

ISOLATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM PATCHOULI LEAVES (*POGOSTEMON CABLIN BENTH*) AS ANTIBACTERIAL AGAINST PATHOGENIC BACTERIA BY BIOAUTOGRAPHY AND AGAR DIFFUSION

Sulfiana¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info

Received: 14/12/2022

Review: 03/04/2023

Available online: 04/05/2023

Corresponding Author:

Sulfiana

Department of Microbiology,
Faculty of Pharmacy, Universitas
Muslim Indonesia, Makassar, South
Sulawesi, Indonesia

email:

sulfianasudirman99@gmail.com

ABSTRACT

Tembelean with the scientific name *Lantana camara* Linn which is used for generations in medicine that utilizes leaves to treat skin diseases such as tinea versicolor, ringworm and ringworm. Skin infection is a disease that attacks the surface of the body, and is caused by various causes such as bacteria, viruses, and fungi. In this study, the antibacterial activity of the ethanolic extract of the tembelean leaf (*Lantana camara* L) was tested using the agar diffusion method and TLC- Bioautography against several test bacteria including *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. The results of the screening test for ethanol extract of tembelean leaves (*Lantana camara* L) at a concentration of 0.5% can inhibit and kill the growth of the test bacteria. Then proceed with testing the antibacterial activity using the agar diffusion method. The result is that the diameter of the largest inhibition zone of the ethanolic extract of tembelean leaf (*Lantana camara* L) was obtained at a concentration of 8%, namely *Propionibacterium acnes* (15.57 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (17.82 mm), *Staphylococcus aureus* (16.14 mm), *Staphylococcus epidermidis* (15.2 mm). The TLC results of the ethanolic extract of tembelean (*Lantana camara* L) leaves with eluent n hexane: ethyl acetate (7: 4) viewed under UV light at 254 nm and 366 nm, 6 stains were seen, each with an Rf value of Rf1 0.90, Rf2 0.8, Rf3 0.67, Rf4 0.6, Rf5 0.43, Rf6 0.25. Furthermore, the results of TLC-Bioautography showed that there were 2 spots that were active in inhibiting all test bacteria with Rf values = 0.8 and 0.25, respectively.

Keyword:

Agar diffusion; Antibacterial; Endophytic fungi; skin infections; TLC Bioautograph



Copyright ©2023 by Author
Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara yang beriklim tropis dan bertanah subur memiliki berbagai jenis tanaman, salah satunya tanaman obat-obatan. Banyak tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat, tetapi sebagian besar dari tanaman tersebut tidak dikenali. Tanaman tersebut tumbuh secara liar tanpa terawat dengan baik bahkan dianggap sebagai pengganggu

tanaman lain, sehingga pemanfaatannya belum maksimal. Seiring berjalannya waktu pengetahuan tentang tumbuhan obat makin berkembang, kini tanaman obat telah digali manfaatnya¹.

Salah satu tanaman yang digunakan secara turun-temurun dalam pengobatan adalah tembelean dengan nama ilmiah *Lantana camara* Linn. Tanaman *Lantana camara* Linn. dapat tumbuh subur dan cepat

berkembang tanpa perawatan khusus pada tanah yang lembab. Pertumbuhan yang mudah dan cepat ini menyebabkan tanaman *Lantana camara* Linn. bersifat gulma yang dapat mengganggu pertumbuhan tanaman pertanian. *Lantana camara* Linn. mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi bahan baku obat karena jumlahnya yang sangat banyak dan mudah dibudidayakan².

Masyarakat secara tradisional memanfaatkan daun tanaman *Lantana camara* Linn. untuk mengobati luka pada kulit. Daun *Lantana camara* Linn. juga dipercaya dapat mengobati penyakit kulit seperti panu, kadas dan kurap². Penyakit infeksi kulit merupakan suatu penyakit yang menyerang pada permukaan tubuh, dan disebabkan oleh berbagai macam penyebab yang paling umum dan menginfeksi segala macam usia. Beberapa makhluk hidup dapat menyebabkan penyakit kulit, seperti bakteri, virus, maupun jamur. Berbagai jenis bakteri hidup sebagai flora normal pada kulit manusia, sebagian besar adalah bakteri gram-positif seperti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* adalah jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit seperti Impetigo, Ruam kulit, infeksi ringan pada kulit. Selain kedua bakteri itu, *Pseudomonas* juga merupakan bakteri patogen oportunistik yang sering

menyebabkan infeksi kulit pada pasien luka bakar. *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri anaerob yang sering ditemukan pada jerawat³.

METODE

Alat dan Bahan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia pada bulan April 2022 sampai Mei 2022.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah rotary evaporator, Erlenmeyer (Pyrex), timbangan analitik (Kern), gelas ukur (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), cawan petri (Normax), autoklaf (ALP), pinset, spatula, pembakar spritus, pipet tetes, jarum ose, L glass, batang pengaduk, rak tabung reaksi, tabung reaksi (Pyrex), lemari pendingin (Samsung), inkubator (Ecocell), cakram (Paper disc), mikropipet (Ecopipette), vial, pot salep, jangka sorong, lampu UV 254 nm dan 366 nm, oven, pipa kapiler, Chamber, Laminar Air Flow (N Biotek).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah sampel ekstrak daun tembelean (diperoleh dari kabupaten Morowali kecamatan Bungku Timur desa Bahomotefe), etanol 96%, metanol, n-heksan, etil asetat, larutan H₂SO₄ 1%, BaCl₂ 1,75%, NaCl 0,9%, aquades, Dimetil Sulfoxida (DMSO) biakan mikroba (*Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), Nutrien Agar (NA), Kloramfenikol paper disc, alkohol, wadah maserasi, label, tissue, lempeng silica gel 60 GF 254, kertas saring, alumunium foil.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel daun Tembelean (*Lantana camara L*) yang berasal dari Morowali Sulawesi tengah diambil sekitar jam 09.41 pagi WITA.

Sampel daun Tembelean (*Lantana camara L*) yang telah dipetik, Dibersihkan dari kotorankotoran yang melekat dengan menggunakan air yang mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari langsung, kemudian digiling menjadi serbuk^{4,5}.

Pembuatan Ekstrak Sampel

Daun Tembelean (*Lantana camara L*) sebanyak kurang lebih 150 g serbuk diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan 1000 mL etanol sampai semua serbuk terendam dan diaduk lalu ditutup dan disimpan selama tiga hari. Pengadukan dilakukan kurang lebih sebanyak tiga kali sehari. Selanjutnya dilakukan penyaringan sehingga didapat filtrat dan residu. Residu yang dihasilkan kemudian dimaserasi dengan penambahan 50 mL etanol selama 3 hari dan dilakukan penyaringan setiap hari. Semua filtrat yang dihasilkan disatukan menjadi satu dalam wadah sebagai filtrat tersebut dipisahkan

dengan vacuum rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak yang kental kemudian ditimbang⁵.

Uji skrining antibakteri

Ditimbang sebanyak 50 mg ekstrak lalu dilarutkan dengan Dimetil Sulfoxida (DMSO) sebanyak 0,5 mL. Setelah larut, ekstrak ditambahkan dengan medium Nutrient Agar sebanyak 9,5 mL kemudian dituang kedalam cawan petri lalu dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Mikroba yang telah disuspensikan, masing-masing diambil menggunakan ose bulat lalu digoreskan pada medium yang telah memadat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Hasil inkubasi diamati aktivitas antibakteri yang ditandai dengan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada medium⁵.

Uji aktivitas antibakteri

a. Uji aktivitas antibakteri secara Difusi Agar

Medium nutrient Agar steril sebanyak 10 mL ditambahkan 1 ose suspensi bakteri lalu dihomogenkan kemudian dituang dan dibiarkan memadat. Kemudian ekstrak ditimbang sesuai konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8%. Setelah itu, paper disk dilarutkan dalam sampel ekstrak daun *Lantana camara L* dan dimasukkan dalam cawan petri yang telah berisi medium. Diinkubasi pada suhu 37°C

selama 1x24 jam. Lalu diamati dan diukur diameter zona hambatan⁵.

b. Uji aktivitas antibakteri secara KLT-Bioautografi

Lempeng KLT yang akan digunakan dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Ekstrak etanol *Lantana camara L* ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler, dibiarkan beberapa menit hingga kering lalu dimasukkan ke dalam chamber yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi. Dibiarkan terelusi sampai batas lempeng kromatogram yang telah ditentukan. Lempeng dikeluarkan dari chamber, lalu noda yang tampak diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian dilakukan penentuan nilai Retardation Factor (Rf)⁵.

Hasil kromatogram ekstrak etanol daun tembelean dilakukan pengujian KLT-Bioautografi langsung dengan cara medium nutrient Agar sebanyak 9 mL dituang ke dalam cawan petri steril, lempeng KLT yang telah dielusi, diletakkan diatas permukaan medium yang telah disuspensi dengan bakteri uji dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu lempeng tersebut diangkat dan dikeluarkan, selanjutnya medium

diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam⁵.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun tembelean (*Lantana camara L*). Sebelum sampel diekstraksi, sampel dicuci dahulu, kemudian dikeringkan menjadi simplisia, dibuat menjadi serbuk, selanjutnya diekstrak. Sampel dicuci bertujuan untuk membersihkan sampel dari kotoran yang melekat pada daun. Kemudian sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Tujuan dari pengeringan adalah agar untuk menghindari pembusukan dan pertumbuhan jamur pada sampel yang dapat merubah kandungan senyawa kimia yang ada di dalamnya. Setelah kering sampel dihaluskan. Serbuk daun tembelean yang telah halus kemudian ditimbang sebanyak 150 gram, yang selanjutnya dibuat ekstrak dengan menggunakan metode maserasi⁶.

Metode yang digunakan dalam ekstraksi simplisia daun tembelean ini adalah metode maserasi atau perendaman. Penggunaan metode maserasi karena struktur dari sampel yang lunak dan dengan melihat kemampuan sampel untuk tersari dengan mudah dalam cairan penyari, juga karena metode maserasi merupakan metode ekstraksi dingin (tanpa pemanasan), dimana dikhawatirkan adanya komponen yang rusak akibat pemanasan⁵.

Maserasi ini menggunakan pelarut etanol 96%. Penggunaan etanol 96% karena bersifat semipolar artinya etanol dapat menyari senyawa kepolaran yang tinggi dan kepolaran yang rendah, sehingga diharapkan komponen kimia yang terdapat pada sampel tersari lebih seragam. Proses perendaman dilakukan selama 3×24 jam.

Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan proses pengambilan senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada sampel daun. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian disaring, dan diperoleh ekstrak kasar etanol kemudian ekstrak kasar dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental ⁶

Tabel 1. Hasil ekstraksi Daun Tembelean (*Lantana camara L*)

Sampel	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Persen Rendamen (%)
Daun Tembelean (<i>Lantana camara L</i>)	150 gram	13,03 gram	8,68%

Ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) yang diperoleh dilakukan pengujian skrining antibakteri. Tujuan pengujian skrining antibakteri yaitu untuk melihat potensi antibakteri terhadap bakteri uji dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada medium. Pada pengujian skrining dilakukan terhadap beberapa bakteri uji diantaranya yaitu *Propionibacterium acnes*,

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*. Pengujian skrining dilakukan dengan menggunakan 2 konsentrasi yaitu 0,1% dan 0,5%. Hasil pengujian skrining ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) pada konsentrasi 0,5% dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri uji yang digunakan.

Tabel 2 Hasil skrining antibakteri ekstrak etanol daun Tembelean (*Lantana camara L*)

Bakteri Uji	Konsentrasi ekstrak etanol daun Tembelean (<i>Lantana camara L</i>)	
	0,1%	0,5%
<i>P. acne</i>	+	++
<i>P. aeruginosa</i>	+	++
<i>S. aureus</i>	++	++
<i>S. epidermidis</i>	+	++

Keterangan: (++) = Membunuh pertumbuhan bakteri; (+) = Menghambat pertumbuhan bakteri; (-) = Tidak menghambat pertumbuhan bakteri.

Pengujian uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi agar dilakukan pada variasi konsentrasi yaitu 0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8%, pengujian antibakteri menggunakan variasi konsentrasi ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap bakteri uji. Tujuan dilakukan uji antibakteri metode difusi agar yaitu untuk melihat zona hambat terbesar dari sampel terhadap bakteri uji yang digunakan. Hasil uji aktivitas secara difusi agar ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* memiliki zona hambatan yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) di setiap konsentrasi semakin besar sehingga daya kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri semakin efektif. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) mempengaruhi diameter zona hambat yang terbentuk. Perbedaan diameter zona hambat ini dapat disebabkan besarnya konsentrasi metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak. Aktivitas zona

hambat antibakteri dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu : aktivitas lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (> 10- 20 mm), sangat kuat (> 20- 30 mm) ⁷.

Kloramfenikol dipilih sebagai kontrol positif dalam penelitian ini, dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis bakteri yang dihambat enzim peptidil transferas yang berperan sebagai katalisator untuk ikatan-ikatan peptida saat sintesis bakteri. Berdasarkan hasil pada tabel 3 diameter zona hambat terbesar dari ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) diperoleh pada konsentrasi 8% yaitu bakteri *Propionibacterium acnes* (15,57 mm), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (17,82 mm), bakteri *Staphylococcus aureus* (16,14 mm), bakteri *Staphylococcus epidermidis* (15,2 mm). Sehingga termasuk dalam kategori zona hambat kuat dengan range 10-20 mm.

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu metode identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel dengan prinsip

adsorpsi dan partisi. Fase diam yang digunakan yaitu silica gel 60 GF254 berukuran 7 x 1 cm. Sebelum dilakukan penotolan sampel, fase diam diaktifkan terlebih dahulu dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit dengan tujuan untuk meningkatkan daya adsorpsi dari fase diam. Fase gerak yang digunakan yaitu eluen n heksan : etil asetat (7 : 4). Pemilihan eluen ini

didasarkan pada hasil optimasi eluen yang telah dilakukan, dimana pada eluen ini menghasilkan pemisahan terbaik dengan jumlah noda terbanyak setelah dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Eluen n-heksan dan etil asetat memiliki sifat kepolaran yang berbeda. N-heksan adalah eluen yang bersifat non polar dan etil asetat bersifat polar.

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Tembelekan (*Lantana camara L*) terhadap beberapa bakteri uji menggunakan metode difusi agar

Bakteri uji	Diameter zona hambat ekstrak etanol daun tembelekan (<i>Lantana camara L</i>) (mm)					Kloramfenikol (Kontrol +)
	0,5%	1%	2%	4%	8%	
<i>P. acne</i>	13,63	14,17	14,65	15,32	15,57	26,66
<i>P. aeruginosa</i>	12,78	14,71	16,29	16,83	17,82	28,30
<i>S. aureus</i>	12,97	13,67	14,31	15,28	16,14	27,21
<i>S. epidermidis</i>	11,35	13,19	13,73	14,65	15,2	28,92

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu metode identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel dengan prinsip adsorpsi dan partisi. Fase diam yang digunakan yaitu silica gel 60 GF254 berukuran 7 x 1 cm. Sebelum dilakukan penotolan sampel, fase diam diaktifkan terlebih dahulu dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit dengan tujuan untuk meningkatkan daya adsorpsi dari fase diam. Fase gerak yang digunakan yaitu eluen n heksan : etil

asetat (7 : 4). Pemilihan eluen ini didasarkan pada hasil optimasi eluen yang telah dilakukan, dimana pada eluen ini menghasilkan pemisahan terbaik dengan jumlah noda terbanyak setelah dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Eluen n-heksan dan etil asetat memiliki sifat kepolaran yang berbeda. N-heksan adalah eluen yang bersifat non polar dan etil asetat bersifat polar.

Data yang diperoleh adalah berupa nilai Rf dan warna noda pada kromatogram

sebagai hasil dari elusi lempeng KLT. Nilai Rf yang diperoleh menunjukkan perbedaan sifat senyawa dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya⁸.

Hasil KLT ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) dengan menggunakan eluen n heksan : etil asetat (7 : 4) yang telah dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm terlihat bercak noda sebanyak 6 noda dengan masing-masing memiliki nilai Rf yaitu Rf1 = 0,90, Rf2 =

0,8, Rf3 = 0,67, Rf4 = 0,6, Rf5 = 0,43, Rf6 = 0,25.

Selanjutnya dilakukan pengujian bioautografi yang merupakan pengujian lanjutan, yang bertujuan untuk mengetahui komponen kimia yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dari ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara L*) yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terlihat pada medium. Lempeng yang telah dielusi dikontakkan dipermukaan media padat berisikan masing-masing inokulasi bakteri selama 30 menit. Lempeng kemudian diangkat dari media dan media agar diinkubasi selama 1 x 24 jam, sehingga diperoleh zona hambatan dipermukaan media bekas lempeng

Tabel 4. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Tembelean (*Lantana camara L*) terhadap beberapa bakteri uji menggunakan metode KLT-Bioautografi

Nilai Rf	Warna pada Penampak Bercak		Bakteri uji yang dihambat	Ket.
	UV 254 nm	UV 366 nm		
0,90	Hijau	Ungu	-	Tidak aktif
0,8	Hijau	Ungu	<i>P. acne, P. aeruginosa, S. aureus, S. epidermidis</i>	
0,67	Hijau	Ungu	-	Tidak aktif
0,6	Hijau	Ungu	-	Tidak aktif
0,43	Hijau	Ungu	-	Tidak aktif
0,25	Hijau	Ungu	<i>P. acne, P. aeruginosa, S. aureus, S. epidermidis</i>	

Dari hasil KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa terdapat zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes* dengan nilai Rf 0,8 dan 0,25, *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai Rf 0,8 dan 0,25, *Staphylococcus aureus* dengan nilai Rf 0,8 dan 0,25, *Staphylococcus epidermidis* dengan nilai Rf 0,8 dan 0,25

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara* L) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*. Metode difusi agar dan profil bioautogram menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara* L) sebesar 8% memberikan zona hambat terbesar dengan diameter antara 15,2 - 17,82 mm dan tergolong dalam kategori zona hambat kuat dengan range 10-20 mm. Bioautogram juga menunjukkan adanya 2 bercak noda yang aktif pada nilai Rf 0,8 dan Rf 0,25. Oleh karena itu, ekstrak etanol daun tembelean (*Lantana camara* L) berpotensi sebagai agen antibakteri yang efektif dalam pengobatan infeksi bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hafsari AR, Cahyanto T, Sujarwo T, Lestari RI. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* (L.) Less.) Terhadap *Propionibacterium Acnes* Penyebab Jerawat. *JURNAL ISTEK.*; 9(1)
2. Edy HJ, Parwanto ME. Aktivitas Antimikroba Dan Potensi Penyembuhan Luka Ekstrak Tembelean (*Lantana Camara* Linn.). *Jurnal Biomedika dan Kesehatan.* 2020; 3(1):33–38
3. Radji M. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Kedokteran.* Jakarta: EGC. 2011
4. Herwin H, Nuryanti S. Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Belimbing Tanah (*Oxalis Corniculata* l.) Secara KLT-Bioautografi Dan Difusi Agar. *As-Syifaa Jurnal Farmasi.* 2012; 4(1):74–81
5. Risdayanti R, Nuryanti S, Herwin H. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta* L). *Wal'afiat Hospital Journal.* 2020; 1(2):23–29
6. Narulita W, Sri Anggoro B, Novitasari A, Islam Negeri Raden Intan Lampung U. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi.* 2019; 10(1):67–78
7. Datta FU et al. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Enteritidis*, *Bacillus Cereus*, *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar. In: *JURNAL KAJIAN VETERINER*, pp. 66–85
8. Forestryana D, Arnida arnida. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari.* 2020; 11(2):113–124