

**PENGARUH PERBEDAAN MEDIA KULTUR DAN VARIASI KONSENTRASI
EKSTRAK RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza*) DALAM UJI
DAYA HAMBAT TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Saudi Fitri Susanti^{*)}, Vina Febrianingtyas

^{*)}Akademi Analisis Kesehatan Delima Husada Gresik
email korespondensi: saudiafitri@gmail.com

ABSTRACT

Temulawak (Curcuma xanthorrhiza) contains antibacterial compounds namely curcuminoid, Flavanoid and xanthorrhizol which can inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria. Sensitivity tests generally use MHA but found several studies using NAP as antibacterial sensitivity test media. The purpose of this study was to determine differences in diameter of the inhibition zone of temulawak rhizome extracts with variations concentration of MHA and NAP in inhibiting the growth of Staphylococcus aureus bacteria. The experimental study used disc diffusion method with several extract concentrations 55%, 70%, 85%, 100% and difference MHA and NAP. In the Delima Husada Gresik Laboratory of Health Analyst in July 2019. The results showed that there were differences in inhibition zones on the MHA and NAP by giving variations in the concentration of temulawak rhizome extract on the growth of Staphylococcus aureus bacteria. The biggest inhibition zone diameter on the NAP was 32 mm at a concentration of 100%, on the MHA and NAP the results were 22 mm. Analysis of the data used Two-away ANOVA test with the results $\alpha < 0.05$ which means H1 is accepted. This requires that there are differences in inhibition zone in the MHA with NAP by providing variation in concentration using temulawak rhizome extracts against the growth of Staphylococcus aureus.

Keywords : Muller hinton agar, Nutrien agar plate, Temulawak, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti virus, parasit, jamur dan bakteri salah satunya bakteri *Staphylococcus aureus* (Putri, 2010).

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang ditemukan pada saluran pernafasan, kulit, muka, tangan, rambut dan vagina. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal di tubuh manusia tetapi dalam jumlah tidak seimbang menyebabkan infeksi oportunistik yang dapat menyerang individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah dan menyebabkan infeksi (muwarni, 2015).

Pencegahan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diberi antibiotik sintetik seperti penisilium, metilisin, amoxicillin, tetrasiklin dan ampicillin. Pemberian antibiotik sintetik memiliki efek samping dan resisten bakteri terhadap antibiotik yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan pola kepekaan antibiotik. Pola kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik tetrasiklin 64,2%, amikasin 50%, ampicillin 18.1%, sefotaksim 6.6% dan gentamisin 4,2 % (Djari, 2018). Keadaan ini menunjukkan bahwa kuman-kuman tersebut sebagian besar telah resisten.

Resistensi didefinisikan dengan tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya (Maharani, 2015). Selain pada obat sintetik kandungan antibiotik juga terdapat pada tanaman herbal.

Tanaman herbal dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan karena menghasilkan metabolit sekunder berupa antibakteria. Selain itu bahan herbal mudah didapatkan dan memiliki harga yang ekonomis sehingga dapat dijadikan alternatif pengobatan tradisional. Salah satu tanaman herbal potensial yang dapat dijadikan sebagai alternatif adalah temulawak.

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) adalah salah satu tumbuhan yang banyak tumbuh dan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (Sidik dkk dalam sutrayat). Bagian temulawak yang berkhasiat sebagai bahan obat adalah rimpang yang banyak mengandung komponen kimia yang berperan sebagai antibakteria yaitu kurkuminoid dan minyak atsiri, Flavonoid, yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat di uji menggunakan uji sensitivitas bakteri (Dicky dkk, 2016).

Uji sensitivitas antibakteri merupakan uji yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik yang bertujuan untuk mengetahui daya kerja dari suatu antibiotik dalam membunuh bakteri (Handayani, 2016). Media yang sering digunakan adalah media *muller hinton* agar (Suemarno, 2000).

Media *Muller Hinton* Agar (MHA) adalah agar standart uji sensitivitas antibiotik yang direkomendasikan oleh CLSI (*Clinical and Laboratory Standart Insitute*). Namun beberapa penelitian di bidang uji sensitivitas bakteri banyak yang menggunakan *Nutrien agar plate* sebagai media uji sensitivitas (Rizki dkk, 2017).

Media *Nutrien Agar Plate* (NAP) adalah media padatan yang mengandung

sumber nitrogen dan digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Media ini mengandung ekstrak daging sapi, peptone dan agar (Addinda, 2014). Selain itu media NAP memiliki kelebihan diantaranya bisa digunakan sebagai media isolasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Sutarman dalam Rizki dkk, 2017) harganya relatif lebih murah dan lebih mudah di dapatkan.

Media MHA dan NAP adalah media padatan yang memiliki komposisi yang berbeda yang memungkinkan adanya perbedaan uji daya hambat pada kedua media tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut apakah media *nutrien agar* efektif sebagai alternatif pengganti media kultur *Muller hinton* agar dalam uji sensitivitas bakteri.

Selain media pertumbuhan, hal lain yang harus diperhatikan dalam pengujian sensitivitas bakteri terhadap senyawa (antibiotik) adalah pemberian konsentrasi yang tepat sehingga dapat membunuh bakteri dengan konsentrasi yang optimum. Konsentrasi optimum merupakan konsentrasi tertinggi zat antimikroba yang menghasilkan aktivitas penghambatan bakteri uji yang paling baik, oleh karena itu penting untuk diteliti lebih lanjut mengenai konsentrasi optimum dari suatu bahan yang mengandung antibiotik (Harmita dan Radji, 2006).

Berdasarkan uraian di atas maka timbul suatu permasalahan yaitu Apakah ada pengaruh perbedaan media kultur *Muller Hinton Agar* dengan *Nutrien Agar Plate* dalam uji daya hambat ekstrak rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*? Apakah ada pengaruh perbedaan variasi konsentrasi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dalam uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya perbedaan media kultur *Muller hinton* agar dengan *Nutrient agar plate* dalam uji daya hambat ekstrak rimpang temulawak

(*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus*, Untuk mengetahui konsentrasi optimal pemberian ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dalam mengambat pertumbuhan bakteri *Stapylococcus aureus*.

BAHAN DAN METODE

Jenis rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental menggunakan teknik difusi cakram yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi kampus Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik pada bulan Juli 2019. Sampel pada penelitian ini adalah serbuk rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) serta bakteri *Staphylococcus aureus*. Alat yang digunakan yaitu tabung reaksi, rak tabung, ose bulat, lidi kapas, petridisk, pinset, oven, gelas ukur, corong, kertas saring, alumunium foil, kapas berlemak, autoklaf, inkubator, timbangan digital, gelas arloji, erlenmeyer, bunsen, batang pengaduk, pipet ukur, pH meter. Bahan penelitian ini yaitu Aquadest steril, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, Etanol 96%, BaCl 1%, H₂SO₄ 1%, Nacl 0,9% steril (PZ steril), *blank disk*, media NAS (*Nutrien agar plate*), media MHA (*Muller Hinton agar*), NAP (*Nutrien agar plate*).

Inokulasi Bakteri

Bakteri yang diperoleh dari stok bakteri murni Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Surabaya yang tersedia kemudian diperbanyak dengan menggunakan media NAS (*Nutrien Agar Slant*) dari Laboratorium Mikrobiologi Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Prosedur Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dari serbuk rimpang temulawak. Serbuk rimpang temulawak ditimbang sebanyak 20 gram dan ditempatkan di erlenmeyer tertutup, dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak

200 ml. Campuran diaduk dengan bantuan shaker hingga tercampur, kemudian diendapkan selama 24 jam. Campuran disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat dipanaskan dengan suhu 50°C selama 15 menit. Hasil ekstrak ditempatkan ditempat tertutup dan terhindar dari paparan cahaya matahari langsung.

Selanjutnya larutan ekstrak rimpang temulawak diencerkan dengan etanol. Dalam membuat ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 55%, 70%, 85%, dan 100% dengan cara pengenceran dari konsentrasi 100%.

Pembuatan Media

Petridish, tabung erlenmeyer, pipet ukur dicuci terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf bersama dengan kapas lidi yang sudah dibungkus alumunium foil untuk disterilkan dengan suhu 121 °C selama 15 menit sedangkan untuk pembuatan media MHA (*Muller Hinton*) dan NAP (*Nutrien Agar Plate*) yaitu Media MHA dan NAP ditimbang sesuai perhitungan kemudian serbuk yang telah ditimbang dilarutkan dengan aquadest sebanyak perhitungan ml, dilarutkan hingga homogen dengan dipanaskan diatas api dan tidak sampai mendidih. pH media diatur $7,4 \pm 0,2$ dengan larutan HCl 0,1 N atau larutan Nacl 0,1 N. Setelah pH sesuai media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dipertahankan selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi kemudian dituang ke cawan petri masing masing 10 ml secara steril dengan bunsen. Media dibiarkan sampai membeku dan siap digunakan.

Standart Mc Farland

Pembuatan standart Mac Farland yaitu dua tabung disiapkan untuk standart Mac Farland 0,5% dan suspensi kuman. BaCl₂ 1% dipipet sebanyak 0,1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung pertama. H₂SO₄ 1% di pipet sebanyak 9,9 ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 0,1 ml BaCl₂, dicampur sampai homogen. Campuran tersebut diambil 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung kedua.

Ditambahkan aquadest sebanyak 5 ml dan dicampur sampai homogen. Standart Mac Farland 0,5% siap digunakan sebagai pembanding suspensi kuman (kekeruhan yang terbentuk sebanding dengan kepadatan sel 1,5 juta CFU/ml).

Uji Antimikroba

Dilakukan uji antimikroba yaitu menggunakan metode difusi cakram *disk* dengan cara Lidi kapas steril diambil dan dicelupkan ke dalam suspensi kuman, lidi kapas ditekan-tekan pada dinding tabung untuk membuang kelebihan kuman di inokulum. Lidi kapas tersebut diusapkan pada seluruh permukaan media agar *Mueller Hinton* sambil memutar 60°, dan diinkubasi selama ± 5 menit. Blank *disk* ditetesi sebanyak 20 mikro kedalam masing-masing ekstrak rimpang temulawak dengan variasi konsentrasi 55%, 70%, 85%, 100%. Untuk *control negatif blank disk* ditetesi 20 mikro etanol 96%, untuk kontrol positif *blank disk* menggunakan *Chloramphenicol Disk* yang berisi kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan menggunakan pinset steril, dan masing-masing konsentrasi ekstrak rimpang temulawak ke dalam media *Muller hinton* agar dan *Nutrien agar plate*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Keesokan harinya dilakukan pembacaan hasil dengan cara diamati

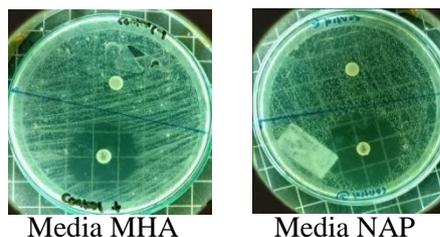
adanya zona terang yang terbentuk di sekitar *disk*.

Interpretasi hasil uji anti mikroba adalah sebagai berikut :

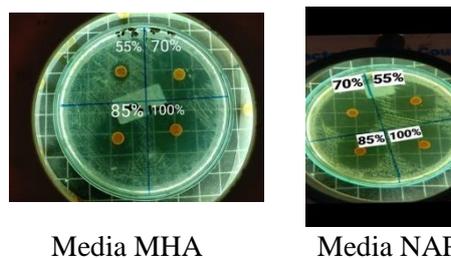
- Jika terdapat zona terang disekeliling *disk* maka hasilnya positif, diukur diameter zona hambatnya.
- Jika tidak terdapat zona hambat maka hasilnya negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan cara membiakkan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam media MHA dan NAP pada cawan petri disertai dengan peletakan *disk* yang diberi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza*) Serta *control negatif* (Etanol 96%), *control positif* (*Chloramphenicol*). Cawan petri yang sudah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian dilihat zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang terbentuk dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1. *Control positif* dan *control negatif* pada media MHA dan NAP. dan pada Gambar 2. Zona hambat ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza*) dengan variasi konsentrasi pada media MHA dan NAP.



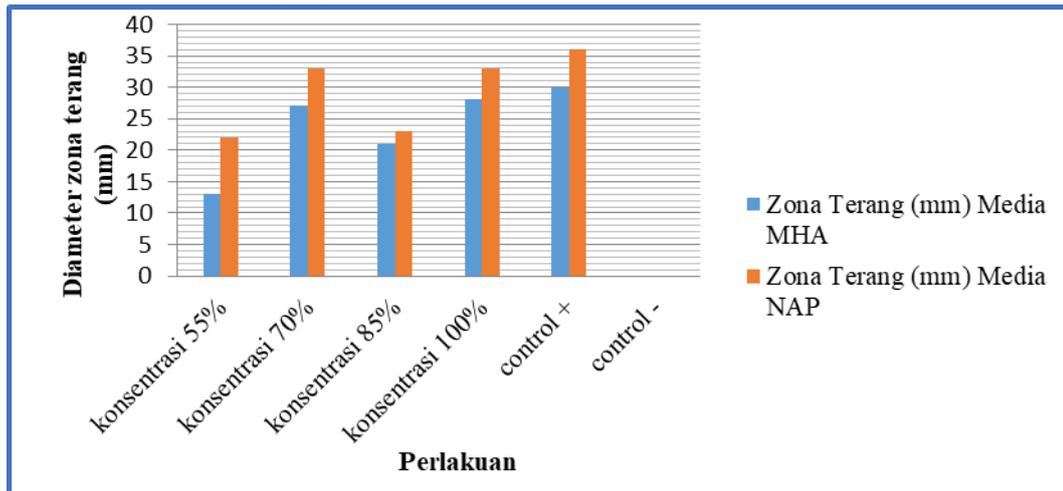
Gambar 1. Control positif dan Control negatif pada media MHA dan NAP



Gambar 2. Zona hambat ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza*) dengan variasi konsentrasi pada media MHA dan NAP.

Hasil penelitian seperti yang terlihat pada Gambar 1 dan 2 menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat pada media MHA dan NAP dengan variasi konsentrasi ekstrak rimpang temulawak

(*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya perbedaan ukuran diameter zona hambat disekitar cakram disk ekstrak rimpang temulawak.



Gambar 3 menunjukkan hasil perbedaan uji daya hambat ekstrak rimpang temulawak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MHA dan NAP dengan variasi konsentrasi

Pada penelitian ini, data yang didapatkan dianalisis dengan statistik menggunakan uji Two-Way ANOVA. Sebelum dilakukan uji Two-Way ANOVA, salah satu syarat yang digunakan adalah uji Normalitas hasil uji dari Normalitas yaitu 0,712 ($>0,05$) yang berarti data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji Homogenitas untuk mengetahui apakah data yang diperoleh sudah homogen atau belum. Hasil uji Homogenitas yaitu 0,076 ($>0,05$) yang berarti data yang diperoleh homogen sehingga data dapat dilanjutkan dengan uji Two-Way ANOVA.

Hasil uji Two-Way ANOVA didapatkan hasil nilai signifikansi 0,007 ($<0,05$) yang artinya ada perbedaan zona hambat pada media MHA dengan NAP yang dapat disimpulkan H_0 ditolak dan H_1 diterima, yang berarti ada perbedaan

yang signifikan antara uji daya hambat dengan media kultur MHA dan NAP, Maka dapat disimpulkan ada perbedaan hasil uji daya hambat rimpang temulawak pada media MHA dan NAP terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji pengaruh pemberian variasi konsentrasi ekstrak temulawak terhadap daya hambat dengan nilai signifikansi 0,000 ($<0,05$) yang artinya ada perbedaan zona hambat ekstrak temulawak dengan variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* yang dapat disimpulkan H_0 ditolak dan H_1 diterima yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara variasi konsentrasi dengan uji daya hambat. Maka dapat disimpulkan ada perbedaan hasil uji daya hambat ekstrak rimpang temulawak dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji pengaruh perbedaan media

dengan konsentrasi didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,366 ($>0,05$) yang artinya tidak ada perbedaan media dan konsentrasi. Maka H_0 diterima dan H_1 ditolak yang berarti tidak ada perbedaan pengaruh pemberian ekstrak rimpang temulawak dengan perbedaan media kultur terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

PEMBAHASAN

Dari hasil di atas dapat diketahui sesuai dengan gambar 1 dan 2 ada perbedaan ukuran zona hambat ekstrak rimpang temulawak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada media Muller hinton agar (MHA) dan Nutrien agar plate (NAP) dengan pemberian variasi konsentrasi, pada penelitian ini jika dilihat pada grafik 1 menunjukkan hasil pada media NAP ukuran diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar dibandingkan pada media MHA ditandai dengan perbedaan ukuran diameter zona hambat.

Pada media NAP ukuran diameter zona hambat lebih besar ditandai ukuran diameter zona hambat pada control (+) *Chloramphenicol* sebesar 36 mm sedangkan pada media MHA ukuran diameter zona hambat sebesar 30 mm dan pada konsentrasi 100% di media NAP ukuran diameter zona hambat sebesar 32 mm sedangkan pada media MHA ukuran diameter zona hambat sebesar 36 mm.

Hal tersebut dapat dikarenakan ada perbedaan komposisi dan kandungan media. Media NAP memiliki komposisi beef ekstrak 3 gram, pepton 5 gram, agar 15 gram (Atlas, 2010), sedangkan komposisi media Muller hinton agar beef ekstrak 2 gram, *hydrolysate of casein* 17,5 gram, starch 1,5 gram, agar 17 gram (Atlas, 2010).

Dilihat dari komposisi agar pada media *nutrient agar plate* dan *muller hinton agar*, terdapat perbedaan pada komposisi agarnya. Pada media *nutrient agar plate* komposisi agar hanya 15

gram. Agar memiliki fungsi sebagai bahan pematat pada media, hal ini diasumsikan bahwa kepadatan agar dapat mempengaruhi berdifusinya senyawa ekstrak rimpang temulawak dari cakram *disk* ke media, sehingga mempengaruhi aktivitas antimikroba dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Hal ini dikuatkan dengan laporan Radji dan Harmita, (2008), bahwa ukuran zona hambat dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram filter, sensitivitas organism terhadap antibiotik, dan interaksi antibiotik dengan media. Setelah dilakukan penelitian uji efektifitas antibakteri ekstrak rimpang temulawak dengan variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram, didapatkan hasil grafik 1 bahwa ekstrak rimpang temulawak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 55%, 70%, 85%, 100% ditandai dengan adanya zona hambat disekitar cakram *disk*.

Pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% didapatkan nilai zona hambat dengan rata-rata 29 mm. Besar zona hambat menunjukkan efektifitas daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Davis dan Stout dalam Purnamaningsih, dkk (2017), klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri yang dilihat berdasarkan diameter zona bening terdiri atas 4 kelompok yaitu respon lemah (diameter ≤ 5 mm), sedang (diameter 5-10 mm), kuat (diameter 10-20 mm), dan sangat kuat (diameter ≥ 20 mm). Berdasarkan klasifikasi tersebut didapatkan hasil bahwa daya hambat yang dimiliki oleh ekstrak rimpang temulawak termasuk dalam kategori kuat.

Pada umumnya uji daya hambat akan memberikan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar

zona hambatnya, dan semakin rendah konsentrasi maka semakin kecil zona hambatnya (Ajizah, 2004). Namun pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk mengalami penurunan pada konsentrasi 85%. Hal ini dapat disebabkan karena diameter zona hambat yang terbentuk tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi pada ekstrak. Faktor lain yang menjadikan penyebab zona hambat mengalami penurunan pada konsentrasi 85% adalah perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar (Ely dalam Putri, 2013).

Rimpang temulawak memiliki kandungan aktif yaitu xanthorrhizol, kurkumin, flavonoid, yang memiliki fungsi sebagai antibakteri (Adila dkk, 2013). Dalam menghambat pertumbuhan bakteri senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme kerja yang berbeda. Xanthorrhizol dapat mempengaruhi morfologi dinding sel bakteri dengan menyerang membrane sel, asam nukleat atau metabolisme bakteri dan menyebabkan peptidoglikan pada dinding sel mengkontruksi bentuk sel (Purnamaningsih dkk, 2017). Flavonoid memiliki mekanisme kerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina dalam Fajeriati dan Andika, 2017). Senyawa-senyawa ini terdapat pada ekstrak rimpang temulawak sehingga dapat menghambat dan mematikan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hal ini sesuai dengan penelitian Sutrayat (2018) tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri penyebab jerawat *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. Hasil penelitian tersebut memiliki kesesuaian dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan ekstrak rimpang temulawak memiliki senyawa antibakteria dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat perbedaan daya hambat ekstrak rimpang temulawak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media kultur Muller hinton agar dan Nutrien agar plate
2. Nutrien agar plate ukuran diameter zona hambat lebih besar dari pada di media muller hinton agar.
3. Terdapat pengaruh perbedaan variasi konsentrasi ekstrak rimpang temulawak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adila Rahmi, Nurmiati, Agustien Anthoni. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal biologi Universitas Andalas*. Hal 1-7. ISSN : 2303-2162.
- Addina, Ghina. 2014. Evaluasi Kadar Bakteri di Udara dengan Menggunakan Media Plate count agar Berdasarkan Tinggi secara Vertikal di Departemen Bedah Mulut RSGMP FKG USU dengan Metode Total Plate Count. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Sumatera Utara Medan. Skripsi
- Ajizah, Aulia. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guava L. *Bioscientiae*. 1(1): 31-38.
- Atlas, M. Ronald. 2010. Handbook of Microbiological Media Fourth Edition. CRC Drees. Washington D. C.
- Bari, S. B., Mahajan, B. M., Surana, S. J. 2008. Resistance To Antibiotic

- : A Challenge In Chemoterapy. *Indian Journal Of Pharmaceutical Edition And Research*.
- Dicky, Alexander & Apriliana, Ety. 2016. Efek ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli* secara In vitro. *JK Unila* . vol 1 (2) : 308-312.
- Djari, Daud, Julius. 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Beberapa Bakteri Penyebab Mastitis. Fakultas Kedokteran Hewan Insitut Pertanian Bogor, Skripsi
- Fajeriyati N, Andika. 2017. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol RimpangKencur (*Kaempferia galanga* L) Pada Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherechia coli*. Vol 1. No 1. Hal 36-41. ISSN 2598-2095.
- Handayani, Sarifa. Tyas. 2016. Pola Kuman Dan Resistensya Terhadap Antibiotik Pada Penderita Gangren Diabetik Di Rumah Sakit X Surakarta Bulan Februari-Maret 2016. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.Skrip.
- Harmita. Radji, Maksun. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati. Edisi 1. Buku KedokteranEgc. Jakarta
- Kumar, R., Shrivastava S. K. , Chakraborti A. 2010. *Comparison of Broth Dilution and Disc Diffusion Method for the Antifungal Suspectibility Testing of Aspergillus flavus*. *American Journal of Biomedical Sciences*, Vol. 2, No. 3: 206 – 207.
- Maharani, Kartika. Cahyani. 2015. Uji Kepekaan Beberapa Jenis Antibiotik terhadap Bakteri Penyebab Endometritis pada Peternakan Babi Desa Sukapura Kabupaten Probolinggo. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya. Skripsi.
- Murwani, Sri. 2015. Dasar-dasar mikrobiologi veteriner, Penerbit Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Putri, F. Z. 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap propionibacterium acne dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Skripsi.
- Purnamaningsih, Aini.Nur.Kalor Hadibah.Atun, Sri,. 2017.Uji aktivitas antibakteri ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Escherichia coli*ATCC11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Penelitian Sainstek*, Vol 22, (2) Oktober 2017.
- Rizki, Syakiratur. Anis. Darmawati. Sri, Evy, Muhammad. Prastiyanto. 2017. Perdedaan uji kepekaan *Pseudomonas aeruginosa* pada media muller hinton agar dengan nutrien agar menggunakan *Gentamicia*, *Ciproflaxacin*, *Ofloxacin*. Program Studi DIVAnalisis kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan Univesitas Muhammdiyah Semarang. Skripsi
- Sutrayat, Dhamayanti. Luluh. 2018. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, *Roxb*) terhadap bakteri penyebab jerawat *Staphylococcus aureus* secara invitro. Jurusan Farmasi Poltekes kemenkes Bandung. Karya Tulis Ilmiah.
- Soemarno. 2000. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Yogyakarta.AAK Yogyakarta Depkes RI