

PERBANDINGAN AKTIVITAS DAYA HAMBAT SEDIAAN TUNGGAL DENGAN KOMBINASI INFUS *Phyllanthus niruri* DAN *Peperomia pellucida* TERHADAP *Escherichia coli*

Lutfia Papita Derizky Rahmayanti¹, Edyson², Lia Yulia Budiarti³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat.

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat

³Departemen Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat.

Email korespondensi: escherichiacoli1308@gmail.com

Abstract: *Phyllanthus niruri* (meniran) and *Peperomia pellucida* (sirih cina) are used by the native people of Borneo as herbal medicines. Alkaloids, anthraquinones, tannins, phenols, terpenoid, flavonoids, and steroids in both herb act as antibacterial substances. Herbal medicine usually consumed in a single or combination preparation. The aim of this study was to analyze the differences in the inhibitory activity of a single and combination of meniran and sirih cina infusion against *Escherichia coli* (*E. coli*). True-experimental method with a post-test only with the control group design was used in this study. The concentration of meniran and sirih cina infusion were 10%, 20%, 30%, and 40%. Gentamicin and distilled water are used as positive and negative controls. Data analyzed using the One-Way ANOVA test and the Post-hoc Duncan test ($\alpha = 0.05$) found significant differences ($p < 0.05$) between single and combination preparations. The largest inhibitory zone was produced by a combination of 20% meniran + 20% sirih cina (19.62 ± 0.40 mm). The synergistic effect was seen in combination preparations which had a greater inhibition zone than a single preparation, but this inhibitory activity was significant differences with gentamicin inhibition zone (22.69 ± 0.03 mm). It was concluded that combination preparation has larger inhibitory zone than a single preparation, but could not produce optimum inhibition against *E. coli* ATCC 25922.

Keywords: Single preparation, combination preparation, *Phyllanthus niruri*, *Peperomia pellucida*, Inhibitory activity.

Abstrak: *Phyllanthus niruri* (meniran) dan *Peperomia pellucida* (sirih cina) dimanfaatkan masyarakat Kalimantan sebagai obat herbal. Alkaloid, antrakuinon, tanin, fenol, terpenoid, flavonoid, dan steroid merupakan kandungan senyawa pada kedua tanaman yang bersifat antibakteri. Selain sediaan tunggal, obat herbal juga dapat digunakan dalam bentuk kombinasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan aktivitas daya hambat optimum sediaan tunggal dengan kombinasi infus meniran dan sirih cina terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*). Metode true-experimental dengan rancangan post-test only with control group design digunakan pada penelitian ini. Perlakuan yang digunakan ialah sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40%. Gentamisin dan akuades digunakan sebagai kontrol positif dan negatif. Data yang dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA dan uji Post-hoc Duncan ($\alpha=0,05$) ditemukan bahwa hasil antara sediaan tunggal dan kombinasi berbeda bermakna ($p<0,05$). Zona hambat terbesar dihasilkan oleh sediaan kombinasi meniran 20% + sirih cina 20% ($19,62\pm0,40$ mm). Efek sinergis terlihat pada perlakuan sediaan kombinasi yang memiliki zona hambat lebih besar dibanding sediaan tunggal, namun aktivitas daya hambat tersebut masih belum bisa menyamai zona hambat gentamisin ($22,69\pm0,03$ mm) berdasarkan uji statistik. Disimpulkan bahwa sediaan kombinasi memiliki zona hambat lebih besar dibanding sediaan tunggal, namun belum dapat menghasilkan daya hambat optimal terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Kata-kata kunci: sediaan tunggal, sediaan kombinasi, *Phyllanthus niruri*, *Peperomia pellucida*, *Escherichia coli*, daya hambat.

PENDAHULUAN

Terapi infeksi yang disebabkan *E. coli* umumnya menggunakan antibiotika spektrum luas seperti ampicilin, namun saat ini *E. coli* resisten 100% terhadap ampicilin.¹ Antibiotika lain yang digunakan ialah gentamisin,² namun, memiliki harga relatif mahal dan menghasilkan efek samping seperti ototoksik dan nefrotoksik.³ Keadaan ini menunjukkan perlunya pengembangan antibiotika alternatif, salah satunya menggunakan herba meniran dan sirih cina.

Meniran memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan.⁴ Sirih cina diketahui memiliki khasiat sebagai gastroprotektor, obat antiinflamasi dan antibakteri.^{5,6} Tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid yang dihasilkan oleh meniran dan sirih cina memiliki aktivitas antibakteri.^{4,5,7}

Salah satu bentuk sediaan tanaman obat ialah sediaan infus. Selain bentuk tunggal, pemanfaatan sediaan tanaman obat juga dapat menggunakan bentuk sediaan kombinasi. Belum banyak laporan penelitian mengenai perbandingan daya hambat optimum dari sediaan kombinasi infus meniran dan sirih cina. Penelitian ini akan membandingkan aktivitas beberapa konsentrasi sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina terhadap isolat *E. coli American Type Culture Collection (ATCC) 25922* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* serta rancangan *posttest-only with control group design* menggunakan 26 perlakuan, yaitu sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, kontrol positif (gentamisin) dan kontrol negatif (akuades).

Alat-alat yang digunakan antara lain; spatula, pipet tetes, pinset, osse steril, korek api, kapas lidi steril, gelas beker, lampu spiritus, kaliper mistar skala millimeter (*Tricle Brand*), tabung reaksi (*Pyrex Brand*®), cawan petri, *aluminium foil*, neraca analitik, gelas *Erlenmeyer*

(*IWAKI*®), inkubator aerob (*Carbolite*®), autoklaf (*All American*®), *blender* (*National*™), penangas air (*waterbath*), meja *laminary air flow* (*Holten Maxisafe*®), oven, corong, kertas saring, kain flannel, penjepit tabung, pisau steril, kompor dan panci infus.

Bahan yang diperlukan ialah 1 kg herba meniran dan sirih cina, isolat bakteri *E. coli*, gentamisin 10 µg, cakram kertas steril, kain flannel, media *BHI*, media *MHA*, akuades, dan larutan standar *McFarland 1* (setara jumlah bakteri sebesar 3.10^8 CFU/mL), natrium hidroksida (NaOH), asam sulfat pekat, timbal asetat 10%, reagen Dragendroff, reagen Meyer, gelatin 1%, FeCl₃, benzena, kloroform, dan asam asetat anhidrat.

Sebelum digunakan alat-alat dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir dan dibungkus kertas aluminium. Alat disterilkan pada suhu 121°C selama 1 jam pada tekanan 1 atm menggunakan autoklaf.

Tanaman meniran dan sirih cina diambil di lahan sekitar kampus FK ULM Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Identifikasi dan determinasi spesies meniran dan sirih cina akan dilakukan di Laboratorium Dasar Fakultas MIPA ULM Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Selanjutnya tanaman tersebut dikumpulkan, dicuci, dirajang, dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C hingga tercapai bobot tetap. Simplisia yang didapat dihaluskan dengan blender.

Konsentrasi sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina yang akan diteliti ditentukan berdasarkan hasil uji sehingga didapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM). Uji pendahuluan menggunakan metode dilusi.

Simplisia meniran dan sirih cina masing-masing ditimbang seberat 40 g dan dilarutkan dalam akuades 100 mL kemudian dipanaskan selama 15 menit sejak suhu mencapai 90°C. Selanjutnya, cairan infus disaring melalui kain flannel selagi panas. Setelah konsentrasi terbesar dari sediaan tunggal infus meniran dan sirih cina dibuat, selanjutnya dilakukan

pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi yang lebih kecil, Pembuatan sediaan kombinasi dilakukan dengan menambahkan masing-masing 5 mL dari sediaan tunggal meniran dan sirih cina.

Masing-masing infus meniran dan sirih cina dengan konsentrasi 25% digunakan untuk proses penapisan fitokimia. Skrining fitokimia yang dilakukan antara lain uji alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, fenol, antrakuinon, steroid dan terpenoid.

Uji alkaloid menggunakan 2 jenis pengujian yaitu; 1) Uji Dragendroff: sebanyak 1 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan 1 mL reagen Dragendroff (Potasium bismut iodida). Uji alkaloid dinyatakan positif jika terbentuk endapan merah.⁸ 2) Uji Mayer: sebanyak 1 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan 1 mL reagen Meyer (Potasium merkuri iodida). Uji Mayer dinyatakan positif jika terbentuk endapan kuning.⁸

Uji flavonoid menggunakan 2 jenis pengujian yaitu; 1) Uji reagen alkalin: sebanyak 1 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH. Uji flavonoid dinyatakan positif bila muncul warna kuning yang akan memudar setelah ditambahkan larutan asam encer.⁸ 2) Uji timbal asetat: sebanyak 1 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambah timbal asetat 10% sebanyak 1 mL dan dikocok. Uji flavonoid dinyatakan positif bila warna larutan menjadi coklat kekuningan.⁸

Uji tannin menggunakan uji gelatin. Sebanyak 2 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan 2 mL larutan gelatin 1% (mengandung NaCl). Uji tannin dinyatakan positif bila terbentuk endapan putih.⁸

Uji saponin menggunakan metode *foam*. Sebanyak 2 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambah 2 mL air dan dikocok. Uji Saponin dinyatakan positif bila terbentuk busa yang bisa bertahan selama 10 menit.⁸

Uji fenol menggunakan uji besi (III) klorida. Sebanyak 1 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan dengan 1 mL FeCl₃ 3%. Uji fenol dinyatakan positif bila terbentuk endapan hijau kehitaman.⁹

Uji antrakuinon menggunakan uji brontrager. Sebanyak 2 mL sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan dengan 5 mL benzena. Selanjutnya, campuran tersebut ditambahkan ammonia lalu dikocok. Uji antrakuinon dinyatakan positif bila terdapat warna merah.¹⁰

Uji steroid menggunakan *Libermann burchard's test*. Sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan dengan kloroform kemudian disaring. Campuran larutan yang diperoleh ditambahkan asam asetat anhidrat. Selanjutnya dipanaskan dan didinginkan. Kemudian, asam sulfat diteteskan melalui dinding tabung. Uji steroid dikatakan positif bila terbentuk cincin coklat.⁸

Uji terpenoid menggunakan *Salkowki's test*. Sediaan infus sirih cina dan meniran masing-masing ditambahkan kloroform kemudian disaring. Campuran larutan ditambahkan asam sulfat pekat, lalu dikocok. Uji terpenoid dinyatakan positif bila terbentuk warna kuning emas.⁸

Beberapa tahap persiapan bakteri uji, antara lain : 1) Ose dibakar di atas api lampu spiritus sebelum dan sesudah digunakan. 2) Diambil 1 ose isolat murni *E. coli*. 3) Ose diaduk-aduk dalam media *BHI*. 4) Media *BHI* diinkubasi selama 8 jam pada suhu 37°C. 5) Tambahkan akuades hingga kekeruhan suspensi setara dengan larutan standar *McFarland I*.

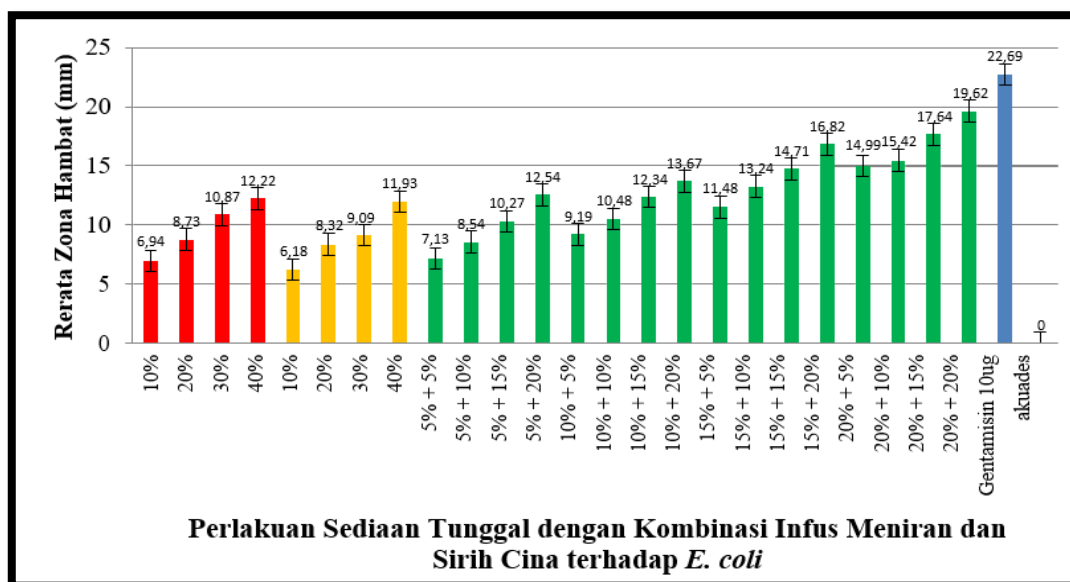
Suspensi bakteri yang sudah setara dengan larutan *McFarland I* di-*swab* menggunakan kapas lidi steril. Selanjutnya kapas lidi di-*swab* pada media *MHA*. Cakram kertas direndam dalam sediaan tunggal dan kombinasi infus meniran dan sirih cina selama 1 jam. Kemudian cakram kertas diletakkan ke dalam media *MHA* menggunakan pinset. Zona hambat akan terbentuk di sekeliling cakram kertas

setelah media *MHA* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat menggunakan *calliper*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan bahwa perlakuan sediaan tunggal maupun

kombinasi infus meniran dan sirih cina memiliki aktivitas antibakteri, ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Aktivitas antibakteri berasal dari senyawa aktif yang terdapat pada meniran dan sirih cina. Hasil ini diperkuat dengan hasil skrining fitokimia dari kedua tanaman (tabel 1).



Gambar 1. Rerata Diameter Zona Hambat dari Sediaan Tunggal dengan Kombinasi Infus Meniran dan Sirih Cina Terhadap *E. coli*.

Keterangan :

- █ = Sediaan tunggal infus meniran
- █ = Sediaan tunggal infus sirih cina
- █ = Sediaan kombinasi infus meniran dan sirih cina
- █ = Gentamisin 10ug

Senyawa metabolit sekunder menghambat pertumbuhan *E. coli* melalui mekanisme tertentu. Flavonoid menyebabkan denaturasi protein pada dinding sel bakteri, merusak membran sitoplasma sehingga mengganggu susunan dan mengubah permeabilitas dari dinding sel, lisosom, mikrosom, dan membran sitoplasma. Hal ini mengakibatkan terhambatnya metabolisme bakteri.^{11,12} Alkaloid berfungsi merusak peptidoglikan pada dinding sel dan mengganggu pembentukan DNA bakteri.¹¹ Tanin berfungsi mengganggu metabolisme bakteri dan merusak membran sitoplasma.¹³ Fenol bekerja pada nukleus, sitoplasma,

dinding sel dan membran sel sehingga dapat bersifat bakteriostatik maupun bakterisidal.¹⁴ Antrakuinon menghambat sintesis protein sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terganggu.¹⁵ Steroid bekerja dengan berikatan pada membran lipid dan menyebabkan kebocoran liposom.¹⁶ Terpenoid bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel dan menyebabkan kebocoran nutrisi dan protein.¹⁷

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia meniran dan sirih cina.

Senyawa	Meniran	Sirih Cina
Flavonoid		
- Uji reagen alkalin	+	+
- Uji timbal asetat	+	+
Alkaloid		
- Uji Dragendroff	+	+
- Uji Mayer	+	+
Tanin	+	-
Fenol	+	+
Saponin	-	-
Antrakuinon	+	+
Steroid	+	+
Terpenoid	+	+

Diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hasil ini disebabkan konsentrasi infus tanaman yang besar akan diikuti dengan peningkatan kandungan senyawa metabolit sekunder, sehingga efektivitas antibakterinya juga semakin tinggi.¹⁸

David-Stout membagi aktivitas daya hambat terhadap bakteri menjadi beberapa kategori berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk, yaitu; lemah (≤ 5 mm), sedang (5-10mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (≥ 20 mm).¹⁹

Hasil penelitian ini didapatkan bahwa daya hambat dari sediaan tunggal meniran 30%, meniran 40% dan sirih cina 40% menghasilkan aktivitas daya hambat kategori kuat. Sebagian besar sediaan kombinasi menghasilkan aktivitas daya hambat kategori kuat. Hasil ini dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia pada meniran dan sirih cina.

Hasil uji *post-hoc* Duncan didapatkan bahwa sediaan tunggal infus meniran menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda bermakna dibanding sediaan tunggal infus sirih cina. Hal ini dikarenakan perbedaan jenis dan kuantitas senyawa metabolit sekunder pada masing-masing tanaman, sehingga zona hambat yang dihasilkan juga berbeda. Kandungan metabolit meniran dan sirih cina hampir serupa, kecuali tanin yang tidak didapatkan pada sirih cina.

Rerata diameter zona hambat terbesar dari perlakuan sediaan tunggal dan kombinasi dihasilkan oleh sediaan kombinasi infus meniran 20% dan sirih cina 20%, yaitu sebesar $19,62 \pm 0,40$ mm. Hasil ini relatif lebih besar dibanding dengan efek dari sediaan tunggal infus meniran 20% dan sirih cina 20% yang menghasilkan zona hambat sebesar $12,22 \pm 0,35$ mm dan $11,93 \pm 0,18$ mm. Sediaan kombinasi dapat menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibanding sediaan tunggal karena adanya efek sinergis antar zat aktif yang terkandung di dalam kedua tanaman tersebut. Che *et al* tahun 2013 menyatakan bahwa kombinasi tanaman obat yang memiliki efek terapi yang serupa menghasilkan efektivitas terapi yang lebih besar.²⁰ Hasil penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Sudewi dan Lolo yang menyebutkan bahwa sediaan tunggal buah mengkudu dan daun sirsak dengan konsentrasi 1000 ug/mL menciptakan zona hambat sebesar 20 mm dan 16,5 mm terhadap *E. coli*. Sedangkan, efek kombinasi keduanya pada konsentrasi 1000 ug/mL menciptakan zona hambat yang lebih besar yaitu 22,625 mm.²¹

Kontrol positif (gentamisin 10 ug) menghasilkan zona hambat sebesar $22,69 \pm 0,03$ mm terhadap *E. coli*. Zona hambat ini termasuk kategori sensitif berdasarkan standar CLSI tahun 2018 yang dapat dilihat pada lampiran 13.²² Kontrol positif memberikan efek berbeda bermakna terhadap perlakuan sediaan tunggal maupun kombinasi. Daya hambat optimum dari perlakuan tunggal maupun kombinasi infus meniran dan sirih cina belum dapat ditentukan, karena daya hambat optimum ialah efek yang zona hambatnya sama dengan kontrol positif berdasarkan uji statistik.

Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan masih belum bisa menghasilkan efek daya hambat optimum. Hasil ini relatif sama dengan hasil penelitian Sudewi dan Lolo yang menyatakan bahwa sediaan tunggal dan kombinasi ekstrak buah mengkudu dan daun sirsak terhadap *E. coli*

belum ada yang bisa menyamai kontrol positif. Zona hambat yang dihasilkan oleh sediaan kombinasi dengan konsentrasi 1000 ug ialah 22,625 mm, sedangkan kontrol positif (siprofloksasin) menghasilkan zona hambat sebesar 43,625 mm.²¹

Kemampuan suatu ekstrak alam dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh sifat bakteri uji dan konsentrasi ekstrak.^{18,23,24} Bakteri *E. coli* ialah bakteri gram negatif. Bakteri ini memiliki dinding sel berlapis-lapis dan kompleks, sehingga kuat menghadapi perubahan lingkungan. Selain itu, senyawa polar relatif sukar menembus dinding sel *E. coli* karena banyaknya kandungan lipid pada dinding selnya.¹⁸

Zona hambat yang dihasilkan berbanding lurus dengan besar konsentrasi ekstrak tanaman yang digunakan.²³ Penelitian ini menggunakan sediaan infus dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40%. Sehingga, terdapat kemungkinan zat aktif di dalamnya belum cukup untuk menghasilkan zona hambat yang sama besar dengan kontrol positif. Berdasarkan penelitian Fitri dan Widiyawati yang menggunakan 5 variasi konsentrasi ekstrak meniran, yaitu 10%, 30%, 50%, 70% dan 90%, didapatkan ekstrak meniran dengan konsentrasi 70% dan 90% menghasilkan rata-rata zona hambat yang lebih besar dibanding ampisillin terhadap *Salmonella sp.* dan *Propionibacterium acnes*.²⁵ Sehingga, dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan konsentrasi yang lebih tinggi agar didapatkan konsentrasi yang mampu menghasilkan daya hambat optimum.

Metode dan pelarut yang digunakan saat proses ekstraksi berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan oleh bahan alam.²⁴ Metode infundasi merupakan ekstraksi metode panas.²⁶ Kelemahan metode ini ialah menggunakan suhu yang tinggi, sehingga kurang cocok untuk mengekstraksi senyawa aktif yang termolabil.²⁷ Air sebagai pelarut dalam penelitian ini berpengaruh terhadap

banyaknya zat aktif yang terdapat pada sediaan infus. Air merupakan pelarut universal karena dapat melarutkan antrakuinon, alkaloid, tanin, terpenoid, polipeptida, lektin, dan glikosida.^{28,29}

PENUTUP

Simpulan penelitian ini ialah sediaan kombinasi memiliki zona hambat lebih besar dibanding sediaan tunggal, namun belum dapat menghasilkan daya hambat optimal terhadap *E. coli* ATCC 25922.

Penelitian lanjutan dapat dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi sediaan infus meniran dan sirih cina, serta menggunakan pelarut dan metode ekstraksi yang berbeda sehingga diharapkan dapat menghasilkan daya hambat optimum terhadap *E. coli* ATCC 25922.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hilda dan Berliana. Pola resistensi bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* terhadap berbagai antibiotik. J Mahakam Husada. 2015;4(1):15.
2. Katarnida SS, Karyanti MR, Oman DM, Katar Y. Pola sensitifitas bakteri dan penggunaan antibiotik. Sari Pediatri. 2013;15(2):124.
3. Clark MA, Finkel R, Rey JA, Whalen K, Harvey RA, Ansari R, et al. Lippincott's illustrated reviews : pharmacology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
4. Lee NYS, Khoo WKS, Adnan MA, Mahalingam TP, Fernandez AR, Jeevaratnam K. The pharmacological potential of *Phyllanthus niruri*. J Pharm Pharmacol. 2016; 68: 954, 956, 959.
5. Susilawati Y, Nasution AM, Pratama AP, Herdiani E, Tjitraresmi A, Ferdiansyah F, et al. Comparative study of peperochromen-a from sasaladaan [*Peperomia pellucida* (L.) Kunth.] herbs *in vivo* and *in vitro*-cultured on MS, WPM and DKW media. Res J Chem Environ. 2018;22(1):99.

6. Raghavendra HL, Prashith KTR. Ethnobotanical uses, phytochemistry and pharmacological activities of *Peperomia pellucida* (L.) Kunth (piperaceae)-a review. *Int j pharm pharm sci.* 2018;10(2):1-8.
7. Kalariasi V, Johnson M, Janakiraman N, Sivaraman A. Phytochemical and antibacterial studies on *Peperomia Pellucida* (L.) H.B.K. *Int J Pharm Sci Res.* 2016;1(1):5.
8. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction : a review. *Int Pharm Sci.* 2011;1(1):103-4.
9. Solihah MA, Wan Rosli WI, Nurhanan AR. Phytochemicals screening and total phenolic content of Malaysian *Zea mays* hair extract. *Int Food Res J.* 2012;19(4):1534.
10. Marliana SD, Suryanti V, Suyono. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi.* 2005;3(1):27.
11. Kusumawati E, Apriliana A, Selviawati. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap *Candida albicans* menggunakan metode difusi cakram. *J Ilm Manuntung.* 2017;3(1):1-2.
12. Munfaati PN, Ratnasari E, Trimulyono G. Aktivitas senyawa antibakteri ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *in Vitro*. *Lentera Bio.* 2015;4(1):69.
13. Mailoa MN, Mahendradatta M, Laga A, Djide N. Antimicrobial activities of tannins extract from guava leaves (*Psidium Guajava* L) on pathogens microbial. *Int J Sci Technol Res.* 2014;3(1):239-40.
14. Sabbineni J. Phenol-An effective antibacterial agent. *JOMC.* 2016;3(2):185.
15. Puteri T, Milanda T. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* :Review. *Farmaka.* 2016;14(2):2.
16. Shihabudeen MS, Priscilla H, Thirumurugan K. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medicinal plants. *Int J Pharm Sci and Research.* 2010;1(10):430.
17. Bama S, Kingsley J, Sankaranarayanan, Bama P. Antibacterial Activity Of Different Phytochemical Extracts From The Leaves Of *T. Procumbens* Linn.: Identification And Mode Of Action Of The Terpenoid Compound As Antibacterial. *Int J Pharm and Pharmaceutical Science.* 2012;4(1):557.
18. Lingga, AR, Pato U, Rossi E. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta.* 2016;3(1):1-15.
19. Ouchari L, Boukeskase, Bouizgarne, Ouhdouch Y. Antimicrobial potential of Actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Biol open.* 2019;8(2):3.
20. Che CT, Wang ZJ, Chow MSS, Lam CWK. Herb-herb combination for therapeutic enhancement and advancement: theory, practice and future perspectives. *Molecules.* 2013;18:5127.
21. Sudewi S, Lolo WA. Kombinasi ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika J Ilm Farm.* 2016;4(2):41.
22. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institutes;2018.
23. Indrawati I, Rizki AFM. Potensi Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius* L) Sebagai Antibakteri Dengan Bakteri Uji *Salmonella Thypimurium* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Biodjati.* 2017;2(2):143-4.

24. Permata P, Kawuri R, Darmadi AAK. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Gracinia mangostana* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *J Simbiosis*. 2018;6(1):7-11.
25. Fitri I, Widiyawati DI. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. Dan *Propionibacterium acnes*. *J Sains dan Teknologi*. 2017;6(2):304.
26. Sutrisna EM. Herbal medicine: suatu tujuan farmakologis. Surakarta: Muhammadiyah University Press; 2016.
27. Ansel HC. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. 4th Ed. Jakarta; UI Press:2005.
28. Pandey A, Tripathi S. Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical Screening Strategies For Herbal Drugs. *J Pharm and Phytochemistry*. 2014;2(5):115-9.
29. Balakrishna T, Vidyadhara S, Sasidhar RLC, Ruchita B, Prathyusha EV. A Review on Extraction Techniques. *IAJPS*. 2016;3(8):880-91.