

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* S)
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI
*SALMONELLA THYPI***

Saifudin Zukhri¹, Sholikhah Deti², Anita Agustina Setyawan³

¹Prodi S1 Keperawatan, STIKES Muhammadiyah Klaten

^{2,3}Prodi D3 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Klaten

ABSTRAK

Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) memiliki kandungan kimia minyak atsiri dan flavonoid. Selain itu juga mengandung sitrat, limonena, felandrena, geranil asetat, kadinena, linalin asetat, asam sitrat, damar, hesperidin, mineral, vitamin B1 dan C. Kandungan dari daun jeruk nipis dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Penyakit tifoid merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella thypi*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah senyawa yang terkandung dalam daun jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak daun jeruk nipis terhadap *Salmonella thypi*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Ekstrak daun jeruk nipis dibuat dengan proses remaserasi selama 12 hari. Kemudian ekstrak diujikan dengan metode difusi pada cakram kertas. Ekstrak dibuat 3 seri konsentrasi yaitu 6,25%, 12,5% dan 25% untuk menentukan konsentrasi terkecil ekstrak yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Selain 3 konsentrasi tersebut juga digunakan kontrol positif dan kontrol negatif yaitu Kloramfenikol 30 µg/disk dan DMSO 5%.

Hasil pengujian antibakteri diperoleh rata-rata diameter zona hambat pada setiap konsentrasi. Pada konsentrasi 6,25 % diperoleh rata-rata 7 mm. Pada konsentrasi 12,5% diperoleh rata-rata 8 mm dan pada konsentrasi 25% diperoleh rata-rata 5 mm. Sedangkan pada kontrol positif dari ketiga replikasi menunjukkan rata-rata 19 mm dan pada kontrol negatif tidak menunjukkan adanya daya hambat.

Hasil uji menunjukkan bahwa dari ke tiga konsentrasi tersebut menunjukkan adanya perbedaan bermakna karena nilai sig 0,00 atau < 0,05. Daun jeruk nipis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* dengan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) pada konsentrasi 6,25%.

Kata Kunci: Ekstrak Daun Jeruk Nipis, Antibakteri, *Salmonella Thypi*.

PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah penyakit menular akut yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Demam tifoid merupakan penyakit endemis di beberapa negara berkembang, dimana sanitasi lingkungan kurang dijaga dengan baik. Bakteri tifoid ditemukan di dalam tinja dan air kemih penderita. Demam tifoid memunculkan gejala-gejala sebagai berikut: demam, malaise, sakit kepala, mual & muntah, hepatosplenomegali, bintik merah di dada, nyeri, typhoid tongue, gangguan gastrointestinal, bradikardi dan gangguan kesadaran (Radji, 2010).

Salmonella typhi merupakan bakteri gram negatif, yang bersifat patogen secara spesifik menyerang manusia yang dapat menyebabkan demam tifoid. *Salmonella typhi* dapat menyerang manusia melalui makanan dan minuman. Spesies *Salmonella* dapat bergerak bebas dan menghasilkan hidrogen sulfida (Pelczar, 2009).

Salmonella typhi tidak hanya dapat dihambat dengan obat kimia, namun juga dapat dihambat dengan bahan alami seperti jeruk nipis. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merupakan salah satu tanaman yang digunakan dan digemari oleh masyarakat, baik untuk bumbu masakan sebagai pengasam makanan, seperti pada soto, sehingga fungsinya sama seperti cuka.

Berdasarkan penelitian terdahulu telah dilakukan suatu penelitian mengenai kandungan aktif perasan jeruk nipis diantaranya asam sitrat, damar, vitamin B1, vitamin C, kalsium, flavonoid dan minyak atsiri. Penelitian ini mengenai uji aktivitas antibakteri perasan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Klebsiella pneumonia* secara in vitro.

Berdasarkan penelitian tersebut maka akan dilakukan penelitian mengenai uji efektivitas ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) terhadap pertumbuhan bakteri *salmonella typhi*. Tujuan dari pemilihan ekstrak adalah agar semua komponen yang terdapat dalam daun jeruk nipis dapat tertarik semua.

BAHAN DAN METODE

Jenis Penelitian

Desain penelitian adalah metode yang digunakan peneliti untuk melakukan suatu penelitian yang memberikan arahan terhadap jalannya penelitian (Notoatmodjo, 2012). Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental. Penelitian ekperimental adalah penelitian untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu. Ciri khusus penelitian eksperimental adanya percobaan (Notoatmojo, 2002).

Variabel Penelitian

Variabel bebas (*independent*) merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat (Sugiyono, 2012). Variabel bebas dalam penelitian yang dilakukan yaitu konsentrasi ekstrak daun nipis (*Citrus aurantifolia* S).

Variabel terikat (*dependent*) merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2012). Variabel terikat dalam penelitian yang dilakukan yaitu daya hambat ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*).

Variabel pengganggu merupakan variabel yang secara teoritis mempengaruhi hubungan variabel yang sedang diteliti (Sugiyono, 2012). Variabel pengganggu pada penelitian ini adalah umur, pendidikan, penghasilan, pengetahuan dan sikap. Pada penelitian ini dilakukan pengendalian variabel pengganggu diantaranya: media, suhu, dan lama inkubasi. Variabel pengganggu dalam uji efektivitas antibakteri daun jeruk terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* adalah media yang telah ditanam bakteri *Salmonella thypi*, kemudian diinkubasikan dengan suhu optimum 37°C yang selama 24 jam.

Populasi dan Sampel

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek atau subyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulan (Sugiyono, 2010). Populasi dalam penelitian karya tulis ilmiah adalah daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) yang berasal dari Gayamprit, Klaten.

Sampel adalah bagian dari karakteristik yang dimiliki oleh populasi (Sugiyono, 2010). Sampel yang digunakan adalah 500 gram daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) yang diperoleh dari proses remaserasi. Bakteri *Salmonella thypi* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Determinasi tanaman digunakan untuk mengetahui keaslian maupun kebenaran dari sampel yang digunakan dan determinasi dilakukan di Laboratorium Sistemik Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian adalah tempat penelitian tersebut akan dilakukan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Kimia Farmasi STIKES Muhammadiyah Klaten. Waktu penelitian adalah waktu penelitian tersebut dilakukan. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Juli 2016.

Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah alat-alat yang digunakan untuk pengumpulan data (Notoadmodjo, 2010, h.87). Instrumen yang digunakan dalam penelitian adalah Alat untuk penyari: Timbangan digital, pisau, talenan, cawan porselin, tabung reaksi, batang pengaduk, kain flanel, beaker glass. Alat untuk uji daya antibakteri: Ose steril atau kapas lidi steril, autoklav, oven, kompor gas, inkubator, pinset, penggaris, pipet tetes, aluminium foil, sarung tangan dan masker.

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah Bahan remaserasi: daun jeruk nipis yang diperoleh dari Gayamprit, Klaten dan pelarut etanol 96%. Bahan uji daya antibakteri berupa bakteri *salmonella thypi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada, Nacl 0,9%, Media NAP (*Nutrient Agar Plate*), DMSO 5%, cakram kertas dan kloramfenikol 30µg/disk.

HASIL

Penelitian uji efektivitas antibakteri ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) terhadap *Salmonella typhi* dilakukan di Laboratorium Analis Kimia Farmasi STIKES Muhammadiyah Klaten pada tanggal 8 Juni sampai 22 Juni 2016.

Determinasi Tanaman

Daun jeruk nipis diperoleh dari Gayamprit Klaten. Untuk mengetahui keaslian dan kebenaran tanaman dilakukan determinasi di Laboratorium Sistemik Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*). Surat keterangan hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2.

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S.*) segar dilakukan dengan metode maserasi selama 7 hari menggunakan pelarut etanol 96% dan diremaserasi selama 5 hari menggunakan etanol 96%. Dari 500 gram daun jeruk nipis segar yang telah dihaluskan, diperoleh ekstrak sebanyak 26,5 gram. Ekstrak daun jeruk nipis yang didapat berupa ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman dan berbau khas daun jeruk nipis. Dari hasil remaserasi didapatkan rendemen ekstrak daun jeruk nipis sebesar 5,3% yang dapat dilihat di lampiran 12.

Hasil Uji Mikrobiologi Ekstrak

Ekstrak daun jeruk nipis diamati efektivitas daya hambat antibakterinya dengan metode difusi cakram. Bakteri yang digunakan pada uji ini adalah *Salmonella typhi*. Dari hasil penelitian menunjukkan adanya daya hambat (zona jernih) disekitar cakram. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk nipis memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Data hasil perhitungan rata-rata diameter hambat yang ditimbulkan oleh ekstrak daun jeruk nipis dalam konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25% diuji untuk mengetahui apakah data tersebut telah berdistribusi normal atau tidak, maka dilakukan uji awal yaitu uji normalitas menggunakan uji *kolmogorov smirnov*.

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi telah berdistribusi normal dengan nilai signifikan 0,151 atau sig > 0,05. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas yang menunjukkan bahwa harga signifikansi 0,065 atau > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut variansinya homogen, maka data dapat dilanjutkan menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan taraf signifikansi 95%.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,00 atau sig < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter hambat dari ketiga konsentrasi ekstrak daun jeruk nipis terhadap bakteri *Salmonella typhi* memberikan perbedaan yang bermakna.

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum ekstrak daun jeruk nipis terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) mengandung flavonoid,

minyak atsiri, imonene, fellandrena, geranil asetat, kadinena, linalin asetat, damar, hesperidin, mineral vitamin B1 dan C. Kandungan senyawa flavonoid dan minyak atsiri mempunyai peran dalam membunuh dan juga menghambat bakteri salah satunya *Salmonella typhi* (Triayu, 2009). Penelitian dilakukan dengan mengambil daun jeruk nipis segar di kebun daun jeruk nipis daerah Gayamprit, Klaten yang telah dideterminasi.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman jeruk nipis diperlukan untuk mempertegas bahwa tanaman yang akan digunakan benar-benar tanaman jeruk nipis. Determinasi juga dimaksudkan untuk menghindari akan terjadinya kesalahan dalam penggunaan bahan yang dapat menyebabkan perubahan hasil yang akan diperoleh. Hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Sistematik Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta menegaskan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini familia *Rutaceae*, genus *Citrus*, spesies *Citrus aurantifolia* Swingle dan memiliki nama daerah Jeruk nipis. Hal ini telah sesuai dengan literatur yang menjelaskan mengenai klasifikasi tanaman jeruk nipis.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak daun jeruk nipis dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Farmasi Stikes Muhammadiyah Klaten menggunakan metode remaserasi. Daun jeruk nipis segar dicuci bersih dengan alir mengalir dengan tujuan menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Daun yang telah dicuci kemudian ditiriskan terlebih dahulu agar mengering dan diperkecil ukurannya dengan cara diblender. Daun jeruk nipis disari menggunakan etanol 96% selama 7 hari dan dilakukan pengulangan pelarut etanol 96% selama 5 hari. Pemilihan metode ini dalam proses pengerjaannya lebih sederhana dan juga mudah. Selain itu pemilihan metode remaserasi ini lebih cocok digunakan untuk bahan yang tidak tahan panas seperti daun jeruk nipis. Akan tetapi kelemahan dari metode ini yaitu proses pengerjaannya membutuhkan waktu lama.

Proses penyarian dilakukan dengan maserasi dengan cara merendam 500 g daun jeruk nipis yang telah diblender ke dalam 1000 ml etanol 96% selama 7 hari dan diremaserasi dengan penambahan pelarut baru etanol 96% selama 5 hari dengan proses pengadukan. Tujuan dilakukannya pengadukan agar dapat terjadi keseimbangan konsentrasi didalam cairan. Dari proses remaserasi diperoleh rendemen ekstrak sebesar 5,3%.

Uji Mikrobiologi Ekstrak

Metode yang digunakan dalam pengujian efektivitas antibakteri ekstrak daun jeruk nipis adalah metode difusi dengan cakram kertas. Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun jeruk nipis terhadap *Salmonella thypi* menggunakan konsentrasi ekstrak sebesar 6,25%, 12,5% dan 25%. Pengujian efektivitas bakteri diharapkan dapat diperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun jeruk nipis sehingga didapatkan hasil perbedaan diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi. Cakram kertas direndam pada masing-masing konsentrasi kemudian diletakkan pada media agar padat yang telah dicampurkan dengan mikroba uji dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Cakram dapat

berdifusi dengan baik pada permukaan media Nutrient Agar Plate padat yang sebelumnya media dicairkan dan ditambah dengan bakteri uji. Pengujian dan pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengamati ada atau tidaknya daerah bening pada cakram.

Setelah diinkubasi selama 24 jam akan terbentuk daerah jernih di sekitar cakram yang merupakan zona radikal zona hambat aktivitas antibakteri dari bahan uji. Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak daun jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Pengukuran diameter zona hambat disekitar cakram menggunakan mistar berskala dan hasil yang didapat dikurangi dengan diameter cakram 6 mm.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa ekstrak daun jeruk nipis mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* karena terdapat daerah jernih disekitar cakram yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella thyphi*. Dari penelitian ini diperoleh perbedaan rata-rata diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi.

Cakram kertas dengan konsentrasi 6,25% memiliki diameter 7 mm dengan 3 kali replikasi. Cakram kertas yang mengandung ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dengan replikasi 3 kali menghasilkan rata-rata diameter zona hambat 8 mm. Hal ini berarti ekstrak dengan konsentrasi rendah yaitu 12,5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* karena senyawa aktif pada konsentrasi tersebut masih mampu memberikan potensi aktivitas antibakteri.

Cakram kertas yang mengandung ekstrak dengan konsentrasi 25% pada replikasi I dan II menghasilkan diameter zona hambat masing-masing 8 mm dan 7 mm. Namun pada replikasi III tidak ditemukan adanya diameter zona hambat, hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: suhu inkubasi, pH, penaburan bakteri dan media NAP serta peralatan yang kurang steril. Bakteri memiliki suhu pertumbuhan optimum untuk dapat tumbuh cepat dan memiliki rentang suhu dimana bakteri tersebut dapat tumbuh. Adapun suhu pertumbuhan optimum *Salmonella thypi* yaitu 37,5°C. pH juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri. pH optimum pertumbuhan *Salmonella thypi* adalah 6 sampai 8, namun pada penelitian yang telah dilakukan pH yang digunakan untuk penanaman bakteri tidak dikondisikan, sehingga kemungkinan bakteri yang tumbuh kurang optimal. Proses penaburan bakteri pada media kemungkinan juga berpengaruh karena pada proses penaburan bakteri dan media kemungkinan tidak tercampur secara merata.

Penghambatan yang optimal dari 3 konsentrasi tersebut adalah pada konsentrasi 12,5% karena dari 3 konsentrasi tersebut yang memiliki diameter terbesar yaitu konsentrasi 12,5% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 8 mm. Selain itu pada konsentrasi 12,5% dari replikasi 1 sampai 3 tidak mengalami penurunan daya hambat dan mengalami peningkatan sebesar 1 mm. Pada umumnya diameter zona hambat cenderung mengalami peningkatan sebanding dengan meningkatnya konsentrasi yang digunakan. Tetapi pada konsentrasi 25% tidak mengalami peningkatan pada zona hambatnya. Kandungan ekstrak yang didapat kemungkinan belum tersari secara sempurna serta proses penguapan yang

melibatkan suhu tinggi menyebabkan berkurangnya kandungan senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri.

Pada kontrol positif dari ketiga replikasi menunjukkan adanya daya hambat dengan rata-rata sebesar 19 mm, sedangkan pada kontrol negatif tidak menunjukkan adanya daya hambat antibakteri. Dari analisis melalui uji *One Way ANOVA* diperoleh harga signifikan $0,00 < 0,05$ yang menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk nipis ada perbedaan disetiap konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi*. Setelah dilakukan penelitian masih ada beberapa keterbatasan dari jalannya penelitian ini antara lain metode yang digunakan untuk penyarian ekstrak yaitu remaserasi yang dilanjutkan dengan proses penguapan yang melibatkan suhu tinggi dan waktu yang lama. Hal ini dimungkinkan ada zat yang hilang atau rusak selama proses pemanasan dan metode uji efektivitas antibakteri dengan metode difusi menggunakan cakram kertas yang mungkin intensitas resapannya ekstraknya kurang banyak.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat disimpulkan ekstrak daun jeruk nipis memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan Nilai KHM ekstrak daun jeruk nipis yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella thypi* adalah 6,25%.

Saran

Adapun hal-hal yang dapat disarankan dari penelitian ini, antara lain:

Bagi penelitian selanjutnya: Perlu dilakukan penelitian dengan metode ekstrak yang berbeda dan perlu dilakukan uji farmakologi terhadap khasiat dari daun jeruk nipis.

Bagi farmasi: Farmasis dapat memberikan informasi kepada pasien tentang pengobatan herbal dari daun jeruk nipis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2006. *Standar Nasional Indonesia Minyak Nilam*. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Abdul, A dan Aziz, D. 2013. *Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Stapylococcus Aureus Secara In Vitro*. Universitas Andalas.
- Agustinus H. D. 2012. *Efektivitas Jeruk Nipis Dalam Menurunkan Bakteri Escherichia coli Pada Dada Karkas Ayam Boiler*. Universitas Jendral Sudirman.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Depkes RI. Jakarta.
- Azwar, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medika. Jakarta.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: Trobus Agriwidya.
- Greenwood. 1995. *Antibiotic, Sunsvity Test Antimicrobial and Chemotherapy*. Hill Company. USA.
- Hadisahputra, S dan Harahap U, 1994. *Biokimia dan Farmakologi Antibiotik*. USU Press. Medan.
- Hasdianah, H.R. 2012. *Mikrobiologi Cetakan I*. Nuha Medika. Yogyakarta.

- Hasyini. 2010. *Mikrobiologi Parasitologi Untuk Mahasiswa Keperawatan*. Trans Info Media. Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB. Bandung.
- Jawet, E. 1984. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. EGC. Jakarta.
- Jawetz E, J.L. Melnick, E.A. Adelberg. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran edisi 25*. EGC. Jakarta.
- Juliantina, F.R., D.A. Citra, B.Nirwani, T.Nurmasitoh, dan E.T. Bowo. 2008. *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Gram Positif dan Negatif*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Nilam, F. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S) Dengan menggunakan Metode DPPH*. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Notoatmojo. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Novaria, I. 2015. *Uji Efektivitas Antibakteri Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S) Terhadap Bakteri Stapylococcus aureus, Eschericia coli, Salmonella typhi dan Klebsiella pneumonia Secara In Vitro*. Jakarta.
- Parker, S. 2012. *Jendela Iptek Ilmu Kedokteran*. Balai Pustaka. Jakarta.
- Pelczar, M. J. 2009. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. UI. Jakarta.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Rina, M. 2014. *Keefektivan Daya Bunuh Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S) Terhadap Kematian Larva Nyamuk Aedes Aegpti*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Syamsuni. 2006. *Ilmu Resep*. EGC. Jakarta.
- Triayu. 2009. *Formulasi Krim Obat Jerawat Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia S) dan Uji Daya Hambat Bakteri Secara In Vitro*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Volk dan Wheeler. 1998. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga. Jakarta.