

Uji Potensi Antibakteri dan Antibiofilm Minyak Atsiri Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Ni Made Uthari^{a*}, Lisa Soegianto^a, Liliek S. Hermanu^a

^aFakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya invasi mikroorganisme patogen di dalam tubuh. Biofilm adalah sekelompok mikroorganisme yang mampu berdiferensiasi dan berkembang biak secara kompleks dan dapat melakukan komunikasi antar sel melalui matriks polisakarida. Pada infeksi kronis, biofilm berperan dalam mempertahankan bakteri dan menyebabkan resistensi terhadap antibiotik. Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak khasiat untuk berbagai pengobatan. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antibakteri dan aktivitas penghambatan biofilm dari minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. Minyak atsiri umbi teki diperoleh dengan cara destilasi menggunakan alat Stahl dengan perolehan rendemen sebesar 0,22%. Penentuan aktivitas antibakteri dan aktivitas antibiofilm dilakukan dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate U-bottom PVC 96 wells* dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* yang setara dengan larutan standar $\frac{1}{2}$ Mc Farland I. Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) yaitu pada konsentrasi 0,05% (v/v) dan 12,5% (v/v). Hasil pengujian aktivitas antibiofilm menunjukkan bahwa minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) dapat menghambat 89,01% pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,09% (v/v).

Kata kunci : *Cyperus rotundus* L., *Staphylococcus aureus*, minyak atsiri, antibakteri, antibiofilm.

Antibacterial and Antibiofilm Potential of Essential Oils of *Cyperus rotundus* L. Tubers against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Infectious disease is a disease that is caused by an invasion of pathogenic microorganisms in the body. Biofilm is a group of microorganisms that are able to differentiate and proliferate in the complex way as well as being able to communicate between cells through a matrix of polysaccharides. In chronic infection, biofilm has an important role to maintain the bacteria which can cause resistance to antibiotics. Teki (*Cyperus rotundus* L.) is one of the plants that has many benefits for different treatment. The aim of this study was to determine the antibacterial activity and inhibition of biofilm activity of essential oil of *Cyperus rotundus* L. tubers against *Staphylococcus aureus*. Essential oil was extracted by distillation using Stahl with water as the solvent and the yield of essential oil obtained was 0.22%. Determination of antibacterial activity and antibiofilm activity were carried out by microdilution method using *microplate 96 U-PVC bottom wells* against *Staphylococcus aureus* which is equivalent to the solution standard of $\frac{1}{2}$ Mc Farland I. The results of antibacterial activity tests showed that MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and MBC (Minimum Bactericidal Concentration) values were 0.05% (v/v) and 12.5% (v/v). Antibiofilm activity test showed that the essential oil of *Cyperus rotundus* L. tubers is able to inhibit 89.01% of the biofilm formation of *Staphylococcus aureus* on the concentration of 0.09% (v/v).

Keywords: *Cyperus rotundus* L., *Staphylococcus aureus*, essential oil, antibacterial, antibiofilm.

*Corresponding author: Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya Kalisari Selatan No. 1 Surabaya, e-mail: nimadeuthari@gmail.com

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya proses invasi mikroorganisme patogen didalam tubuh (Potter dan Perry, 2005). Biofilm merupakan sekelompok mikroorganisme yang mampu berdiferensiasi dan berkembang biak dengan cara kompleks dalam membentuk morfologi baru yang tumbuh pada suatu permukaan (O'toole *et al.*, 2000). Biofilm adalah sekelompok mikroorganisme dimana sel-selnya saling terikat satu sama lain dan dapat melakukan komunikasi antar sel melalui matriks polisakarida. Struktur alami biofilm dapat melindungi sel-selnya terhadap agen antimikroba dan mampu mempertahankan sel *host*-nya, sehingga menyebabkan resistensi terhadap antibiotik yang diberikan (Paraje, 2011).

Indonesia adalah negara tropis yang memiliki kekayaan alam melimpah terutama keanekaragaman tumbuhan yang dapat dikembangkan menjadi sumber obat tradisional. Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia adalah teki (*Cyperus rotundus* L.) (Gunawan dkk., 1996). Rumput teki mempunyai khasiat yang berbeda-beda pada beberapa bagian tanamannya, seperti daun, biji dan umbinya. Daun yang segar dan bijinya sering digunakan untuk meningkatkan nafsu makan, menghilangkan nyeri lambung dan sebagai ekspektoran. Umbi teki dapat digunakan sebagai obat demam, arthritis, diuretik, diare, disentri, leprosi, bronkhitis dan kelainan darah, analgesik, sedatif, anstispasmodik dan antipiretik (Nima *et al.*, 2007). Kegunaan umbi teki lainnya adalah sebagai obat busung lapar, keputihan, kolera, melunakkan *faeces*, mempercepat pembekuan darah, dan kuku bernanah (Achyad dan Rasyidah, 2000).

Strategi yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan biofilm adalah dengan pengobatan menggunakan antimikroba disertai dengan menggunakan zat kimia yang mampu menghambat atau merusak lapisan biofilm tersebut, sehingga antimikroba dapat mencapai target dan membunuh bakteri (Cortés *et al.*, 2011). Pada penelitian ini, minyak atsiri yang terkandung dalam umbi teki diharapkan mampu mengatasi permasalahan biofilm. Minyak atsiri merupakan salah satu hasil proses metabolisme dalam tanaman yang disintesis dalam sel kelenjar pada jaringan tanaman dan ada juga yang terbentuk dalam pembuluh resin misalnya minyak terpentin dalam pinus (DepKes RI, 1985).

Penelitian tentang aktivitas antibiofilm minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri dan antibiofilm minyak atsiri umbi teki terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Umbi teki yang diperoleh pada bulan Juli 2016 di daerah Surabaya Timur, Jawa Timur; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UKWMS; media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Trypticase Soya Broth* (TSB), *Mueller Hinton Broth* (MHB), etil asetat p.a, toluen p.a, DMSO, penampak noda vanilin sulfat, tween 80, pengering Na₂SO₄, akuades steril, kristal violet 1%, glukosa 2%, larutan ½ *McFarland* I.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain: seperangkat alat destilasi Stahl, *microplate*, *microplate reader*, timbangan analitik, lemari es, oven, autoklaf, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), lampu UV 254 dan 366, spiritus brander, kawat ose, jangka sorong, lempeng silika gel 60 F₂₅₄, bejana KLT, pipa kapiler, gelas beaker, Erlenmeyer, cawan petri, kertas saring, tabung reaksi, alumunium foil, kapas, mikropipet, pipet tetes.

Tahapan Penelitian

Destilasi Minyak Atsiri Umbi Teki

Umbi teki yang telah dipanen dilakukan sortasi basah, kemudian dicuci bersih dengan air kran yang mengalir. Umbi teki dirajang secara horisontal untuk memperluas permukaan yang bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri dalam simplisia saat destilasi berlangsung. Sebanyak ± 300 g umbi teki yang telah dirajang dimasukkan ke dalam labu Stahl, ditambahkan air hingga seluruh sampel terendam atau hingga 2/3 dari volume labu. Destilasi dilakukan selama 6 jam. Minyak atsiri yang telah tertampung kemudian dipisahkan dari air dengan menambahkan Na₂SO₄ untuk menarik air (Astuti, 2006).

Profil Kromatogram Minyak Atsiri Umbi Teki menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengamatan profil kromatogram minyak atsiri umbi teki dilakukan menggunakan fase diam lempeng silika gel F₂₅₄ dan dieluasi dengan fase gerak toluen : etil asetat (93 : 7,v/v). Konsentrasi larutan minyak atsiri umbi teki dan pembanding eugenol adalah 20.000 µg/ml (2%) dengan volume penotolan masing-masing sebanyak 10 µl. Penampak noda yang digunakan adalah vanilin asam sulfat (Astuti, 2006).

Pengujian Aktivitas Antibakteri untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Yosephine, dkk., 2013)

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi (uji pengenceran berderet) menggunakan *microplate U-bottom PVC 96-well*. Digunakan minyak atsiri konsentrasi 25% sebanyak 100 µl, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang sudah disetarakan dengan larutan Standar ½ *Mc*

Farland I ($1,5 \times 10^5$ cfu/mL) sebanyak 20 µl dan media *Mueller Hinton Broth* (MHB) 100 µl. Sebagai kontrol sampel yaitu media MHB 100 µl dan minyak atsiri 100 µl, sedangkan kontrol positif yaitu media MHB 180 µl dan suspensi bakteri 20 µl. Sebagai kontrol negatif digunakan media MHB 200 µl, sedangkan kontrol uji yaitu Tetrasiklin HCl 100 µl dan media MHB 100 µl. *Microplate* ditutup dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. *Microplate* digoyang selama 30 detik dan densitas optik diukur menggunakan *microplate reader* pada 595 nm. Rumus yang digunakan untuk menghitung aktivitas antibakteri berupa KHM dan KBM dari hasil pembacaan Densitas Optik (DO) adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \% \text{ KHM} &= \frac{\text{DO sampel MA} - \text{DO kontrol MA}}{\text{DO kontrol (+)} - \text{DO kontrol (-)}} \times 100\% \\ \% \text{ KBM} &= \frac{\text{DO sampel MA} - \text{DO kontrol MA}}{\text{DO kontrol (+)} - \text{DO kontrol (-)}} \times 100\% \end{aligned}$$

Keterangan :

KHM = Kadar Hambat Minimum, menghambat pertumbuhan bakteri hingga tersisa $\leq 10,0\%$ dari koloni bakteri

KBM = Kadar Bunuh Minimum, membunuh bakteri hingga tersisa $\leq 0,1\%$ dari koloni bakteri

Sampel MA = rata-rata DO sampel minyak atsiri umbi teki dengan suspensi bakteri sebanyak 3 replikasi

Kontrol MA = rata-rata DO sampel minyak atsiri tanpa penambahan suspensi bakteri sebanyak 3 replikasi

Kontrol (+) = rata-rata blanko positif pertumbuhan bakteri (Suspensi bakteri + media MHB)

Kontrol (-) = rata-rata blanko negatif pertumbuhan bakteri (Media MHB)

Pengujian Aktivitas Antibiofilm Minyak Atsiri Umbi Teki dengan Metode Mikrodilusi (Al Fattah, 2015)

Pengujian dilakukan dengan metode mikrodilusi (uji pengenceran berderet) menggunakan *microplate U-bottom PVC 96-well*. Digunakan minyak atsiri konsentrasi 50% sebanyak 100 µl, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang setara dengan larutan Standar $\frac{1}{2}$ *Mc Farland* I sebanyak 20 µl dan media *Trypticase Soy Broth* (TSB) yang mengandung glukosa 2% 100 µl. Kontrol sampel yaitu media TSB+ glukosa 2% 100 µl dan sampel minyak atsiri 100 µl. Kontrol positif yaitu media TSB+ glukosa 2% 180 µl dan suspensi bakteri 20 µl. Kontrol negatif yaitu media TSB + glukosa 2% sebanyak 200 µl. *Microplate* ditutup dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Isi *microplate* dikeluarkan dan dibilas 3 kali dengan air mengalir, dikeringkan dalam inkubator 37°C selama 15 menit. *Microplate* diberi 200 µL larutan kristal violet 1% dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang. *Microplate* dicuci dengan air mengalir sebanyak 2 kali. Setiap sumuran dimasukkan tween 80 2% sebanyak 200 µL dan diinkubasi suhu ruang selama 15 menit.

Microplate digoyang selama 30 detik dan densitas optik diukur menggunakan *microplate reader* pada 595 nm. Rumus yang digunakan untuk menghitung aktivitas penghambatan biofilm adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ Penghambatan biofilm} = \left\{ \frac{(1 - \text{DO sampel MA} - \text{DO kontrol sampel MA})}{(\text{DO kontrol positif} - \text{DO kontrol negatif})} \right\} \times 100\%$$

Keterangan :

Sampel MA : Sampel minyak atsiri + media pertumbuhan + suspensi bakteri

Kontrol sampel MA : Sampel minyak atsiri + media pertumbuhan

Kontrol positif : Media pertumbuhan + suspensi bakteri

Kontrol negatif : Media pertumbuhan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini rumput teki dideterminasi terlebih dahulu sebelum diambil bagian umbinya dengan menggunakan buku panduan van Steenis (2008) untuk memastikan bahwa tanaman yang diambil sudah sesuai. Umbi teki yang telah diperoleh selanjutnya dicuci bersih dan disortasi basah dari pengotornya. Umbi teki diamati secara makroskopis dan mikroskopis dengan tujuan untuk mempelajari morfologi umbi teki. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis, sampel menunjukkan ciri-ciri yang sama dengan makroskopis dan mikroskopis umbi teki dalam pustaka *Materia Medica Indonesia* Jilid IV (DepKes RI, 1980). Umbi teki dirajang untuk memperluas permukaan yang bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin. Minyak atsiri yang diperoleh dari hasil destilasi Stahl dengan dua kali pengulangan berupa cairan berwarna kuning dan berbau khas teki dengan kadar minyak atsiri rata-rata sebesar 0,22%. Hasil minyak atsiri yang didapat lebih kecil daripada pustaka yaitu 0,3 – 1% (Achyad dan Rasyidah, 2000) dapat disebabkan karena kandungan minyak atsiri suatu tanaman berbeda-beda tergantung dari umur tanaman, kandungan mineral tempat hidupnya, penanganan bahan sebelum disuling, variasi musim dan variasi alat yang digunakan untuk mengisolasi minyak atsiri.

Karakterisasi minyak atsiri yang dilakukan yaitu pengamatan organoleptis, penetapan indeks bias dan profil kromatogram menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Secara organoleptis minyak atsiri umbi teki berwarna kuning muda dan berbau aromatis. Hasil ini telah sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu berwarna kuning muda dan berbau aromatis (Astuti, 2006). Penetapan indeks bias dengan tiga kali replikasi diperoleh hasil rata-rata sebesar 1,512. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu 1,513 (Atal and Kapur, 1982).

Pada penetapan profil kromatogram menggunakan KLT dengan penampak noda

vanilin sulfat dihasilkan 6 noda yang diamati secara visibel dengan nilai R_f 0,32, 0,41, 0,60, 0,72, 0,84, 0,94 berturut-turut berwarna merah, merah oranye, merah oranye, merah keunguan, merah dan merah oranye. Pada pengamatan KLT di bawah sinar UV 254 nm sebelum disemprot penampak noda dihasilkan 5 noda dengan nilai R_f 0,41, 0,50, 0,60, 0,72, 0,84, dan setelah disemprot penampak noda vanilin sulfat dihasilkan 6 noda dengan nilai R_f 0,41, 0,50, 0,60, 0,72, 0,84, 0,94. Pada pengamatan KLT di bawah sinar UV 366 nm sebelum disemprot penampak noda tidak diamati adanya pemisahan noda. Namun setelah disemprot penampak noda tampak pemisahan 6 noda dengan nilai R_f 0,32, 0,41, 0,50, 0,60, 0,84, 0,94 (Gambar 1.).

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Tabel 1. dan Gambar 2. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri umbi teki terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa minyak atsiri umbi teki mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh *Staphylococcus aureus*. Kadar hambat minimum (KHM) suatu senyawa ditentukan dari konsentrasi terendah senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri $\geq 90,0\%$ dari koloni bakteri, sedangkan kadar bunuh minimum (KBM) ditentukan dari konsentrasi terendah senyawa yang mampu membunuh bakteri sebesar $\geq 99,9\%$ dari koloni bakteri (Forbes, Sahm and Weissfeld, 2007). Berdasarkan hasil penelitian ini, minyak atsiri umbi teki memberikan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 0,05% dengan penghambatan sebesar 90,68% dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi 12,5% yang membunuh sebesar 99,95% dari koloni bakteri.

Tabel 1. Persentase reduksi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dari pengujian antibakteri minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.)

No.	Konsentrasi Minyak Atsiri Umbi Teki (%)	% Reduksi
1.	25	99,86
2.	12,5	99,95
3.	6,25	99,88
4.	3,12	99,77
5.	1,56	99,76
6.	0,78	99,76
7.	0,39	99,70
8.	0,19	99,59
9.	0,09	96,58
10.	0,05	90,68

Keterangan : = KBM; = KHM

Mekanisme antibakteri dari komponen minyak atsiri umbi teki belum diketahui secara pasti. Penelitian yang dilakukan oleh Kilani *et al.*

(2004) menunjukkan bahwa minyak atsiri umbi teki lebih efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram-positif khususnya terhadap *Staphylococcus aureus* daripada bakteri Gram-negatif. Senyawa spatulenol, patkulanol dan siperol yang terkandung dalam minyak atsiri umbi teki tergolong turunan senyawa fenol. Senyawa fenol diketahui mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel (Siswandono dan Soekardjo, 2008). Mekanisme antibakteri diduga karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, yang akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. Hal ini mengakibatkan hilangnya kation dan makromolekul dari sel sehingga pertumbuhan sel akan terganggu atau mati. Pada konsentrasi rendah senyawa fenol akan menyebabkan denaturasi protein dan pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

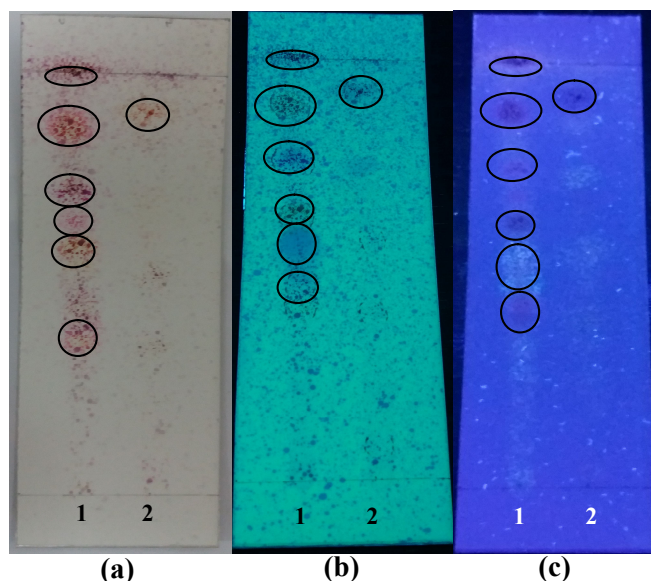
Tabel 2. Persentase penghambatan biofilm minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.)

No.	Konsentrasi Minyak Atsiri Umbi Teki (%)	% Penghambatan Biofilm
1.	50	97,04
2.	25	96,38
3.	12,5	93,68
4.	6,25	93,48
5.	3,12	93,20
6.	1,56	93,15
7.	0,78	92,87
8.	0,39	92,45
9.	0,19	91,15
10.	0,09	89,01

Hasil pengujian aktivitas antibiofilm ditunjukkan pada Tabel 2. dan Gambar 3. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibiofilm tersebut, minyak atsiri umbi teki pada konsentrasi yang mendekati dengan KHM yaitu 0,09% mampu menghambat pembentukan biofilm sebesar 89,01%. Lawal dan Adebola (2009) melaporkan hasil analisis menggunakan Kromatografi Gas dengan detektor FID bahwa komponen seskuiterpen yang terkandung dalam minyak atsiri umbi teki didominasi oleh senyawa α -siperon, karyopilen oksida dan β -selinen, serta terdapat pula kandungan senyawa monoterpenoid yaitu mirtenol, β -pinen dan *trans*-pinocarveol. Golongan seskuiterpen dan monoterpenoid merupakan turunan terpenoid yang diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri (Perumal & Mahmud, 2013). Terpenoid dapat mempengaruhi pelepasan sel planktonik dari biofilm dan meningkatkan komposisi asam lemak pada membran sel biofilm, sehingga sel menjadi lebih hidrofobik yang selanjutnya akan menghancurkan biofilm tersebut (Perumal dan Mahmud, 2013). Penelitian lain melaporkan bahwa senyawa terpen berperan aktif dalam membunuh bakteri (Mastelic *et al.*, 2005). Mekanisme kerja dari

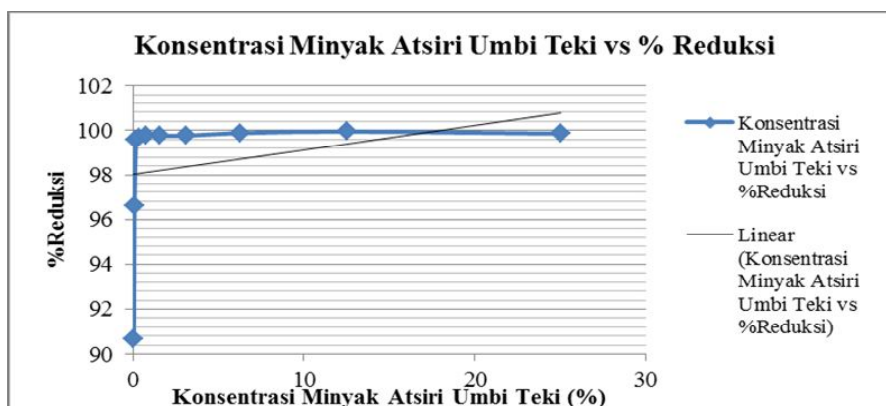
senyawa terpen diduga dengan melibatkan gangguan membran oleh senyawa lipofiliknya dan dengan demikian menghambat proses respirasi dan transportasi ion dalam sel bakteri (Cowan, 1999). De Carvalho dan Da Fonseca (2007)

membuktikan bahwa senyawa alami seperti terpen dapat digunakan untuk mencegah agregasi sel dan pembentukan formasi biofilm.

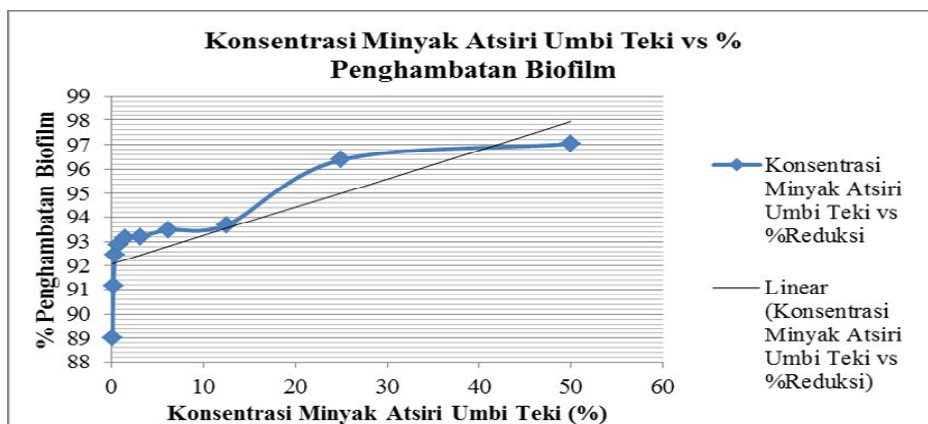


Gambar 1. Profil kromatogram minyak atsiri umbi teki menggunakan KLT dengan penampak noda vanilin asam sulfat.

Keterangan: (a) secara visibel, (b) pada UV 254 nm, (c) pada UV 366 nm; 1. minyak atsiri umbi teki, 2. pembanding eugenol.



Gambar 2. Grafik konsentrasi minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) vs % reduksi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari pengujian antibakteri minyak atsiri umbi teki.



Gambar 3. Grafik konsentrasi minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) vs % penghambatan pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus*

KESIMPULAN

Minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) memberikan Kadar Hambat Minimum (KHM) yaitu konsentrasi 0,05% (v/v) menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 90,68% dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yaitu konsentrasi 12,5%

membunuh bakteri sebesar 99,95% dari koloni bakteri. Minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) memberikan % penghambatan biofilm sebesar 89,01% pada konsentrasi 0,09% (v/v).

DAFTAR PUSTAKA

- Achyad, D. E. dan Rasyidah, R., 2000. *Teki Cyperus rotundus* L., PT. Asiamaya Dotcom Indonesia, Jakarta.
- Al Fattah, M., 2015. 'Uji Aktivitas Antibiofilm *In Vitro* Minyak Atsiri Herba Kemangi terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*', *Skripsi Sarjana Farmasi*, Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Astuti, M.S., 2006. 'Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Umbi Teki (*Cyperus Rotundus* L.)', *Skripsi Sarjana Sains*, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Atal, C.K. dan Kapur, B.M., 1982. *Cultivation and Utilization of Medicinal Plants*, Jammu-Tawi : Regional Research Laboratory, Council of Scientific & Industrial Research.
- Cortés, M.E.M, Bonilla, J.C., and Sinisterra, R.D., 2011. 'Biofilm Fomation, Control and Novel Strategis for Eradication', *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances (Proceeding)*, A. Mendez-Vilas(Ed.), Formatex, Argentina, pp. 896-905.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiolology Reviews*, 12: 564-582.
- De Carvalho, C.C. and Da Fonseca, M.M., 2007. Preventing biofilm formation: promoting cell separation with terpenes, *FEMS Microbiol Ecology*, 61:406-413.
- Departemen Kesehatan RI, 1980. *Materi Medika Indonesia*. Jilid IV. Cetakan I. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, hal. 52.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, hal. 6, 25.
- Forbes, B.A., Sahn, D.F., and Weissfeld, A.S., 2007. 'Laboratory Methods and Strategies for Antimicrobial Susceptibility Testing' in: *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th ed., Mosby, St. Louis, p. 187-214.
- Kilani, S., Abdelwahed, A., Ammar, R.B., Hayder, N., Ghedira, K., and Chraief, I., 2004. Chemical Composition Antibacterial and Antimutagenic Activities of Essential Oil from *Cyperus rotundus*, *Journal of Essential Oil Research*, 17: 695-700.
- Lawal, O.A. and Adebola, O., 2009. Chemical Composition of The Essential Oils of *Cyperus rotundus* L. from South Africa, *Journal Molecules*, 14:2909-2917.
- Mastelic, J., Politeo, O., Jerkovic, I. and Radosevic, N., 2005. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions, *Chemistry of Natural Compounds*, 41:35-40.
- Nima, Z.M., Jabier, M.S., Wagi, R.I. and Hussain, H.A.A., 2007. Extraction, Identification and Antibacterial activity of Cyperus oil from Iraqi *Cyperus rotundus*, *Engineering & Technology*, 26(10):1156-1163.
- O'Toole, G., Kaplan, H.B. and Kolter, R., 2000. Biofilm formation as microbial development, *Annual Review of Microbiology*, 54:49-79.
- Paraje, M.G., 2011. 'Antimicrobial resistance in biofilms'. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances (Proceeding)*, A. Mendez-Vilas(Ed.), Formatex, Argentina, p. 736-744.
- Perumal, S. and Mahmud, R., 2013. Chemical analysis, inhibition of biofilm formation and biofilm eradication potential of *Euphorbia hirta* L. against clinical isolates and standard strain, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13:346.
- Potter, P.A. dan Perry, A.G., 2005. *Buku Ajar Fundamental Keperawatan : Konsep, Proses, dan Praktik*. Edisi 4. Volume 1. Alih Bahasa : Yasmin Asih, dkk., PT. EGC, Jakarta.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2008. *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Airlangga University Press, Surabaya.
- Gunawan, D., Sudarsono, Wahyuono, S., Donatus, L.A., dan Purnomo, 2001. *Tumbuhan Obat 2: Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan*, Yogyakarta: PPOT UGM.
- Van Steenis, C.G.G.J., 2008, *Flora*, Diterjemahkan dari Bahasa Belanda oleh Moeso Surjowinoto, PT Pradnya Paramita, Jakarta.
- Yosephine, A.D., Wulanjati, M.P., Saifullah, T.N. dan Astuti, P., 2013. Mouthwash Formulation of Basil Oil (*Ocimum Basilicum* L.) and In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activities Against *Streptococcus Mutans*, *Traditional Medicine Journal*, 18(2):95-102.