



## ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF n-HEXANE EXTRACTS OF RED FRANGIPANI (*Plumeria rocea*)

Muhammad Ali Husni, Murniana, Hira Helwati, dan Nuraini

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala,  
Banda Aceh, 23111, Indonesia

**Abstract** Antimicrobial assay of n-hexane plant extracts against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* had been done. Extraction with n-Hexane of the flowers yielded 2,08% of extract, while leaves and stems yielded 3,21% and 2,19% of n-hexane extracts, respectively. The extracts showed different activity against both bioindicators. The leaves extracts showed the strongest activity indicated by wider diameters of inhibition zone, 19,7 mm against *E. coli* and 13,3 mm against *S. aureus* at 10% of the extracts' concentration. At the same concentration (10%), the steam and flower extracts showed less inhibitory activities with  $\phi$  11,3 mm and 8,3 mm against *E. coli*, and 12,0 mm and 11,0 mm against *S. aureus*. At the lowest concentration of the extracts, the leaves extracts showed the strongest activity against *E. coli* (14,3 mm) while the steam extracts showed highest inhibitory activity against *S. aureus* ( $\phi$  7,7 mm). Based on antimicrobial assay, it was suggested that the leaves extracts demonstrated strongest activity than other extracts. It was assumed that leaves extracts contained more secondary metabolite than flowers and steams, and the leaves have phenol compounds which are not present in other extracts.

**Keywords:** Red frangipani (*Plumeria rocea*), secondary metabolites, antimicrobial activity, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*.

### I. PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber bahan obat-obatan yang tumbuh di Indonesia adalah kamboja merah. Tumbuhan kamboja merah (*Plumeria rocea*) memiliki banyak kegunaan, selain sebagai tanaman hias yang menawan, tumbuhan ini juga memiliki potensi sebagai obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat [7]. Masyarakat Indonesia memanfaatkan tumbuhan ini sebagai obat tradisional untuk penyakit-penyakit tertentu. Bunga kamboja berkhasiat untuk menyembuhkan sembelit dan menghentikan disentri [14]. Penyakit disentri sendiri adalah penyakit perut yang umumnya disebabkan oleh beberapa bakteri. Bakteri yang paling aktif menyebabkan penyakit disentri adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *E. coli* juga dikenal sebagai bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan, sedangkan *S. aureus* merupakan penyumbang penyakit keracunan makanan [3]. Pendekatan etnobotani ini memberikan suatu asumsi bahwa dalam bagian tumbuhan

kamboja merah terkandung senyawa antibakteri khususnya terhadap penyebab disentri. Berdasarkan hasil penelusuran literatur, diketahui bahwa belum banyak penelitian tentang kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antimikrobal kamboja merah dibanding dengan tumbuhan kamboja putih (*Plumeria alba*). Tumbuhan kamboja putih memiliki aktivitas antibakteri khususnya terhadap bakteri penyebab disentri [1]. Hasil hidrolisis bahan aktif dari kulit batang tumbuhan *P. alba* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* pada kadar 1600-4000 ppm [7]. Minyak essensial dari bunga kamboja mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif (*B. subtilis*) dengan zona hambat rata-rata di atas 20 mm pada konsentrasi sampel 20% [21].

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak n-heksana tumbuhan *P. rocea* diketahui bahwa tumbuhan tersebut mengandung metabolit sekunder kelompok terpenoid, steroid dan fenol [9]. Berdasarkan informasi di atas, diduga kamboja merah mempunyai metabolit sekunder yang hampir sama dengan kamboja putih karena kedua

tumbuhan ini mempunyai genus yang sama. Senyawa metabolit sekunder umumnya terdiri dari senyawa non polar, semipolar dan polar. Melalui penelitian ini ingin dipelajari aktivitas senyawa metabolit sekunder dari ekstrak non polar (n-heksana) bunga, daun dan kulit batang tumbuhan *P. rocea* terhadap jenis bakteri Gram positif (*S. aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli*).

## II. METODOLOGI

### Alat

Peralatan yang digunakan adalah perangkat rotary evaporator, labu maserasi, labu ekstraksi, cawan petri, erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, timbangan dan penyemprot, perangkat distilasi, corong, kertas saring, gelas kimia, tabung reaksi dan rak tabung.

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah pelarut n-heksana, reagen Mayer (KI dan  $HgCl_2$ ), reagen Dragendorff (KI,  $Bi(NO_3)_3$ ), reagen Liebermann-Burchard ( $CH_3COOH$  dan  $H_2SO_4$ ) dan reagen Wagner ( $I_2$  dalam KI), aquades, kertas saring, alkohol 70%, kloroform dan cakram vancomycin serta cakram ciprofloxacin sebagai kontrol positif yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

### Sampel

Sampel yang digunakan adalah bunga, daun dan kulit batang yang merupakan bagian dari tumbuhan kamboja merah yang diambil di Desa Meusee Kecamatan Kutablang Kabupaten Bireuen. Bioindikator yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroba *E. coli* dan *S. aureus* yang berasal dari Laboratorium Kesehatan Banda Aceh

### Ekstraksi

Sebanyak  $\pm 1$  kg sampel kamboja merah (kulit batang, daun dan bunga) dibersihkan, dikeringanginkan, dihaluskan dan dimaserasi dengan pelarut n-heksana selama 3x24 jam. Proses maserasi dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh larutan jernih. Selanjutnya disaring, filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak pekat. Ekstrak yang diperoleh ditentukan rendemennya dengan cara

berat ekstrak dibagi dengan berat sampel awal dan dikali seratus persen. Ekstrak pekat disimpan untuk dilakukan uji selanjutnya.

### Uji Alkaloid

Sampel segar tumbuhan kamboja merah sebanyak 3 g digerus dan dibasakan dengan amonia sampai basah. Selanjutnya ditambahkan 10 mL kloroform, dan disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan asam klorida 5 N sebanyak 10 mL, dikocok kuat-kuat, didiamkan sampai larutan asam klorida dan kloroform memisah. Lapisan asam klorida diambil dan dibagi dalam tiga tabung, dimana masing-masing tabung diuji untuk mengetahui keberadaan alkaloid dengan menggunakan reagen Mayer, reagen Dragendorff dan reagen Wagner. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak n-heksana.

### Uji Steroid, Terpenoid dan Saponin

Sebanyak 2-4 gram sampel segar tumbuhan kamboja merah digerus dengan alu dan lumpang, selanjutnya diekstraksi dengan metanol panas. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak methanol pekat. Ekstrak metanol kemudian diekstraksi lagi dengan n-heksana. Fraksi yang larut dalam metanol kemudian diuji dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Bila berwarna merah positif adanya triterpenoid. Bila berwarna hijau atau biru positif adanya steroid. Fraksi yang tidak larut dalam metanol ditambahkan sedikit air dan dikocok kuat-kuat, jika adanya busa yang stabil selama 30 menit menunjukkan adanya saponin. Selanjutnya larutan saponin tersebut dihidrolisis dengan HCl, kemudian diuji dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Bila berwarna merah atau ungu positif adanya saponin triterpenoid. Bila warnanya hijau atau biru positif adanya saponin steroid. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak n-heksana.

### Uji Flavonoid

Sampel tumbuhan kamboja merah sekitar 2-4 gram digerus, kemudian diekstraksi dengan metanol dan dipekatkan. Ekstrak metanol diekstraksi dengan n-heksana Residu diekstraksi dengan 10 mL etanol 80%, selanjutnya ditambahkan 0,5 g logam Mg dan HCl 0,5 M, jika timbul warna endapan merah muda/ungu positif menunjukkan adanya flavonoid. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak n-heksana.

### Uji Hayati Antimikrobia

Ekstrak n-heksana yang diperoleh ditimbang sebanyak 5 g, dilarutkan dengan pelarut n-heksana sebanyak 100 mL, untuk memperoleh larutan uji 10% (b/v). selanjutnya larutan ini dijadikan larutan stok untuk membuat larutan dengan konsentrasi 5%, 2,5%, dan 1,25%. Pengujian antimikrobia dilakukan dengan menggunakan metode cakram. Media yang digunakan adalah media Mueller Hinton Agar (MHA) dengan komposisinya casein hidrolisate 17,5 g, beef extract 300 g, starch 1,5 g, dan agar 17 g. Media yang digunakan dibuat dalam 2 tahap. Pembuatan media MHA I adalah dengan cara melarutkan 6.8 gram bubuk MHA ke dalam 200 mL aquades, kemudian dipanaskan selama 1 menit. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan sampai sekitar 40°-45°C. Media yang telah disterilkan dituang dalam cawan petri ± 10 mL secara aseptik dan dibiarkan padat. Media II digunakan untuk inokulasi bakteri, dibuat dengan melarutkan MHA sebanyak 3.4 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian dipanaskan sampai semua larut. Media dibagi dalam erlenmeyer 50 mL masing-masing 5 mL, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya didinginkan sampai sekitar suhu 40°C. Kemudian ditambahkan 1 mL suspensi bakteri ke dalam media tersebut dan dihomogenkan. Media II tersebut dituangkan ke atas media I, serta digoyangkan hingga merata dan dibiarkan membeku.

Uji antimikrobia dilakukan dengan meletakkan cakram yang berisi larutan uji ekstrak n-heksana, kontrol positif (Vancomycin (30 µg/mL) untuk *S. aureus* dan ciprofloxacin (5 µg/mL) untuk *E. Coli* dan kontrol negatif (n-heksana), pada area yang berbeda diatas media tumbuh bakteri. Inokulasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati untuk setiap area. Bila zona hambatan belum tampak, dibiarkan 24 jam lagi. Zona hambatnya diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Rendemen Ekstrak

Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa daun kamboja menghasilkan rendemen dengan persentase terbanyak yaitu 3,21% sedangkan kulit batang dan bunga memberikan rendemen masing-masing sebanyak 2,91% dan 2,08%.

#### Profil Fitokimia

Profil fitokimia memperlihatkan bahwa tumbuhan kamboja merah mengandung beberapa metabolit sekunder. Tabel 1 menunjukkan bahwa adanya perbedaan kandungan metabolit sekunder antara sampel segar dengan ekstrak n-heksana. Bagian daun segar mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenol dan steroid, namun pada ekstrak n-heksana tidak lagi ditemukan flavonoid dan alkaloid. Pada bagian bunga segar mengandung alkaloid dan terpenoid, sedangkan ekstrak n-heksana hanya mengandung senyawa terpenoid. Demikian juga pada bagian batang segar terdapat senyawa alkaloid, terpenoid dan steroid, namun pada ekstrak n-heksana yang ada hanyalah senyawa terpenoid dan steroid. Pada penelitian ini, senyawa yang paling banyak terkandung dalam tumbuhan kamboja merah adalah terpenoid, steroid, dan fenol. Hal ini sejalan dengan uji fitokimia yang telah dilaporkan bahwa tanaman kamboja mengandung beberapa jenis metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin [6,10]. Selain itu, akar dan daun *Plumeria* mengandung senyawa saponin, flavonoid dan polifenol [10,17].

Tabel 1. Hasil uji fitokimia dari tumbuhan kamboja merah (*Plumeria rocea*)

	Sampel Segar			Ekstrak		
	Bunga	Daun	Kulit Batang	Bunga	Daun	Kulit Batang
Alkaloid						
• Mayer	+	+	+	-	-	-
• Dragendroff	+	+	+	-	-	-
• Wagner	+	+	+	-	-	-
Steroid	-	+	+	-	+	+
Terpenoid	+	+	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-	-	-
Flavonoid	-	+	-	-	-	-
Fenol	-	+	-	-	+	-

Ket: (+) menunjukkan hasil positif dan (-) menunjukkan hasil negatif.

Bagian tumbuh-tumbuhan tidak semuanya mengandung senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini, tumbuhan kamboja merah tidak terdeteksi kandungan senyawa flavonoid dan saponin, kemungkinan kandungan flavonoid dan saponin terlalu sedikit sehingga tidak dapat terdeteksi. Tumbuhan kamboja putih (*P. alba*) menunjukkan hasil positif untuk saponin [15]. Tumbuhan kamboja putih mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid untuk bunga, steroid dan alkaloid untuk daun dan batang mengandung senyawa terpenoid [9]. Sama halnya dengan tumbuhan kamboja merah yang juga memiliki metabolit sekunder seperti terpenoid, fenol, steroid dan alkaloid. Berdasarkan hasil tersebut

dapat diasumsikan bahwa tumbuhan kamboja merah juga bisa digunakan untuk pengganti tumbuhan kamboja putih (*P. alba*) sebagai pembuatan bahan dasar obat-obatan.

### Aktivitas Antimikrobia

Ekstrak n-heksana dari daun kamboja merah menunjukkan aktivitas paling tinggi pada bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* untuk hampir semua variasi konsentrasi zat uji dibandingkan ekstrak kulit batang dan bunga baik terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli*, kecuali pada konsentrasi 1,25% terhadap bakteri *S. aureus* (Tabel 2 dan Tabel 3).

Tabel 2. Zona hambat ekstrak n-heksana tumbuhan kamboja merah (*Plumeria rocea*) terhadap bakteri *E. coli*.

Ekstrak Sampel	Diameter Zona Hambatan (mm)					
	Kontrol (+)	Kontrol (-)	Konsentrasi ekstrak (b/v)			
			10%	5%	2,5%	1,25%
Bunga	20	6	8,3	6	6	6
Daun	22,7	6	19,7	18,7	17	14,3
Kulit Batang	22,7	6	11,3	10,3	7,3	6,3

Ket: Nilai tersebut diatas merupakan nilai rata dari tiga kali perulangan  
Diameter cakram = 6 mm  
Kontrol (+) = vancomycin 5 µg/mL  
Kontrol (-) = pelarut n-heksana

Ekstrak n-heksana kulit batang menunjukkan aktivitas yang lebih besar dari bunga untuk bakteri uji *E. coli*, dimana semua konsentrasi zat uji memberikan uji positif, akan tetapi untuk bakteri uji *S. aureus* ekstrak bunga dan kulit batang memberikan zona hambat yang lebih besar dari pada zona hambat bakteri uji *E. coli*. Ekstrak n-heksana daun pada konsentrasi 10% memperlihatkan zona hambat yang hampir sama dengan kontrol positif pada konsentrasi 10%, sehingga ekstrak tersebut sangat potensial sebagai antimikrobia.

Ekstrak bunga pada konsentrasi 5% tidak menunjukkan aktivitas antimikrobia terhadap bakteri *E. coli*, sedangkan terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 5% masih menunjukkan aktivitasnya dengan zona hambat 8 mm.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak daun mempunyai aktivitas paling tinggi. Hal ini disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder ekstrak daun lebih banyak dari ekstrak batang dan bunga, terutama kandungan fenol. Hal ini juga dinyatakan oleh penelitian lain bahwa

ekstrak n-heksana dari bunga yang mempunyai kandungan terpenoid dan fenol sehingga memiliki aktivitas yang lebih tinggi dari ekstrak daun dan batang yang mengandung alkaloid, steroid dan terpenoid [9], serta ekstrak daun *P. rubra* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. Coli*, dimana ekstrak daun *P. rubra* mengandung senyawa terpenoid dan fenol [2]. Ekstrak etanol 70% dari kulit kayu kamboja (*P. acuminata*) terkandung senyawa polifenol dan tannin yang bersifat paling toksik terhadap larva udang *Artemia salina* pada LC<sub>50</sub> Kurang dari 1000 µg/ml [8]. Ekstrak air dari bunga kamboja “Cendana” kering memiliki kandungan vitamin C yang tinggi, kadar tannin sebesar 4,02 % dan senyawa polifenol sebesar 18,7 % dan aktivitas sebagai antioksidan [19]. Kandungan fenol pada bunga kamboja jauh lebih tinggi dibandingkan kandungan rata-rata fenol pada bunga cempaka (*Michela champaca*) kering yang diekstrak dengan air [12]. Hal ini menunjukkan potensi bunga kamboja sebagai pencegah penyakit. Kandungan fenol pada bunga kamboja sebanding dengan kandungan fenol pada bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) [18].

Mekanisme fenol dalam menghambat bakteri *E. coli* adalah dengan mempengaruhi enzim yang dimilikinya, yaitu dehidrogenase dan oksidase [5]. Selain itu, senyawa fenol sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid disekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel [20].

Tabel 3. Zona hambat ekstrak n-heksana tumbuhan kamboja merah (*Plumeria rocea*) terhadap bakteri *S. aureus*.

Ekstrak Sampel	Diameter Zona Hambatan (mm)					
	Kontrol (+)	Kontrol (-)	Konsentrasi ekstrak (b/v)			
			10%	5%	2,5%	1,25%
Bunga	17,3	6	11	8	6	6
Daun	18	6	13,3	10,7	8,3	7,3
Kulit Batang	18	6	12	9,3	7,3	7,7

Ket: Nilai tersebut diatas merupakan nilai rata dari tiga kali perulangan  
Diameter cakram = 6 mm  
Kontrol (+) = vancomycin 30 µg/mL  
Kontrol (-) = pelarut n-heksana

Selain itu juga, fenol diketahui menghambat pertumbuhan mikroba dengan meningkatkan permeabilitas membran sel. Permeabilitas membran sel mikroba berubah karena fenol mengganggu sistem transport elektron dan produksi energi [11]. Hal ini sejalan dengan penelitian yang melaporkan bahwa senyawa yang aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adalah senyawa yang mirip dengan golongan fenol yaitu Fenilmetil ester [9].

Berdasarkan hasil uji antimikrobal selain senyawa fenol, ternyata senyawa terpenoid juga aktif terhadap antimikrobal. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan terhambat atau mati [4]. Penelitian lain juga menyatakan bahwa senyawa terpenoid aktif terhadap bakteri, virus dan protozoa [13]. Adapun senyawa yang aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adalah senyawa golongan terpenoid yang diduga methyl comate [16]. Tanaman kamboja mengandung senyawa agoniadin, plumierida, asam plumerat, lupleol, dan asam serotinat [10,17].

## KESIMPULAN

Kamboja merah mengandung beberapa jenis metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, polifenol, dan saponin. Ekstrak n-heksana tumbuhan kamboja merah memiliki aktivitas antimikrobal terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan aktivitas tertinggi pada daun yaitu 19,7% dan 13,3%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Murniana, M. Si atas bantuannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

## REFERENSI

- [1]. Asep, A. R. 1995. Penapisan Antibakteri dan Antifungi Ekstrak Etanol Beberapa Suku Tanaman Suku Apocynaceae. JF FMIPA ITB. Bandung.
- [2]. Baghel, A. S., Miska, C. K., Rani, A. Sasamal D. Dan Nema, R. K., 2010. Aktibacterial activity of *Plumeria rubra*. Linn Plant extract. J. Chem. Pharm. Res., 2: 435-440.
- [3]. Brooks, G. F J. S. Butel and S. A. Morse. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Salemba Medika. Jakarta.
- [4]. Cowan, M., 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent, Clinical Microbiology Reviews, 12 (4), hal. 564-582.
- [5]. Davidson, P. M., dan Mickey E. Parish. 1993. Methods for Evaluation. Di dalam Davidson, P. M., dan Alfred, L. B. (eds.). Antimicrobials in Foods 2nd edition. Marcel Dekker, Inc. New York.
- [6]. Djumidi, H, (Ed). 1997. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. Jakarta Jilid III.
- [7]. Ekowati, J. 1994. Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Hidrolisis Bahan Aktif dari Kulit Batang Kamboja (*Plumeria alba* Ait.) terhadap *Escherichia coli*. FF NAIR. Surabaya.
- [8]. Hidayati, I. R., 2010. Uji Toksisitas Sari Kulit Kayu Kamboja (*Plumeria acuminata* Ait.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* dan Telah FITokimia. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah. Malang.
- [9]. Husna, N. 2011. Laporan Uji Aktivitas Antimikrobal Ekstrak n-Heksana Tumbuhan Kamboja Putih (*Plumeria Alba*). Skripsi. Universitas Syiah Kuala FMIPA, Banda Aceh.
- [10]. Hutapea, J.R., (Ed). 2000. Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan kesehatan, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. Jakarta
- [11]. Ismaeil, A. A., dan Pierson, M. D. 1990. Inhibition of Germination, Outgrowth and Vegetative Growth of *Clostridium botulinum* 67B by Spice Oils. Di dalam Lund, B. M. et. al (Eds.). 2000. The Microbiological Safety and Quality of Food Volume I. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.

- [12]. Nagavani, V., dan Rao, T. R., 2010. Evaluation of Antioxidant Potential and Identification of Polyphenols by RP-HPLC in Michela champaca Flowers. *Adv. Biol. Res* 4 (3): 159-168.
- [13]. Naim, R, 2004, Senyawa Antibakteri Dari Tanaman, [Http://www. kompas.com](http://www.kompas.com), diakses pada tanggal 08 Juli 2008.
- [14]. Parni, L. 2010. Berbagai jenis bunga kamboja. <http://www.sehat-nature.html>. Tanggal akses 25 Januari 2012.
- [15]. Saddam. 2012. Laporan Aktivitas Antimikrobia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Batang Kamboja Putih (*Plumeria alba*). Skripsi. Universitas Syiah Kuala FMIPA, Banda Aceh.
- [16]. Sadim, 2011, Aktivitas Antimikrobia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak n-Heksana Kulit Batang *Plumeria alba* (Kamboja) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, Skripsi, FMIPA Unsyiah, Darussalam.
- [17]. Syamsulhidayat, S. S. dan Hutapea, J. R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. hal 452-453.
- [18]. Usman, D. S. B., 2010. Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Bunga Rosela Kering (*Hibiscus sabdariffa L.*). Fakultas Teknologi Industri, UPN. Jawa Timur.
- [19]. Wrasiasi, L. P., Hartini, A., dan Yuarini, D. A. A., 2008. Kandungan Senyawa Bioaktif dan Karakteristik Sensoris Ekstrak Simplisia Bunga Kamboja (*Plumeria sp.*). Universitas Udayana. Denpasar.
- [20]. Volk and Wheller, 1984, *Mikrobiologi Dasar*, terjemahan oleh Suenartono Adisoemarto, Erlangga, Jakarta. hal.137-138
- [21]. Zaheer. 2010. Antimicrobial Activity of Essential Oil of Flowers of *Plumeria alba* Linn (*Apocynaceae*). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 2. Issue 4. pg.155-157.