



ANTIBACTERIAL ACTIVITY SCREENING FROM FRACTION FLOWER PETALS OF *MUSSAENDA FRONDOSA* L.

SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI KELOPAK BUNGA *MUSSAENDA FRONDOSA* L.

M.Rifqi Efendi*¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Universitas Dharma Andalas
Jalan Sawahan no 103A, Simpang Haru, Padang, Sumatera Barat

* e-mail: rifqi.efendi09@gmail.com

ABSTRACT

Antibacterial activity screening from n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol fraction *Mussaenda frondosa* L. petals has been done by using the agar diffusion method. it was carried out on 13 pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella typhosa* NCTC 786, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Vibrio cholerae inaba*, and Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The sample concentration was 0.5 mg/ disc. The screening results showed the most potent antibacterial activity was ethyl acetate fraction with inhibition diameters 5.6 - 8.3 mm against 12 test pathogenic bacteria, except *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The n-hexane fraction showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Vibrio cholerae inaba* with inhibition diameters 6.0 - 7.5 mm. Meanwhile, n-butanol fraction had antibacterial activity only against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with 7.5 mm inhibition diameters.

Keywords: *Mussaenda frondosa* L., agar diffusion method, antibacterial.

ABSTRAK

Skринing aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksana, etil asetat, n-butanol, dan fraksi sisa kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L. telah dilakukan menggunakan metode difusi agar. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap 13 bakteri patogen uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella typhosa* NCTC 786, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Vibrio cholerae inaba*, dan Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi sampel uji yang digunakan adalah 0,5 mg/cakram.

Hasil skrining yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling potensial adalah fraksi etil asetat dengan diameter hambat 5,6 – 8,3 mm terhadap 12 bakteri patogen uji, kecuali *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Fraksi n-heksana menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Vibrio cholerae* inaba dengan diameter hambat 6,0 – 7,5 mm. Sedangkan, fraksi butanol hanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter hambat 7,5 mm.

Kata kunci: *Mussaenda frondosa* L., metode difusi agar, antibakteri.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi menjadi permasalahan utama yang terjadi di negara berkembang, dan merupakan penyebab utama kematian dunia setelah penyakit kardiovaskular dan kanker (Ahmad dan Beg, 2001; Munuswamy et al. 2013). Penyakit ini bisa disebabkan oleh bakteri, virus, fungi, dan parasit lainnya (Hemaiswarya, et al., 2008). Antibiotik yang merupakan obat paling efektif melawan infeksi mikroba pada era-1950an perlahan mengalami resistensi terhadap berbagai mikroorganisme, sehingga pada beberapa tahun terakhir ini, penelitian terkait pencarian senyawa baru dari alam untuk penanganan penyakit infeksi memiliki magnet tersendiri bagi banyak peneliti. Salah satu sumber alam yang paling potensial sebagai antibakteri adalah tumbuhan dari family rubiaceae (Huh dan Kwon, 2011).

Mussaenda frondosa L. (Rubiaceae) merupakan tumbuhan tropis asli Asia yang sebaran utamanya di negara seperti India, Nepal, Sri Lanka, Vietnam dan Indonesia. Secara tradisional *Mussaenda frondosa* L. telah digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit pada beberapa negara. Jus dari akar *Mussaenda frondosa* L. dapat digunakan untuk mengobati sariawan dan diuretik (Vidyalakshmi, et al., 2008). Di Indonesia (Riau), Infusa dari bunga atau daun *Mussaenda frondosa* L. yang dikombinasikan dengan daun *Celosia argentea* (Amar), *Costus* sp. (Zing) dan *Ocimum basilicum* (Labi) digunakan untuk mengobati sakit kepala dan jaundice (Grosvenor et al., 1995). Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan terhadap *Mussaenda frondosa* L., kajian bioaktivitas yang pernah dilakukan baru sebatas penentuan aktivitas antioksidan dari fraksi polar kelopak bunganya (Putra, Fatra dan Bakhtiar, 2010), namun informasi terkait bioaktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi tumbuhan ini belum pernah dilaporkan. Minimnya informasi

terhadap kajian bioaktivitas dari ekstrak maupun senyawa kimia dari tumbuhan ini, menjadikan penelitian ini perlu dilakukan. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antibakteri dari fraksi kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L. dan apakah signifikan aktivitas antibakteri dari fraksi kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L. dibandingkan dengan pembanding kloramfenikol.

METODE PENELITIAN

A. Alat Penelitian dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Untuk Ekstraksi: wadah maserasi, seperangkat alat destilasi *vacum*, seperangkat alat *rotary evaporator*, Erlenmeyer, timbangan analitik, timbangan, corong pisah, labu *rotary* berbagai ukuran, gelas ukur.

Untuk uji antibakteri: pipet mikro, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator (Memmert®), autoklaf (model 25X-2), cawan petri, timbangan analitik, vortex, kasa, kamera, *hotplate* (Cimarec®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi adalah sampel kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L., metanol, etil asetat, *n*-heksana, *n*-butanol, dan aquadest. Sedangkan bahan yang digunakan pada uji antibakteri adalah ekstrak hasil fraksinasi, Nutrient Agar (NA) (Merck®), *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) (Merck®), kertas cakram, kloramfenikol (Sigma®), *cotton bud*, alkohol 70%, larutan NaCl fisiologis.

Bakteri uji yang diujikan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella typhosa* NCTC 786, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212,

Micrococcus luteus ATCC 10240, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Vibrio cholerae* inaba didapatkan dari Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) Padang dan Pekanbaru serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

B. Prosedur Penelitian

➤ Pengambilan Sampel

Sampel kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L., dikoleksi di daerah Silambau, kecamatan Kinali, Pasaman.

➤ Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Padang (ANDA).

➤ Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel segar kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L. disortir dengan memisahkan pengotornya dan kemudian dioven selama 3 hari pada temperatur 50°C. Selanjutnya sampel digrinder dan diperoleh serbuk kering sebanyak 178 gram. Sampel kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 5 hari dengan tiga kali pengulangan. Maserat yang didapat kemudian disaring dan diuapkan pelarutnya secara *in vacuo*, kemudian dikentalkan dengan menggunakan rotary evaporator. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilanjutkan untuk proses fraksinasi dengan menyimpan sedikit bagian ekstrak kental sebagai pembanding.

Fraksinasi dilakukan menggunakan corong pisah dengan menggunakan pelarut berdasarkan tingkat kepolaran. Ekstrak kental di suspensikan dengan aquadest:metanol (10:1) dengan volume 100 mL hingga larut. Suspensi ini kemudian difraksinasi secara bertahap dimulai dengan pelarut *n*-heksana. Fraksi sisa kemudian diuapkan untuk menghilangkan kandungan metanol, dilanjutkan dengan etil asetat dan terakhir menggunakan pelarut *n*-butanol. Masing-masing fraksi yang didapat kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator.

➤ Uji Antibakteri

a) Penyiapan Sampel Uji

Konsentrasi ekstrak hasil fraksinasi (fraksi *n*-butanol, etil asetat dan *n*-heksana) adalah 50 mg/1 mL (0,5 mg/cakram) yang dilarutkan dalam DMSO. Sedangkan konsentrasi kloramfenikol sebagai kontrol positif adalah 16,6 mg/1 mL (0,1 mg/cakram).

b) Pengujian Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Sebelum diujikan setiap bakteri ditumbuhkan secara terpisah di media NA (agar miring) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya koloni bakteri uji diambil dari agar miring 1-2 ose lalu disuspensikan dalam NaCl 0,9%, kemudian diaduk sampai koloni tercampur dengan NaCl 0,9% hingga homogen. Selanjutnya suspensi disetarakan dengan standar 0,5 Mc Farland (McF) yang setara dengan konsentrasi 10⁸ CFU/ml bakteri.

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar, sejumlah 1 mL suspensi bakteri yang telah dibuat disuspensikan dengan media NA, kemudian campuran media NA dan suspensi dihomogenkan. Selanjutnya 10 µL larutan uji dipipet ke kertas cakram steril kemudian diletakkan sesuai dengan tanda pada cawan petri di atas permukaan media NA yang telah disuspensikan dengan bakteri, lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati pertumbuhan mikroba dan diukur diameter hambatnya. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut DMSO dan sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol 16,6 mg/ml.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 178 gram sampel kering kelopak bunga *Mussaenda frondosa* L. didapatkan ekstrak kental metanol 43,1 g (24,21%)

Pada penelitian ini dilakukan skrining aktivitas antibakteri terhadap fraksi kelopak bunga Nusa Indah (*Mussaenda frondosa* L.). Sampel yang digunakan adalah sampel bunga yang dikoleksi di daerah Silambau, kecamatan Kinali, Pasaman. Sampel bunga diidentifikasi dan dibuat spesimen di Herbarium Universitas Andalas (ANDA). Skrining antibakteri dilakukan terhadap 13 bakteri patogen, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 dan *Salmonella typhosa* NCTC 786, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Vibrio cholerae* inaba dan bakteri Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Tabel I. Jumlah Ekstrak per Fraksi yang Diperoleh

Sampel	Jumlah ekstrak yang diperoleh	
	Berat (gram)	Rendemen (%)
Fraksi <i>n</i> -heksana	3,3 g	1,85
Fraksi etil asetat	5 g	2,81
Fraksi <i>n</i> -butanol	14,6 g	8,20
Fraksi sisa	20,2 g	11,35

Kelopak bunga Nusa Indah (*Mussaenda frondosa* L.) yang diperoleh disortasi untuk memisahkan antara bagian tumbuhan dengan kotoran dan kontaminan lainnya. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara dioven pada temperatur 50°C yang bertujuan menghambat reaksi enzimatis untuk meminimalisir rusaknya senyawa.

Pada penelitian ini didapatkan sampel kering sebanyak 178g, selanjutnya dilakukan penghalusan menggunakan blender untuk memperkecil ukuran partikel tumbuhan, yang bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, karena semakin kecil ukuran partikel, maka semakin besar luas permukaannya, sehingga kontak antara partikel tumbuhan dengan pelarut semakin besar dan proses ekstraksipun dapat berjalan maksimal.

Setelah itu dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode ini merupakan salah satu metode ekstraksi dingin yang baik digunakan untuk sampel dengan kandungan kimianya yang belum diketahui. Tidak adanya penggunaan panas selama proses ekstraksi dapat mengantisipasi rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Keuntungan lain dari metode ini adalah proses pengerjaan yang mudah serta peralatan yang dibutuhkan juga sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut selama lima hari, dimana tiap hari selama perendaman sampel sesekali diaduk sehingga membantu percepatan difusi zat dari sampel kedalam pelarut. Di samping itu, pengadukan ini bertujuan untuk mengurangi kejenuhan pelarut terhadap sampel, proses ini diulangi sebanyak 3 kali.

Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi adalah metanol. Pemilihan metanol sebagai pelarut didasarkan karena pelarut ini merupakan salah satu

pelarut universal yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang terdapat pada sampel, baik senyawa polar ataupun senyawa nonpolar. Metanol memiliki titik didih yang relatif rendah (67°C) sehingga mudah diuapkan dan mengurangi resiko terurainya zat yang terkandung di dalam maserat yang bersifat termolabil saat penguapan pelarut.

Maserat metanol yang diperoleh diuapkan menggunakan destilasi dalam keadaan vakum. Proses ini akan menguapkan pelarut lebih cepat, dimana tekanan uap pelarut menjadi turun dan pelarut akan mendidih pada temperatur yang lebih rendah dari titik didihnya sehingga dapat mengurangi resiko kerusakan senyawa termolabil yang ada di dalam sampel.

Pada tabel I, diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 43,1g dari hasil penguapan. Ekstrak kental metanol yang diperoleh disimpan 1g dan sisanya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi merupakan proses pengelompokkan senyawa kimia berdasarkan sifat kepolarannya. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur dan dipisahkan di dalam corong pisah.

Fraksinasi dimulai dari pelarut non-polar hingga polar. Pelarut polar yang digunakan adalah aquadest. Senyawa-senyawa yang relatif bersifat non-polar difraksi menggunakan pelarut *n*-heksana. Untuk fraksinasi senyawa-senyawa yang relatif bersifat semipolar digunakan pelarut etil asetat. Sedangkan kelompok senyawa-senyawa yang relatif bersifat polar difraksi menggunakan *n*-butanol. Maserat fraksi yang diperoleh diuapkan pelarutnya dalam keadaan vakum. Berdasarkan fraksinasi dan penguapan pelarut, didapatkan fraksi kental *n*-heksana 3,3 g (1,85 %), etil asetat 5 g (2,80 %) dan *n*-butanol 14,6 g (8,20 %) seperti yang terlihat pada tabel I.

Tabel III. Hasil Uji Antibakteri Fraksi Klopak Bunga *Mussaenda frondosa* L. (0,5 mg/cakram)

Bakteri	Fraksi diameter hambat (mm)				Kontrol	
	<i>n</i> -heksana	Etil Asetat	<i>n</i> -butanol	Sisa	(+)	(-)
<i>S. aureus</i>	7,5±4	6,0±0	7,5±4	-	30,0±2	-
<i>E. coli</i>	-	7,0±1	-	-	23,5±1	-
<i>P. aeruginosa</i>	6,0±0	6,3±1	-	-	28,3±1	-
<i>S. typhimurium</i>	-	8,0±0	-	-	26,3±2	-
<i>S. typhosa</i>	-	6,0±0	-	-	25,3±3	-
<i>B. subtilis</i>	-	7,6±1	-	-	24,6±6	-
<i>E. faecalis</i>	-	6,3±1	-	-	28,3±2	-
<i>M. luteus</i>	-	6,3±1	-	-	23,3±1	-
<i>S. thypi</i>	-	6,0±0	-	-	24,6±5	-
<i>S. epidermidis</i>	-	7,6±1	-	-	29,0±1	-
<i>S. mutans</i>	-	-	-	-	32,0±3	-
<i>V. cholerae</i>	6,0±0	8,3±2	-	-	30,3±1	-
MRSA	-	5,6±1	-	-	24,6±3	-

Fraksi yang didapat selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap 13 bakteri patogen. Metode yang digunakan adalah metode difusi agar, metode ini dipilih karena pengerjaannya sederhana, pengukuran hasil yang didapat juga cukup mudah dengan cara mengukur diameter (mm) daerah bening disekeliling cakram.

Menurut Arora dan Bhardwaj (1997) untuk menghitung total diameter zona hambat tanpa mengurangi diameter kertas cakram menyatakan bahwa aktivitas antibakteri dikategorikan tingkat sensitivitas tinggi apabila diameter zona hambat mencapai >12 mm, kategori tingkat sensitivitas sedang diberikan apabila senyawa antibakteri mampu memberikan diameter zona hambat sekitar 9-12 mm., kategori tingkat sensitivitas rendah, apabila diameter berkisar antara 6-9 mm dan resisten apabila <6 mm (tidak memiliki zona hambat).

Pada tabel II terlihat bahwa hasil pengujian antibakteri fraksi etil asetat dengan konsentrasi 0,5 mg/cakram memiliki aktivitas antibakteri dengan tingkat sensitivitas rendah (5,6-8,3 mm). Fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling potensial di antara sampel uji yang lain sebagai antibakteri karena aktif hampir pada semua bakteri uji. Fraksi etil asetat tidak menunjukkan aktivitas pada bakteri *Streptococcus mutans*. Aktivitas fraksi etil asetat tertinggi ditunjukkan terhadap bakteri uji *Vibrio cholerae* dengan diameter hambat 8,3±2 mm.

Fraksi *n*-heksana pada konsentrasi 0,5 mg/cakram menunjukkan aktivitas antibakteri

dengan tingkat sensitivitas rendah terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Vibrio cholerae*. Aktivitas tertinggi ditunjukkan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat 7,5±4 mm.

Fraksi *n*-butanol (konsentrasi 0,5 mg/cakram) memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat 7,5±4 mm, sementara untuk fraksi sisa tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan tiga fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri, yaitu fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-butanol. Dari ketiga fraksi tersebut, fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang paling potensial, dengan menghambat pertumbuhan 12 bakteri uji patogen, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella thypi*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae* inaba dan bakteri Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat

Universitas Dharma Andalas yang telah memberikan dana hibah dalam program Penelitian Dosen.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Beg, AZ. (2001). Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J Ethnopharmacol.* 74(2): 113–123.
- Aydin, S., A Ciltas, H. Yetim and I. Akyurt. (2005). Clinical, Pathologi and Haematological Effect of *Micrococcus luteus* in Rainbow Trout (*Oncorhyncus mykiss* Walbaum). *J. Animal and Veterinary Advances.* 4 (2): 167-174.
- Betnina, V. (1973). Bioautography in Paper and Thin Layer Chromatography and Its Scope in The Antibiotic Field. *J. Chromatography* (78) : 31-34.
- Bhatia, A. and Zahoor, S. (2007). *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: A Review. *J. Clinical and Diagnostic Research.* (2): 188-197.
- Brooks, G.F., Butel J.S., Morse S.A. (2001). Medical Microbiology. 22nd ed. USA: *Appleton & Lange.* 225–227.
- Brooks, F.G., Bulel, S.J., Merse, A.S. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran.* Jakarta: Salemba Medika.
- Dharmojono. (2001). *Lima belas Penyakit Menular dari Binatang ke Manusia.* Jakarta: Milenia Populer.
- Djide, N., Sartini, Kadir, S. (2006). *Analisis Mikrobiologi Farmasi.* Makassar : Laboratorium Mikrobiologi Farmasi F-MIPA UNHAS.
- Ferrari PHP, Cai S, Bombama AC. (2005). Effect of Endodontic Procedures on Enterococci, Enteric Bacteria and Yeast in Primary Endodontic Infections. *J. International Endodontic.* (38): 372–80.
- Gomes, NV., Filho, EDG., Gomes. (2005). Recovery of *Enterococcus faecalis* after single or multiple visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *J. International Endodontic.* (38): 697–704.
- Gopalakrishnan, S. & Vadivel, E. (2010). GC-MS Analysis of some bioactive constituents of *Mussaenda frondosa* linn.. *International Journal Of Pharma And Bio Sciences,* 2, 1.
- Grosvenor, P. W., Supriono, A., & Gray, D. O. (1995). Medicinal plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 2: antibacterial and antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology,* 45, 97-111.
- Hemaiswarya, S., Kruthiventi, AK., Doble, M. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine.* 15(8): 639–652.
- Huh, AJ., Kwon, YJ. (2011)“Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release.* 156(2): 128–145.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G. F., Butel, J.S., Ornston, L. N. (2001). *Review of medical microbiology ed. 10.* San Francisco : University of California.
- Jawetz, J.E. (1992). *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan,* Ed. 16. University of California, San Francisco.
- Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkemagel, R.M. (2005). *Medical Microbiology.* Germany : Georg Thieme Verlag.
- Kim, J.E., H.E Kim, J.K Kwang, H.J Lee, H.K Kwon, B.I Kim. (2008). Antibacterial Characteristic of *Curcuma xanthorrhiza* Extract on *Streptococcus mutans.* *J. Microbiology;* 46(2): 228-232.
- Montville, T.J., and Matthews, K.R. (2008). *Food microbiology: An introduction.* Washington D.C : ASM Press.
- Munuswamy H, Thirunavukkarasu T, Rajamani S, Elumalai EK, Ernest D. (2000)A review on antimicrobial efficacy of some traditional medicinal plants in Tamilnadu. *J Acute Dis.* 2(2), 99–105.
- Nikham. (2006). *Kepekaan Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis dan Pseudomonas aeruginosa terhadap Ekstrak Daun Legundi (Vitex trifolia Linn.) Iradiasi.* Jakarta : Batan.
- Nychas, G.J.E. and Tassou, C.C. (1999). *Preservatives: Traditional Preservatives-Oiland Spices In Encyclopedia Of Food Microbiology.* London : Academica Press.
- Putra, D.P, Fatra, H.A., & Bakhtiar, A. (2010). Isolasi senyawa antioksidan dari kelopak bunga nusa indah (*Mussaenda frondosa* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia,* 5, 1.
- Reeves, D.S., Phillips, I., Williams, J.D., Wise, R. (1978). *Laboratory Methods in*

Antimicrobial Chemoterapy. New York : Churchill Livingstone.

Syafni, N., Putra, D.P., Arbain, D. (2012). 3,4-Dihydroxybenzoicacid and 3,4-dihydrobenzaldehyde from the fern *Trichomanes chinense* L; Isolation, antimicrobial and antioxidant properties. *Indo. J. Chem.*12(3). 273-278.

Vidyalakshmi, K.S., Hannah, R., Vasanthi, H.R., Rajamanickam, G.V. (2008). Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Mussaenda* Species (Rubiaceae). *Ethnobotanical Leaflets*, 12, 469-475.

Zuorro, A., Fidaleo, M., Lavecchia, R. 2010. Solubility Enhancement and Antibacterial Activity of Chloramphenicol Included in Modified β -Cyclodextrins. *J. Korean Chem* (31) 11