

## Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Singkil (*Premna corymbosa*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Secara *In Vitro*

### In Vitro Antibacterial Activity Ethanolic Extract of Singkil Leaves (*Premna corymbosa*) Against *Salmonella typhi* Bacteria

Margareta Retno Priamsari<sup>1</sup>, Eka Aprilia Nuraida<sup>2</sup>  
<sup>1,2</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera Semarang  
[marga\\_rhee@yahoo.co.id](mailto:marga_rhee@yahoo.co.id), [eituhaku65@gmail.com](mailto:eituhaku65@gmail.com)

DOI : <https://doi.org/10.55181/ijms.v9i2.368>

**Abstract:** Singkil leaves (*Premna corymbosa*) contain secondary metabolites in the form of flavonoids, saponins, tannins and triterpenoids/steroids that can inhibit the growth of *Salmonella typhi* bacteria. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the ethanolic extract of singkil leaves in inhibiting *Salmonella typhi* bacteria *in vitro*. Extraction was carried out using maceration method with 70% ethanol solvent, then continued with extract quality control and phytochemical screening of flavonoid compounds, saponins, and tannins. Antibacterial activity using disc diffusion method with Mueller Hilton Agar (MHA) media. The antibacterial concentration of the extract was 50%, 60%, 70%, 80%, and 90%; positive control (chloramphenicol 30µg) and negative control (DMSO 10%) with 3 replications. Incubation was carried out at 37°C for 24 hours. The parameter observed was a clear zone formed around the paper disc. The data obtained were then analyzed statistically using Kruskal Wallis followed by Man Whitney with a 95% confidence level. The results showed that variations in the concentration of the ethanolic extract of singkil leaves had a significant effect ( $p < 0.15$ ). The largest inhibition zone was seen at a concentration of 90% at  $20.1 \pm 1.05$  mm with a very strong category. The minimum inhibitory power produced at a concentration of 70% was  $17.7 \pm 0.88$  mm with a strong inhibition category.

**Keywords:** antibacterial activity, *salmonella typhi*, *premna corymbosa*, disc diffusion method.

**Abstrak :** Daun singkil (*Premna corymbosa*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid/steroid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun singkil dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro*. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, kemudian dilanjutkan kontrol kualitas ekstrak dan skrining fitokimia senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan media Mueller Hilton Agar (MHA). Konsentrasi antibakteri ekstrak sebesar 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%; kontrol positif (kloramfenikol 30µg) dan kontrol negatif (DMSO 10%) dengan 3 kali replikasi. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Parameter yang diamati berupa zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Data yang diperoleh kemudian dianalisis statistik menggunakan *Kruskal Wallis* dilanjutkan *Man Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak etanolik daun singkil berpengaruh secara signifikan ( $p < 0.15$ ). Zona hambat terbesar terlihat pada konsentrasi 90% sebesar  $20,1 \pm 1,05$  mm dengan kategori sangat kuat. Daya hambat minimum dihasilkan pada konsentrasi 70% sebesar  $17,7 \pm 0,88$  mm dengan kategori penghambatan kuat.

**Kata kunci:** aktivitas antibakteri, *salmonella typhi*, *premna corymbosa*, metode difusi cakram.

#### PENDAHULUAN

*Salmonella typhi*, merupakan bakteri gram negatif penyebab penyakit demam tifoid / *typhus abdominalis* / demam enteri yang spesifik menyerang manusia. Pada pasien demam tifoid, bakteri ini berada di dalam aliran darah dan saluran pencernaan. Penyakit demam tifoid dapat menular melalui makanan dan minuman yang telah tercemar oleh *Salmonella typhi* sehingga berpotensi menimbulkan wabah (Soedarto, 2007).

Angka kejadian demam tifoid di dunia diperkirakan sebanyak 21 juta kasus dan sekitar

128.000 sampai 161.000 kematian setiap tahun, kasus terbanyak terdapat di Asia Selatan dan Asia Tenggara. Demam tifoid termasuk penyakit yang mudah menular. Pada daerah endemik penyebab utama penularan demam tifoid adalah air yang tercemar sedangkan daerah non endemik berasal dari makanan yang terkontaminasi. Demam tifoid dapat di atasi dengan penggunaan antibiotik (Nurvina, 2013).

Antibiotik pertama untuk mengobati demam tifoid adalah kloramfenikol dan selanjutnya menjadi terapi pilihan sampai tiga dekade di samping ampisilin dan trimetoprim-

sulfametoksazol, sehingga dilaporkan resistensi *Salmonella typhi* terhadap kloramfenikol dan ampisilin atau dikenal sebagai MDR (Multiple Drug Resistance) *Salmonella typhi* (Erviani, 2013). Uji sensitivitas menunjukkan ampisilin, amoksisilin, dan kloramfenikol resisten terhadap bakteri tersebut (Juwita dkk, 2013).

Dalam upaya mengatasi masalah tersebut salah satunya dengan mengambil jalan alternatif yaitu menggunakan obat-obatan alami berbahan dasar tumbuhan atau bisa disebut obat herbal. Obat herbal telah digunakan secara tradisional pada negara dengan akses pelayanan kesehatan formal yang terbatas (Depkes RI, 2007).

Tanaman singkil (*Premna corymbosa*) biasa tumbuh di pekarangan rumah atau perkebunan pada daerah Tenggara. Daun singkil muda digunakan sebagai obat asam urat. Cara pengolahan dan penggunaan adalah dengan merebus daun singkil kemudian air rebusannya diminum (Vavidu et al., 2009). Daun dan akar berkhasiat sebagai astringen, antiinflamasi, antibakteri, gangguan jantung, batuk, kusta, penyakit kulit, sembelit, demam, diabetes, obesitas, sakit perut, antikoagulan, hepatoprotektif dan tumor (Ravinder, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Oktaviani dkk (2015) tentang napisan fraksi antioksidan daun singkil menyatakan bahwa fraksi n-heksan mengandung senyawa steroid, fraksi kloroform mengandung alkaloid, polifenol, steroid dan saponin. Fraksi metanol mengandung senyawa flavonoid, polifenol, terpenoid dan saponin. Banyaknya kandungan senyawadalam daun singkil berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat bahan alam.

Hasil penelitian Widiyastuti & Martina (2017) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun singkil dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi maksimum penghambatan ekstrak sebesar 90% dan rata-rata zona hambat 11 mm. Berdasarkan penelusuran pustaka belum pernah dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak daun singkil terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Seperangkat alat gelas (Pyrex), mikro pipet, moisture analyzer (MA 50.R radwaf), hot plate (Sciologex MS7-H550-S), waterbath, magnetic stirrer, jarum ose bulat, cawan petri, gelas ukur 100 ml (Herma), Pipet, kertas saring, oven (WTC binder), inkubator (Mermert), autoklaf (All American), kapas, neraca analitik digital (Mettler Toledo).

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun singkil berumur  $\pm$  4 bulan, suspensi biakan bakteri *Salmonella typhi*, media MHA (Kimia Jaya Labora), alkohol 70% (Brataco),  $\text{FeCl}_3$ , akuades, disk kloramfenikol 30  $\mu\text{g}$  (Oxoid), DMSO 10%, HCl 2N,  $\text{FeCl}_3$ .

### Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian berupa eksperimental untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun singkil. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola searah dengan dilakukan replikasi 3 kali.

### Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Daun singkil setelah dideterminasi kemudian dicuci, ditimbang dan dilakukan pencucian dan pengeringan menggunakan oven suhu  $50^\circ\text{C}$  (BPOM RI, 2013). Pengeringan dilakukan hingga didapat kadar susut pengeringan di bawah 10% kemudian diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 3 hari.

### Analisis Kualitas Ekstrak

Penentuan kualitas ekstrak dilakukan secara organoleptis, perhitungan rendemen, susut pengeringan dan skrining fitokimia. Pengujian skrining fitokimia dilakukan terhadap senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin dan tannin sebagai berikut:

#### Senyawa Flavonoid

Larutan ekstrak sebanyak lebih kurang 2 mL ditambah akuades, dipanaskan dan saring. Filtrat ditambah 1 mL HCl (p), serbuk magnesium, dan amil alkohol kemudian dikocok. Bila terbentuk kuning, orange atau merah pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Simaremare, 2014).

#### Senyawa Saponin

Larutan ekstrak sebanyak lebih kurang 2 mL ditambahkan air panas dan didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih selama tidak kurang 10 menit, setinggi 1-10 cm dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N maka menunjukkan adanya saponin (Tiwari dkk, 2011).

#### Senyawa Tannin

Larutan ekstrak sebanyak  $\pm$  2 mL ditambahkan 1-2 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Priyanto, 2012).

### Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Singkil

#### Sterilisasi

Media yang digunakan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15

menit. Cawan petri dan tabung reaksi disterilkan dengan oven pada suhu 170° - 180° C selama 2 jam, sedangkan alat alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung (Suriawiria,2005).

#### Pembuatan Media

Sebanyak 3,8 g media MHA ditimbang dan dimasukkan akuades 100mL dan dipanaskan hingga terlarut. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Handayani dkk., 2017).

#### Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Salmonella typhi* yang telah diinokulasi dengan jarum ose steril lalu disuspensikan dalam tabung berisi 3 mL NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan Mc. Farland (Bresson & Borges, 2004).

#### Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Pengujian dilakukan dengan mempersiapkan cawan petri steril yang terbagi menjadi 7 juring, yaitu sebagai kontrol negatif (DMSO 10%), kontrol positif (kloramfenikol 30 µg), dan lima konsentrasi ekstrak etanolik daun singkil 50, 60, 70, 80 dan 90%. Suspensi bakteri 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan media MHA dan dihomogenkan. Cakram dimasukkan dalam larutan uji, ditiriskan dan ditempatkan pada setiap juring. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan terlihat berupa zona bening yang terbentuk di sekitar cakram dan diukur diameter zona hambat secara vertikal dan horizontal. Replikasi dilakukan tiga kali.

#### Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Singkil

Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat di analisis statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* lalu dilanjutkan *Mann Whitney* dengan taraf kepercayaan 95%

#### HASIL PENELITIAN

Hasil penentuan kontrol kualitas ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kontrol Kualitas Ekstrak

| Parameter                   | Hasil Pengujian |                  |
|-----------------------------|-----------------|------------------|
| Organoleptis                | Konsistensi     | Ekstrak kental   |
|                             | Bau             | Khas             |
|                             | Warna           | Coklat kehitaman |
|                             | Rasa            | Pahit            |
| Rendemen (%)                | 18              |                  |
| Kadar Susut pengeringan (%) | 3,44 ± 1,28     |                  |

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia

| Senyawa | Pereaksi | Pustaka | Hasil |
|---------|----------|---------|-------|
|---------|----------|---------|-------|

|           |                                           |                         |                 |
|-----------|-------------------------------------------|-------------------------|-----------------|
| Flavonoid | HCl (p) + serbuk magnesium + amil alkohol | Merah / kuning / orange | Merah tua       |
| Saponin   | Air panas + HCl 2N                        | busa stabil             | busa stabil     |
| Tanin     | FeCl <sub>3</sub>                         | Hitam kehijauan         | Hitam kehijauan |

Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

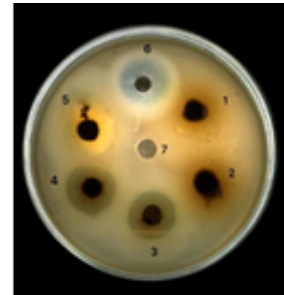
**Tabel 3.** Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun Singkil

| Konsentrasi | Diameter Zona Hambat (mm) |      |      | Rata-rata ± SD           |
|-------------|---------------------------|------|------|--------------------------|
|             | 1                         | 2    | 3    |                          |
| 1           | 0                         | 0    | 0    | 0 <sup>a</sup>           |
| 2           | 0                         | 0    | 0    | 0 <sup>a</sup>           |
| 3           | 17,2                      | 17,3 | 18,7 | 17,7 ± 0,84 <sup>b</sup> |
| 4           | 18,4                      | 17,9 | 19,0 | 18,4 ± 0,55 <sup>c</sup> |
| 5           | 19,5                      | 20,0 | 20,8 | 20,1 ± 0,66 <sup>d</sup> |
| 6           | 25,9                      | 27,0 | 28,0 | 26,9 ± 1,05 <sup>e</sup> |
| 7           | 0                         | 0    | 0    | 0 <sup>a</sup>           |

#### Keterangan:

1. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 50%
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 60%
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 70%
4. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 80%
5. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 90%
6. Kontrol positif (kloramfenikol 30 µg)
7. Kontrol negatif (DMSO 10%)

Nilai *subscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0.05$ ) dengan uji *Mann Whitney* taraf kepercayaan 95%.



**Gambar 1.** Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

#### Keterangan:

1. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 50%
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 60%
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 70%
4. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 80%
5. Konsentrasi ekstrak etanol daun singkil 90%
6. Kontrol positif (kloramfenikol 30 µg)
7. Kontrol negatif (DMSO 10%)

#### PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada pengujian secara organoleptis ekstrak daun singkil memiliki konsistensi kental dengan warna coklat kehitaman, bau khas dan rasa pahit.

Perhitungan rendemen bertujuan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Semakin tinggi rendemen suatu simplisia maka semakin banyak senyawa yang terisolasi (Nurasiah, 2010). Susut pengeringan ekstrak daun singkil memenuhi syarat dengan nilai rata-rata  $3,44 \pm 1,28\%$ . Kadar susut pengeringan memenuhi persyaratan jika  $\leq 10\%$  (Voight, 1994) karena kadar susut pengeringan  $\geq 10\%$  akan mempengaruhi stabilitas ekstrak.

Pengujian skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak etanolik daun singkil yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil pengujian skrining dapat dilihat pada Tabel 2. Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun singkil dengan lima dari dua konsentrasi, yaitu 50 dan 60% tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*. Zona hambat konsentrasi 70 dan 80% memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori kuat, Sedangkan pada konsentrasi 90% termasuk kategori daya hambat sangat kuat. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri terlihat pada gambar 1.

Pada pengujian flavonoid, penambahan serbuk Mg dan HCl pekat bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium. Serbuk Mg dan HCl bereaksi membentuk gelembung yang merupakan gas  $H_2$  (Illing dkk., 2017). Hasil pengujian fitokimia menunjukkan ekstrak etanolik daun singkil mengandung flavonoid yang ditandai dengan adanya warna merah tua pada lapisan amil alkohol.

Pada pengujian saponin pengocokan larutan ekstrak terbentuk buih  $\pm 1-2$  cm yang tidak hilang dengan penambahan HCl 2N. Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik. Gugus hidrofilik berikatan dengan air dan gugus hidrofobik berikatan dengan udara sehingga membentuk buih ketika dikocok (Harborne, 1987). Penambahan HCl 2N bertujuan agar tingkat kepolaran bertambah, sehingga gugus hidrofilik memiliki ikatan yang lebih kuat dan busa yang terbentuk stabil. Gugus polar menghadap ke luar dan gugus non polar menghadap ke dalam pada struktur misel dan keadaan ini yang membentuk busa (Simaremare, 2014).

Pada pengujian tanin ditambahkan reagen  $FeCl_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hitam kehijauan. Penambahan  $FeCl_3$  digunakan untuk menentukan gugus fenol dalam ekstrak. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harborne, 1987). Terbentuknya warna hitam kehijauan

setelah penambahan  $FeCl_3$  disebabkan karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $Fe^{3+}$  (Effendi, 2007).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun singkil menggunakan metode difusi cakram. Metode ini menjadi metode yang dipilih karena memiliki keuntungan yaitu prosedurnya yang sederhana (praktis dan mudah) untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis bakteri. Penanaman suspensi bakteri menggunakan teknik pour plate (metode tuang). Metode pour plate dipilih karena untuk mendapatkan koloni murni mikroorganisme (Angelia, 2020).

Ekstrak etanolik daun singkil diencerkan dengan pelarut dimethylsulfoxide (DMSO) dan akuades steril. Tujuan menggunakan pelarut DMSO adalah merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal (Assidji *et al.*, 2012). Hal ini menandakan bahwa DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga hasilnya tidak dipengaruhi pengamatan. DMSO juga merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar sehingga dapat digunakan juga sebagai control negatif (Amalia dkk, 2016). Konsentrasi ekstrak etanol menggunakan 50, 60, 70, 80 dan 90%. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol 30  $\mu$ g karena kloramfenikol merupakan antibiotik golongan amphenicol yang bersifat bakterisidal dengan memiliki aktivitas spektrum luas aktif terhadap bakteri patogen (Martaleni, 2007).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun singkil mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro*. Ekstrak etanolik daun singkil dari hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, saponin dan tannin. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa diperbaiki lagi (Haryati, 2015). Darmawi, dkk. (2013) menyatakan bahwa senyawa fenol mampu memutuskan ikatan peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel. Setelah menerobos dinding sel, senyawa fenol akan menyebabkan kebocoran nutrient sel dengan cara merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel (seperti protein dan fosfolipida) sehingga terjadinya kerusakan pada membran sel bakteri yang mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme bakteri.

Saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan

permukaan terganggu zat antibakteri akan dapat dengan mudah masuk kedalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadilah kematian bakteri. Saponin termasuk dalam zat antibakteri yang menghambat fungsi membran sel mikroba. Saponin membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen sehingga menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel, menyebabkan pelepasan isi sel dan menimbulkan kematian sel (Permatasari dkk., 2013).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel menjadi lisis. Hal ini terjadi karena tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktivkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow dkk, 2013).

#### SIMPULAN

Ekstrak etanolik daun singkil mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* secara *in vitro*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanolik daun singkil maka aktivitas antibakteri semakin besar. Konsentrasi 90% mempunyai aktivitas antibakteri kategori sangat kuat dengan diameter zona penghambatan sebesar  $20,1 \pm 0,66$  mm.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amalia S., Wahdaningsih S., Untari E.K., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016;1(2): 61-64.
- Angelia O.I., 2020, Penggunaan Metode Cawan Tuang Terhadap Uji Mikroba Pada Tepung Kelapa, *Journal of Agritech Science*, Volume 4, Nomor 1., Politeknik Gorontalo.
- Assidqi K., Tjahjaningsih W., Sigit S., 2012, Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* secara *In Vitro*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2):113 – 124.
- BPOM RI, 2013, *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*, Volume 2, BPOM RI, Jakarta.
- Bresson, W., dan Borges M.T., 2004. Delivery Methods for Introducing Endophytic Bacteria into Maize. *Biocontrol*. 49: 315-322.
- Darmawi, Zakiah M., dan Fahri P., 2013. Daya Hambat Getah Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Journal Medika Veterinaria*, Vol.7 No.2.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia* (Edisi IV). Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI., 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. 4 ed. 3 vol. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI., 2006, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol. 2, 124, Jakarta, Depkes RI.
- Depkes RI., 2007. Keputusan Menteri Kesehatan RI No: 900/MENKES/VII/2007.
- Effendi, 2007, *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*, Jilid 1, Banyu Media Publishing, Malang.
- Erviani, E.A., 2013, Analisis *Multidrug Resistensi* Terhadap Antibiotik Pada *Salmonella typhi* Dengan Teknik Multiplex PCR, Vol 1, Nomor 1, *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*, Hal 51-60.
- Handayani. F., Reksi. S., dan Ria. M. S., 2017. Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan Mouthwash Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). Samarinda: Akademi Farmasi Samarinda.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Haryati, N.A., 2015, Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13 (1): 35-40.
- Illing, I., W. Safitri, dan Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika* 08 (1), 66-84.
- Juwita, S., Hartoyo, E., Budiarti, Y.L., 2013, Pola Sensitivitas *In Vitro Salmonella typhi* Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Amoksisilin, dan Kotrimoksazol, *Berkala Kedokteran*, 9 (1) : 25-34.
- Martaleni., 2007. Deteksi Residu Antibiotika Pada Karkas, Organ Dan Kaki Ayam

- Pedaging Yang Di Peroleh Dari Pasar Tradisional Kabupaten Tangerang. Tesis, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ngajow, M., Abidjulu, J. dan Kamu, V. S., 2013, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*, Jurnal MIPA Unsrat Online 2 (2): 128-132.
- Nurasiah, E. S. 2010. Pengoptimuman Ekstraksi Andrografolida Dari Sambilotto dengan Rancangan Fraksional Faktorial. Skripsi Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Nurvina. 2013. Hubungan antara Sanitasi Lingkungan, Hygiene perorangan dan Karakteristik Individu dengan Kejadian Demam Tifoid di Wilayah Kerja Puskesmas Kedungmundu Kota Semarang. Skripsi. Semarang: Universitas Negeri Semarang
- Oktaviani. E, Wibowo M. A. Idiawati. N, 2015. Penapisan Fraksi Antioksidan Daun Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn). Pontianak : Universitas Tanjungpura. Vol. 4 (3):55-73
- Permatasari, G. A. A. A., Besung, I. N. K., Mahatmi, H. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Indonesia Medicus Veterinus. 2 (2): 162 – 169
- Priyanto R.A, 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Pada Buah Bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.). Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Skripsi, Bogor
- Ravinder. S. C, Nelson. R, Krishnan. P.M, dan Pargavi. B., 2011. Identification of Volatile Constituents From *Premna serratifolia* L. *Journal of PharmTech Research*. ThroughGC-MS. Vol. 3
- Simaremare, Eva Susanty. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). Pharmacy, Vol.11. Program Studi Farmasi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura
- Simaremare, dkk. 2014. Formulasi dan evaluasi daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) sebagai kandidat antinyeri, Tanaman Obat Indonesia.
- Soedarto, 2007. *Sinopsis Kedokteran Tropis*. Cetakan ke-1. Airlangga University Press, Surabaya
- Suriawiria, U., 2005 *Mikrobiologi Dasar*. Gramedia, Jakarta. The United State Pharmacopeial Convention. 30th Edition. United States. Hal. 680
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G., & Kaur H., 2011, Phytochemical Screening and Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*, 1 (1): 98-106.
- Vavidu, R. Suresh AJ, Girinath K, Kannan PB, Vimala R, Kumar NMS. 2009. Evaluation of Hepatoprotective and In-vitro Cytotoxic Activity of Leaves of *Premna serratifolia* Linn. *Journal of Scientific Research*. 1 (1): 145- 152
- Voight, R., 1994, Buku Pengantar Teknologi Farmasi, 572-574, diterjemahkan oleh Soedani, N., Edisi V, Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada Press.
- Widiyastuti, Gita dan Martina Restuati., 2017. Pengaruh Ekstrak Daun Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Jurnal Biosain. Vol.3, No 1.