaan sangat nyata

Tabel IV. Hasil Uji Lanjut LSD (*Least Significant Different*) Perlakuan Bakteri

Rank	Mean	Name	n	Non-significant ranges
1	21.3333333333	E_coli	12	a
2	20	S_aureus	12	b

Keterangan : perbedaan notasi plot (a) untuk bakteri *Escherichia coli* dengan nilai *mean* lebih tinggi dibandingkan dengan notasi plot (b) untuk bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 5. Hasil Uji Lanjut LSD (*Least Significant Different*) perlakuan Konsentrasi

Rank	Mean	Name	n	Non-significant ranges
1	30	Kontrol_Pos	6	a
2	20	Kons_2,5	6	b
3	17	Kons_1,5	6	c
4	15.6666666667	Kons_0,5	6	c

Pada perlakuan antar bakteri diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa

Keterangan : terdapat perbedaan yang sangat nyata antara kontrol positif dengan konsentrasi 0,5; 1,5; dan 2,5 mg/mL.

1,5 dan 0,5 mg/mL terdapat kesamaan yakni plot (c) yang menunjukkan bahwa antar konsentrasi tersebut tidak berbeda secara nyata atau dapat dikatakan memiliki pengaruh yang sama.

Selanjutnya, hasil dari analisis mengenai interaksi kedua faktor pada (Tabel III) menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara kedua faktor perlakuan tersebut terhadap hasil zona hambat yang diperoleh. Hal tersebut berdasarkan hasil yang menunjukkan bahwa nilai $F_{hit}(0,8) < F_{tab5\%}(3,24)$, sehingga dapat diperoleh kesimpulan bahwa interaksi antara jenis bakteri dengan berbagai tingkat konsentrasi tidak memberikan pengaruh yang nyata atau interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi tidak terjadi di dalam perolehan hasil diameter zona hambat. Hal itu diduga karena salah satu faktornya adalah kedua bakteri uji memiliki suhu optimum yang

sama. Dimana suhu optimum merupakan suhu pertumbuhan optimum dari bakteri yang dapat memberikan peningkatan dari kecepatan pertumbuhan serta jumlah sel yang maksimal untuk pengujian aktivitas antibakteri. Interaksi antar dua faktor ini dikatakan berinteraksi apabila pengaruh suatu faktor akan berubah pada saat perubahan taraf faktor lainnya berubah (Gomez dkk, 1995).

KESIMPULAN

Minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda nyata yakni lebih sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan *Staphylococcus aureus*. Hasil diameter rata-rata zona hambat dari tiap konsentrasi pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* secara berurutan yakni

0,5;1,5; dan 2,5 mg/mL sebesar 15; 16; dan 19 mm sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* yakni sebesar 16,33; 18; dan 21 mm. Konsentrasi memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perolehan diameter zona hambat dimana pada konsentrasi 2,5 mg/mL merupakan konsentrasi terbaik yang memberikan zona hambat terbesar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A 2000. *Cara Sehat dengan Wewangian Alami*. Jakarta : Penebar Swadaya.p. 31-37.
- Brock, T.D., Madigan, M.T. 1991. *Biology of Microorganisms*. Sixth ed. Prentice Hall International,Inc.
- Chutia, M., Bhuyan, D. P., Pathak, M. G., Sarma, T. C., Boruah P. 2009. Antifungal Activity and Chemical Composition of *Citrus reticulata Blanco* Essential Oil Against Phytopathogens from North East India. *Food Science and Technology*. 42 (2009).p.777-780.
- Gibson, J.M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gomez,Kwanchai.A., Gomez, Arturo.A., 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Edisi 2. Jakarta : UI Press.p. 16-17.
- Hertiani T., Palupi, I.S., Sanliferianti, Nurwindasari, H.D.2003.Uji Potensi Antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Candida albicans* dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Infeksi. *Pharmacon*.4 (2).
- ICMR. 2009. Detection of Antimicrobial Resistance in Common Gram Negative and Gram Positive Bacteria Encountered in Infectious diseases- An Update. *ICMR Bulletin ISSN 0377-4910* . 39.p. 1-3.
- Mulyani Sri, Susilowati, Dan Maniur Maslan Hutabarat. 2009. Analisis dan Daya Antibakteri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20 (3). P. 127-132.
- Oxoid Microbiology Product (OMP). 2012. *Dehydrated Culture Media*.. Thermo Fisher scientific. Inc.
- .Pelczar., MJ., S. Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1 dan 2. Jakarta: UI Press.
- Prihatman., Kemal. 2000. *Jeruk Siam (Citrus nobilis Lour var microcarpa)*, Jakarta : Sistem Informasi dan Manajemen Pembangunan di Perdesaan.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Supranto., J. *Statistik Teori dan Aplikasi*. 2001. Edisi 6. Jilid 2. Jakarta : Erlangga. p. 341-342.
- Wattimena, JR.,dkk.. 1981. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada Press.