

**EFEKTIVITAS EKSTRAK KAPANG ENDOFIT ISOLAT BR-S<sub>1</sub> (A) TERHADAP BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

**Kurniawan<sup>1,\*</sup> and Nuniek Ina Ratnaningtyas<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Medical Laboratory Technology Study Program (Undergraduate) of Universitas Muhammadiyah Purwokerto

<sup>2</sup>Biology Study Program (Undergraduate) of Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto  
\*email: kurniawan@ump.ac.id

**Abstract**

**Background** Tea parasitic plant (*Scurrula oortiana* L.) is one of medicinal plants (herbamedicina) containing several active compounds but its utilization is still constrained by some problems, so that there needs other approaches by utilizing potential of BR-S<sub>1</sub> (A) isolate endophytic fungi which grows in these plants to control MRSA pathogenic bacteria.

**Objective** This research aimed to examine the effectiveness of the four types of BR-S<sub>1</sub> (A) endophytic fungi extract from the origin of tea parasites to the growth of MRSA bacteria.

**Methods** The researchers used laboratory experimental method by Kirby Bauer disk diffusion method and the data obtained were analyzed statistically.

**Result** The research result showed that MRSA bacteria had various sensitivity on four types of BR-S<sub>1</sub> (A) isolate endophytic fungi; with its highest sensitivity on extract of ethyl acetate and its lowest sensitivity was extract of n-hexane (no inhibition). The difference of sensitivity test results was suspected to be related to active compound content found in ethyl acetate extract in form of flavonoid and tannin class compounds which had been proven to inhibit growth of pathogenic bacteria.

**Conclusion** It can be concluded that the four types of BR-S<sub>1</sub> (A) endophytic fungus extract originating from tea parasites, only ethyl acetate extract was the most effective in inhibiting the growth of MRSA bacteria, this is due to the content of two active compounds from the flavonoid and tannin groups.

**Keywords:** ,endophytic fungus extract, tea parasitic plant, MRSA bacteria

**PENDAHULUAN**

Tumbuhan benalu teh (*Scurrula oortiana* L.) merupakan salah satu jenis tumbuhan obat (*herba medicinal*) yang mengandung beberapa senyawa aktif seperti golongan flavonoid, alkaloid, glikosida, triterpen, saponin, dan tanin<sup>1</sup>. Namun dalam pemanfaatannya masih terkendala oleh ketersediaannya di alam yang terbatas dan

proses ekstraksinya yang relatif sulit dan kompleks.

Berkaitan dengan hal tersebut di atas, maka perlu ada pendekatan lain dengan memanfaatkan kapang endofit yang hidup pada tanaman benalu teh. Kapang endofit merupakan kapang yang seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya dihabiskan dengan mengkolonisasi jaringan yang sehat dari tumbuhan inang baik secara interseluler

maupun intraseluler tanpa menyebabkan penyakit dengan gejala yang nyata<sup>2</sup>.

Kapang endofit memiliki potensi yang sangat besar terkait dengan kemampuannya dalam menghasilkan berbagai senyawa aktif seperti senyawa antimikroba, antiimunopresif, antidiabetik, antikanker, antiinsektisidal, dan antiviral dalam kisaran yang luas. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh kapang endofit telah banyak dimanfaatkan dalam praktik pengobatan untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Bakteri patogen *Methicillin-Resistants Saphylococcus aureus* (MRSA) merupakan salah satu jenis bakteri patogen yang telah menjadi perhatian utama karena memiliki ketahanan atau resistensi terhadap kelompok antibiotik beta laktam. Penyebaran yang semakin luas dari bakteri ini telah menimbulkan kekhawatiran dan ketakutan pada masyarakat luas sehingga diperlukan suatu cara atau strategi khusus dengan memanfaatkan potensi yang dimiliki oleh kapang endofit tumbuhan benalu teh dalam menghasilkan senyawa antimikroba.

Isolat BR-S<sub>1</sub> (A) merupakan salah satu jenis kapang endofit yang diperoleh dari bagian batang tanaman benalu teh dan berdasarkan hasil identifikasi termasuk dalam spesies *Helicodendron* sp. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak kasar dari kapang endofit isolat BR-

S<sub>1</sub> (A) ini mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen yang tidak resisten terhadap antibiotik. Bagaimana ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen MRSA itu belum ada informasinya sehingga perlu untuk dipelajari atau diteliti terlebih dahulu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keefektifan keempat jenis ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) asal tumbuhan benalu teh terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini menyatakan bahwa bakteri MRSA sensitif terhadap ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) asal tumbuhan benalu teh.

## METODE

Sampel tumbuhan benalu teh (*S. oortiana* L.) diperoleh dari perkebunan milik Pemerintah dan juga milik masyarakat di Dusun Purwodadi, Desa Cendana, Kecamatan Kutasari, Kabupaten Purbalingga Jawa Tengah. Kultur murni bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi UNSOED.

### a Kultivasi Skala Mikro Kapang Endofit Isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

Kultur murni kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) pertama-tama ditumbuhkan pada medium PDA cawan dan diinkubasi

selama 7-14 hari pada suhu ruang. Medium PDA cawan yang telah ditumbuhi oleh kapang endofit tersebut kemudian dicuplik sebanyak 3 kali menggunakan bor gabus berdiameter 0,5 cm untuk diinokulasikan ke dalam 200 ml medium PDB steril. Medium PDB tersebut selanjutnya diinkubasi dengan cara diagitasi menggunakan *rotary shaker* pada kecepatan  $\pm 100$  rpm selama 14 hari pada suhu ruang.

**b Seleksi Awal (Screening) Kemampuan Kapang Endofit Isolat BR-S1 (A) dalam Menghasilkan Senyawa Antimikroba**

Disiapkan medium PCA cawan yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan 1 ml bakteri MRSA *overnight* dan dibiarkan sampai memadat. Ke atas medium tersebut selanjutnya diletakkan sebanyak 5 buah kertas cakram steril berdiameter 6 mm yang masing-masing ditetesi dengan 20  $\mu$ l filtrat kapang endofit (3 kertas cakram), akuades steril (1 kertas cakram), dan antibiotik kloramfenikol (1 kertas cakram) dengan konsentrasi 25 mg/ml. Medium PCA cawan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1-2 x 24 jam dan diamati ada tidaknya zona hambat (zona bening) yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk selanjutnya diukur diameternya menggunakan jangka sorong dan begitu juga dengan diameter kertas cakram yang

digunakan. Berdasarkan data diameter tersebut dilakukan penghitungan luas zona hambat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$L_{zhaw} : \pi \cdot r_a^2 \qquad L_{kc} : \pi \cdot r_b^2$$
$$L_{zhak} : L_{zhaw} - L_{kc}$$

Keterangan:

- $r_a$  : Jari-jari zona hambat (mm)
- $r_b$  : Jari-jari kertas cakram (mm)
- $L_{zhaw}$  : Luas zona hambat awal (mm<sup>2</sup>)
- $L_{kc}$  : Luas kertas cakram (mm<sup>2</sup>)
- $L_{zhak}$  : Luas zona hambat akhir (mm<sup>2</sup>)
- $\pi$  : 3,14

**c Kultivasi Skala Makro Kapang Endofit Isolat BR-S1 (A)**

Kapang endofit hasil seleksi awal selanjutnya diperbanyak dengan cara ditumbuhkan pada beberapa medium PDA cawan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7-14 hari. Setelah medium PDA cawan dipenuhi dengan miselium kapang, medium kemudian dicuplik menggunakan bor gabus dan diinokulasikan (3-5 cuplikan) ke dalam 200 ml medium PDB pada beberapa Erlenmeyer berukuran 250 ml. Medium tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari dengan dilakukan agitasi menggunakan *rotary shaker* berkecepatan  $\pm 100$  rpm.

#### **d Ekstraksi Kapang Endofit Tumbuhan Benalu Teh**

Hasil kultivasi skala makro terlebih dahulu disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh miselium dan filtrat. Miselium yang diperoleh selanjutnya ditimbang dan dikeringkan pada oven bersuhu 50 °C selama 2 x 24 jam. Setelah kering selanjutnya ditimbang dan dibuat ekstrak methanol dengan cara direndam dalam pelarut metanol (1:10 g/v) selama 7-10 hari dan diulang sebanyak 3 kali. Filtrat hasil penyaringan selanjutnya juga diekstraksi secara maserasi menggunakan tiga jenis pelarut organik yang berbeda yaitu n-hexan, etilasetat, dan etanol 96% (1:1 v/v) selama 7-10 hari sambil digojok di atas *rotary shaker* berkecepatan 100 rpm. Ekstraksi diulang sebanyak 3 kali (khusus untuk etanol 96% hanya sekali) dan setiap hasil ekstraksi selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C dengan kecepatan 60 rpm sampai diperoleh ekstrak dalam bentuk pasta.

#### **e Preparasi Bakteri Uji MRSA**

Preparasi inokulum bakteri uji dilakukan dengan metode *Standard Plate Count* (SPC). Diambil sebanyak 1 ml stok bakteri MRSA untuk ditambahkan ke dalam 25 ml medium *Nutrient Broth* (NB) steril dan dishaker pada kecepatan 100

rpm selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C. Dari medium NB ini dilakukan pengenceran sampai tingkat pengenceran  $10^{-7}$  dengan dua pengenceran terakhir dilakukan plating secara duplo menggunakan metode *pour plate* pada medium PCA. Setelah itu medium PCA diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri.

#### **f Uji Sensitivitas Bakteri MRSA Terhadap Ekstrak Kapang Endofit Isolat BR-S<sub>1</sub> (A)**

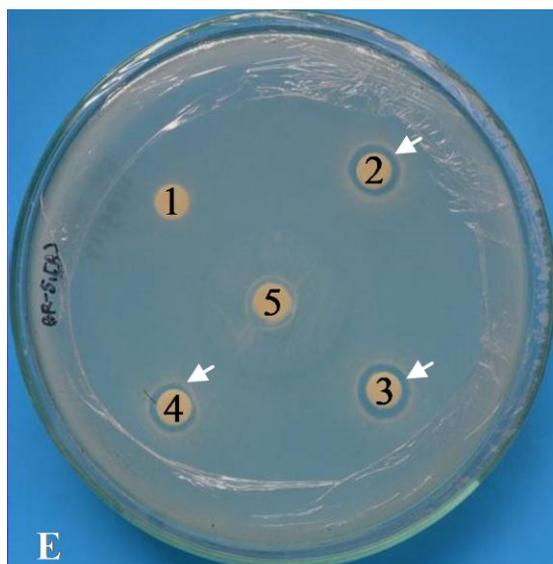
Diambil sebanyak 1 ml suspensi bakteri MRSA dengan konsentrasi  $10^5$  CFU/ml untuk dicampur dengan 15 ml medium PCA (suhu 40-45 °C) dan dituang ke dalam cawan petri steril. Medium kemudian digerak-gerakkan membentuk angka 8 sehingga suspensi bakteri menjadi homogen dan rata sempurna. Setelah memadat, di atas medium tersebut diletakkan kertas cakram steril berdiameter 6 mm sebanyak 6 buah yang masing-masing ditetesi dengan 20 µl ekstrak n-heksana, etilasetat, etanol 96%, dan metanol (4 kertas cakram), akuades steril sebagai control negatif (1 kertas cakram), dan antibiotik vankomisin sebagai kontrol positif (1 kertas cakram). Medium PCA selanjutnya diinkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 37 °C dan setelah itu diamati ada tidaknya zona

hambat di sekitar kertas cakram. Apabila terbentuk zona hambat, maka dilakukan pengukuran diameter dan penghitungan luas zona hambat menggunakan rumus seperti di atas

### g Analisis Hasil Uji Sensitivitas Bakteri MRSA Terhadap Ekstrak Kapang Endofit Isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

Data hasil uji sensitivitas ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) terhadap bakteri MRSA dianalisis menggunakan metode Analisis Varian (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95 %. Apabila hasil analisis ANOVA menunjukkan hasil yang berbeda nyata, maka analisis dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95 %.

## HASIL DAN PEMBAHASAN



**Gambar 1.** Luas zona hambat uji sensitivitas bakteri MRSA terhadap ekstrak kasar kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

Keterangan:

- 1: Kontrol negatif (akuades)
- 2: Ulangan ke-1,
- 3: Ulangan ke-2,
- 4: Ulangan ke-3
- 5: Kontrol positif (kloramfenikol)

Seleksi awal (*screening*) kemampuan kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) dalam menghasilkan senyawa antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi agar. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh data bahwa ekstrak kasar kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang efektif menghambat bakteri MRSA.

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 1 dapat diketahui bahwa ekstrak kasar kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan rerata luas zona hambat mencapai 28,54 mm<sup>2</sup>. Hasil pengujian kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) memiliki ekstrak kasar yang setelah diteteskan di atas kertas cakram dapat terserap sempurna dan tidak ada yang menyebar sehingga zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram juga sangat jelas terlihat.

Ekstrak kasar kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) atau *Helicodendron* sp. mampu menekan pertumbuhan bakteri MRSA dengan rerata luas zona hambat mencapai

**Tabel 1.** Hasil perhitungan luas zona hambat uji sensitivitas bakteri MRSA terhadap ekstrak kasar kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

Luas Zona Hambat (mm <sup>2</sup> )	
U <sub>1</sub>	28,46
U <sub>2</sub>	33,92
U <sub>3</sub>	23,24
K (-)	0
K (+)	0
<b>Jumlah</b>	85,62
<b>Rerata (mm<sup>2</sup>)</b>	28,54

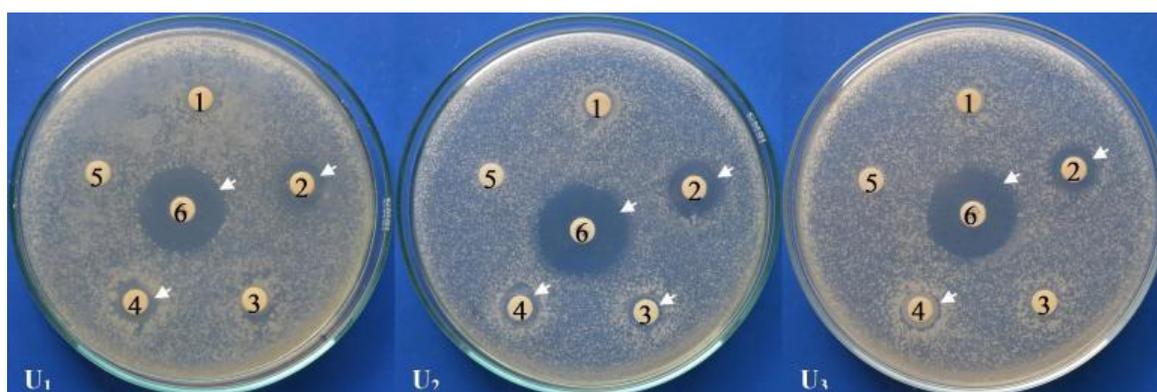
Keterangan:

- U<sub>1</sub>: Ulangan ke-1, U<sub>2</sub>:Ulangan ke-2,  
U<sub>3</sub>: Ulangan ke-3, K (-): Akuades steril  
K (+): Kloramfenikol

28,54 mm<sup>2</sup>. *Helicodendron giganterium* merupakan salah satu anggota genus *Helicodendron* yang memiliki kemampuan menghasilkan 3 tipe senyawa aktif yang dikenal sebagai *heliconol A*, *B*, dan *C*. Senyawa *heliconol A* memiliki fungsi sebagai senyawa antibakteri terhadap *B. subtilis* dan *S. aureus*<sup>3</sup>

kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) dalam menekan pertumbuhan bakteri MRSA menunjukkan hasil yang bervariasi. Data lengkap mengenai keefektifan senyawa antimikroba dari ke-4 jenis ekstrak kapang endofit tersebut disajikan pada Gambar 2 dan Tabel 2.

Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 2



**Gambar 2.** Hasil uji sensitivitas bakteri MRSA terhadap keempat jenis ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

Keterangan: U<sub>1</sub>: Ulangan ke-1, U<sub>2</sub>:Ulangan ke-2, U<sub>3</sub>: Ulangan ke-3,  
1: Ekstrak n-heksana 2: Ekstrak etil asetat 3: Ekstrak etanol 96%  
4: Ekstrak metanol 5: Kontrol (-) 6: Kontrol (+)

Berdasarkan hasil seleksi awal (*screening*) dan uji sensitivitas ekstrak kasar kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) terhadap bakteri MRSA, maka pada tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi kapang endofit ini dengan menggunakan 4 jenis pelarut yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, alkohol 96% dan metanol. Hasil ekstraksi tersebut selanjutnya juga digunakan untuk uji sensitivitas terhadap bakteri MRSA.

Kemampuan senyawa antimikroba yang dihasilkan dari ke-4 jenis ekstrak

tersebut, diketahui bahwa dari ke-4 jenis ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) tersebut, ekstrak etil asetat merupakan ekstrak yang paling efektif dalam menekan pertumbuhan bakteri MRSA yang kemudian diikuti oleh ekstrak metanol, dan etanol 96%. Pengujian ekstrak n-heksana dengan ulangan sebanyak 3 kali menunjukkan hasil yang negatif dalam menekan pertumbuhan bakteri MRSA.

Adanya variasi pada hasil pengujian dari ke-4 jenis ekstrak kapang endofit isolat

**Tabel 2.** Hasil perhitungan luas zona hambat uji sensitivitas bakteri MRSA terhadap keempat jenis ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

No	Jenis Ekstrak	Luas zona hambat(mm <sup>2</sup> )			Jumlah	Rerata(mm <sup>2</sup> )
		U <sub>1</sub>	U <sub>2</sub>	U <sub>3</sub>		
1.	n-heksana	0	0	0	0	0
2.	Etilasetat	55,02	82,9	55,02	192,94	64,31
3.	Etanol 96%	0	0,95	0	0,95	0,31
4.	Metanol	8,038	10,21	39,63	57,87	19,29
5.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0
6.	Kontrol (-)	311,4	376,2	344,8	1032,4	344,13
Keterangan:		U <sub>1</sub> : Ulangan ke-1, K (-): Akuades steril	U <sub>2</sub> :Ulangan ke-2, K (+): Vankomisin	U <sub>3</sub> : Ulangan ke-3, 0 : tidak ada penghambatan		

BR-S<sub>1</sub> (A) tersebut diduga berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam masing-masing ekstrak. Ekstrak etil asetat mampu menekan pertumbuhan bakteri MRSA karena memiliki kandungan senyawa aktif berupa senyawa flavonoid dan tanin (Tabel 3). Kedua senyawa aktif tersebut diduga memiliki kemampuan sebagai senyawa antimikroba yang dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram dengan rerata luas zona hambat mencapai 64,31 mm<sup>2</sup>. Ekstrak etil asetat dari kapang endofit *Lecytophora* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan negatif, hal ini diduga karena adanya kandungan senyawa kimia dengan struktur aromatis, polifenol, atau yang mirip dengan flavonoid<sup>4</sup>. Flavonoid dari tanaman *Euphorbia hirta* lebih efektif dalam menekan pertumbuhan bakteri Gram positif seperti *S. aureus* daripada terhadap bakteri Gram negatif<sup>5</sup>. Senyawa flavonoid dan tanin memiliki aktivitas antimikroba yang menyerang

dinding sel, berkaitan dengan *adhesin*, menghalangi enzim atau merusak membran<sup>6</sup>. Aktivitas antibakteri dari senyawa flavonoid dapat dilakukan melalui beberapa mekanisme yang diantaranya melalui proses penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma, dan penghambatan energi metabolisme<sup>7</sup>. Berbeda dengan senyawa flavonoid yang memiliki beberapa mekanisme antibakteri, senyawa tanin hanya memiliki 1 mekanisme aktivitas antibakteri yaitu melalui pengikatan protein-protein sel yang pada akhirnya akan menghalangi proses sintesis protein di dalam sel<sup>8</sup>.

**Tabel 3.** Hasil uji kualitatif kandungan senyawa aktif keempat jenis ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A)

Jenis ekstrak	Macam Uji Kualitatif			
	Alka-loid	Flavo-noid	Ta-nin	Sapo-nin
n-heksana	-	-	-	-
Etilasetat	-	+	+	-
Etanol 96%	-	-	+	-
Metanol	-	-	-	+

Keterangan : - : tidak terdeteksi  
+ : terdeteksi

Ekstrak metanol dari kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri MRSA meskipun dengan kekuatan yang lebih rendah jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki kandungan senyawa saponin (Tabel 3). Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar maupun nonpolar. Beberapa senyawa aktif yang mampu diikat oleh metanol meliputi senyawa alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid<sup>9</sup>. Saponin memiliki kemampuan sebagai senyawa antimikroba dengan mekanisme penyerangan pada membran sitoplasma sehingga sel akan mengalami kematian<sup>10</sup>

Satu-satunya ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) yang tidak memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri MRSA adalah ekstrak n-heksana. Ketidakmampuan ekstrak n-heksana tersebut diduga disebabkan oleh tidak adanya kandungan senyawa aktif (Tabel 3) atau meskipun terdapat kandungan senyawa aktif, tetapi senyawa aktif tersebut tidak bersifat antimikroba terhadap bakteri MRSA. Pelarut n-heksana termasuk senyawa nonpolar yang umumnya digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri atau terpenoid<sup>11</sup>. Fraksi heksana

merupakan fraksi pelarut yang bersifat nonpolar sehingga senyawa yang diujinya berupa senyawa nonpolar seperti terpenoid, minyak atsiri, lemak dan asam lemak<sup>12</sup>. Minyak atsiri ini sering digunakan sebagai zat tambahan dalam sediaan kosmetik, makanan, rokok, dan sebagainya<sup>13</sup>.

Hasil analisis varian (ANOVA) uji sensitivitas ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) dengan 4 jenis pelarut yang berbeda terhadap bakteri MRSA menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Hasil analisis menunjukkan nilai F hitung sebesar 205,2196, sedangkan nilai F tabel pada tingkat kepercayaan 95% hanya sebesar 3,11 sehingga analisis dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Data hasil uji DMRT menunjukkan bahwa tingkat keefektifan senyawa antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak etil asetat berbeda nyata dengan tingkat keefektifan senyawa antimikroba yang dihasilkan dari ekstrak metanol, etanol 96%, dan n-heksana.

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa dari keempat jenis ekstrak kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) asal tumbuhan benalu teh, hanya ekstrak etil asetat saja yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA, hal ini karena adanya

kandungan dua senyawa aktif dari golongan flavonoid dan tanin.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar dapat diketahui jenis senyawa aktif dari golongan flavonoid dan tanin yang terkandung pada ekstrak etil asetat kapang endofit isolat BR-S<sub>1</sub> (A) asal tumbuhan benalu teh

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Ikawati, M., A.E. Wibowo, N.S.Octa, dan R. Adelina. *Pemanfaatan Benalu Sebagai Antikanker*. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2008.  
[http://ccrcfarmasiugm.files.wordpress.com/2008/06/paper\\_benalu\\_muthi.pdf](http://ccrcfarmasiugm.files.wordpress.com/2008/06/paper_benalu_muthi.pdf). Diakses 5 Januari 2014
2. Elfita, Muharni, Munawar and S., Aryani. Secondary Metabolite from Endophytic Fungi *Aspergillus niger* of the Stem Bark of Kandis Gajah (*Garcinia griffithii*). *Indonesia Journal of Chemistry* 2002, 12 (2): 195-200.
3. Jiao, P. Chemical Investigations of Freshwater and Fungicolous Fungi. *Dissertation*, 2006. University of Iowa. (Unpublished)
4. Sugijanto, N.E., H. Putra., F. Pritayuni., N. Albathaty., dan N.C. Zaini. Daya Antimikroba Ekstrak *Lecythophora* sp., Endofit yang Diisolasi dari *Alyxia reinwardtii*. *Berkala Penelitian Hayati* 2009, 15 : 37-44.
5. Singh, G., and P. Kumar. Phytochemical Study and Screening for Antimicrobial Activity of Flavonoid of *Euphorbia hirta*. *International Journal of Applied and Basic Medical Research* 2013, 3(2): 111-116.
6. Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, and H. Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 2011, 1 (1): 98-106.
7. Cushnie, T.P.T., and A.J. Lamb. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005, 26: 343-356.
8. Lalitha, T.P. and P. Jayanthi. Preliminary Studies on Phytochemicals and Antimicrobial Activity of Solvent Extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Asian Journal of Plant Science and Research* 2012, 2 (2): 115-122.
9. Astarina, N.W.G., K.W. Astuti, dan N.K. Warditiani. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana* 2013, 2 (4): 1-7.
10. Samsumaharto, R.A., dan Y.E. N.I. Sari. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 70 % Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Biomedika* 2011, 4 (1): 36-42.
11. Elya, B., S. Kosela., dan M. Hanafi. 2009. Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak N-heksana Kulit Batang Tanaman *Garcinia benthami*. *Makara Sains* 2009, 13 (1): 9-12.
12. Simbala, H.E.I. 2009. Analisis Senyawa Alkaloid Beberapa Jenis Tumbuhan Obat sebagai Bahan Aktif Fitofarmaka. *Pasific Jurnal* 2009, 1(4): 489-494.
13. Departemen Kesehatan RI. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1985.