

UJI FITOKIMIA, TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BERBAGAI FRAKSI DAUN MARA (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Ana Arum Sari , Chairul Saleh, Erwin

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, 75123.
Email: ana.arumsari@yahoo.co.id

ABSTRACT

Phytochemical, toxicity and antibacterial activity tests of total extract, fractions of n-heksana, ethyl acetate and ethanol-water from mara leaf (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) from Samboja, East Kalimantan has been carried out. Based on the secondary metabolites phytochemical test of the (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) leaf show that total extract is contain alkaloid, flavonoid, phenolic and steroid. n-hexane fraction is contain alkaloid, flavonoid and steroid. Ethyl acetate fraction is contain phenolic and triterpenoid. Ethanol-water fraction is contain alkaloid and phenolic. Brine shrimp lethality test values obtained Lethal Concentration 50 % (LC50) total extract 23,99 ppm, n-heksana fraction 13,93 ppm, ethyl acetate fraction 468,25 ppm and ethanol-water fraction 283,67 ppm. Antibacteria activity test of extracts for *Staphylococcus aureus* bacteria (positive Gram) and *Escherichia coli* (negative Gram) was carried out by paper disc method. The test showed that the most active were ethyl acetate fraction with minimum inhibitor concentration of 0,125- 0,5 % (b/v) which clear zone diameter was 7,25 mm on *Staphylococcus aureus* bacteria and 6,25 mm on *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: (*Macaranga tanarius* (L.) M.A), phytochemical test, Antibacteria activity test and LC₅₀.

A. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki ribuan tumbuhan yang tersebar di berbagai daerah, dimana keanekaragaman hayati yang ada dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat modern dan tradisional. Masyarakat Indonesia telah mengenal dan menggunakan obat tradisional sejak dahulu untuk mengobati berbagai macam penyakit (Noor dkk, 2006).

Dalam kehidupan sehari-hari banyak dijumpai kasus infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroba yang patogen dimana bakteri masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan. Diantara bakteri yang dapat menyebabkan infeksi tersebut adalah *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (Waluyo, 2005).

Penyakit karena infeksi dapat diobati dengan pemakaian antibiotik yang tepat. Penggunaan antibiotik secara luas di masyarakat mengharuskan adanya kewaspadaan terhadap resistensi mikroorganisme pada antibiotik tertentu yang beredar di masyarakat. Hal

tersebut mendorong pentingnya penemuan sumber obat-obatan antimikroba yang dapat mengatasi berbagai masalah yang muncul dalam terapi antibiotik khususnya yang berasal dari tanaman (Prasetyawan, 2011).

Mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) adalah flora Indonesia yang dipergunakan sebagai obat tradisional. Di Maluku, daun digunakan sebagai obat disentri. Daun yang dibubukkan dipakai untuk tapal penyembuh luka. Di Malaysia, daun dibuat tepung dan dibubuhkan pada luka digunakan untuk mengobati luka. Air perasan daun dapat menurunkan panas. Di Filipina, rebusan akar digunakan untuk *haemoptysis* (Lemmens dan Bunyapraphatsara, 2003).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian uji fitokimia, toksisitas dan aktivitas antibakteri daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

B. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Blender, erlenmeyer, gelas beker, botol sampel, sloki, neraca analitik, pompa vakum, rotary evaporator, pipet tetes, tabung reaksi, pipet mikro 100-1000 µl, autoklaf, laminar flow, inkubator, hot plate, batang pengaduk, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, bunsen, magnetic stirrer, freezer, corong pisah, corong kaca, mistar, pinset dan lampu TL

Daun mara, etanol, n-heksana, akuades, etil asetat, H₂SO₄ 2M, HCl pekat, CH₃COOH anhidrat, H₂SO₄ pekat, FeCl₃ 1%, serbuk Mg, reagen dragendorff, DMSO, bacto agar, yeast, pepton, natrium klorida, aluminium foil, cling wrap, kertas saring, telur udang, air laut, kloramfenikol (paper disc), bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Ekstraksi

Sampel yang telah kering dan dihaluskan, diekstraksi dengan cara maserasi hingga tercapai kesetimbangan. Maserasi dilakukan dengan cara perendaman sampel dengan pelarut etanol pada suhu ruang. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dengan corong kaca dan kertas saring untuk memisahkan ekstrak dari tumbuhan. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak yang lebih pekat.

2.2.2 Fraksinasi

Dilakukan fraksinasi ekstrak kasar dengan menggunakan etanol dan n-heksana (1:2) sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi etanol dan fraksi n-heksana. Fraksi n-heksana dipekatkan dengan rotary evaporator dan disebut sebagai ekstrak fraksi n-heksana.

Selanjutnya fraksi etanol difraksinasi dengan penambahan etil asetat. Dari fraksinasi kedua ini diperoleh 2 fraksi, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi etanol. Kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dan hasilnya disebut sebagai ekstrak fraksi etil asetat dan ekstrak fraksi etanol-air.

Pada ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang dikandung setiap fraksi dan ekstrak kasar. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dan uji toksisitas (BSLT).

2.2.3 Uji Fitokimia

a. Uji Alkaloid (Uji Dragendorff)

Ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff (campuran $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam asam nitrat dan larutan KI). Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat dengan pereaksi Dragendorff (Robinson, 1995).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai ditambahkan air panas lalu ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat, kemudian dikocok-kocok. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Robinson, 1995).

c. Uji Fenolik

Ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai ditambahkan air panas lalu ditambah beberapa tetes FeCl_3 1%. Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Harborne, 1987).

d. Uji Terpenoid/Steroid

Ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman-Burchard (CH_3COOH anhidrat: H_2SO_4 pekat = 19 : 1). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru (Harborne, 1987).

2.2.4 Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Sebanyak 10 mg telur udang diambil dan ditambahkan dengan 100 mL air laut yang telah disaring. Selanjutnya diberi pencahayaan lampu TL agar menetas sempurna. Setelah 24-48 jam telur udang menetas dan siap untuk diuji (Nurhayati, 2006).

Sebanyak 0,2 gr ekstrak total ditimbang dan dilarutkan dengan air laut hingga volumenya mencapai 100 mL dalam labu ukur, untuk membuat konsentrasi sampel 2000 ppm. Sampel dengan konsentrasi 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,2 ppm; 15,6 ppm dan 7,8 ppm dibuat dari pengenceran sampel dari konsentrasi 2000 ppm. Masing-masing sampel kemudian dipipet sebanyak 2500 μL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambah 2500 μL air laut yang berisi 10 larva udang pada setiap sampel sehingga volume sampel menjadi setengahnya (1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,2 ppm; 15,6 ppm dan 7,8 ppm). Jumlah larva udang yang mati dihitung setelah 24 jam dan dianalisa untuk menentukan nilai LC_{50} .

Kontrol dikerjakan sama dengan perlakuan sampel, tetapi tanpa penambahan ekstrak. Ekstrak sampel yang sukar larut dapat ditambahkan DMSO 1% satu sampai tiga tetes (Kadarisman, 2000). Setiap sampel dilakukan uji mortalitas sebanyak tiga kali (triplo). Ekstrak fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air juga dilakukan uji mortalitas larva udang (brine shrimp lethality test) dengan prosedur yang sama seperti pada ekstrak total. Data yang diperoleh dimasukkan kedalam lembar pengamatan (Kadarisman, 2000).

2.2.5 Uji Aktifitas Antibakteri

Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri gram negatif). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan in vitro dengan menggunakan metode kertas cakram yang berdiameter 6 mm.

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dan peralatan gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit (Lay dan Hastowo, 1992).

b. Pembuatan media Nutrien Agar (NA)

Sebanyak 23 gr NA disuspensikan dalam 1000 mL akuades kemudian dipanaskan hingga larut. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 120°C (Gowri dan Vasantha, 2009).

c. Regenerasi bakteri

Sebanyak satu sampai dua ose isolat dengan menggunakan jarum ose steril masing-masing dioleskan kedalam 10 mL media agar padat dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah didapat biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam media padat, bakteri dibiakkan kembali ke dalam media cair. Diambil satu sampai dua ose isolat bakteri dengan menggunakan jarum ose steril dan masing-masing diinokulasikan kedalam 50 mL media cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 34°C. Selanjutnya biakan bakteri dapat digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Mayanti dkk, 2010).

d. Uji Aktivitas Antibakteri

Pelaksanaan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar (Kirby-Bauer). Sebanyak 15 mL nutrisi agar dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Kemudian dimasukkan inokulum bakteri ke dalam cawan petri yang berisi nutrisi agar menggunakan lidi kapas steril. Inokulum bakteri dioleskan pada media agar dengan kemiringan cawan petri 90° secara terus menerus hingga merata (Mahato dan Chaudhary, 2005). Setelah itu diletakkan kertas cakram (6 mm) pada permukaan media agar yang mengandung ekstrak uji. Sebagai kontrol positif pada masing-masing cawan petri dimasukkan kertas cakram yang mengandung kloramfenikol. Dan

sebagai kontrol negatif dimasukkan kertas cakram tanpa penambahan ekstrak. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37°C.

e. Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Ekstrak total dan fraksi-fraksi daun mara dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 dan 16 % (b/v). Tiap konsentrasi kemudian diuji aktivitas antibakterinya dan hasilnya akan terlihat pada konsentrasi terendah dari ekstrak yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri merupakan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak total, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air dari daun Mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) diketahui kandungan jenis senyawa metabolit sekundernya yang diperlihatkan pada tabel berikut ini.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia dari ekstrak total dan masing-masing fraksi.

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak			
	Ekstrak total	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol -Air
Alkaloid	+	+	—	+
Steroid	+	+	—	—
Triterpenoid	—	—	+	—
Flavonoid	+	+	—	—
Fenolik	+	—	+	+

Keterangan: (+) : terdapat senyawa metabolit sekunder
(-) : tidak terdapat senyawa metabolit sekunder.

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil yang positif dengan terbentuknya endapan merah coklat atau jingga akibat reaksi dengan HCl dan reagen dragendorff. Ekstrak total, fraksi n-heksana dan fraksi etanol-air positif alkaloid.

Pada uji flavonoid, ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg dan HCl pekat lalu dikocok terbentuk warna merah, kuning atau jingga akibat reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat. Ekstrak total dan fraksi n-heksana positif flavonoid.

Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl_3 1% ke dalam ekstrak uji dengan hasil positif berwarna hijau kehitaman. Ekstrak total, fraksi etil asetat dan fraksi etanol-air positif fenolik. Ciri khas fenolik adalah membentuk kompleks dengan

pewarnaan biru atau biru ungu dengan besi (III) klorida.

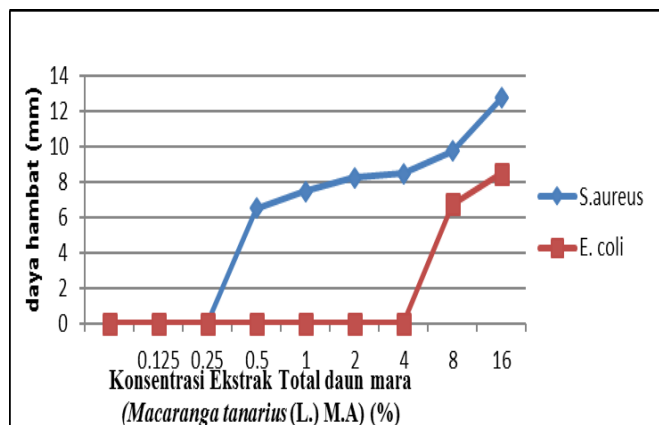
Pada uji steroid dan triterpenoid dengan penambahan pereaksi Lieberman-burchard (CH_3COOH anhidrat- H_2SO_4 pekat) yang menghasilkan warna hijau uji positif steroid dan warna merah untuk uji positif triterpenoid. Pada ekstrak total dan fraksi n-heksana positif steroid dengan menghasilkan warna hijau sedangkan fraksi etil asetat menghasilkan warna merah yang berarti fraksi etil asetat positif triterpenoid.

Tabel 2. Nilai LC_{50} uji toksisitas larva udang ekstrak total dan masing-masing fraksi.

Jenis Ekstrak	LC_{50} (ppm)
Ekstrak Total	23.99
Fraksi n-heksana	13.93
Fraksi Etil Asetat	468.25
Fraksi Etanol-Air	283.67

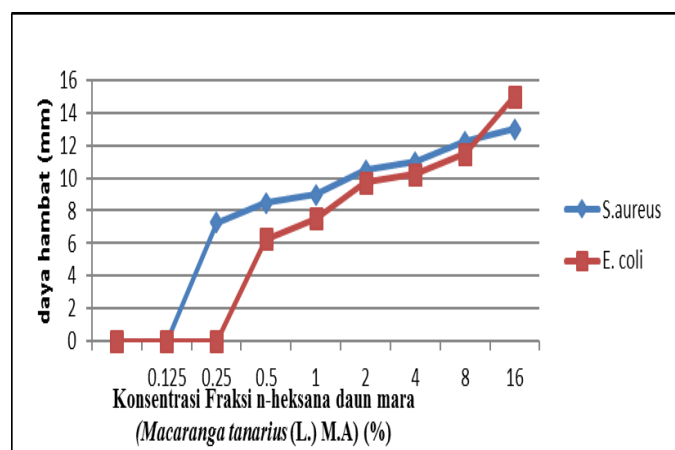
Berdasarkan hasil uji BSLT dari ekstrak total diperoleh nilai LC_{50} sebesar 23,99 ppm; pada fraksi n-heksana diperoleh nilai LC_{50} 13,93 ppm; pada fraksi etil asetat diperoleh nilai LC_{50} 468,25 ppm; pada fraksi etanol-air diperoleh LC_{50} 283,67 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak sampel mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi.

Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah metode difusi agar dengan perlakuan kertas cakram 6 mm yang telah ditenun dengan ekstrak uji kemudian ditempatkan pada permukaan media agar yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya dengan cara dioleskan yang selanjutnya diinkubasi. Dimana diameter zona bening di sekitar cakram merupakan aktivitas antibakteri atau daya hambat/daya bunuh ekstrak uji terhadap bakteri uji.



Gambar 1. Grafik daya hambat ekstrak terhadap variasi konsentrasi ekstrak total pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

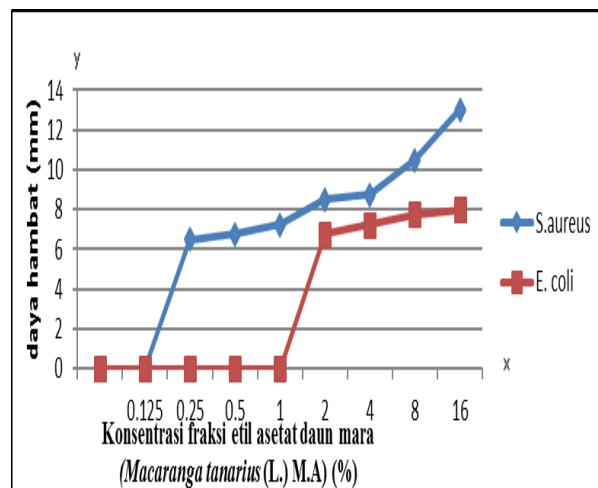
Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak total daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) menunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak 0,5 % (b/v) menunjukkan diameter zona bening 6,5 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 8 % menunjukkan zona bening 6,75 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Dimana dapat disimpulkan bahwa nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari ekstrak total daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) pada konsentrasi 0,25-0,5 % (b/v) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 4-8 % (b/v) terhadap bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 2. Grafik daya hambat ekstrak terhadap variasi konsentrasi fraksi *n*-heksana pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

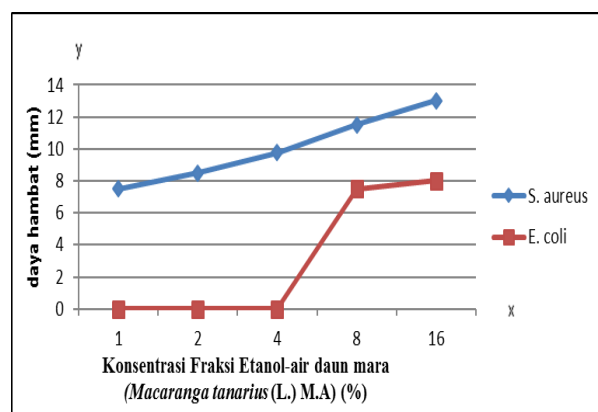
Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak fraksi *n*-heksana daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan daya hambat ekstrak terhadap bakteri yang dapat dilihat dari zona bening yang dihasilkan, tetapi pada konsentrasi 16 % (b/v) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* mengalami penurunan pada zona bening, hal ini kemungkinan disebabkan kerja yang tidak sinergis antara senyawa dalam ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,25 % (b/v) terdapat zona bening 7,25 mm sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 0,5 % (b/v) terdapat zona bening 6,25 mm. Nilai MIC dari ekstrak fraksi *n*-heksana daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) terhadap bakteri *E. coli* dan bakteri *S. aureus* berada pada konsentrasi 0,125-0,5 % (b/v).



Gambar 3. Grafik daya hambat ekstrak terhadap variasi konsentrasi fraksi etil asetat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Hasil uji aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) menunjukkan bahwa aktivitas pada konsentrasi 0,25 % (b/v) dengan diameter zona bening 6,5 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 2 % (b/v) dengan diameter zona bening 6,75 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri yang terlihat pada konsentrasi ekstrak 0,125 - 0,25 % (b/v) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 1-2 % (b/v) terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut merupakan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A).



Gambar 4. Grafik daya hambat ekstrak terhadap variasi konsentrasi fraksi etanol-air pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil uji aktivitas antibakteri dari fraksi etanol-air daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1% dengan diameter zona bening 7,5 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 8 % dengan diameter zona bening 7,5 mm terhadap bakteri *Escherichia coli*. Nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) aktivitas antibakteri dari fraksi etanol-air daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) berada pada konsentrasi 0- 1 % (b/v) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 4-8 % (b/v) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan dari analisa kekuatan menghambat bakteri ekstrak dan berbagai fraksi daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* maka dapat diketahui bahwa fraksi n-heksana memiliki kekuatan hambat yang paling baik, hal ini dapat dilihat dari aktivitas antibakteri fraksi n-heksana memiliki spektrum luas (dapat menghambat kedua jenis bakteri gram positif dan bakteri gram negatif) dan pada fraksi n-heksana memiliki nilai MIC (*Minimum Inhibitory*

Concentration) pada konsentrasi 0,125-0,5 % (b/v) pada kedua bakteri, dimana pada konsentrasi 0,25 % (b/v) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi 0,5 % (b/v) terhadap bakteri *Escherichia coli* sudah memiliki kekuatan hambat yang dikategorikan kuat. Hal ini juga dimungkinkan pada fraksi n-heksana memiliki banyak kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri sehingga kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lebih kuat daripada ekstrak dan fraksi lainnya.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri yang diperoleh dapat dikatakan bahwa ekstrak dan masing-masing fraksi dari daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) masih kurang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* karena tidak ada aktivitas dari ekstrak yang memiliki aktivitas lebih besar dari aktivitas antibakteri kloramfenikol. Namun ekstrak dan masing-masing fraksi dari daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) tetap dapat dianggap berpotensi sebagai antibakteri.

D. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak total dari daun mara (*Macaranga tanarius* (L.) M.A) adalah alkaloid, flavonoid, fenolik dan steroid. Fraksi n-heksana mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan steroid. Fraksi etil asetat mengandung senyawa fenolik dan triterpenoid. Fraksi etanol-air mengandung senyawa alkaloid dan fenolik.
- Hasil uji toksisitas larva udang (*brine shrimp lethality test*) dari daun mara (*Macaranga tanarius*

(L.) M.A) diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak total 23,99 ppm, fraksi n-heksana 13,93 ppm, fraksi etil asetat 468,25 ppm dan fraksi etanol-air 283,67 ppm.

- Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi yang paling efektif adalah pada fraksi n-heksana dengan nilai MIC pada konsentrasi 0,125 – 0,5 % (b/v) dengan diameter zona bening 7,25 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan diameter zona bening 6,25 mm pada bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Gowri, S.S and Vasantha K. 2009. *Solvent Based Effectiveness of Antibacterial and Phytochemical Derivatized From The Seeds of Harpullia arborea* (Blanco) Radlk (Sapindaceae). PG & Research Departement of Botany : Kongunado Art and Science Collage. Vol 13(4) 99-101.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Kadarisman, I. 2000. *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Bioaktif Dari Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb)*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Kadarisman, I. 2000. *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Bioaktif Dari Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb)*. Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Lay, B.W dan Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. IPB : Bogor.
- Lemmens, R.H.M.J. and Bunyapraphatsara, N. (Ed). 2003. *Medicinal and Poisonous Plants 3. Plant resources of South – East Asia (Prosea)*. Prosea Foundation: Bogor.
- Mahato, R. B and Chaudhary, R.P. 2005. *Ethnomedicinal Study and Antibacterial Activities of Selected Plants Palpa District, Nepal*. Department of Botany : Tribhuvan University. Scientific World. Vol 3 No 3.
- Mayanti, T., Julaehe E. dan Putri A. 2010. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Lansium Domesticum Corr. Cv Kokossan*. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.
- Noor, S.M., Masniari, P dan Titin, Y. 2006. *Analisis Senyawa Kimia Sekunder dan Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tanjung (Mimusops Elengi L) terhadap Salmonella typhi dan Shigella boydii*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.

10. Nurhayati, A.P.D. 2006. *Uji Toksisitas Ekstrak Eucheuma Alvarezii terhadap Artemia Salina sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker*. Akta Kimindo Vol. 2.
11. Prasetyawan, A. 2011. *Aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun senggani (Melastoma affine D. Don) terhadap S. aureus, E. coli, dan C. albicans*. Skripsi Tesis: Universitas Muhammadiyah: Surakarta.
12. Robinson, T. 1995. *Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
13. Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Malang : Penerbit UMM Press.