

Uji Aktivitas Antibakteri dan Antikuorum Sensing Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight.)

Yonas Bianityo Ardani ^{(a)*}, Lisa Soegianto ^(a), Sumi Wijaya ^(a)

^(a)Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya, Indonesia

Salam (*Eugenia polyantha* Wight.) merupakan tanaman yang telah digunakan oleh masyarakat sebagai bahan berkhasiat dalam pengobatan karena mempunyai efek antiseptik, antelmintik, anestetik, keratolitik dan dapat bekerja mengendapkan protein sel bakteri. Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa ekstrak etanol daun salam memiliki aktivitas antibakteri sehingga pada penelitian ini akan dibuktikan aktivitas antibakteri dan antikuorum sensing dari fraksi-fraksi ekstrak etanol daun salam. Ekstrak daun salam diperoleh dengan proses maserasi dengan pelarut etanol 96% kemudian difraksinasi secara bertahap dengan pelarut *n*-heksana (non polar), etil asetat (semipolar) dan air (polar). Fraksi aktif antibakteri ditentukan dengan metode bioautografi. Penentuan daerah hambatan pertumbuhan (DHP) dari fraksi aktif menggunakan metode difusi sumuran. Kadar hambat dan bunuh minimum diperoleh dengan metode dilusi padat. Daya antikuorum sensing diperoleh melalui metode difusi sumuran dan uji *motilitas*. Fraksi aktif sebagai antibakteri adalah fraksi etil asetat dengan konsentrasi fraksi aktif 25% menghasilkan DHP paling besar yaitu 11,48 mm pada *Staphylococcus aureus* dan 9,03 mm pada *Pseudomonas aeruginosa*. Kadar hambat minimum (KHM) yang diperoleh yaitu 1,56% pada *S. aureus* dan 12,5% pada *P. aeruginosa* sedangkan kadar bunuh minimum (KBM) yang diperoleh yaitu 3,13% pada *S. aureus* dan >12,5% pada *P. aeruginosa*. Hasil dari metode pigmentasi dan uji motilitas menunjukkan fraksi etil asetat memiliki potensi sebagai senyawa antikuorum sensing dengan konsentrasi 2,5%. Dimana konsentrasi fraksi sebagai antikuorumsensing lebih rendah daripada konsentrasi fraksi sebagai antibakteri. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun salam memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antikuorum sensing.

Kata kunci: fraksi daun salam, antibakteri, antikuorum sensing, KHM, KBM.

Antibacterial and Antiquorum Sensing Activity of Fraction of Ethanol Extract of *Eugenia Folium* (*Eugenia polyantha* Wight.)

Eugenia polyantha is being used as empirical plant for antiseptic, antelmintic, anesthetic, keratolitic and also has properties protein in bacterial cells. The antibacterial activity of extract of *Eugenia polyantha* has been proved in previous study, therefore this research was conducted to know the antibacterial and antiquorum sensing from fractions of ethanolic extract of *Eugenia polyantha*. The extraction was prepared by maceration and fraction was prepared by liquid-liquid fractionation method with *n*-hexane (non polar), ethyl acetate (semipolar) and water (polar). Bioautography method with thin layer chromatography and chloroform as mobile phase was conducted to determine the active fraction. The diameter of inhibition zone was measured or determined by diffusion method, while concentration of minimum inhibition (MIC) and bactericidal concentration (MBC) were determined using broth and agar dilution methods. Antiquorum sensing activity for *P. aeruginosa* was carried on, using pigment survey and motility method. The antibacterial activities showed that ethyl acetate fraction 25% gave diameter of growth inhibition zone greater than others, 11.48 mm against *S. aureus* and 9.03 mm against *P. aeruginosa*. The MIC of ethyl acetate fraction gave value of 1.56% against *S. aureus* and 12.5% against *P. Aeruginosa*, meanwhile the MBC was 3.13% against *S. aureus* and more than 12.5% against *P. aeruginosa*. The result showed that ethyl acetate fraction has potential antiquorum sensing activity on concentration of 2.5 %. The active fraction of ethanolic extract of *Eugenia polyantha* which has antibacterial and antiquorum sensing activity was ethyl acetate fraction.

Keywords: *Eugenia* leaves fraction, antibacterial, antiquorum sensing, MIC, MBC.

*Corresponding author: Faculty of Pharmacy, Widya Mandala Catholic University Surabaya, Jl. Dinoyo 42-44, Surabaya, Indonesia, Phone/fax number: (+62-31)5678478 ext.260/(+62-31)5630139, E-mail: ybianityo@yahoo.com

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki beraneka ragam jenis tanaman yang dapat menunjang kehidupan masyarakat, salah satunya adalah sebagai bahan untuk pengobatan. Salah satu dari berbagai jenis tanaman berkhasiat yang dapat dipergunakan sebagai obat adalah tanaman salam (*Eugenia polyantha*). Daun salam memiliki kandungan kimia minyak atsiri yang terdiri dari sitral dan eugenol, tanin, dan flavonoid (Depkes, 1980). Pada penelitian sebelumnya, ekstrak metanol daun salam mampu menghambat pertumbuhan vegetatif *Fusarium oxysporum* sebesar 57,16% pada konsentrasi 5%. Selain itu ekstrak metanol daun salam mampu menghambat perkecambahan konidia *Fusarium oxysporum* dengan persentase penghambatan sebesar 84,67% pada konsentrasi 3% (Noveriza dan Miftakhurohmah, 2010). Selain itu, ekstrak etanol daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella sp.*, tetapi resisten terhadap *Enterobacter sp.* (Warman, 1990).

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penggunaan ekstrak kasar daun salam untuk selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair untuk mengetahui fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri. Sistem pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mewakili sifat non polar, semipolar dan polar. Untuk uji daya antibakteri pada penelitian ini digunakan dua bakteri mewakili golongan bakteri Gram positif dan Gram negatif yang merupakan anggota flora normal manusia, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dari penelitian terhadap daya antibakteri juga dilakukan pengamatan terhadap kemampuan daya antikuorum sensing paling aktif dari beberapa fraksi yang ada, dimana aktivitas kuorum sensing terdapat pada konsentrasi fraksi yang lebih rendah karena aktivitas ini mengendalikan patogenitas sel bakteri tidak dengan membunuh bakteri. Kuorum sensing merupakan mekanisme komunikasi interseluler aktif berbagai spesies bakteri (Popham dan Stevens, 2006).

Dalam kaitannya dengan uji antikuorum sensing, bakteri *P. aeruginosa* memiliki senyawa yang memediasi aktivitas kuorum sensing, yaitu N-asil homoserin lakton (AHL) (Hentzer *et al.*, 2002). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki salah satu sifat sebagai parameter pengamatan yaitu pigmen yang berfluoresensi. Pigmen yang berfluoresensi

ini merupakan penanda adanya aktivitas komunikasi bakteri sehingga dapat menimbulkan patogenitas dari bakteri. *P. aeruginosa* memiliki 2 sistem aktivator transkripsi protein dalam aktivitas kuorum sensing, yaitu *las* dan *rhl* (Pesci *et al.*, 1997). Pengamatan pigmen berfluoresensi, pengamatan juga dilakukan berdasarkan motilitas dari bakteri *P. aeruginosa*. Kedua sistem kuorum sensing ini mempengaruhi aktivitas motil dari bakteri pada produksi 4 tipe filia yang menjadi sistem alat gerak dari bakteri (Glessner *et al.*, 1999).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas daya antibakteri terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* serta daya antikuorum sensing terhadap *P. aeruginosa* dari fraksi n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar) dan air (polar) dari daun salam. Parameter uji daya antibakteri adalah hasil diameter hambat minimum (DHP), kadar hambat minimum (KHM), dan kadar bunuh minimum (KBM) sedangkan untuk parameter uji daya antikuorum sensing diamati pada tidak adanya pigmen yang berfluoresensi yang dihasilkan bakteri dan penghambatan motilitas bakteri sehingga dianggap tidak terjadi suatu sistem komunikasi interseluler pada bakteri.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator (BÜCHI, Germany), autoklaf (All American Model No 25x, USA), oven (Memmert, Germany), inkubator (Memmert, Germany), Laminar Air Flow (Type V-130, Indonesia), timbangan analitis (Sartorius TE 214 S, Germany), plat Silika Gel 60 F₂₅₄ (Merck, Germany), pencetak lubang Ø 6 mm, tabung reaksi dan cawan petri.

Bahan

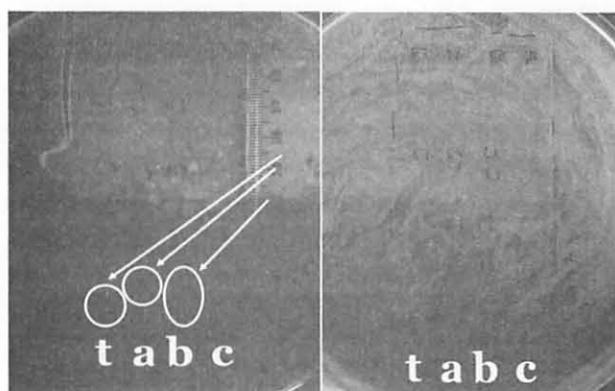
Bahan yang digunakan meliputi serbuk simplisia kering daun salam (UPT Materia Medika Batu – Malang), pelarut etanol teknis, n-heksan teknis, etil asetat teknis, aquades, kloroform (Merck, Germany), metanol p.a. (Merck, Germany), kultur bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, media agar Trypticase Soy Agar (Scharlau, Spain), media cair Trypticase Soy Broth (Merck, Germany) dan media agar Cetrimide (Merck, Germany).

TABEL 1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Salam

Fraksi	Hasil Fraksinasi	
	Berat (gram)	Rendemen
n- Heksan	24,45	23,51 %
Etil Asetat	16,80	16,15 %
Air	37,44	36 %

TABEL 2. Hasil Standarisasi Ekstrak Daun Salam

No.	Parameter uji	Persyaratan	Hasil Uji Simplisia Daun Salam
1	Kadar abu	≤ 5 %	5,69 ± 0,09
2	Kadar sari larut etanol	≥ 8 %	11,55 ± 0,03
3	Kadar sari larut air	≥ 12 %	5,45 ± 0,24
4	Organoleptis		
	Warna	Coklat tua	Coklat tua
	Rasa	Kelat	Kelat
	Bau	Khas lemah	Khas lemah



GAMBAR 1. Hasil uji bioautografi (t) ekstrak total, (a) fraksi n-heksan, (b) fraksi etil asetat, (c) fraksi air, terhadap bakteri *S. aureus* (kiri) dan *P. aeruginosa* (kanan).

Tahapan Penelitian

Ekstraksi Simplisia Serbuk Daun Salam

Simplisia serbuk daun salam dimaserasi dalam pelarut etanol 96% kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator. Setelah itu dilakukan proses standarisasi meliputi kadar abu total, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air dan organoleptis.

Fraksinasi Simplisia Serbuk Daun Salam

Ekstrak kental total yang didapat difraksinasi dengan 3 pelarut berurutan yaitu n-heksana, etil asetat dan air dengan menggunakan corong pisah hingga semua senyawa tertarik dari ekstrak kemudian dipekatkan dengan menguapkan pelarut menggunakan rotary evaporator sampai semua pelarut menguap.

Penentuan Fraksi Aktif

Ketiga fraksi tersebut dan ekstrak total dilakukan uji bioautografi untuk mendapatkan fraksi aktif terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* (setara dengan 0,5 Mc Farland I) dengan menggunakan fase diam Silika Gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform.

Penentuan Konsentrasi Fraksi Aktif

Fraksi aktif yang telah diketahui kemudian ditentukan konsentrasi aktifnya berdasarkan 3 konsentrasi yaitu 50%, 25% dan 12,5% dengan pelarut akuades steril menggunakan metode difusi sumuran dan parameter uji DHP.

Penentuan Kadar Hambat dan Bunuh Minimum

Penentuan kadar hambat dan bunuh minimum menggunakan metode dilusi cair dan padat dengan konsentrasi yang digunakan berdasarkan hasil uji penentuan konsentrasi fraksi aktif.

Uji Daya Antikuorum Sensing

Kadar hambat minimum yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menentukan konsentrasi uji antikuorum sensing menggunakan metode pengamatan pigmen dan motilitas terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak dan fraksi dari simplisia serbuk kering daun salam diperoleh ekstrak daun salam sebanyak 141,3 gram (14,13%), fraksi n-heksana 24,45 gram (23,51%), fraksi etil asetat 16,80 gram (16,15%) dan fraksi air 37,44 gram (36%). Hasil fraksinasi disajikan pada Tabel 1 dan hasil standarisasi ekstrak pada Tabel 2. Hasil uji fraksi aktif (Gambar 1) dengan metode bioautografi terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa daerah hambatan pertumbuhan pada ekstrak total di $R_f = 0,08$, fraksi etil asetat di $R_f = 0,13$ dan pada tempat penotolan, fraksi n-heksan di $R_f = 0,1$.

Berdasarkan hasil yang didapat dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat paling aktif sebagai antibakteri dibanding ekstrak total dan fraksi lainnya pada konsentrasi yang sama. Pada hasil uji bioautografi terhadap *P. aeruginosa* tidak menunjukkan adanya daerah hambat karena ekstrak dan fraksi dari daun salam tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini mungkin dapat terjadi karena sifat dinding sel bakteri golongan Gram negatif sulit untuk ditembus senyawa antibakteri (impermeabel) oleh karena itu salah satu yang resisten terhadap antibakteri adalah *P. aeruginosa* (Franklin, 1977).

Pada pengujian untuk menentukan konsentrasi fraksi aktif sebagai antibakteri dengan metode difusi sumuran digunakan konsentrasi fraksi etil asetat 50%, 25% dan 12,5% sedangkan konsentrasi bakteri yang digunakan adalah setara dengan $1,5 \times 10^7$ CFU/ml yang disajikan pada Tabel 3, Gambar 2, dan Gambar 3.

TABEL 3. Hasil Uji Antibakteri Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*

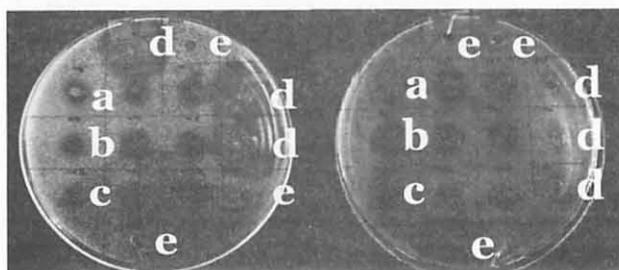
Jenis Bakteri	Konsentrasi	Replikasi (mm)			Rata-rata ± SD
		1	2	3	
<i>S. aureus</i>	50%	11,20	10,60	10,50	10,77±0,31
	25%	11,05	11,25	12,15	11,48±0,49
	12,50%	9,50	9,55	9,35	9,47±0,08
Kontrol (+)	Tetrasiklin	35,85	35,60	36,50	35,98±0,38
Kontrol (-)	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	50%	9,15	8,53	9,10	8,93±0,28
	25%	9,25	9,65	8,20	9,03±0,61
	12,50%	8,95	9,10	8,50	8,85±0,26
Kontrol (+)	Tetrasiklin	8,65	8,60	8,65	8,63±0,02
Kontrol (-)	0	0	0	0	0

TABEL 4. Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari Bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*

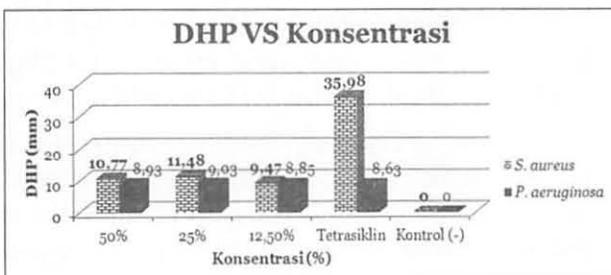
Konsentrasi	Jenis Bakteri	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
12,50%	0	6,6 x 10 ³ CFU/ml
6,25%	0	TBUD
3,13%	0	TBUD
1,56%	4,2 x 10 ³ CFU/ml	TBUD
0,78%	TBUD	TBUD
0,39%	TBUD	TBUD
0,20%	TBUD	TBUD
0,10%	TBUD	TBUD
Tetrasiklin	0	0
Kontrol (-)	0	0
Kontrol (+)	TBUD	TBUD

TABEL 5. Diameter Antikuorum Sensing pada Konsentrasi Fraksi 2,5%

Fraksi	Diameter Antikuorum Sensing Konsentrasi 2,5% (mm)			
	Eks.Total	n-heksana	Etil Asetat	Air
Replikasi 1	11,8	0	10,8	9,2
Replikasi 2	12,2	0	11,6	10,2
Rata-rata±SD	12±0,2	0	11,2±0,4	9,7±0,5



GAMBAR 2. Hasil uji antibakteri dengan fraksi aktif etil asetat (a)konsentrasi 50%, (b)konsentrasi 25%, (c)konsentrasi 12,5%, (d)kontrol antibakteri tetrasiklin, (e)kontrol negatif metanol, terhadap bakteri *S. aureus* (kiri) dan *P. aeruginosa* (kanan).

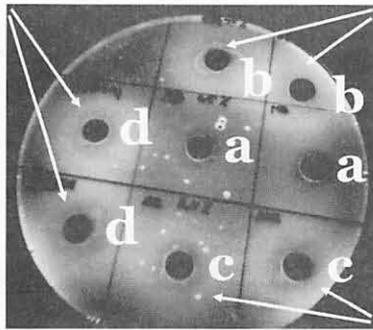


GAMBAR 3. Diagram batang hasil uji antibakteri dari 3 konsentrasi fraksi aktif etil asetat konsentrasi 50%, konsentrasi 25%, konsentrasi 12,5% terhadap bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*.

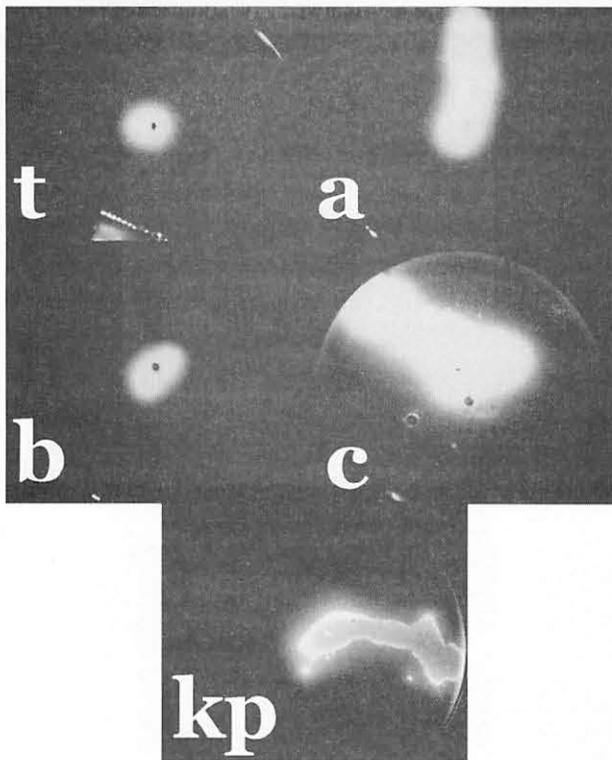
konsentrasi bakteri yang digunakan adalah setara dengan $1,5 \times 10^7$ CFU/ml yang disajikan pada **Tabel 3, Gambar 2 dan Gambar 3.**

Pada pengujian untuk menentukan konsentrasi fraksi aktif sebagai antibakteri dengan metode difusi sumuran digunakan konsentrasi fraksi etil asetat 50%, 25% dan 12,5% sedangkan konsentrasi bakteri yang digunakan adalah setara dengan $1,5 \times 10^7$ CFU/ml yang disajikan pada **Tabel 3, Gambar 2 dan Gambar 3.** Hasil DHP yang didapat terhadap bakteri uji *S. aureus* berturut-turut pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% adalah $10,77 \pm 0,31$ mm, $11,48 \pm 0,49$ mm, $9,47 \pm 0,08$ mm, kontrol Tetrasiklin $35,98 \pm 0,38$ mm. Terhadap bakteri uji *P. aeruginosa* berturut-turut pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% adalah $8,93 \pm 0,28$ mm, $9,03 \pm 0,61$ mm, $8,85 \pm 0,26$ mm, kontrol Tetrasiklin $8,63 \pm 0,02$ mm. Konsentrasi fraksi yang besar (50%) tidak memberikan diameter hambatan pertumbuhan semakin besar disebabkan semakin tinggi konsentrasi atau semakin pekat suatu suspensi senyawa antibakteri dapat menghambat proses difusi suspensi senyawa antibakteri tersebut pada media pertumbuhan karena laju difusi dari senyawa antibakteri bergantung pada sifat kelarutan dari senyawa antibakteri terhadap media serta ukuran molekulnya. Selain itu luas diameter hambatan pertumbuhan dari bakteri *P. aeruginosa* jauh lebih kecil dari *S. aureus*. Hal ini membuktikan bakteri *P. aeruginosa* lebih resisten terhadap senyawa antibakteri dalam fraksi etil asetat daun salam dibanding dengan bakteri *S. aureus* dan fraksi etil asetat daun salam mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap *P. aeruginosa* dibandingkan Tetrasiklin (30µg/20µl).

Hasil uji Kadar Hambat dan Bunuh Minimum (**Tabel 4**) menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* memiliki KHM pada konsentrasi 1,56% sedangkan untuk KBM pada hasil uji yang didapat bahwa kadar 3,13% menghasilkan pertumbuhan bakteri sebanyak 0 CFU/ml sehingga memenuhi perkiraan jumlah bakteri untuk kadar bunuh



GAMBAR 4. Hasil uji antikuorum sensing dengan metode sumuran konsentrasi 2,5% yaitu (a) fraksi *n*-heksana, (b) fraksi etil asetat, (c) fraksi air, (d) ekstrak total.



GAMBAR 5. Hasil uji antikuorum sensing dengan metode motilitas pengamatan pada UV 366 yaitu (t) ekstrak total, (a) fraksi *n*-heksana, (b) fraksi etil asetat, (c) fraksi air, (kp) kontrol positif.

minimum yaitu $1,2 \times 10^4$ CFU/ml. Pada bakteri *P. aeruginosa* memiliki KHM pada konsentrasi 12,5% dan KBM pada konsentrasi >12,5%.

Hasil uji antikuorum sensing pada konsentrasi di bawah KHM (dipilih konsentrasi 2,5%) (**Gambar 4 dan Tabel 5**) hasil yang didapat terlihat bahwa fraksi etil asetat memiliki daya antikuorum sensing dengan adanya daerah pertumbuhan tetapi tidak berfluoresensi (ditunjukkan oleh anak panah). Uji

antikuorum sensing juga dilakukan dengan uji motilitas dari bakteri pada konsentrasi 2,5% yang disajikan pada **Gambar 5**. Dari hasil uji motilitas bakteri pada pengamatan UV 366 bahwa ekstrak total, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air mampu menghambat motilitas bakteri *P. aeruginosa* dengan kemampuan penghambatan motilitas terbesar oleh ekstrak total dapat dilihat dari penyebaran pertumbuhan terkecil. Hal ini disebabkan ekstrak total mengandung senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas antikuorum sensing yang terdapat pada fraksi etil asetat dan fraksi lainnya sehingga aktivitas penghambatan motilitas menjadi lebih besar. Selain itu ada perbedaan dari hasil uji pembentukan pigmen dan uji motilitas, yaitu pada uji pembentukan pigmen berfluoresensi menunjukkan fraksi air memiliki aktivitas antikuorum sensing sedangkan fraksi *n*-heksana tidak menunjukkan adanya aktivitas, tetapi pada uji motilitas fraksi *n*-heksana menunjukkan aktivitas penghambatan motilitas lebih besar dibanding fraksi air. Hal ini disebabkan pembentukan pigmen dan aktivitas motilitas memiliki perbedaan mekanisme. Pembentukan pigmen bakteri *P. aeruginosa* berasal dari sistem antikuorum sensing *las* melalui ekspresi gen *LasR* yang diduga lebih banyak dihambat oleh senyawa yang terdapat di fraksi air (senyawa polar) sedangkan aktivitas motilitas berasal dari sistem *rhl* melalui ekspresi gen *RhlR* yang diduga lebih banyak dihambat oleh senyawa yang terdapat di fraksi *n*-heksana (senyawa non polar) (Cámara, 2005).

KESIMPULAN

Fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri dari ekstrak etanol daun salam adalah fraksi etil asetat dibandingkan ekstrak total, fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Kadar hambat minimum dari fraksi etil asetat daun salam terhadap *Staphylococcus aureus* 1,56% dan kadar bunuh minimum 3,13%, sedangkan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* kadar hambat minimum 12,5% dan kadar bunuh minimum >12,5%. Fraksi yang paling aktif memiliki daya antikuorum sensing adalah fraksi etil asetat dengan konsentrasi 2,5% berdasarkan uji motilitas dan ada tidaknya pigmen berfluoresensi yang dihasilkan bakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dr. Lannie Hadisoewignyo, Apt. yang telah membantu dalam hal dana selama proses penelitian ini hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980, **Materia Medika Indonesia** jilid IV, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 109-113.

Noveriza R dan Miftakhurohmah, 2010, Efektivitas ekstrak metanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun jeruk purut (*Cytrus hystrix*) sebagai antijamur pada pertumbuhan *Fusarium oxysporum*, **Jurnal Littri**, 16 (1), p 6-11.

Warman B, 1990, Uji mikrobiologi ekstrak *Eugenia polyantha* folium terhadap bakteri penyebab diare secara in vivo, JF FMIPA UNAND, dalam : **Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia VII**, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, p 133.

Popham DL and Stevens AM, 2006, Bacterial quorum sensing and bioluminescence, in : **Tested Studies for Laboratory Teaching**, volume 27, M. A. O'Donnell (Ed), Proceedings of The 27th Workshop / Conference of The Association for Biology Laboratory Education (ABLE), USA, p 201-215.

Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, Heydorn A, Andersen JB, Parsek MR, Rice SA, Eberl L, Molin S, Høiby N, Kjellberg S, and Givskov M, 2002, Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound, **Microbiology**, 148, p 87-102.

Pesci EC, Pearson JP, Seed PC, and Iglewski BH, 1997, Regulation of *las* and *rhl* quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*, **Journal of Bacteriology**, 179(10), p 3127-3132.

Glessner A, Smith RS, Iglewski BH, and Robinson JB, 1999, Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* quorum sensing system in control of twitching motility, **Journal of Bacteriology**, 181 (5), p 1623-1629.

Franklin TJ, 1977, Bacterial Resistance to Antibiotics, in : **Pharmaceutical Microbiology**, Hugo WB and AD Russell (Eds.), 1st edition, Blackwell Science, United Kingdom, p 137.

Cámara M, 2005, **Quorum Sensing : A Cell – Cell Signalling Mechanism Used to Coordinate behavioural Changes in Bacterial Population**, University of Nottingham, United Kingdom.