

## Daya Hambat Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Steenis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*

Geraldo Y. Aruperes, Damajanty H. C. Pangemanan, Christy N. Mintjelungan

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia

Email: aldopadz@gmail.com

**Abstract:** Herbal plants in Indonesia have been widely used as ingredients in traditional medicine; one of them is binahong plant (*Anredera cordifolia Steenis*). Binahong has roots, tubers, stems, flowers, and leaves that contain active compounds, namely flavonoids, alkaloids, terpenoids, and saponins. The active compounds of flavonoids can act directly as antibiotics by interfering with the function of microorganisms such as bacteria and viruses. Binahong also contains active antimicrobials that can be used to prevent bacterial growth. This study was aimed to determine the inhibition effect of binahong leaf extract (*Anredera cardifolia Ssteenis*) against the growth of *Streptococcus mutans*. This was a literature review study by searching databases of Google Scholar and Pubmed. The keywords used were Binahong leaf (*Anredera Cordifolia Steenis*), *Streptococcus mutans*. After being selected based on the inclusion and exclusion criteria, 10 experimental literatures were obtained. The results showed that as many as 10 literatures stated that binahong leaf extract could inhibit the growth of *Streptococcus mutans* depending on the amount of binahong leaf extract given. In conclusion, binahong leaf extract has the ability to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* which depends on the amount of the leaf extract.

**Keywords:** binahong leaves (*Anredera cordifolia Steenis*); *Streptococcus mutans*

**Abstrak:** Tanaman herbal di Indonesia telah banyak digunakan sebagai bahan tradisional, salah satunya ialah tanaman binahong (*Anredera cordifolia Steenis*). Binahong memiliki akar, umbi, batang, bunga, daun yang mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, alkanoid, terpenoid dan saponin. Senyawa aktif flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Binahong juga mengandung antimikroba yang aktif sehingga dapat digunakan dalam mencegah pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun binahong (*Anredera cardifolia Steenis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Jenis penelitian ini suatu *literature review*. Pencarian data menggunakan database Google Scholar dan Pubmed dengan kata kunci yaitu daun Binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*), *Streptococcus mutans*. Setelah diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi didapatkan 10 literatur eksperimental yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ke 10 literatur tersebut menyatakan ekstrak daun binahong memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, dan daya hambatnya tergantung dari banyaknya ekstrak daun binahong yang diberikan. Simpulan penelitian ini ialah ekstrak daun binahong mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang dipengaruhi oleh banyaknya ekstrak daun tersebut.

**Kata kunci:** daun binahong (*Anredera cordifolia Steenis*); *Streptococcus mutans*

### PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan satu hal yang sangat penting dalam hidupan manusia, dan untuk memeliharanya perlu dilakukan tindakan pencegahan dan pengobatan. Salah

satu pengobatan alternatif yaitu pengobatan dengan menggunakan tanaman sebagai obat herbal.<sup>1</sup> Dewasa ini tanaman obat semakin dipilih oleh masyarakat dunia. Menurut *World Health Organization* (WHO), 60% penduduk negara maju dan 80% penduduk negara berkembang telah menggunakan obat herbal. Masyarakat lebih memilih pengobatan herbal karena bahan alami dianggap bersifat lebih aman dan relatif lebih murah jika dibandingkan dengan obat kimia berbahana aktif.<sup>2,3</sup>

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang kaya akan berbagai sumber daya alam, yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan alami untuk dijadikan bahan obat. Potensi untuk mendukung pengembangan tanaman obat di Indonesia sangat besar. Dari 40.000 spesies tumbuhan di dunia, terdapat 28.000 spesies tanaman yang tumbuh di wilayah Indonesia.<sup>2</sup>

Di Indonesia tanaman herbal telah banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional. Salah satu tanaman yang memiliki bahan alami yang dimanfaatkan sebagai bahan obat ialah tanaman binahong (*Anrederra cordifolia* Steenis).<sup>4</sup> Binahong memiliki akar, umbi, batang, bunga, daun yang mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, alkanoid, terpenoid, dan saponin.<sup>4,5</sup> Senyawa aktif flavonoid mempunyai peran langsung sebagai antibiotik, dengan cara mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus.<sup>5</sup> Oleh karena binahong mengandung antimikroba yang aktif maka dapat digunakan dalam mencegah pertumbuhan bakteri.<sup>6</sup>

Bakteri dalam rongga mulut merupakan flora normal namun dapat berubah menjadi bakteri patogen dan masuk ke dalam tubuh pejamu sehingga menyebabkan infeksi odontogen. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri penyebab utama terjadinya karies gigi yang diketahui sebagai bagian dari flora normal dalam rongga mulut yang berperan dalam proses fermentasi karbohidrat sehingga menghasilkan asam yang menyebabkan terjadinya demineralisasi gigi dan infeksi pada rongga mulut.<sup>7</sup>

Infeksi tersebut dapat terjadi melalui beberapa jalur salah satunya ialah jalur

pulpoperiapikal. Jalur ini merupakan suatu jalur masuknya bakteri melalui jaringan enamel, dentin, ruang pulpa, hingga ke apikal gigi. Infeksi pada jalur pulpoperiapikal ini paling sering terjadi dan biasanya diawali dengan munculnya karies gigi yang disebabkan oleh karena invasi bakteri seperti *Streptococcus mutans*.<sup>8</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Ginting<sup>9</sup> tahun 2020 menunjukkan adanya efektivitas ekstrak daun binahong (*Anrederra cordifolia* Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* di rongga mulut. Berdasarkan latar belakang ini maka penulis tertarik untuk meneliti daya hambat ekstrak daun binahong (*Anrederra cordifolia steenis*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Mei 2021 berupa suatu *literature review*. Pencarian data menggunakan dua *database* yaitu *Google Scholar* dan *Pubmed*. Kata kunci yang digunakan dalam pencarian artikel yaitu “ekstrak daun binahong *Anrederra cordifolia steenis*” dan “bakteri *Streptococcus mutans*”. Kriteria inklusi penelitian ini yakni jurnal terbitan 2010-2020 (10 tahun terakhir), dan berbahasa Indonesia maupun Inggris. Kriteria eksklusi yakni tidak tersedia format *full-text* maupun jurnal yang dipublikasikan dan penelitian dilakukan di luar Indonesia.

## HASIL PENELITIAN

Dalam pencarian menggunakan *database Google Cendekia/Google Scholar* dan *Pubmed* digunakan filter yang tersedia, yaitu filter rentang waktu dari tahun 2010-2020 dengan menuliskan kata kunci yang ditentukan (“ekstrak daun binahong *anrederra cordifolia steenis*” dan “bakteri *Streptococcus mutans*”). Literatur yang didapatkan sesuai dengan kata kunci yang telah ditentukan dalam pencarian menggunakan database Google Scholar berjumlah 76 buah, dan Pubmed berjumlah 22 buah. Hasil pencarian diseleksi berdasarkan judul dan abstrak yang sesuai dengan topik bahasan hingga didapat 11 literatur. Selanjutnya

literatur diseleksi kembali berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, akhirnya didapatkan 10 literatur untuk digunakan dalam penelitian ini; seluruhnya menggunakan

kan metode penelitian eksperimental. Tabel 1 memperlihatkan hasil pencarian literatur dalam studi ini.

**Tabel 1.** Hasil pencarian literatur

Peneliti dan Tahun	Judul	Metode	Ringkasan hasil
Rimpork et al, 2015 <sup>10</sup>	Uji efektivitas ekstrak daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> Steenis) terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> secara <i>in vitro</i>	Eksperimental menggunakan desain <i>post test only control design</i> dengan menggunakan metode modifikasi Kirby-Bauer menggunakan kertas saring.	Ekstrak daun binahong memiliki efek antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .
Warokka et al, 2016 <sup>11</sup>	Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> Steenis) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i>	Serial dilusi dengan metode pengujian turbidimetri dan spektrofotometri	Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> Steenis) terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> yaitu konsentrasi 6,25%
Timur et al, 2018 <sup>12</sup>	Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) terhadap penghambatan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> secara <i>in vitro</i>	Eksperimental dengan rancangan <i>post test only control groups design</i>	Ekstrak etil asetat daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antibakteri terhadap penghambatan <i>Streptococcus mutans</i> .
Syachriyani dan Norhasmiah, 2018 <sup>13</sup>	Isolasi dan uji antagonis fungi endofit batang binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen) terhadap <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	Eksperimental	Isolasi batang Binahong mampu menghambat pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> serta mempunyai aktivitas bakterisid.
Hardiana dan Wulandari, 2019 <sup>14</sup>	Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun binahong ( <i>Anredera Cordifolia</i> Steenis) terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	Eksperimental menggunakan metode difusi agar	Ekstrak daun binahong mampu menghambat pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> yaitu pada konsentrasi 100% dengan hasil rata-rata 5,5 mm dan 50% rata-rata 3 mm sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan semakin besar daya hambat yang terbentuk.
Usman et al, 2019 <sup>15</sup>	Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kemangi dan daun binahong terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	Eksperimental	Kombinasi ekstrak etanol daun binahong dan daun kemangi memiliki zona hambat yang lebih besar dari pada perbandingan yang lain
Nurhartanti dan Masduqi, 2019 <sup>16</sup>	Uji daya antibakteri sediaan pasta gigi ekstrak daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steen terhadap pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus</i>	Eksperimental	Sediaan pasta gigi ekstrak daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> Steen) memiliki antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .

<i>mutans</i>			
Ginting, 2020 <sup>9</sup>	Uji efektifitas ekstrak daun binahong ( <i>Anredera Cordifolia Steenis</i> ) terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> pada rongga mulut.	Eksperimental	Adanya efektifitas ekstrak daun binahong ( <i>Anredera Cordifolia Steenis</i> ) dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> rongga mulut secara <i>in vitro</i>
Hita et al, 2020 <sup>17</sup>	Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	Eksperimental	Ekstrak etanol 70% daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .
Laihad et al, 2021 <sup>18</sup>	Efek antibakteri ekstrak etanol daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) pada bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	Eksperimental	Ekstrak etanol daun binahong memiliki efek antibakteri pada <i>Streptococcus mutans</i> .

## BAHASAN

Secara keseluruhan, kesepuluh literatur yang didapat menyatakan bahwa ekstrak daun binahong memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian yang dilakukan Ginting<sup>9</sup> mendapatkan bahwa ekstrak daun binahong konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 11,3 mm, 10,4 mm, 8,7 mm, 8,2 mm, dan 6,6 mm. Hasil penelitian tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka semakin besar zona daya hambat yang terbentuk, yang berarti semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya.<sup>9</sup>

Penelitian Rimpork et al<sup>10</sup> menggunakan doksisikillin sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Perhitungan diameter zona hambat selama 1x24 jam memperlihatkan rerata diameter kertas saring yang berisi ekstrak daun binahong sebesar 8,32 mm, rerata diameter zona hambat kertas saring yang berisi kontrol positif sebesar 11,72 mm, sedangkan kertas saring berisi kontrol negatif tidak memiliki zona hambat.

Hardiana dan Wulandari<sup>14</sup> menggunakan konsentrasi ekstrak daun binahong dimulai dari konsentrasi tinggi sampai

terendah, yaitu 100%, 50%, dan 25%. Pada konsentrasi ekstrak 100% didapatkan rerata zona hambat 5,5 mm dan pada konsentrasi 50% rerata zona hambat 3 mm. Pada konsentrasi 25% tidak didapatkan zona hambat; hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong dengan konsentrasi rendah tidak mampu merusak membran sel dan mengganggu proses fisiologik sel bakteri tersebut.

Menurut Nurhartanti dan Masduqi,<sup>16</sup> sediaan pasta gigi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Terdapat perbedaan daya antibakteri sediaan pasta gigi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) konsentrasi 10%, 15% dan 20% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Sediaan pasta gigi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) konsentrasi 10% memiliki daya antibakteri paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Penelitian Waroka et al<sup>11</sup> menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% telah terjadi penurunan nilai absorbansi yang berarti pertumbuhan bakteri dihambat dan pada konsentrasi 25% mengalami kenaikan nilai absorbansi yang berarti terdapat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 6,25% terlihat bahwa nilai absorbansi sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi turun, sehingga konsentrasi ini ditetapkan sebagai

konsentrasi hambat minimum ekstrak daun binahong terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Timur et al<sup>12</sup> menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dimulai dari konsentrasi 15%, 20%, dan 25% secara berturut-turut menghasilkan zona hambat 2,73 mm, 9,1 mm, dan 13,5 mm sedangkan pada konsentrasi 5% dan 10% terbukti tidak memiliki daya hambat.

Laihad et al<sup>18</sup> mengemukakan bahwa pada uji antibakteri didapatkan ekstrak etanol daun binahong memiliki efek antibakteri tetapi tidak ditemukan konsentrasi bakterisida minimal dan konsentrasi hambat minimal.

Penelitian yang dilakukan oleh Hita et al<sup>17</sup> menggunakan sebanyak 84,04 gram ekstrak kental daun binahong yang memiliki warna hijau kehitaman, bau khas, dan rasa pahit yang didapatkan melalui proses ekstraksi. Diameter zona hambat ekstrak yang dihasilkan sebesar  $12,97 \pm 0,54$  mm, kontrol positif (kloramfenikol)  $30,18 \pm 0,08$  mm, sedangkan kontrol negatif tidak memberikan zona hambat. Ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Syachriyani dan Norhasmiah<sup>13</sup> menge-mukakan bahwa hasil pengujian menunjukkan zona hambat tetap tampak bening pada 2x24 jam sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri isolat batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* bersifat bakterisid.

Hasil penelitian oleh Usman et al<sup>15</sup> mengemukakan bahwa pengujian aktivitas antibakteri ekstrak tunggal menggunakan metode difusi agar menunjukkan konsentrasi 7% tiap ekstrak merupakan konsentrasi paling optimal yang dapat menghambat *Streptococcus mutans*. Dari hasil tersebut dilakukan pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun binahong : daun

kemangi dengan perbandingan 50:50, 70:30, dan 30:70. Konsentrasi yang paling optimal yaitu kombinasi 70:30.

Menurut Davis dan Stout, penilaian zona hambat dilihat dari hasil pengukuran diameter dan digolongkan menjadi: 1) tidak ada zona hambat; 2) lemah, yaitu zona hambat kurang dari 5 mm; 3) sedang, yaitu zona hambat 6-10 mm; 4) kuat, yaitu zona hambat 11-20 mm; dan 5) sangat kuat, yaitu zona hambat 21-30 mm.<sup>19</sup> Dari literatur-literatur yang dikaji dalam penelitian ini belum dapat ditentukan zona hambat untuk ekstrak daun binahong menurut kriteria Davis dan Stout.

## SIMPULAN

Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) memiliki kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan daya hambatnya tergantung pada banyaknya ekstrak daun binahong yang diberikan.

## Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ariyanti NK, Darmayasa IBG, Sjdirga KS. Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe vera barbadensis Miller*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Jurnal Biologi Udayana. 2012;16(1):2599.
2. Rukmana R. Budi Daya dan Pascapanen Tanaman Obat Unggulan (1st ed). Yogyakarta: Lily Publisher, 2016; p. 2-3, 16, 26-7, 40-2.
3. Purwanto B. Herbal dan Keperawatan Komplementer. Yogyakarta: Nuha Medika, 2017; p. 11.
4. Hariana HA. Tumbuhan Obat dan Khasiat. Jakarta Timur: Penebar Swadaya, 2003; p. 60.
5. Manoi F. Binahong (*Anredera Cordifolia*) sebagai obat. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 2009; 15(1):2-5.
6. Utami P. Buku Pintar Tanaman Obat. Jakarta Selatan: Agromedia, 2008; p 37-9.
7. Rochani N. Uji aktivitas antijamur ekstrak daun

- binahong (*Anredera cordifolia Steenis*) terhadap *Candida albicans* [Skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2009.
8. Nasution M. Peranan Mikroorganisme Infeksi Rongga Mulut. Medan: USU Press, 2017; p. 17.
  9. Ginting FCM. Uji efektifitas ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus Mutans* pada rongga mulut [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatra Utara, 2020; p. 7-32.
  10. Rimpork S, Kepel BJ, Siagian KV. Uji efektifitas ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) perhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus mutans* secara *in vitro*. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2015;4(4):15-21.
  11. Warokka KE, Wuisan J, Juliatri. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia Steenis*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. e-GiGi. 2016;4(2):15.
  12. Timur WW, Masfiyah, Azizah SN. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penghambatan bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Motorik. 2018;13(27):134-43
  13. Syachriyani, Norhasmiah. Isolasi dan uji antagonis fungi endofit batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)
  14. Hardiana, Wulandari R. Uji aktivitas dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera Cordifolia Steenis*) terhadap bakteri *Staphylococcus mutans*. Jurnal Aceh Medika. 2019;3(2):72-9.
  15. Usman I, Rambung JS, Hijrah ER, Ismail. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kemangi dan daun binahong terhadap *Streptococcus mutans*. Media Farmasi. 2019;15(2):107-11.
  16. Nurhartanti EP, Masduqi AF. Uji daya antibakteri sediaan pasta gigi ekstrak daun binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*. Media Farmasi Indonesia. 2019;15(1):1551-7.
  17. Hita IPGAP, Arimawa PE, Windydaca D. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Jurnal Farmasi dan Kesehatan. 2020;9(2):49-54.
  18. Laihad JMV. Efek antibakteri ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada bakteri *Streptococcus mutans* [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Kristen Duta; 2021.
  19. Davis WW, Stout TR. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. Appl Microbiol. 1971;22(4):659-65.