

Uji antibakteri komponen bioaktif daun lobak (*Raphanus sativus*) terhadap *Escherichia coli* dan profil kandungan kimianya

Antibacterial activity of bioactive compounds from radish (*Raphanus sativus*) leaves against *Escherichia coli* and its chemical compounds

JENNY VIRGANITA, DINAR SARI CAHYANINGRUM WAHYUNI, ESTU RETNANINGTYAS NUGRAHENI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 7 Mei 2009. Revisi disetujui: 18 Agustus 2009.

Abstract. *Virganita J, Wahyuni DSC, Nugraheni ER. 2009. Antibacterial activity of bioactive compounds from radish (Raphanus sativus) leaves against Escherichia coli and its chemical compounds. Biofarmasi 7: 94-98.* Indonesia has many kinds of plants, some of them are medicinal plants that were used to cure various diseases. One of medicinal plants is radish (*Raphanus sativus* L.), known as vegetable. That is the reason conducting the research to find out the bioactive compounds from plants, which can be used as raw materials of drug. Other reasons are expensive drug prices in the market, the death case due to microbial infection, and the increasing of bacterial resistance because of ineffectiveness usage of antibiotic. This study aimed to determine the antibacterial effect of bioactive compounds from radish leaves against *Escherichia coli*. Bioactive compounds were found by extraction dan partition using centrifugation. Dry powder from radish leaves was extracted with chloroform and methanol. After the antibacterial testing, methanol extract resulted in an antibacterial effect was separated in a partition by ethyl acetate into soluble and insoluble parts. The soluble part of ethyl acetate resulted in an antibacterial effect on the concentration of 30-50% was shown by a clear zone (average 10 mm). It was separated again into soluble and insoluble fractions with dichloromethane. Dichloromethane soluble fraction formed a clear zone about 8.30 mm on 10% concentration and 8.42 mm on 20% concentration. Furthermore, the chemical constituent profile of the most active fraction was monitored using KLT method and detected with spray chemicals. The results indicated that radish leaves had bioactive compounds from phenolic group. It was proved by ammonia detection which giving a yellow color, and dark blue with FeCl_3 detection.

Keywords: *Raphanus sativus*, *Escherichia coli*, antibacterial test, bioactive compounds

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sekitar 30.000 spesies tumbuhan, dimana sekitar 9.600 spesies diantaranya diketahui berkhasiat obat, tetapi baru 200 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat tradisional (Meridianto 2008). Keanekaragaman spesies tersebut mendorong dilakukannya penelitian untuk memperoleh senyawa bioaktif dari bahan alam yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan. Hal ini terkait dengan kenaikan harga obat di pasaran, tingginya kasus infeksi oleh bakteri *Escherichia coli* di masyarakat, serta meningkatnya tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik akibat penggunaannya yang tidak efisien dari segi indikasi dan dosis (Ridwan 2007). Adapun salah satu jenis tumbuhan yang berkhasiat obat adalah lobak (*Raphanus sativus* L.). Tanaman lobak telah diketahui memiliki khasiat mengatasi sulit tidur, antiinsomnia, sebagai obat radang tenggorokan dan penyakit sinus, antitumor, kemopreventif terhadap tumor payudara, mencegah batu ginjal, sirosis hati, antibakteri, dan imunomodulator (Wijayakusuma 2005; Fajarayu 2008; Sotyaningtyas 2008).

Uji fitokimia pendahuluan mengindikasikan bahwa umbi dan daun lobak mengandung saponin, flavonoid,

polifenol, dan glikosida. Daunnya mengandung minyak atsiri, vitamin A dan C, serta bijinya mengandung 30-40% lemak dan minyak atsiri. Zat-zat tersebut bersifat antibiotik terhadap beberapa jenis bakteri dan sebagai antioksidan (Wijayakusuma 2005).

Menurut Riyanto (2007), golongan senyawa fenolik berpotensi sebagai antibakteri. Demikian juga senyawa flavonoid, triterpenoid, dan saponin merupakan senyawa kimia yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antivirus (Robinson 1995 dalam Ajizah et al. 2007). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu *monoterpenoid linalool*, *diterpenoid (-) hardwicklic acid*, *phytol*, triterpenoid saponin, dan triterpenoid glikosida (Grayson 2000; Bigham et al. 2003; Lim et al. 2006). Dilihat dari kandungan kimianya, diduga daun lobak mempunyai potensi untuk membunuh bakteri atau mikroba. Meskipun demikian, perlu dilakukan pengujian secara ilmiah, sehingga diharapkan dapat menjadi solusi untuk mengobati berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *E. coli*. Bakteri tersebut merupakan penyebab umum terjadinya diare. Diare masih merupakan masalah kesehatan utama pada anak di negara-negara berkembang. Di Indonesia sendiri, angka kematian bayi akibat diare masih cukup tinggi, sekitar 162 ribu balita

meninggal setiap tahun atau sekitar 460 balita setiap harinya (Ridwan 2007). Selain itu, bakteri *E. coli* juga menyebabkan hampir 80% dari kasus infeksi ginjal dan saluran kencing (TEMPO 2007). Oleh karena itu, penemuan senyawa bioaktif yang dapat membantu mengatasi bakteri tersebut akan memberikan sumbangan yang penting bagi upaya pemeliharaan kesehatan masyarakat.

Pada penelitian ini, daya antibakteri komponen bioaktif daun lobak diujikan terhadap *E. coli*. Selain menentukan aktivitas antibakteri dari komponen bioaktif daun lobak terhadap *E. coli*, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui profil kandungan kimia dari komponen bioaktif daun lobak yang memiliki aktivitas antibakteri.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan berupa daun tanaman lobak yang diperoleh dari daerah Tawangmangu. Daun segar yang sudah dicuci bersih dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung, lalu dijadikan serbuk.

Cara kerja

Ekstraksi dan partisi

Ekstraksi daun lobak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yang melibatkan pelarut kloroform dan metanol. Hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kering kloroform dan ekstrak kering metanol. Ekstrak metanol dan kloroform kemudian diuji aktivitas antibakterinya. Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan ekstrak terpilih yang selanjutnya akan dipartisi.

Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri dipartisi dengan etil asetat sehingga diperoleh bagian yang larut dan bagian yang tidak larut dalam etil asetat. Kedua bagian tersebut diuji aktivitas antibakterinya dan bagian yang aktif menghambat pertumbuhan *E. coli* dipartisi kembali dengan pelarut yang berbeda. Adapun partisi yang kedua menggunakan pelarut diklorometan, menghasilkan fraksi larut dan fraksi yang tidak larut dalam diklorometan. Kedua fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya. Fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri selanjutnya dimonitor dengan menggunakan KLT dan dideteksi dengan pereaksi kimia untuk mengetahui kandungan kimianya.

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan berdasarkan prosedur Hostettman (1991). Bakteri uji diinokulasikan sebanyak 2 ose ke dalam media Mueller Hinton (MH) kemudian dituang ke dalam cawan petri. Pengujian dilakukan terhadap salah satu jenis bakteri gram negatif, yaitu *E. coli*, secara difusi agar (metode sumuran). Masing-masing hasil ekstraksi dan partisi diujikan dalam berbagai konsentrasi sebanyak 30 μ l. Sebagai pembanding digunakan Amoxicillin dengan konsentrasi 0,05%. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri

diamati dan diukur diameter zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong.

Penentuan golongan komponen bioaktif

Adsorben yang digunakan adalah silika gel 60 GF254 (Merck). Ekstrak maupun hasil partisi dikembangkan dengan jarak pengembangan 7,5 cm. Fase gerak yang digunakan untuk karakterisasi komponen bioaktif hasil ekstraksi dan partisi yaitu kloroform dan etil asetat, sedangkan untuk memonitor kandungan kimia dari fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri hasil partisi kedua digunakan n-heksan dan etil asetat sebagai fase geraknya. Selanjutnya, kromatogram hasil KLT dideteksi dengan sinar UV254, UV366, dan pereaksi kimia serum (IV) sulfat untuk mengetahui kandungan senyawanya; dengan pereaksi semprot seperti Liebermann-Burchard, vanilin-asam sulfat, dan anisaldehyd untuk mendeteksi golongan senyawa terpenoid; Dragendorff untuk mendeteksi golongan alkaloid; serta ferri (III) klorida dan uap amonia untuk mendeteksi golongan senyawa fenolik.

Analisis data

Analisis deskriptif terhadap hasil KLT dari masing-masing tahapan pemisahan meliputi nilai Rf serta pembentukan warna oleh reagen pereaksi maupun dengan deteksi sinar UV. Selain itu dilakukan juga analisis yang sama terhadap hasil uji antibakteri yang berupa ukuran diameter zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol pada semua konsentrasi yang diujikan memperlihatkan zona hambat, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak metanol lebih aktif menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan ekstrak kloroform (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antibakteri tersebut cenderung bersifat polar, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Daya hambat yang ditunjukkan dari sampel ekstrak metanol termasuk dalam kategori respons penghambatan pertumbuhan yang lemah karena diameternya kurang dari 15 mm (Greenwood 1995 dalam Pratama 2005).

Rendahnya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji pada ekstrak metanol daun lobak jika dibandingkan dengan Amoxicillin sebagai sediaan antibiotik komersial, diduga terkait dengan tingkat purifikasi yang masih rendah pada ekstrak. Hal ini mengakibatkan senyawa aktif memiliki konsentrasi yang lebih kecil dari sediaan komersial untuk kadar yang sama. Selain itu, kondisi tersebut juga dapat disebabkan karena bakteri *E. coli* termasuk bakteri gram negatif, dimana susunan dinding selnya terdiri dari beberapa lapis peptidoglikan yang dilindungi oleh membran luar berupa fosfolipid dan lipopolisakarida, serta membran selnya terdiri atas dua lapis fosfolipid dan mengandung sejumlah besar lipoprotein (Schlegel 1993; Purwoko 2007). Adanya lapisan-lapisan tersebut mempengaruhi aktivitas kerja dari senyawa antibakteri.

Menurut Susanti (2007), komponen fenol dari ekstrak tumbuhan dapat mengganggu pertumbuhan sel bakteri, karena fenol mampu mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Senyawa fenol bersifat koagulator protein. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen, sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri (Rahayu 2000; Dwidjoseputro 1994). Persenyawaan fenolat bersifat bakteristatik atau bakterisidal, tergantung dari konsentrasinya (Pelczar dan Chan 1988). Ketidakstabilan dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integritas sitoplasma mengakibatkan lolosnya makromolekul dan ion dari sel. Sel bakteri kehilangan bentuknya, sehingga terjadi lisis dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel dalam mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik dalam yang tinggi (Ajizah et al. 2007). Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar dan segera mati. Kematian sel bakteri berarti hilangnya kemampuan bakteri secara permanen untuk bereproduksi (tumbuh dan membelah).

Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dengan tujuan untuk mendapatkan kandungan senyawa yang lebih spesifik. Sebanyak 22 gram ekstrak metanol dipartisi dan menghasilkan 2 gram bagian yang larut dalam etil asetat dan 20 gram bagian yang tidak larut dalam etil asetat. Hasil uji antibakteri terhadap bagian yang larut dalam etil asetat dan bagian yang tidak larut dalam etil asetat terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa bagian yang larut dalam etil asetat memiliki aktivitas antibakteri seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa zona bening yang terbentuk memiliki diameter lebih besar dibandingkan uji dengan ekstrak metanol pada konsentrasi yang sama. Hal ini berarti komponen senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri bersifat polar dan semakin spesifik karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi yang lebih rendah. Sementara itu, Amoxicillin yang digunakan sebagai kontrol pembanding memberikan daya hambat yang sangat besar pada konsentrasi 0,05% dengan terbentuknya zona bening berdiameter 29,75 mm, sedangkan CMC dan etil asetat yang juga digunakan sebagai kontrol tidak menimbulkan zona hambat.

Bagian yang larut dalam etil asetat selanjutnya dipartisi lagi dengan pelarut diklorometan dengan menggunakan alat sentrifugasi, menghasilkan fraksi larut diklorometan dan fraksi tidak larut diklorometan, masing-masing sebanyak 2,33 g dan 1,67 g. Kedua fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya setelah dianalisis kandungan kimianya dengan metode KLT. Hasil uji antibakteri terhadap fraksi larut diklorometan dan fraksi tidak larut diklorometan terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa fraksi larut diklorometan memiliki aktivitas antibakteri seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Konsentrasi 10% dan 20% dipilih karena hasil dari partisi kedua mengandung komponen senyawa yang lebih

sederhana dibandingkan dengan hasil ekstraksi dan partisi pertama. Dengan demikian, fraksi pada konsentrasi yang lebih kecil diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* karena adanya kandungan komponen senyawa yang spesifik dalam fraksi tersebut. Meskipun demikian, diameter zona bening yang terbentuk lebih kecil dibandingkan hasil uji antibakteri ekstrak metanol pada bagian yang larut dalam etil asetat. Hal ini diduga terjadi karena komponen senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri justru dapat memberikan efek yang maksimal jika berada dalam kondisi kompleks bersama dengan komponen senyawa lain dibandingkan komponen senyawa itu sendiri, sehingga terjadi penurunan ukuran diameter zona hambat yang terbentuk. Fraksi larut diklorometan yang memiliki aktivitas antibakteri selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui profil kandungan kimianya yang diduga berperan sebagai antibakteri.

Profil kandungan senyawa kimia dari fraksi larut diklorometan yang menghasilkan diameter zona hambatan lalu dideteksi dengan serum (IV) sulfat dan beberapa pereaksi semprot lainnya yang spesifik yaitu Dragendorff untuk melihat adanya kandungan senyawa alkaloid; Liebermann-Burchard, anisaldehyd, dan vanilin-asam sulfat untuk mendeteksi senyawa terpenoid; serta FeCl_3 dan uap amonia untuk mendeteksi senyawa golongan fenolik. Setiap pereaksi akan memberikan respons tersendiri terhadap masing-masing golongan senyawa, karena pereaksi tertentu hanya akan memberikan respons spesifik terhadap suatu golongan tertentu (Cannell 1998; Harborne 1987; Gritter et al. 1991). Adapun profil kandungan senyawa dari fraksi larut diklorometan dapat dilihat pada Gambar 1.

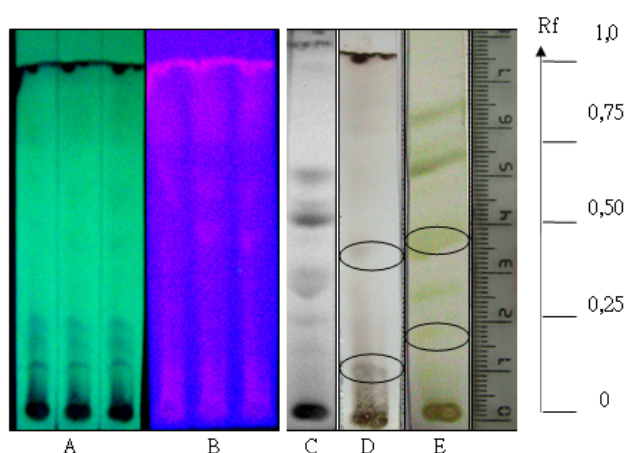
Pada Gambar 1 tampak bahwa fraksi larut diklorometan mengandung komponen-komponen senyawa kimia yang ditunjukkan oleh bercak-bercak berwarna biru keunguan pada kromatogram yang dideteksi dengan serum (IV) sulfat. Bercak berwarna coklat-kehitaman pada lempeng KLT yang dideteksi dengan menggunakan UV254, menginformasikan bahwa terdapat senyawa yang meredam sinar UV254, sehingga dapat dikatakan senyawa yang meredam UV254 mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi atau senyawa aromatik (Rakhmawati 2006). Selanjutnya, lempeng KLT diidentifikasi kandungan senyawa kimianya menggunakan beberapa pereaksi kimia penampak warna, diantaranya Dragendorff untuk pemeriksaan senyawa golongan alkaloid; Liebermann-Burchard, vanilin-asam sulfat dan anisaldehyd untuk mendeteksi senyawa golongan terpenoid; serta FeCl_3 dan uap amonia untuk mendeteksi senyawa golongan fenolik. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa fraksi larut diklorometan daun lobak mengandung komponen bioaktif dari golongan fenolik. Hal ini terbukti dari terbentuknya warna biru gelap pada Rf 0,12 dan 0,46 setelah dideteksi dengan FeCl_3 (Tabel 3 dan Gambar 1D). Demikian juga hasil deteksi dengan uap amonia, memunculkan bercak warna kuning agak hijau pada Rf 0,2 dan 0,46 (Gambar 1E). Deteksi senyawa golongan alkaloid dan terpenoid tidak menunjukkan hasil positif (profil KLT-nya tidak ditampilkan), sehingga dapat disimpulkan bahwa

komponen bioaktif dalam fraksi larut diklorometan daun lobak yang memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa dari golongan fenolik.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol bagian yang larut dalam etil asetat fraksi larut diklorometan daun lobak memiliki kandungan senyawa antibakteri, khususnya senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Profil kandungan kimia dari fraksi aktif hasil partisi dengan diklorometan menunjukkan adanya komponen senyawa golongan fenolik.



Gambar 1. Profil KLT fraksi larut diklorometan. Deteksi dilakukan dengan: (A) UV254, (B) UV366, pereaksi semprot (C) serium (IV) sulfat, (D) FeCl_3 , dan (E) uap amonia. Fase diam = silika gel GF254, fase gerak = n-heksan-etil asetat 4:1 (v/v).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kloroform dan ekstrak metanol daun lobak terhadap *E. coli*

Bahan uji	Konsentrasi (%)	Diameter Rata-rata Zona Hambat (mm)
CMC (kontrol)	0,1	-
Metanol (kontrol)	-	-
Amoxicillin (kontrol)	0,05	29,75
Ekstrak kloroform	30	-
	50	-
	70	-
Ekstrak metanol	30	9,03
	50	9,18
	70	11,35

Keterangan: (-) = Tidak terbentuk zona bening

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri bagian yang larut dan tidak larut dalam etil asetat dan diklorometan daun lobak terhadap *E. coli*

Bahan uji	Kons. (%)	Diameter rata-rata zona hambat (mm)	
		Etil asetat	Diklorometan
CMC (kontrol)	0,1	-	-
Etil asetat (kontrol)	-	-	-
Amoxicillin (kontrol)	0,05	29,75	29,75
Bagian tidak larut	30	-	-
	40	-	-
	50	-	8,30
Bagian larut	30	10,40	8,42
	40	10,64	-
	50	10,17	-

Keterangan: (-) = Tidak terbentuk zona bening

Tabel 3. Hasil deteksi dengan berbagai deteksi semprot fraksi larut diklorometan daun lobak

Detektor	Nilai Rf Fraksi Larut Diklorometan						Perkiraan Senyawa
	0,12	0,2	0,35	0,46	0,53	0,66	
UV254	-	-	-	-	-	-	-
UV366	-	-	-	-	-	-	-
Serium (IV) sulfat	-	Biru	Biru	Biru	Biru	Biru	Kompleks (senyawa organik)
Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-
Liebermann-Burchard	-	-	-	-	-	-	-
Anisaldehyd	-	-	-	-	-	-	-
Vanilin-asam sulfat	-	-	-	-	-	-	-
FeCl_3	Biru	-	-	Biru	-	-	Fenolik
Uap amonia	-	Kuning	-	Kuning	-	-	Fenolik

Keterangan: (-) = Tidak muncul warna

DAFTAR PUSTAKA

Ajizah A, Thihana, Mirhanuddin. 2007. Potensi ekstrak kayu ulin (*Eusideroxylon zwageri* T et B) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Bioscientiae* 4(1): 37-42

Bigham AK, Munro AT, Rizzacasa MA et al. 2003. Divinatorins A-C, new neoclerodane diterpenoids from the controlled sage *Silvia divinorum*. The University of Melbourne, Victoria, Australia.
Cannell RJP. 1998. How to approach the isolation of a natural product. *Methods in Biotechnology, Volume 4. Natural Products Isolation*. Humana Press Inc., Totowa, NJ.
Dwidjoseputro D. 1994. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djambatan, Jakarta.

- Fajarayu. 2008. Sup lobak jamur, antiflu. www.conectique.com. [18 Juli 2008].
- Grayson DH. 2000. Monoterpenoid. University Chemical Laboratory, Trinity College, Dublin, Ireland.
- Greenwood. 1995. Antibiotics susceptibility (sensitivity) test, antimicrobial and chemotherapy. Addison Westley Longman Inc., San Fransisco, USA.
- Gritter RJ, Bobbit JM, Schwarting AE. 1991. Pengantar kromatografi. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh: Padmawinata K. Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne JB. 1987. Metode fitokimia. Edisi II. ITB Press, Bandung.
- Hostettman K. 1991. Methods in plant biochemistry, Volume 6. Academic Press, New York.
- Lim SY, Bauermeister A, Kjonaas RA et al. 2006. Phytol-based novel adjuvants in vaccine formulation: 2. Assessment of efficacy in the induction of protective immune responses to lethal bacterial infections in mice. Department of Life Science, Indiana State University, Terre Haute, USA.
- Meridianto. 2008. Obat herbal. akafarma.putraindonesia-malang.or.id. [07 April 2009].
- Pelczar JM, Chan ECS. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Penerbit UI Press, Jakarta.
- Pratama MR. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. [Skripsi]. ITS, Surabaya.
- Purwoko T. 2007. Fisiologi mikroba. Bumi Aksara, Jakarta.
- Rahayu PW. 2000. Aktivitas antimikroba bumbu masakan tradisional hasil olahan industri terhadap bakteri patogen dan perusak. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 11(2): 42-48.
- Rakhmawati R. 2006. Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Bioaktif Daun Laban (*Vitex pubescens* Vahl.) Asal Kawasan Hutan Kalimantan Barat. [Thesis]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Ridwan. 2007. Current issue kematian anak (penyakit diare). ridwan.amiruddin.wordpress.com. [09 Januari 2009].
- Riyanto R. 2007. Ekstrak senyawa bahan aktif buah picung sebagai penghambat bakteri pembusuk dan penghasil histamin. rr1.blogspot.com. [12 Agustus 2008].
- Robinson R. 1995. Kandungan organik tumbuhan tinggi. ITB Press, Bandung.
- Schlegel GH. 1993. General Microbiology. Seventh Edition. Cambridge University, Cambridge.
- Sotyaningtyas C. 2008. Khasiat lobak putih. theezayoe.blogspot.com. [07 April 2009].
- Susanti A. 2007. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica less*) Terhadap *Escherichia coli* secara In Vitro. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- TEMPO. 2007. Bakteri E.coli cemari 68 persen air Jakarta. www.tempo.com. [23 Juli 2008].
- Wijayakusuma H. 2005. Sehat dengan lobak. fahima.org. [18 Juli 2008].