Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dari Lima Tanaman Terhadap Bakteri Staphylococcus Epidermidis Dengan Metode Mikrodilusi M7 – A6CLSI

^{1,2}Shendi Suryana, ²Yen Yen Ade Nuraeni, ¹Tina Rostinawati

¹Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, Indonesia ²Fakultas MIPA, Jurusan Farmasi, Universitas Garut, Garut, Jawa Barat, Indonesia

Abstrak

Telah dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun *Leucaena leucocephala*, *Camellia sinensis*, *Psidium guajava* L, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis dan *Solanum nigrum* L. terhadap *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode mikrodilusi. Sebagai pembanding digunakan antibiotik tetrasiklin HCl, kloramfenikol dan amoksisilin. Ekstrak etanol *Leucaena leucocephala*, *Camellia sinensis* dan *Psidium guajava* L memiliki aktivitas sebagai antibakteri, sedangkan ekstrak etanol uji lainnya memiliki aktivitas antibakteri yang tidak signifikan. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol *Leucaena leucocephala* terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah 62,5 μg/ml. Nilai Konsentrasi Bakterisidal Minimum (KBM) ekstrak etanol *Camellia sinensis* dan *Psidium guajava* L adalah 125 μg/ml.

Kata kunci: Mikrodilusi, tetrasiklin HCl, kloramfenikol, amoksisilin, KHM dan KBM

Antibacterial Activity Of Five Plant Ethanol Extract Against Staphylococcus Epidermidis Bacteria With Microdilution M7 - A6CLSI Method

Abstract

The antibacterial activity of Leucaena leucocephala, Camellia sinensis, Psidium guajava L, Anredera cordifolia (Ten.) Steenis and Solanum nigrum L. leafs ethanol extract against Staphylococcus epidermidis using microdillution method has been studied. Using microdillution method with tetracycline, chloramfenicol and amoxicillin as antibiotic reference. Leucaena leucocephala, Camellia sinensis and Psidium guajava L. leafs ethanol extract had activity to inhibit bacteria. And the other leafs ethanol extract had unsignificant activity againts bacteria. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Leucaena leucocephala leafs ethanol extract againts Staphylococcus epidermidis were 62,5 μ g/ml. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Camellia sinensis and Psidium guajava L were 125 μ g/ml

Keywords: Microdillution, Staphylococcus epidermidis, tetracycline, chloramfenicol, amoxcillin, MIC and MBC

Pendahuluan

Jerawat merupakan kelainan kulit yang dikenal dengan acne vulgaris1 Biasanya jerawat menyerang seseorang memasuki masa puber, atau remaja dengan gambaran klinis berupa komedo, papul, pustul, nodus dan kista pada muka, bahu, leher, dada, punggung bagian atas dan lengan bagian atas². Pada kulit terutama wajah, jerawat berbentuk benjolan kecil, berkepala kuning, berisi nanah, gatal dan sedikit nyeri³. Pengobatan jerawat dilakukan dengan memperbaiki abnormalitas folikel, menurunkan produksi sebum yang berlebih, menurunkan jumlah koloni P. acnes, S. aureus, S. epidermidis dan P. ovale yang merupakan bakteri penyebab jerawat dan menurunkan inflamasi pada kulit⁴. Bakteri tersebut ikut serta dalam patogenesis jerawat dengan menghasilkan lipase, yang memecahkan asam lemak bebas dari lipid kulit⁵. Asam lemak ini dapat menimbulkan radang jaringan dan ikut menyebabkan Populasi jerawat⁶. bakteri penyebab jerawat tersebut dapat diturunkan dengan memberikan suatu zat antibakteri seperti tetrasiklin, kloramfenikol dan amoksisilin ⁷.

Beberapa contoh antibakteri yang dapat diperoleh dari alam yang memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat adalah Daun petai cina (Leucaena leucocephala), daun teh (Camellia sinensis), daun Jambu Biji (Psidium guajava L), daun binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) dan daun leunca (Solanum nigrum L). Daun petai cina telah dibuktikan bermanfaat dalam pengobatan dan memiliki kandungan kimia tanin, saponin dan alkaloid yang mempunyai daya antibakteri yang kuat8. Ekstrak daun teh mempunyai kandungan quertin, epigallocathecin gallate poliphenol yang diduga mempunyai efek antibakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri⁹. Dalam daun jambu biji terkandung senyawa polifenol, karoten, flavonoid, saponin dan tanin. Daun jambu biji memiliki khasiat sebagai anti inflamasi,

antimutagenik, antimikroba dan analgesik¹⁰. Pada ekstrak daun binahong ditemukan senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid yang pada konsentrasi 25% dan 50% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*¹¹. Kandungan metabolit sekunder pada daun leunca seperti Solasodine mempunyai efek menghilangkan sakit (analgetik), penurunan panas, antiradang, dan antishok. Solamargine dan solasonine mempunyai efek antibakteri, sedangkan solanine sebagai antimitosis¹².

Pada penggunaannya obat jerawat yang ada di pasaran memiliki efek samping yang lebih besar daripada obat jerawat yang berasal dari alam¹³, misalnya efek samping yang diakibatkan dari antibiotik yang digunakan pada produk anti jerawat yang ada di pasaran yaitu reaksi alergi yang diakibatkan oleh antibiotik dengan melibatkan sistem imun tubuh hospes. Selain itu efek samping yang ditimbulkan yaitu reaksi hipersensitifitas⁶, adanya ketergantungan obat yang terjadi karena interaksi suatu obat dengan organisme hidup⁷, ada suatu senyawa yaitu *Isotretinoin* yang digunakan untuk mengobati jerawat yang berat¹³, psoriasis dan kelainan kulit lainnya bisa menyebabkan cacat bawaan¹⁴. Yang paling sering terjadi adalah kelainan jantung, telinga yang kecil dan hidrosefalus (kepala yang besar)¹⁵. Resiko terjadinya cacat bawaan adalah sebesar 25%16. Obat jerawat yang beredar dipasaran memiliki efek samping yang lebih besar¹⁷.

Pengujian konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bakterisidal minimum dari ekstrak etanol tumbuh-tumbuhan yang sudah dijelaskan di atas dilakukan untuk mengetahui jenis tumbuhan mana yang memiliki aktivitas antibakteri lebih besar terhadap bakteri penyebab jerawat. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Metode

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun petai cina (*L. leucocephala*), teh (*C. sinensis*), jambu biji (*P. guajava* L), binahong (*A. cordifolia* (Ten.) Steenis) dan leunca (*S. nigrum* L) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi dengan serangkaian seri pengenceran ekstrak etanol tanaman uji pada media yang kemudian diinokulasi dengan bakteri. Dilakukan juga pengujian kesetaraan aktivitas zat uji dengan antibiotik pembanding,yaitu Tetrasiklin hidroklorida, Kloramfenikol dan Amoksisilin.

Alat

Alat yang digunakan antara lain autoklave, corong, pipet tetes, mikro pipet, pembakar spirtus, cawan petri, mikrotiter plate, tabung reaksi, pinset, gelas ukur, gelas kimia, erlenmeyer, kawat ose, inkubator, batang pengaduk, termometer, spatel, kompor listrik, perforator, neraca analitik, alumunium foil, kapas non lemak, botol infus, jangka sorong, spektrometer, vial dan alat-alat gelas lain yang biasa digunakan dalam Laboratorium Mikrobiologi.

Bahan

Tanaman Uji yang digunakan adalah daun petai cina (*L. leucocephala*), teh (*C. sinensis*), jambu biji (*P. guajava* L), binahong (*A. cordifolia* (Ten.) Steenis) dan leunca (*S. nigrum* L).

Bahan Kimia yang digunakan adalah NaCl Fisiologis, air suling steril dan media yang digunakan yaitu Nutrient Agar (NA), Mueller Hinton Broth (MHB) serta Antibiotik pembanding yaitu Tetrasiklin hidroklorida, Kloramfenikol dan Amoksisilin.

Bakteri Uji yang digunakan antara lain *Staphylococcus epidermidis*.

Prosedur

1. Sterilisasi Alat

Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu disterilkan melalui proses sterilisasi yang terdiri dari sterilisasi kering dengan api langsung dan oven pemanas dan sterilisasi basah dengan menggunakan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit ¹⁸.

2. Pembuatan Media Agar

Sebanyak 23 gram serbuk agar dilarutkan dalam air suling steril sebanyak 1 liter, kemudian dipanaskan hingga larut dalam labu erlenmeyer. Mulut labu erlenmeyer disumbat menggunakan kapas berlemak dan ditutup oleh aluminium foil lalu disterilisasikan dengan autoklave pada suhu 1210C selama 15 menit¹⁹.

3. Pembuatan Larutan Stok

Dilarutkan 100 mg tiap sampel dalam 1 ml DMSO 100% (100 mg/ml). Untuk mendapatkan konsentrasi larutan sampel 1 mg atau 1000 μg dilakukan pengenceran dari 100 mg/ml, 10 kalinya menjadi 10 mg/ml setelah itu dilakukan pengenceran kembali menjadi 10 kalinya menjadi 1 mg/ml atau 1000 μg/ml²⁰.

4. Pembuatan Stok Bakteri

Dalam membuat stok bakteri ini digunakan inokulum standar yaitu stok bakteri 10⁸ CFU/ml sama dengan 0,5 McFarland standard²¹.

5. Uji Kepekaan

Uji Kepekaan Antimikroba menggunakan Metode Agar: dicampurkan nutrien agar dengan bakteri, dimasukan kedalam cawan petri, didiamkan sampai media memadat. Pada media tersebut buat sumur dengan perforator, dimasukan 50 μl larutan stok pada sumur tersebut, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C, dilihat hasil dan ukur diameter hambatnya¹⁷. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel .3

Uji Kepekaan dengan Metode Microdillution broth, metode ini menggunakan standar yang terdapat di CLSI M7-A6 guidelines. Dicampurkan

Tabel 1 Hasil Penapisan Senyawa Kimia Senyawa Uji

No	Parameter	Hasil Pengamatan					
		Petai Cina	Teh	Binahong	Jambu Biji	Leunca	
1	Alkaloid	+	+	-	+	+	
2	Flavonoid	+	+	+	+	-	
3	Saponin	+	+	+	+	-	
4	Tanin	+	+	-	+	-	
5	Kuinon	-	+	-	+	+	
6	Steroid/Triterpenoid	-	+	+	+	+	

Keterangan:

(+): Terdeteksi, (-): Tidak terdeteksi

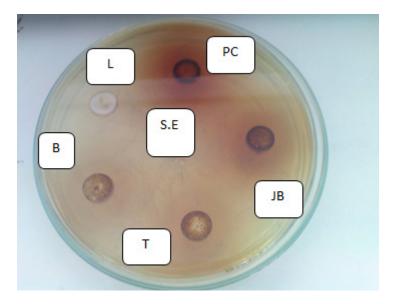
larutan sampel dalam medium Mueller hinton broth (MHB) yang mengandung 5 x 10⁵ CFU/ml koloni, disiapkan mikrotiter plate yang terdiri dari 96 sumur atau 12 kolom dan 8 baris, kolom 1 diisi dengan media saja (MHB) sebagai kontrol negatif sebanyak 100 µl., kolom 2-12 diisi dengan MHB dan bakteri sebagai kontrol positif sebanyak 100 µl yang diambil dari stok bakteri dan MHB yang telah dicampurkan sebelumnya. Homogenkan. Jadi tiap sumur terdapat 5 x 10⁴ CFU/ml koloni. Pada kolom 12, baris 1 sampai 5 diisi dengan sampel yang berbeda dan baris 6 sampai 8 diisi dengan antibiotik yang berbeda juga masing-masing sebanyak 100 μl dan dihomogenkan, dari kolom 12 tersebut, diambil sebanyak 100 µl dan masukan kedalam kolom 11. dari kolom 11 diambil sebanyak 100 µl dan masukan kedalam

kolom 10 begitu seterusnya sampai kolom 318. Dari kolom 3, diambil sebanyak 100 μl dan dibuang. diinkubasikan mikrotiter plate pada suhu 37°C selama 18-24 jam, dilihat apakah hasilnya bening atau ada endapan, jika pada sumur 4 bening sedangkan pada well 1,2 dan 3 ada endapan, maka pada sumur 4 menunjukan nilai KHM. Karena sumur 4 – 12 berwarna bening maka dari sumur 4 -12 diambil (di droping) sebanyak 20 μl. Masukan ke cawan petri yang berisi Nutrien Agar (NA), diinkubasi cawan petri tersebut pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Jika tidak ada pertumbuhan maka disebut KBM.

Misal: nilai KHM pada sumur 4, maka yang di drop yaitu sumur 4-12, setelah di drop ternyata pada sumur 5 ada pertumbuhan sedangkan sumur 6-12 tidak ada maka nilai KBM yaitu pada sumur 6.

Tabel 2 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Uji

	Pemeriksaan	Kadar Tanaman Uji (100%)						
No		Jambu Biji	Petai Cina	Teh	Binahong	Leunca		
1	Kadar abu total	8,5	8,2	4,64	23,8	12,0		
2	Kadar abu larut air	2,59	2,1	1,4	4,7	5,4		
3	Kadar abu tidak larut asam	0,07	0,73	0,02	2,1	4,1		
4	Kadar sari larut air	10,3	4,25	11,6	5,2	6,5		
5	Kadar sari larut etanol	12,4	11,28	15,5	19,8	11,7		
6	Kadar air	8,0	8,4	6,5	8	8,5		
7	Susut pengeringan	11,0	10,6	10	13	9,6		



Gambar IV.6 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman leunca (Solanum nigrum L), teh (Camellia sinensis), binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis), petai cina (Leucaena leucocephala) dan jambu biji (Psidium guajava L) terhadap S. epidermidis

Keterangan:

T: teh, B: binahong, PC: petai cina, JB: jambu biji, L: leunca; masing-masing tanaman dengan konsentrasi 100 mg/ml

Hasil dan Pembahasan

Hasil penapisan fitokimia menunjukan bahwa kelima tanaman positif mengandung alkaloid. Flavonoid ditemukan pada petai cina, teh, binahong dan jambu biji. Pada leunca tidak ada flavonoid. Saponin ditemukan pada petai cina, teh, binahong dan jambu biji. Pada leunca tidak ada saponin. Tanin ditemukan pada petai cina, teh dan jambu biji. Binahong dan leunca tidak mengandung tanin. Kuinon dan steroid/triterpenoid ditemukan pada teh, binahong, jambu biji dan leuca. Pada petai cina tidak ditemukan kuinon dan steroid/triterpenoid.

Pengujian aktivitas ekstrak etanol tanaman terhadap Staphylococcus epidermidis menunjukan bahwa kelima ekstrak etanol uji dengan konsentrasi masing-masing sebesar 100 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan Staphylococcus epidermidis. Zona hambat terbesar diberikan oleh ekstrak petai cina dengan zona hambat sebesar 17,33 mm dan zona hambat terkecil diberikan oleh ekstrak leunca dengan zona hambat sebesar 10,34 mm. Hasil Pengujian dapat dilihat pada Tabel.3

Dilihat dari kandungan kimia, petai cina kuinon dan steroid/triterpenoid tapi aktivitas antibakterinya paling besar. Sedangkan pada leunca tidak ditemukan flavonoid, saponin dan tanin, dimana aktivitas antibakterinya paling lemah. Hanya binahong yang tidak memiliki alkaloid tapi memilki aktivitas antibakteri, artinya aktivitas tersebut tidak dipengaruhi oleh kandungan alkaloid, tetapi lebih kepada pengaruh flavonoid, tanin atau

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Tanaman terhadap Staphylococcus epidermidis

No	Ekstrak	Zona Hambat (mm)
1	Leunca	10,34
2	Teh	15,84
3	Binahong	15,65
4	Petai cina	17,33
5	Jambu biji	16,25



Gambar IV.7 Hasil uji konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol tanaman leunca (Solanum nigrum L), teh (Camellia sinensis), binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis), petai cina (Leucaena leucocephala) jambu biji (Psidium guajava L) serta tetrasiklin, kloramfenikol dan amoksisilin terhadap S. epidermidis

Keterangan

A1-H1 (Kontrol Positif): MHB; A2-H2 (Kontrol Negatif): MHB + Bakteri; A,B,C,D,E,F,G,H (3-12): MHB + Bakteri + Sampel uji; A12: Ekstrak Leunca, B12: Ekstrak Teh, C12: Ekstrak Binahong, D12: Ekstrak Petai cina, E12: Ekstrak Jambu Biji, F12: Tetrasiklin, G12: Kloramfenikol, H12: Amoksisilin

saponin.

Pada penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat diketahui bahwa kelima ekstrak etanol uji termasuk pembanding memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dengan nilai KHM yang berbeda. Ekstrak etanol daun leunca, teh, binahong dan jambu biji memiliki nilai KHM yang sama yaitu sebesar 125 μg/ml. Akan tetapi, ekstrak etanol daun petai cina dengan nilai KHM sebesar 62,5 μg/ml memiliki daya hambat

Tabel 4. Hasil Penentuan KHM Ekstrak Etanol Tanaman terhadap *Staphylococcus epidermidis* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun leunca, teh, binahong dan jambu biji. Hasil Pengujian dapat dilihat pada Tabel .4.

Penentuan Konsentrasi Bakterisidal Minimum (KBM) menunjukan bahwa kelima ekstrak etanol uji dan Pembanding memiliki daya bakterisidal terhadap Staphylococcus epidermidis dengan nilai KBM yang berbeda. Ekstrak teh dan jambu biji dengan nilai KBM yang sama

Tabel 5. Hasil Penentuan KBM Ekstrak Etanol Tanaman terhadap *Staphylococcus epidermidis*

No	Sampel	Sumur	Konsentrasi (μg/ml)	No	Sampel	Sumur	Konsentrasi (μg/ml)
1	Leunca	A10	125	1	Leunca	A11	250
2	Teh	B10	125	2	Teh	B10	125
3	Binahong	C10	125	3	Binahong	C12	500
4	Petai cina	D9	62,5	4	Petai cina	D11	250
5	Jambu biji	E10	125	5	Jambu biji	E10	125
6	Tetrasiklin	F7	3,9	6	Tetrasiklin	F8	7,8
7	Kloramfenikol	G7	3,9	7	Kloramfenikol	G9	15,6
8	Amoksisilin	H8	7,8	8	Amoksisilin	H10	31,25

Tabel 6. Kesetaraan Nilai KHM Petai Cina Terhadap Antibiotik

		Tanaman		
No	Antibiotik	Petai Cina (1 bagian konsenrasi ekstrak)		
1	Tetrasiklin	0,062		
2	Kloramfenikol	0,062		
3	Amoksisilin	0,125		

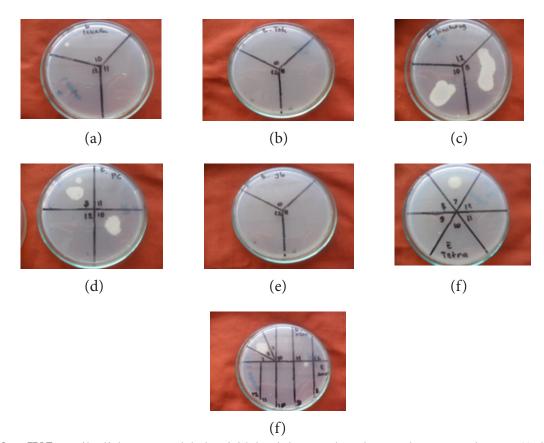
yaitu sebesar 125 μg/ml memiliki daya bakterisidal yang lebih baik terhadap Staphylococcus epidermidis dibandingkan dengan ekstrak uji yang lain.

Bila dilihat dari nilai KHM, petai cina menunjukan aktivitas yang terbaik dibandingkan 4 tanaman yang lain, namun bila dilihat dari nilai KBM, teh dan jambu

Tabel 7. Kesetaraan Nilai KBM Tanaman Terhadap Antibiotik

		Tanaman 1 bagian konsenrasi ekstrak				
No	Antibiotik					
		Teh	Jambu biji			
1	Tetrasiklin	0,06	0,06			
2	Kloramfenikol	0,125	0,125			
3	Amoksisilin	0,25	0,25			

biji menunjukan aktivitas terbaik. Hal ini menunjukan mekanisme dari ektrak petai cina bekerja secara bakeriostatik sedangkan teh dan jambu biji bekerja secara bakterisid. Bila dihubungkan dengan kandungan kimia, pada teh dan jambu biji ini memiliki kuinon dan steroid/triterpenoid, kedua metabolit sekunder ini tidak ditemukan pada petai cina.



Gambar IV.7 Hasil uji konsentrasi bakterisidal minimum ekstrak etanol tanaman leunca (*Solanum nigrum L*), teh (*Camellia sinensis*), binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), petai cina (*Leucaena leucocephala*) jambu biji (*Psidium guajava L*) serta tetrasiklin, kloramfenikol dan amoksisilin terhadap *S. epidermidis*

Keterangan:

Hasil droping: (a) leunca (Solanum nigrum L), (b) teh (Camellia sinensis), (c) binahong (Anredera cordifolia), (d) petai cina (Leucaena leucocephala), (e) jambu biji (Psidium guajava L), (f) tetrasiklin, (g) kloramfenikol dan amoksisilin.

Dengan demikian untuk kerja bakteriostatk senyawa yang berpengaruh adalah flavonoid, tanin dan saponin. Sedangkan untuk kerja bakterisid dipengaruhi oleh kuinon dan steroid/triterpenoid.

Pada penetuan KHM, nilai kesetaraan 1 bagian konsentrasi ekstrak petai cina terhadap tetrasiklin dan kloramfenikol adalah 0,062 sedangkan terhadap amoksisilin adalah sebesar 0,125. Pada penentuan KBM, nilai kesetaraan 1 bagian ekstrak teh dan jambu biji terhadap tetrasiklin adalah 0,062, kloramfenikol 0,125 dan terhadap amoksisilin adalah 0,25.

Bila dilihat dari harga kesetaraan, aktivitas ekstrak kelima tanaman ini masih belum sekuat antibiotik pembanding, hal ini mengingat pada ekstrak efek yang dihasilkan merupakan hasil kerja gabungan dari berbagai senyawa metabolit sekunder, belum berupa zat murni. Untuk pengembangan lebih lanjut perlu adanya upaya mengisolasi senyawa murni untuk uji aktivitas antibakteri.

Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada penentuan aktivitas antibakteri dari kelima tanaman uji, tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar adalah petai cina dengan zona hambat sebesar 17,33 mm. Pada penentuan KHM, petai cina juga memiliki aktivitas antibakteri paling besar dengan nilai KHM 62,5 µg/ml. Penentuan konsentrasi bakterisidal minimum (KBM) menunjukan bahwa tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar adalah teh dan jambu biji dengan nilai KBM yaitu 125 µg/ml.

Pada penetuan KHM, nilai kesetaraan 1 bagian konsentrasi ekstrak petai cina terhadap tetrasiklin dan kloramfenikol adalah 0,062 sedangkan terhadap amoksisilin adalah sebesar 0,125. Pada penentuan KBM, nilai kesetaraan 1 bagian ekstrak teh dan jambu biji terhadap tetrasiklin adalah 0,062, kloramfenikol

0,125 dan terhadap amoksisilin adalah 0,25.

Daftar Pustaka

- 1. Muddathir AM, Mitsunaga T. Evaluation of anti-acne activity of selected Sudanese medicinal plants. *J Wood Sci*. 2013;59(1):73-79. doi:10.1007/s10086-012-1303-5.
- 2. Dreno B. Topical antibacterial therapy for acne vulgaris. *Drugs*. 2004;64(21):2389-2397. doi:10.2165/00003495-200464210-00002.
- 3. Daud FS, Pande G, Joshi M, Pathak R, Wankhede S. A study of antibacterial effect of some selected essential oils and medicinal herbs against acne causing bacteria. *Int J Pharm Sci Invent*. 2013;2(1):27-34.
- 4. Sohn HY, Kim YS, Kum EJ, Kwon YS, Son KH. Screening of anti-acne activity of natural products against Propionibacterium acnes. *Korean J Microbiol Biotechnol*. 2006;34(3):265-272.
- 5. Tahir CM. Pathogenesis of acne vulgaris: Simplified. J *Pakistan Assoc Dermatologists*. 2010;20(2):93-97. doi:10.1016/j.pmr.2005.12.012.
- 6. Zouboulis CC, Bettoli V. Management of severe acne. *Br J Dermatol*. 2015;172(S1):27-36. doi:10.1111/bid.13639.
- 7. James K a, Burkhart CN, Morrell DS. Emerging drugs for acne. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2009;14(4):649-659. doi:10.1517/14728210903251690.
- 8. Andriana, Ahmad Lani. Uji daya antibakteri ekstrak etanol daun petai cina (leucaena leucocephala l.) Terhadap multidrug resistant acinetobacter baumannii secara in vitro. Medicinal plants infection medicine . Banda Aceh : Universitas Syiah Kuala, 2014.
- 9. Yuwono, aurent Febrilia. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Teh (Camellia sinensis) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus sp. pada Plak Gigi Invitro.

- Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. 2009.
- 10. Indriani, S. Aktifitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) .J.II.Pert.Indon,11(1). 2006.
- 11. Ainurrochma, A., Evie, R., Lisa, L. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Shigella flexneri dengan Metode Sumuran. *LenteraBio*. 2013; 3(2): 233-237.
- 12. Parameswari.K, Sudheer Aluru and Kishori. B. In Vitro Antibacterial Activity In The Extracts Of Solanum Nigrum. *Indian Streams Research Journal*. 2012; 2(7): 1-5.
- 13. Wolverton SE, Harper JC. Important controversies associated with isotretinoin therapy for acne. *Am J Clin Dermatol*. 2013;14(2):71-76. doi:10.1007/s40257-013-0014-z.
- 14. El-Shahawy MA, Gadallah MF, Massry, SG, M.A.E-S, M.F.G, S.G.M. Acne: A potential side effect of cyclosporine A therapy. *Nephron*. 1996; 72(4): 679-682.
- 15. Tripathi S V, Gustafson CJ, Huang KE, Feldman SR. Side effects of common acne treatments. *Expert Opin Drug Saf.* 2013;12:39-51. doi:10.1517/14740338. 2013.740456.
- 16. L.F. E, a.C. K, C. P, et al. Evidence-based recommendations for the diagnosis and

- treatment of pediatric acne. *Pediatrics*. 2013;131:S163-S186. doi:10.1542/peds.2013-0490B.
- 17. Williams HC, Dellavalle RP, Garner S. Acne vulgaris. *Lancet*. 2012;379(9813):361-372. doi:10.1016/S0140-6736(11)60321-8.
- 18. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL, Piracicaba UM De. Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-. *Brazilian J Microbiol.* 2000;31:247-256. doi:10.1590/S1517-83822000000400003.
- 19. Kurniawati PT, Soetjipto H, Limantara L. ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF BIXIN PIGMENT FROM ANNATTO (Bixa orellana L.) SEEDS. *Indones J Chem.* 2010;7(1):88-92. http://pdmmipa.ugm.ac.id/ojs/index.php/ijc/article/view/281.
- 20. Bhalodia NR, Nariya PB, Shukla VJ. Antibacterial and antifungal activity from flower extracts of Cassia fistula L.: An ethnomedicinal plant. *Int J PharmTech Res.* 2011;3(1):160-168. doi:10.1016/j.jep.2007.04.008.
- 21. Mould FL, Kliem KE, Morgan R, Mauricio RM. In vitro microbial inoculum: A review of its function and properties. *Anim Feed Sci Technol.* 2005;123-124 Part 1:31-50. doi:10.1016/j.anifeedsci.2005.04.028.