

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA 5,7-DIHIDROKSIFLAVANON DARI EKSTRAK ETHANOL TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* ATCC 11229 DAN *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 SECARA *IN VITRO*

IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 5,7-DIHIDROKSIFLAVANON OF ETHANOLIC EXTRACT OF TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) AGAINST *Escherichia coli* ATCC 11229 AND *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048

Oleh : Hajidah Musyayyadah¹, Biologi FMIPA UNY, hajidah.musyayyadah@student.uny.ac.id

Sri Atun², atun_1210@yahoo.com, Anna Rakhmawati³, anna_rakhmawati@uny.ac.id

¹ Mahasiswa Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY

² Dosen Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY

³ Dosen Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dari ekstrak ethanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 serta untuk mengetahui konsentrasi senyawa 5,7-dihidroksiflavanon yang memiliki aktivitas antibakteri optimum terhadap kedua bakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar *paper disc* (Kirby & Bauer). Aktivitas antibakteri dibuktikan dengan adanya zona hambat bening di sekitar *paper disc*. Konsentrasi senyawa 5,7-dihidroksiflavanon yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 0,5 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan DMSO. Kekuatan zona hambat senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap *Escherichia coli* ATCC 11229 tergolong kuat sedangkan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 memiliki kekuatan zona hambat sedang sampai dengan kuat. Konsentrasi optimum senyawa 5,7-dihidroksiflavanon untuk *E. coli* ATCC 11229 pada konsentrasi 500 ppm dan *S. epidermidis* FNCC 0048 pada konsentrasi 0,5 ppm.

Kata kunci : Antibakteri, 5,7-dihidroksiflavanon, temu kunci, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus epidermidis* FNCC 004.

Abstract

The purpose of this research was determined the antibacterial activity and to know the maximum concentration of 5,7-dihydroxyflavanone from ethanolic extract of temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) against *Escherichia coli* ATCC 11229 and *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 bacteria. Test of antibacterial activity performed *in vitro* by using disk diffusion method (Kirby and Baurer test) with paperdisk. Parameters of antibacterial activity measured is width of clear zone which performed around paperdisk. Various concentration of 5,7-dihydroxyflavanone used was 0,5 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm, and 500 ppm. This research used kloramphenicol as positive control and DMSO as negative control. The strenght of the formed clear zone was quite strenght against *Escherichia coli* ATCC wheter *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 has the medium up to quite strength. Optimum concentration of *Escherichia coli* ATCC 11229 at 500 ppm and for *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 at 0,5 ppm.

Keywords : Antibacterial, 5,7-dihydroxyflavanone, temu kunci, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048.

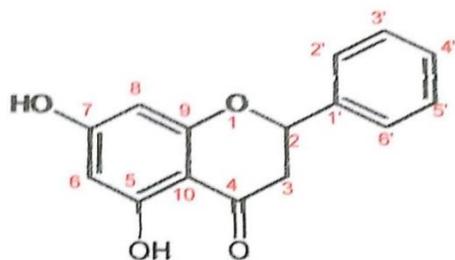
PENDAHULUAN

Boesenbergia pandurata atau yang biasa dikenal sebagai tanaman Temu Kunci merupakan tanaman jahe- jahean yang dapat ditemukan liar di hutan jati dan dikembangkan secara luas di Indonesia

sebagai rempah bumbu masak ataupun sebagai obat batuk dan asma. Penggunaan campuran Temu Kunci dan *Pimpinella anisum* pada bubur dapat digunakan menyembuhkan diare pada anak- anak, dan ketika dicampurkan dengan air kelapa dapat menangani infeksi cacing parasit

(anti- anthelmintic) (Chahyadi, *et al.*, 2014: 13,14). Tanaman temu kunci mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Senyawa aktif seperti flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan terhadap infeksi mikroorganisme sehingga senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba. Salah satu senyawa aktif pada temu kunci yang merupakan turunan flavanoidnya adalah 5,7-dihidroksiflavanon. Senyawa ini sudah banyak diteliti sebagai anti kanker ataupun anti inflamasi, akan tetapi penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri masih belum dikembangkan secara maksimal.

Gambar 1. Struktur kimia senyawa 5,7-dihidroksiflavanon (Sri Atun, 2017)



Penyakit infeksi masih menjadi permasalahan di Indonesia. Bakteri penyebab penyakit infeksi salah satunya adalah *Escherichia coli* yang diketahui dapat menjadi penyebab penyakit diare. Diare merupakan penyakit menular penyumbang kematian ketiga pada semua umur setelah TB dan Pneumonia, diperkirakan 1,3 miliar serangan dan 3,2 juta kematian per-tahun pada balita disebabkan oleh diare (Wijayanti, 2017: 73). Selain itu bakteri penyebab infeksi yang lain adalah *Staphylococcus*

epidermidis yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri *opportunistic pathogen* atau bakteri yang menyerang ketika kondisi imun dari inang melemah, hal ini menyebabkan infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini adalah infeksi nosokomial (infeksi yang berkembang di rumah sakit) dan berasal dari peralatan medis yang tersimpan atau tidak digunakan (Dong and Speer, 2014). Sehingga bakteri ini menjadi ancaman infeksi kepada pasien-pasien yang berada di rumah sakit, baik itu infeksi pasca operasi ataupun infeksi yang sebelumnya tidak pernah diderita dan kemudian diderita setelah masuk ke dalam rumah sakit (Marina, 2017: 3).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY, pada bulan Maret-Juli 2017.

Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dari ekstrak ethanol temu kunci yang merupakan produk dari penelitian Prof Sri Atun pada tahun 2016.

Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC

0048 yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan 5 variasi konsentrasi (0,5 ppm; 5 ppm; 50 ppm; 250 ppm dan 500 ppm). Terdapat 3 kali ulangan dan nilai zona hambat (mm) tiap ulangan diukur sebanyak 3 kali. Penelitian meliputi beberapa tahap yaitu :

- a. Persiapan senyawa 5,7-dihidroksiflavanon
Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dilarutkan dalam DMSO hingga didapat konsentrasi 0,5 ppm; 5 ppm; 50 ppm; 250 ppm dan 500 ppm.
- b. Peremajaan bakteri
Menanam bakteri uji pada media Nutrien Agar.
- c. Pengecatan gram
Cat gram dilakukan untuk memastikan golongan bakteri termasuk gram negatif dan gram positif
- d. Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri
Pengukuran kurva pertumbuhan bakteri uji dilakukan setiap 3 jam sekali selama 48 jam waktu inkubasi. Optical Density (OD) diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm.
- e. Uji Aktivitas Antibakteri
Penentuan daya hambat dilakukan dengan metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer). Suspensi bakteri diletakkan di media menggunakan metode *Spread Plate*. *Paper disc* diletakkan pada media MHA yang sudah diinokulasikan bakteri uji dengan ulangan 3 *paper disk* untuk

tiap konsentrasi kemudian diinkubasi selama 24 jam.

Data, Instrumen dan Teknik Pengumpulan

Data

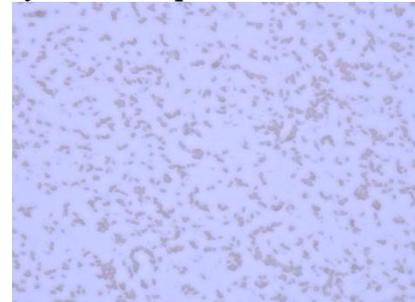
Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat (mm), diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Teknik analisis Data

Diameter zona hambat antibakteri senyawa 5,7-dihidroksiflavanon pada *Escherichia coli* ATCC 1129 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 dianalisis menggunakan *Two Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan Uji lanjut Duncan.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengecatan gram *Escherichia coli* ATCC 1129 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048



Gambar 2. Hasil pengecatan gram *Escherichia coli* ATCC 11229 perbesaran 1000x

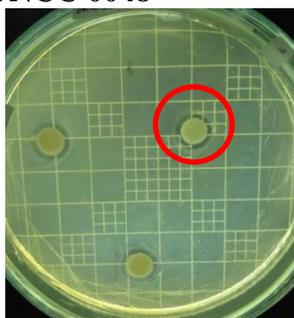


Gambar 3. Hasil pengecatan gram *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 perbesaran 1000x

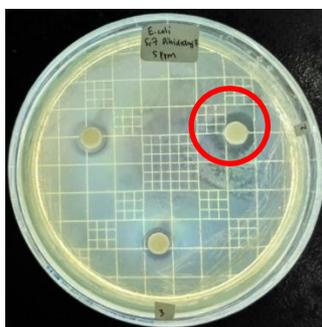
Hasil pengecatan gram yang telah dilakukan menunjukkan *Escherichia coli* ATCC

11229 berwarna merah dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 berwarna ungu. *Escherichia coli* ATCC 11229 merupakan golongan gram negatif dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 merupakan golongan gram positif.

Kemampuan antibakteri senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap *Escherichia coli* ATCC 1129 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048



Gambar 4. Zona hambat senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 (lingkaran merah).

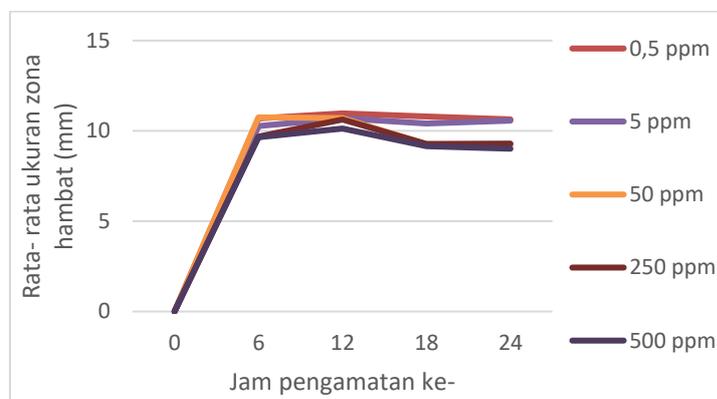


Gambar 5. Zona hambat senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap *Escherichia coli* ATCC 11229 (lingkaran merah).

Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 dan *Escherichia coli* ATCC 11229. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media MHA (*Muller Hinton Agar*) yang telah diinokulasikan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048

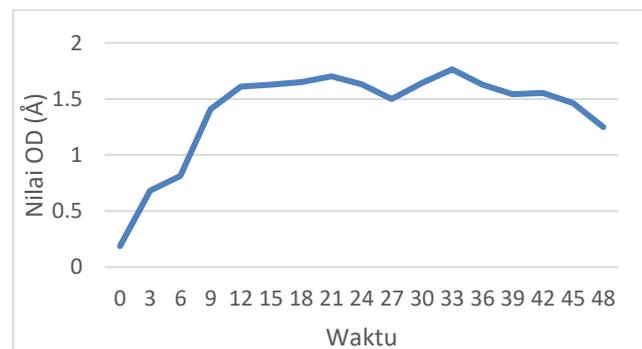
Tabel 1. Zona hambat *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048.

Konsentrasi	Waktu (jam)			
	6	12	18	24
0,5 ppm	10,7	10,97	10,8	10,63
5 ppm	10,26	10,7	10,41	10,56
50 ppm	10,75	10,71	9,26	9,2
250 ppm	9,69	10,63	9,27	9,29
500 ppm	9,64	10,13	9,16	9,01



Gambar 6. Grafik Zona Hambat *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048.

Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 6 konsentrasi 0,5 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm dan 500 ppm menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Zona hambat terbentuk pada jam ke 6, jam ke 12, jam ke 18 dan jam ke 24. Dilihat dari tabulasi data, zona hambat terbesar terbentuk pada jam ke 12.



Gambar 7. Kurva pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048.

Jika dilihat dari kurva pertumbuhan, pada jam ke 12 *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 berada pada fase stasioner dan pada fase ini ini jumlah bakteri yang mati dan hidup relatif sama. Hal ini dapat dikarenakan mulai berkurangnya nutrisi yang tersedia dan menumpuknya hasil metabolit yang dapat bersifat racun bagi bakteri (Ristiani, 2015: 574).

Tabel 2. Hasil uji lanjut Duncan konsentrasi senyawa 5,7-dihidroksiflavanon pada *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048.

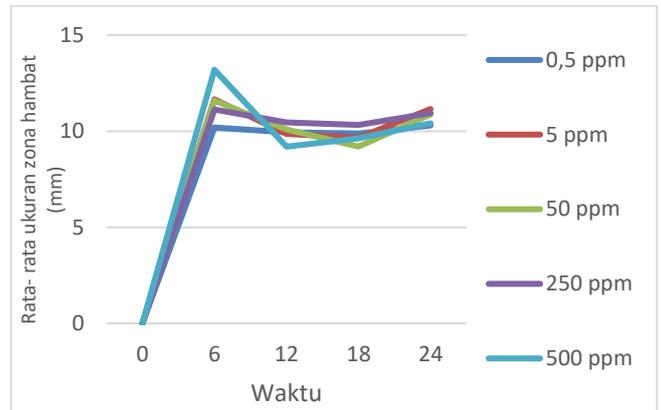
Konsentrasi	Jumlah	Subset	
		1	2
500	12	9.4825	
250	12	9.7208	
50	12	9.9775	
5	12		10.4792
0,5	12		10.7725
Signifikasi.		.052	.218

Berdasarkan analisis Duncan konsentrasi optimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 yaitu pada konsentrasi 0,5 ppm dimana pada konsentrasi tersebut mempunyai zona hambat lebih lebar dari konsentrasi yang lain. Kekuatan zona hambat senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 yang terbentuk berdasarkan Davis dan Stout (1971) dalam Ningsih (2013: 210) tergolong sedang-kuat.

Tabel 3. Data zona hambat *Escherichia coli* ATCC 11229

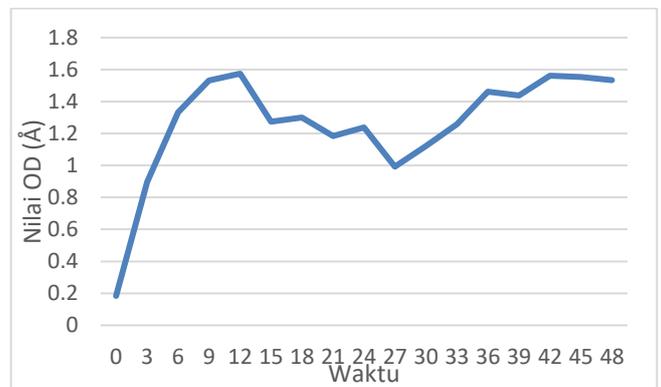
Konsentrasi	Waktu (jam)			
	6	12	18	24
0,5 ppm	10,2	9,94	9,87	10,3
5 ppm	11,66	9,86	9,66	11,16
50 ppm	11,59	10,1	9,2	10,87

250 ppm	11,13	10,46	10,33	10,94
500 ppm	13,20	9,19	9,63	10,41



Gambar 8. Grafik Zona Hambat *Escherichia coli* ATCC 11229

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 8 senyawa 5,7-dihidroksiflavanon menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 11229 pada konsentrasi 0,5 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm dan 500 ppm. Zona hambat terbesar terbentuk pada jam ke 6.



Gambar 9. Kurva Pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 11229

Jika dilihat dari kurva pertumbuhan, pada jam ke 6 *Escherichia coli* ATCC 11229 berada pada fase logaritmik atau fase pertumbuhan, dalam fase ini sel bakteri membelah diri dengan laju yang konstan, massa sel menjadi dua kali lipat dengan laju sama, aktifitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang Sharah (2015: 6).

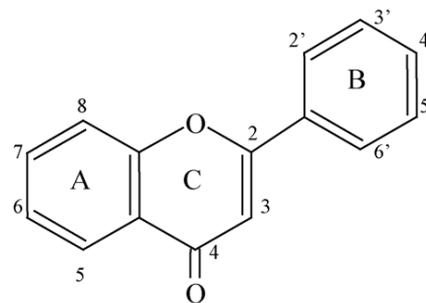
Tabel 4. Hasil Uji Lanjut Duncan Konsentrasi Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon pada Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229

Konsentrasi	Jumlah	Subset	
		1	2
0,5	12	10.0533	
50	12	10.4083	10.4083
5	12	10.5800	10.5800
500	12	10.6083	10.6083
250	12		10.7150
Sig.		.057	.291

Konsentrasi 0.5 ppm, 5 ppm, 50 ppm dan 500 ppm tidak menunjukkan ada perbedaan nyata karena terdapat dalam satu subset (subset 1). Konsentrasi 5 ppm, 50 ppm, 250 ppm dan 500 ppm juga tidak menunjukkan ada perbedaan nyata karena terdapat dalam satu subset yang sama (subset 2). Pada tabel 3 menunjukkan zona hambat terbesar dimiliki oleh konsentrasi 500 ppm, dan hasil uji lanjut menunjukkan konsentrasi 500 ppm dan 250 ppm tidak memiliki beda nyata, sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi optimum senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap *Escherichia coli* ATCC 11229 pada konsentrasi 500 ppm.

Mekanisme penghambatan senyawa 5,7-dihidroksiflavanon terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048

Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon merupakan turunan dari senyawa flavanoid, yakni flavanon Rantai dasar senyawa flavone dapat dilihat dari gambar 10, penambahan gugus hidroksil pada ikatan 5 dan 7 menjadikan senyawa yang disebut 5,7-dihidroksiflavanon.



Gambar 10. Struktur dasar flavone dengan penamaan cincin dan nomor setiap posisi. (Cushnie, 2005: 344)

Pertama menghambat sintesis DNA, kedua menghambat fungsi membran sitoplasmik dan terakhir menghambat metabolisme energi (Ngajow, 2013: 131-132).

Senyawa- senyawa murni seperti flavanon pada umumnya memiliki kemampuan lebih baik menghambat pertumbuhan gram positif dibandingkan ketika menghambat gram negatif (Fair, 2014: 25). Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dari ekstrak ethanol temu kunci tetap mampu membentuk zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229. Hal ini dapat disebabkan sifat polar dari ikatan hidroksil dan ikatan ganda O (=O) pada struktur senyawa 5,7-dihidroksiflavanon. Ikatan hidroksil ini akan berikatan dengan outer membran pada bakteri, ion hidroksil akan menginduksi lemak peroksida, mengakibatkan kerusakan pada fosfolipid, struktur dari membran sel. Ion hidroksil memindahkan atom hidrogen dari asam lemak tidak jenuh, menghasilkan lemak peroksida yang lain. Sehingga peroksida berperan seperti radikal bebas, menginisiasi reaksi rantai autokatalitik, dan menghasilkan kerusakan lebih lanjut dari lemak jenuh dan kerusakan membran yang lebih luas (Leonardi, 2015: 8).

Pembentukan zona hambat pada *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 dikarenakan sifat senyawa 5,7-dihidroksiflavanon yang memiliki ikatan hidroksil sehingga mempunyai sifat polar. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer larut dalam air, berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Karena kepolaran dinding sel bakteri gram positif, senyawa 5,7-dihidroksiflavanon mudah masuk ke dalam sel bakteri sehingga dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan (Dewi, 2010: 28-29).

Berdasarkan efek terhadap bakteri, senyawa antibakteri dapat bersifat bakteristatik dan bakterisidal. Bakteristatik berarti senyawa antibakteri memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel, yaitu dengan menahan pertumbuhan bakteri pada fase stasioner. Bakterisidal berarti senyawa antibakteri memiliki kemampuan membunuh sel bakteri (Nuryanti, 2018: 268). Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon kemungkinan bersifat bakteristatik karena terdapat kecenderungan penurunan besar zona hambat pada kedua bakteri.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Senyawa 5,7-dihidroksiflavanon memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048, diketahui dengan terbentuknya zona hambat

pada kedua bakteri. *Escherichia coli* ATCC 11229 memiliki aktivitas penghambatan tergolong kuat terlihat dari rata-rata diameter ukuran zona hambat sebesar 10,08 mm-10,59 mm. *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 memiliki aktivitas penghambatan tergolong sedang-kuat terlihat dari rata-rata diameter ukuran zona hambat sebesar 9,01 mm- 10,63 mm.

2. Konsentrasi senyawa 5,7-dihidroksiflavanon memiliki aktivitas antibakteri optimum terhadap *Escherichia coli* ATCC 11229 adalah konsentrasi 500 ppm dan konsentrasi optimum pada *Staphylococcus epidermidis* FNCC 0048 adalah konsentrasi 0,5 ppm.

Saran

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengukuran KHM atau konsentrasi hambatan minimum senyawa 5,7-dihidroksiflavanon.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis kebocoran protein pada sel bakteri, untuk mengetahui bagian sel mana yang telah dirusak oleh senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dan seberapa besar kerusakannya.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri senyawa 5,7-dihidroksiflavanon dalam pada bakteri patogen lain
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai interaksi antara senyawa 5,7-dihidroksiflavanon sebagai antibakteri dalam tingkat selular bakteri secara mendetail.

DAFTAR PUSTAKA

- Chahyadi, Agus., Rika Hartatia, Komar Ruslan *et al.* 2014. *Boesenbergia pandurata* Roxb., An Indonesian Medicinal Plant: Phytochemistry, Biological Activity, Plant Biotechnology. *Procedia Chemistry* 13. 13 – 37
- Cushnie, T.P. Tim., Andrew J. Lamb. 2015. *Review: Antimicrobial activity of flavonoids.* *International Journal of Antimicrobial Agents* 26 (2005) 343–356.
- Dewi, Fajar Kusuma. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar.* Skripsi dipublikasikan. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dong, Y., and Speer, C. P. 2014. *The role of Staphylococcus epidermidis in neonatal sepsis: guarding angel or pathogenic devil?* *International Journal Medical Microbiology.* 304, 513–520.
- Fair, R. J., dan Tor, Y. 2014. *Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century.* *Perspectives in Medicinal Chemistry,* 6, 25–64.
- Leonardi, Alvin. 2015. *Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Lobak (Raphanus sativus L.) terhadap Fusobacterium nucleatum ATCC 25586 sebagai Bahan Alternatif Medikamen Saluran Akar (Secara In Vitro).* Skripsi dipublikasikan. Universitas Sumatera Utara
- Marina, Sabaté Brescó., Llinos G. Harris, Keith Thompson dan Barbara Stanic *et al.* 2017. *Pathogenic Mechanisms and Host Interactions in Staphylococcus epidermidis Device-Related Infection.* *Front Microbiol.* 2017; 8: 1401.
- Ngajow, Mercy., Jemmy Abidjulu dan Vanda S. Kamu. 2013. *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus secara In vitro.* *Jurnal Mipa Unsrat Online* 2 (2) 128-132.
- Ningsih, Ayu Putri., Nurmiati dan Anthoni Agustien. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (Musa paradisiaca Linn.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli.* *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)* 2(3) – September 2013: 207-213.
- Nuryanti, Siska., Fitriana. 2018. *Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Jamur Kancing (Agaricus bisporus) Sebagai Antibakteri.* *Jurnal Fitofarmaka Indonesia,* Vol. 5 No.1266-270. 2018
- Ristiati, Ni Putu. 2015. *Uji Bioaktivitas Forbazol E Terhadap Hambatan Pertumbuhan Pada Staphylococcus aureus.* *Jurnal Sains Dan Teknologi* Vol. 4, No. 1, April 2015.
- Sharah, Annisa., Rahman Karnila dan Desmelati. 2015. *Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang Di Isolasi Dari Ikan Peda Kembung (Rastrelliger Sp.)* JOM: OKTOBER 2015.
- Wijayanti, Tri. 2017. *Kriptosporidiosis di Indonesia.* *BALABA* Vol.13 No.1, Juni 2017: 73-82.