

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju *Acanthus ilicifolius* terhadap Bakteri Multi Drug Resistant

Delianis Pringgenies, Willis Ari Setyati, Dwicahyo Setiyo Wibowo dan Ali Djunaedi

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, S.H., Tembalang, Semarang, Jawa Tengah, 50275 Indonesia
Email: pringgenies@yahoo.com

Abstract

Antibacterial Activity of *Acanthus ilicifolius* Extract against Multi Drug Resistant Bacteria

This study aims to determine the antibacterial activity of the Jeruju fraction extract (roots, stems and leaves) against Multi Drug Resistant (MDR) bacteria. Extraction uses the solid-liquid extraction method. Fractionation was done by Thin Layer Chromatography (TLC) and Open Column Chromatography (OCC). The antibacterial activity was tested by the diffusion method for different concentrations. The test bacteria were MDR bacteria: *Klebsiella* sp, Coagulant negative staphylococci (CNS), *Enterobacter 5*, *Enterobacter 10*, *E. Coli* and *Pseudomonas* sp. The activity test results showed the crude extract of the root with ethyl acetate solvent had the highest antibacterial activity. The results of the Open Column Chromatography activity test showed that the fraction I, II and III of the root extracts had antibacterial activity against the test bacteria. Fraction I was active against *Enterobacter 5* with inhibition zones of 10.0 ± 0.34 mm. Fraction II was active against Coagulant negative staphylococci with inhibition zone diameters of 11.80 ± 0.16 mm. Fraction III has the highest antibacterial activity against *Enterobacter 10*, *Klebsiella* sp, *Pseudomonas* sp. dan *E. Coli* successively produce inhibition zones ($13.98\text{mm} \pm 0.58$), ($13.22\text{mm} \pm 0.50$), ($13.15\text{mm} \pm 1.15$) and ($13.10\text{mm} \pm 0.04$) and the highest in and Results the study concluded that root extracts had the highest antibacterial bioactivity compounds compared to stem and leaf extract samples. Furthermore, the MDR antibacterial activity test showed that the sample III fraction had the best inhibitory zone on the best bacteria as an anti-bacterial MDR: *Klebsiella* sp, *Enterobacter 10*, *E. Coli* and *Pseudomonas* sp

Keywords: *Acanthus ilicifolius*; antibacterial; MDR; inhibition zone

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri fraksi ekstrak Jeruju, (akar, batang dan daun) terhadap bakteri Multi Drug Resistant (MDR). Ekstraksi menggunakan metode ekstraksi padat-cair. Fraksinasi dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT). Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar konsentrasi yang berbeda. Bakteri uji adalah bakteri MDR: *Klebsiella* sp, Coagulant negative staphylococci (CNS), *Enterobacter 5*, *Enterobacter 10*, *E. Coli* dan *Pseudomonas* sp. Hasil uji aktifitas antibakteri menunjukkan ekstrak kasar akar dengan pelarut etil asetat memiliki aktifitas antibakteri tertinggi pada semua bakteri uji. Hasil uji aktivitas fraksi Kromatografi Kolom Terbuka memperlihatkan fraksi I, II dan III ekstrak akar memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Fraksi I aktif terhadap *Enterobacter 5* dengan zona hambat $10,0 \pm 0,34$ mm. Fraksi II aktif terhadap Coagulant negative staphylococci dengan diameter zona hambat $11,80 \pm 0,16$ mm. Fraksi III memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi terhadap *Enterobacter 10*, *Klebsiella* sp, *Pseudomonas* sp. dan *E. Coli*. berturut – turut menghasilkan zona hambat ($13,98\text{mm} \pm 0,58$), ($13,22\text{mm} \pm 0,50$), ($13,15\text{mm} \pm 1,15$) dan ($13,10\text{mm} \pm 0,04$) serta tertinggi pada dan Hasil penelitian disimpulkan bahwa ekstrak akar memiliki senyawa bioaktifitas antibakteri

tertinggi dibandingkan sampel ekstrak batang dan daun. Selanjutnya uji aktifitas antibakteri MDR memperlihatkan bahwa sampel fraksi III memiliki zona hambat terbaik pada bakteri terbaik sebagai anti bakteri MDR: *Klebsiella* sp, *Enterobacter 10*, *E. Coli* dan *Pseudomonas* sp.

Kata Kunci : *Acanthus ilicifolius*; antibakteri; MDR; zona hambat

PENDAHULUAN

Mangrove Jeruju *Acanthus ilicifolius* merupakan tanaman yang berbeda bentuknya dibandingkan dengan jenis mangrove lainnya, yaitu pada batang, cabang dan rantingnya dikelilingi oleh duri halus dan tajam serta memiliki bunga serta merupakan salah satu jenis mangrove yang berasosiasi dengan tumbuhan liar. Biasanya tumbuhan ini hidup pada atau dekat mangrove, sangat jarang di daratan. Memiliki kekhasan sebagai herba yang tumbuh rendah dan kuat, yang mempunyai kemampuan secara vegetative karena perakarannya yang berasal dari batang horizontal, sehingga membentuk bagian yang besar dan kukuh. Bunga kemungkinan diserbuki oleh serangga dan burung. Biji tertiuangin, sampai sejauh 2 meter (Noor, dkk.1999). Jeruju diketahui selain sebagai bahan pangan juga berpotensi mengandung senyawa bioaktif. Hal ini dikarenakan beberapa senyawa metabolit baru-baru ini dengan struktur kimia dan tergolong salah satu diversitas dari 'kelas-kelas kimia' telah dikarakterisasi dari tumbuhan mangrove dan tumbuhan asosiasinya. Dari beberapa senyawa metabolit dihasilkan berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Pada *A. ilicifolius* menghasilkan senyawa bioaktif steroid, saponin, flavonoid dan tannin. Menurut Manilal *et al.* (2009) *A. ilicifolius* secara *in vitro* bersifat vibriosidal yang aktif melawan tiga spesies vibrio, yaitu *V. alcaligenes* (8 mm), *V. vulnificus* (9 mm), dan *V. alginolyticus* (10 mm). Perbedaan aktivitas antimikroba antar mangrove dapat dikarenakan adanya perbedaan substansi antimikroba yang ada.

Senyawa antibakteri sebagai salah satu bahan antimikroba memiliki 3 macam bentuk kerja, yaitu bakteristatik, bakterisidal dan bakterilitik. Mekanisme bakteristatik adalah menghambat sintesis protein dengan

mengikat ribosom, sedangkan bakterisidal mencegah pertumbuhan dan menyebabkan kematian, namun tidak menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Berbeda dengan bakterisidal, bakterilitik bekerja dengan cara membuat lisis sel-sel bakteri. Proses lisisnya sel bakteri dapat terlihat dari penurunan jumlah sel ataupun kekeruhan setelah bahan tersebut ditambahkan (Brock dan Madigan, 1991). Sedangkan menurut Siegel *et al.*, (2007) bahwa MDR (*Multi-drug Resistant*) adalah mikroorganisme, umumnya bakteri yang telah resisten terhadap lebih dari satu kelas senyawa antimikroba. Bahaya resistensi antibiotik dapat semakin meningkat sebagai akibat dari pemilihan usaha pengendalian bakteri oleh antibiotik yang digabungkan dengan kemampuan bakteri dalam memilih penyebaran dan kemampuan timbulnya resistensi (Filius *et al.*, 2005). Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktifitas antibakteri dari fraksi ekstrak akar, batang dan daun dari tanaman *A. ilicifolius* terhadap bakteri MDR (multidrug resistant).

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun, batang, akar dari tumbuhan Jeruju *A. ilicifolius*. Materi uji aktifitas antibakteri adalah bakteri MDR meliputi bakteri: *Klebsiella* sp, *Coagulant negative stapylococi (CNS)*, *Enterobacter 5*, *Enterobacter 10*, *E. Coli* dan *Pseudomonas* sp.

Pengambilan sampel *A. ilicifolius* dilakukan dengan metode sampling purposive atau berdasarkan atas adanya tujuan tertentu bukan berdasarkan tempat, random, daerah. Sampel diperoleh dari komunitas mangrove di pantai Teluk Awur Jepara provinsi Jawa Tengah. Sampel Jeruju setelah dibersihkan dari kotoran lumpur kemudian dipisahkan antara daun, batang, dan akar. Selanjutnya dipotong kecil-kecil kurang lebih 2 X 2 cm. Sehingga didapat 500 gram daun basah, 500 gram batang

basah, dan 500 gram akar basah. Sampel kemudian dijemur menggunakan sinar matahari secara tidak langsung. Sampel kering *Jeruju A. ilicifolius* yang dihasilkan adalah 300 gram daun kering, 270 gram batang kering, dan 155 gram akar kering.

Sampel *Jeruju* kering direndam dengan pelarut n-heksan hingga terendam seluruhnya selama 1 x 24 jam. Setelah 24 jam, rendaman disaring sedangkan ampas dipisahkan. Ampas kembali direndam dengan pelarut n-heksan selama 2 jam. Perendaman diulang hingga tidak terjadi perubahan warna atau menjadi jernih. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi padat-cair (solid-liquid) dengan menggunakan *rotavapour* sebagai alat untuk melakukan ekstraksi (Pavia *et al.*, 1995). Setelah itu disaring dengan kertas saring. Sedangkan filtratnya dievaporasi dengan *rotavapour* pada suhu 45 °C. Ekstrak dipindahkan dari *erlenmeyer flask* ke dalam botol *vial*, kemudian dikeringkan lagi dengan *rotavapour* (Burgess *et al.*, 2003). Selanjutnya ampas direndam kembali dengan etil asetat dan metanol secara berurutan dengan cara yang sama seperti perlakuan pada pelarut n-heksan.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Nutrien Agar dan Nutrien Broth. Media Nutrien Agar dalam penelitian digunakan untuk membuat agar miring dalam *fresh culture* dan penyimpanan isolat. Selain itu juga digunakan sebagai media uji sensitivitas antibakteri. Media Nutrien Agar dibuat dengan cara mencampurkan 2,2 gram NA dan aquades sebanyak 100 mL sedangkan media Nutrien Broth digunakan sebagai media kultur bakteri uji. Media Nutrien Broth dibuat dengan cara mencampurkan 0,25 gram pepton, 0,05 gram yeast, dan aquades sebanyak 100 mL. Masing-masing larutan media tersebut dihomogenkan menggunakan stirrer hot plate sambil diaduk hingga mendidih. Larutan kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah dikeluarkan dari autoclave, Nutrien Agar dituangkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat, sedangkan Larutan Nutrien Broth dituang ke dalam tabung reaksi.

Uji kontrol positif dilakukan dengan menggunakan antibiotik *Streptomisin* yang diujikan terhadap bakteri uji dengan konsentrasi 80 µg/disk. Hal ini bertujuan untuk mengetahui adanya diameter zona hambatan yang terbentuk oleh antibiotik *Streptomisin*. Antibiotik kemudian diteteskan diatas kertas cakram pada media agar yang telah ditanami bakteri uji. Pengamatan zona hambatan dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam, ukur diameter zona hambat yang terbentuk. Uji kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan ketiga pelarut yakni; n-hexane, etil asetat, dan metanol terhadap bakteri uji. Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut dalam pembentukan diameter zona hambatan.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Jeruju* terhadap bakteri uji dilakukan dengan menggunakan 0,1 gram ekstrak kasar. Kemudian ekstrak kasar sebanyak 0,1 gram diencerkan untuk dibuat larutan stok dengan konsentrasi 80 µg/µl. Pasang paperdisk pada media uji. Hasil pengenceran dengan konsentrasi 5 µg/disk, 10 µg/disk, 20 µg/disk, 40 µg/disk, dan 80 µg/disk diteteskan dengan mikropipet sebanyak 10 µg/µl pada paperdisk. Kemudian media uji disimpan dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam median diamati dan diukur diameter zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambat yang terbentuk berupa zona bening yang terbentuk disekitar paperdisk atau zona yang tidak ditumbuhi bakteri.

Analisis KLT dilakukan dengan menggunakan fasa diam berupa silika gel dan fasa gerak berupa etil asetat, atau campuran etil asetat dengan metanol, atau campuran etil asetat dengan n-hexane dalam berbagai perbandingan. KLT dilakukan dengan tujuan mencari pelarut yang cocok untuk memisahkan senyawa dalam ekstrak (Kristanti *dkk*, 2008). KLT dilakukan dengan Plat dipotong-potong dengan ukuran panjang 5 cm dan lebar 1 cm (Gandjar dan Rohman, 2007). Pada salah satu ujung dibuat garis-garis dengan jarak 0,5 cm sebagai titik awal sedangkan, pada ujung yang lain dibuat garis sebagai titik akhir. Ekstrak sampel ditotolkan pada pelat KLT dengan menggunakan pipet kapiler.

Setelah itu pelat dimasukkan kedalam gelas beaker yang berisi fase gerak, tetapi spot jangan sampai terendam dalam eluen, kemudian gelas beaker ditutup rapat sampai eluen mencapai titik akhir. Pelat diangkat dan dikeringkan. Noda atau spot yang terbentuk dilihat menggunakan sinar UV (Stahl, 1985). Diamatai noda yang terbentuk dan dicatat nilai Rf nya. Proses diatas diulangi dengan variasi perbandingan volume eluen yang berbeda sehingga Rf yang dihasilkan memiliki variasi yang banyak.

Kromatografi Kolom Terbuka bertujuan untuk memisahkan (fraksinasi) komponen-komponen ekstrak berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi ekstrak dari masing-masing bagian mangrove dilakukan dengan prosedur menurut Harborne (1987) menggunakan kromatografi lapis tipis silika gel dan kolom kromatografi (Subagiyo *et al.*, 2005). Eluen yang digunakan adalah campuran etil asetat dan n-heksan (2 : 1). Rendam silika gel G₆₀ (adsorben) sebanyak 25 g kedalam gelas beker berisi eluen sampai semua terendam, diaduk sampai homogen dan dibiarkan selama 2 jam.

Kolom terlebih dahulu dikeringkan sebelum digunakan, kemudian kapas dimasukkan kedalam dasar kolom hingga rata dan padat, kemudian letakkan kertas saring diatasnya. Adsorben dimasukkan ke dalam kolom secara perlahan-lahan sehingga adsorben benar-benar mampat dan lapisan adsorben rata tidak terdapat gelembung udara. Tutup rapat bagian atas kolom dengan alumunium foil. Kemudian biarkan selama 24 jam hingga adsorben memadat. Adsorben dijaga agar tetap terendam eluen.

Ekstrak etil asetat sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam gelas beker, beri sedikit pelarut, kemudian tambahkan sedikit demi sedikit adsorben sebanyak 5 g. Setelah adsorben memadat, letakkan kertas saring pada bagian atas adsorben. Kemudian isi kolom dengan ekstrak, usahakan agar tetap terendam eluen. Elusi ekstrak dengan menambahkan eluen dengan kecepatan 1 tetes/detik. Kran di bagian bawah kolom dibuka agar pelarut dapat keluar secara perlahan, kecepatan aliran sama dengan

kecepatan penambahan eluen. Eluat ditampung dalam vial masing-masing sebanyak 15-20 ml. Fraksinasi dihentikan jika eluat yang ditampung sudah tidak berwarna. Tiap vial dianalisis dengan KLT. Vial yang menunjukkan pola spot yang sama lalu dikelompokkan dalam satu fraksi kemudian pelarutnya diuapkan menggunakan rotavapour.

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar atau metode cakram (agar disc-diffusion method) menurut prinsip Kirby-Bauer. Prinsip dari metode ini adalah penghambatan pertumbuhan mikroorganisme yang diketahui dari daerah sekitar paper disk yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh terbentuknya zona penghambatan pertumbuhan mikroorganisme disekitar cakram (Volk dan Wheeler, 1990). Kemudian diameter zona hambat diukur tiap 24 jam, selama 3 x 24 jam dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi sampel Jeruju daun memperlihatkan hasil ekstraksi berwarna hijau kehitaman. Hasil ekstraksi daun menunjukkan pelarut metanol lebih banyak menghasilkan ekstrak, yaitu 12.46 gram, sedangkan yang paling sedikit dihasilkan dengan 5.92 gram adalah dari pelarut n-heksan. Hasil ekstraksi batang menunjukkan pelarut metanol lebih banyak menghasilkan ekstrak, yaitu 10.89 gram, sedangkan yang paling sedikit dihasilkan dengan 3.58 gram adalah dari pelarut n-heksan. Hasil ekstraksi akar menunjukkan pelarut metanol lebih banyak menghasilkan ekstrak, yaitu 6.76 gram, sedangkan yang paling sedikit dihasilkan dengan 1.73 gram adalah dari pelarut etil asetat. Uji kontrol positif dilakukan untuk mengetahui kebenaran adanya diameter zona hambatan yang terbentuk oleh antibiotik komersial. Pada uji kontrol positif ini antibiotik yang digunakan adalah *amoxicillin* dan *streptomycin*.

Hasil uji *amoxicillin* terhadap bakteri uji menunjukkan tidak adanya zona hambat terhadap bakteri uji, sedangkan pada uji *streptomisin* menunjukkan adanya zona

hambat terhadap bakteri uji. Aktivitas streptomisin paling tinggi adalah pada bakteri *Pseudomonas sp.*, sedangkan aktivitas Streptomisin terendah adalah terhadap bakteri CNS.

Uji kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pelarut n-hexane, etil asetat, dan metanol dalam pembentukan zona hambatan terhadap bakteri uji. Apabila kontrol negatif mengalami pembentukan diameter zona hambatan maka hasil pengukuran diameter zona hambatan pada perlakuan dikurangi dengan diameter zona hambatan dari pelarut tersebut.

Hasil uji pelarut menunjukkan bahwa uji pengaruh pelarut n-hexane, etil asetat, dan metanol terhadap bakteri uji yaitu bakteri *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, CNS, *Enterobacter 5*, *10* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Uji kualitatif aktivitas antibakteri ekstrak *Acanthus ilicifolius* dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar sebanyak 0,1 gram yang diujikan terhadap bakteri uji yaitu bakteri *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, CNS, *Enterobacter 5*, *Enterobacter 10*.

Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun, batang, dan akar *Acanthus ilicifolius* dengan pelarut n-hexane tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada semua jenis bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat terlihat pada ekstrak akar kasar *Acanthus ilicifolius* dengan pelarut etil asetat untuk semua jenis bakteri uji menunjukkan hasil yang terbesar. Dua bakteri dengan diameter zona hambatan terbesar terdapat pada bakteri *Enterobacter 10* dan *Pseudomonas sp.*, masing-masing 14.93 mm dan 15.76 mm. Kemudian ekstrak kasar akar *Acanthus ilicifolius* akan digunakan pada uji sensitivitas bakteri terhadap fraksi ekstrak.

Berdasarkan hasil KLT di atas diketahui bahwa perbandingan pelarut yang optimal memisahkan komponen-komponen adalah perbandingan antara etil asetat : n-hexane dengan perbandingan 2 : 1 yang menunjukkan jumlah noda paling banyak yaitu 5 noda dengan nilai Rf adalah 0.30, 0.41, 0.57, 0.68, dan 0.79. Selanjutnya

perbandingan pelarut tersebut digunakan sebagai pelarut dalam analisis Kromatografi Kolom Terbuka.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa jumlah noda tertinggi (3 noda) terdapat pada fraksi II dengan berat tertinggi yaitu 0,3863 g dan fraksi III dengan berat fraksi terkecil yaitu 0,1078 g. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari Kromatografi Kolom Terbuka diuji kembali untuk mengetahui fraksi yang paling aktif terhadap bakteri uji. Fraksi meliputi perlakuan fraksi I-V dengan konsentrasi masing 5, 10, 20, 40 dan 80 ($\mu\text{g/disk}$) dan kontrol (80 $\mu\text{g/disk}$) dalam waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Hasil uji aktivitas fraksi-fraksi terhadap bakteri uji ditunjukkan pada Tabel. 1. Pada uji Kromatografi Kolom Terbuka (KKT) terhadap bakteri *Klebsiella sp.* Fraksi I-V menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada fraksi III dengan konsentrasi 80 $\mu\text{g/disk}$ yaitu 13.22 ± 0.50 dalam waktu 24 jam. Secara umum penambahan konsentrasi, yaitu 5, 10, 20, 40 dan 80 ($\mu\text{g/disk}$) pada bakteri uji *Klebsiella sp.* memperlihatkan hasil bahwa tidak pengaruh terhadap besaran zona hambat. Hasil uji aktivitas fraksi I-V terhadap bakteri CNS ditunjukkan pada Tabel 2. Nilai tertinggi fraksi I-V terdapat pada fraksi I konsentrasi 20 $\mu\text{g/disk}$ yaitu 11.70 ± 0.36 dalam waktu 72 jam dan fraksi II konsentrasi 40 $\mu\text{g/disk}$ yaitu 11.80 ± 0.16 dalam waktu 24 jam. Diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi fraksi mengalami penurunan pada pengamatan 24 jam hingga 72 jam.

Uji aktivitas fraksi I-V terhadap bakteri *Enterobacter 5* ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil tertinggi terdapat pada fraksi I dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g/disk}$ yaitu 10.02 ± 0.34 dalam waktu 24 jam. Pada masing-masing konsentrasi pada fraksi I-V terhadap *Enterobacter 5* mengalami penurunan besaran zona hambat pada pengamatan 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Hasil uji aktivitas fraksi I-V terhadap bakteri *Enterobacter 10* ditunjukkan pada Tabel 4. Besaran zona hambat tertinggi terdapat pada fraksi III dengan konsentrasi 5 $\mu\text{g/disk}$ dalam pengamatan 24 jam yaitu 13.98 ± 0.58 . Penambahan konsentrasi pada masing-masing fraksi tidak mempengaruhi besaran zona hambat. Besaran zona hambat dari

Tabel 1. Aktivitas Antibakteri Fraksi I - V terhadap *Klebsiella*

Fraksi	Konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
I	5	10.73	±	0.14	9.83	±	1.24	8.56	±	0.15
	10	10.45	±	0.40	10.11	±	0.73	8.65	±	0.25
	20	12.20	±	1.23	11.34	±	1.32	7.84	±	0.50
	40	8.70	±	0.43	8.04	±	0.01	7.85	±	0.13
	80	10.70	±	0.52	8.50	±	0.15	7.94	±	0.12
	K	8.01	±	0.20	7.55	±	0.12	7.24	±	0.26
II	5	10.40	±	0.26	10.01	±	0.23	9.84	±	0.15
	10	8.93	±	0.20	8.97	±	0.25	8.91	±	0.37
	20	7.68	±	0.38	7.67	±	0.50	7.45	±	0.41
	40	8.29	±	0.29	8.19	±	0.51	8.01	±	0.39
	80	8.54	±	0.25	8.48	±	0.31	8.50	±	0.23
	K	7.01	±	0.23	6.90	±	0.27	6.76	±	0.19
III	5	10.23	±	0.12	9.55	±	0.28	9.43	±	0.13
	10	11.00	±	0.56	10.62	±	0.45	9.89	±	0.49
	20	11.85	±	1.21	12.12	±	0.82	10.93	±	0.31
	40	11.50	±	1.18	11.53	±	1.01	11.59	±	0.27
	80	13.22	±	0.50	12.61	±	0.37	11.65	±	0.51
	K	7.58	±	0.07	7.40	±	0.15	7.31	±	0.23
IV	5	8.65	±	0.57	8.23	±	0.08	7.96	±	0.27
	10	9.99	±	0.75	9.96	±	0.66	9.79	±	0.68
	20	8.56	±	0.55	8.51	±	0.46	8.90	±	0.19
	40	9.07	±	0.07	8.90	±	0.14	8.80	±	0.23
	80	11.09	±	0.32	10.95	±	0.35	10.77	±	0.36
	K	7.73	±	0.30	7.48	±	0.27	7.29	±	0.09
V	5	12.73	±	0.44	12.19	±	0.19	12.08	±	0.17
	10	10.33	±	0.76	10.26	±	0.58	9.61	±	0.24
	20	12.89	±	0.16	11.81	±	0.26	12.28	±	0.29
	40	10.65	±	0.80	11.46	±	0.25	11.07	±	0.85
	80	12.36	±	0.23	12.05	±	0.22	11.13	±	0.30
	K	7.77	±	0.10	7.36	±	0.21	7.36	±	0.32

masing-masing konsentrasi fraksi I-V semakin menurun pada pengamatan 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Hasil uji aktivitas fraksi I-V terhadap bakteri *E. Coli* ditunjukkan pada Tabel 5. Nilai tertinggi terdapat pada fraksi II konsentrasi 20 µg/disk pada pengamatan 24 jam yaitu 13.07 ± 1.59 dan fraksi III konsentrasi 5 µg/disk pada pengamatan 24 jam yaitu 13.10 ± 0.04.

Hasil uji aktivitas fraksi I-V terhadap *Pseudomonas sp.* ditunjukkan pada Tabel 6. Nilai tertinggi terdapat pada fraksi III dengan konsentrasi 5 µg/disk pada pengamatan 24 jam yaitu sebesar 13.15 ± 1.15. Masing-masing fraksi menunjukkan bahwa besaran zona hambat pada tiap konsentrasi mengalami

penurunan pada pengamatan 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Uji kontrol positif dilakukan untuk melihat perbedaan aktivitas daya hambat kedua jenis antibiotik yaitu *amoxicilin* dan *streptomycin* dalam menghambat bakteri patogen seperti *Klebsiella*, *Eschericia coli*, *Pseudomonas sp.*, *CNS*, *Entero 5* dan *Entero 10*. Hasil uji memperlihatkan bahwa pada antibiotik *amoxicilin* tidak terbentuk adanya zona hambat terhadap bakteri uji. Tidak terbentuknya zona hambat pada *amoxicilin* diduga disebabkan karena bakteri MDR yang diujikan memiliki resistensi intrinsik terhadap *amoxicilin* (Putri *et al.*, 2014). Resistensi intrinsik dari bakteri terbentuk oleh enzim β-laktamase yang dapat menonaktifkan sifat antibiotik

Tabel 2. Aktivitas antiBakteri Fraksi I - V terhadap Bakteri CNS

Fraksi	konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
I	5	8.55	±	0.24	8.59	±	0.16	8.39	±	0.21
	10	10.52	±	0.72	9.71	±	0.17	8.56	±	0.28
	20	8.77	±	0.61	9.61	±	0.66	11.70	±	0.36
	40	8.31	±	0.03	8.19	±	0.11	7.85	±	0.13
	80	10.96	±	0.46	9.73	±	0.45	9.00	±	0.58
	K	7.67	±	0.10	7.24	±	0.12	7.25	±	0.08
II	5	9.93	±	0.02	9.43	±	0.29	9.36	±	0.23
	10	10.76	±	0.30	10.67	±	0.47	10.13	±	0.36
	20	10.13	±	0.97	9.92	±	0.98	9.44	±	0.37
	40	11.80	±	0.16	11.14	±	0.43	10.89	±	0.65
	80	8.73	±	0.34	8.73	±	0.22	8.19	±	0.14
	K	7.66	±	0.24	7.64	±	0.25	7.42	±	0.10
III	5	11.41	±	0.72	11.23	±	0.71	10.78	±	0.55
	10	10.81	±	0.21	10.50	±	0.33	9.89	±	0.62
	20	8.95	±	0.02	8.69	±	0.22	8.40	±	0.21
	40	8.94	±	0.04	8.69	±	0.19	8.27	±	0.07
	80	10.38	±	0.42	10.22	±	0.16	9.86	±	0.21
	K	8.03	±	0.01	7.63	±	0.27	7.59	±	0.18
IV	5	11.12	±	0.45	9.81	±	0.51	10.07	±	0.26
	10	11.41	±	1.55	11.05	±	1.33	10.61	±	1.20
	20	8.54	±	0.39	8.31	±	0.32	8.36	±	0.32
	40	8.06	±	0.05	8.07	±	0.06	7.99	±	0.14
	80	10.47	±	0.02	10.26	±	0.05	9.90	±	0.06
	K	7.63	±	0.09	7.18	±	0.15	7.14	±	0.14
V	5	9.45	±	0.26	9.41	±	0.27	9.12	±	0.03
	10	9.19	±	0.29	8.95	±	0.46	8.80	±	0.51
	20	10.32	±	0.64	10.09	±	0.14	9.64	±	0.39
	40	11.21	±	0.75	10.79	±	0.57	10.53	±	0.48
	80	8.45	±	0.17	8.45	±	0.17	8.17	±	0.14
	K	7.66	±	0.21	7.59	±	0.23	7.16	±	0.09

dari amoxicilin (Wibowo, 2015). Menurut Gilman (2012), amoxicilin dinilai kurang efektif dikarenakan mudah terhidrolisis oleh enzim β-laktamase sehingga diperlukan senyawa lain seperti asam klavulanat yang berperan sebagai inhibitor enzim β-laktamase sehingga amoxicilin dapat bekerja secara optimal. Hasil uji dengan menggunakan antibiotik *streptomycin* terhadap bakteri uji memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk. Adanya zona hambat ini menunjukkan bahwa bakteri uji diduga belum resisten terhadap *streptomycin*. Aktivitas antibakteri pada *streptomycin* lebih baik dibandingkan dengan *amoxicilin* (Adedayo *et al.*, 2016). Perlakuan uji aktivitas antibakteri juga dilakukan pada kontrol negatif yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Uji kontrol negatif bertujuan untuk

mengetahui cemaran yang ada pada media tumbuh bakteri. Pada uji kontrol negatif tidak terbentuk adanya zona hambat sehingga hal ini dapat menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan melainkan disebabkan oleh adanya senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak (Opa *et al.*, 2018).

Dugaan adanya potensi antibakteri pada ekstrak *Acanthus ilisifolius* dibuktikan dengan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar *paper disk*. Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa pada masing-masing ekstrak dengan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang

Tabel 3. Aktivitas antiBakteri Fraksi I - V terhadap Bakteri *Entero 5*

Fraksi	konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
I	5	9.46	±	0.35	9.23	±	0.29	9.11	±	0.27
	10	9.88	±	0.17	9.64	±	0.23	9.17	±	0.11
	20	10.02	±	0.34	9.70	±	0.56	9.57	±	0.58
	40	9.45	±	0.31	9.02	±	0.23	8.57	±	0.39
	80	9.94	±	0.03	9.54	±	0.30	9.38	±	0.09
	K	7.68	±	0.16	7.33	±	0.13	7.17	±	0.06
II	5	8.69	±	0.38	8.42	±	0.24	8.35	±	0.33
	10	8.28	±	0.25	7.63	±	0.18	7.63	±	0.28
	20	8.99	±	0.92	8.51	±	0.34	8.31	±	0.10
	40	8.78	±	0.52	9.24	±	0.12	8.38	±	0.33
	80	7.99	±	0.22	7.73	±	0.38	7.27	±	0.05
	K	7.51	±	0.37	7.10	±	0.23	6.81	±	0.08
III	5	8.35	±	0.15	8.23	±	0.11	8.24	±	0.04
	10	9.17	±	0.40	8.78	±	0.47	8.38	±	0.25
	20	8.63	±	0.17	8.22	±	0.03	8.39	±	0.12
	40	8.44	±	0.19	8.42	±	0.17	7.67	±	0.29
	80	8.67	±	0.16	8.14	±	0.27	7.86	±	0.13
	K	7.68	±	0.35	7.27	±	0.13	7.19	±	0.12
IV	5	9.64	±	0.91	9.71	±	0.77	9.49	±	0.51
	10	9.13	±	0.54	9.42	±	0.17	8.92	±	0.24
	20	8.48	±	0.01	7.93	±	0.09	7.52	±	0.28
	40	8.85	±	0.18	8.69	±	0.29	8.37	±	0.53
	80	9.14	±	0.83	8.29	±	0.71	7.51	±	0.30
	K	7.70	±	0.22	6.97	±	0.12	6.55	±	0.20
V	5	8.56	±	0.15	8.60	±	0.12	7.72	±	0.32
	10	8.65	±	0.25	8.42	±	0.13	7.53	±	0.27
	20	7.84	±	0.50	7.48	±	0.37	7.15	±	0.05
	40	7.85	±	0.13	7.37	±	0.17	7.22	±	0.20
	80	7.94	±	0.12	7.41	±	0.15	7.34	±	0.16
	K	7.34	±	0.20	6.73	±	0.33	6.49	±	0.25

tinggi terhadap *Klebsiella* yaitu pada ekstrak daun sebesar 11.13 mm, ekstrak batang sebesar 11.45 mm dan ekstrak akar sebesar 14.91 mm. Pada ekstrak metanol dihasilkan zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Entero 5* pada ekstrak daun dan batang yaitu sebesar 12.89 mm dan 10.47 mm sedangkan pada ekstrak akar memiliki zona hambat terbesar terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 11.80 mm. Fraksi n-heksan tidak menunjukkan adanya daya hambat atau aktivitas antibakteri dikarenakan tidak terbentuknya diameter zona hambat. Perbandingan daya hambat etil asetat lebih baik bila dibandingkan dengan ekstrak metanol. Secara umum, fraksi etil asetat pada ekstrak *Acanthus ilisifolius* memiliki diameter zona hambat yang luas serta

mempunyai reaksi daya hambat yang termasuk cepat (Septiani *et al.*, 2013).

Ekstrak kasar akar *Acanthus ilisifolius* dilakukan uji sensitivitas terhadap fraksi ekstrak. Penentuan eluen dilakukan dengan KLT dan didapatkan 5 noda (*spot*) dari perbandingan etil asetat : n-heksan yaitu 2 : 1. Jumlah noda yang didapat memiliki nilai Rf sebesar 0.30, 0.41, 0.57, 0.68, dan 0.79. Fraksi ekstrak yang diperoleh dari kromatografi kolom terbuka dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Penambahan konsentrasi pada masing-masing ekstrak terhadap bakteri uji tidak mempengaruhi hasil besaran zona hambat. Hasil uji memperlihatkan aktivitas antibakteri paling tinggi terjadi pada pengamatan 24 jam

Tabel 4. Aktivitas antiBakteri Fraksi I - V terhadap Bakteri *Enterobacter* 10

Fraksi	konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
I	5	9.38	±	0.27	9.33	±	0.17	8.55	±	0.33
	10	8.48	±	0.37	8.28	±	0.24	7.34	±	0.29
	20	10.07	±	0.18	8.93	±	0.20	8.10	±	0.58
	40	9.93	±	1.00	10.39	±	0.02	9.54	±	0.20
	80	8.67	±	0.16	8.45	±	0.28	7.92	±	0.36
	K	7.30	±	0.09	6.88	±	0.10	6.74	±	0.15
II	5	12.82	±	0.55	11.95	±	0.79	11.13	±	0.62
	10	11.18	±	0.43	10.41	±	0.11	9.68	±	0.04
	20	9.58	±	0.61	8.96	±	0.47	8.55	±	0.22
	40	9.53	±	0.06	9.12	±	0.25	8.51	±	0.14
	80	10.15	±	0.06	9.45	±	0.24	8.73	±	0.22
	K	6.93	±	0.26	6.53	±	0.26	6.25	±	0.05
III	5	13.98	±	0.58	13.11	±	0.24	11.85	±	0.63
	10	11.09	±	0.51	10.09	±	0.36	9.02	±	0.18
	20	12.13	±	0.19	10.77	±	0.50	9.96	±	0.81
	40	13.60	±	0.42	12.98	±	0.80	11.29	±	0.29
	80	8.05	±	0.70	7.45	±	0.33	6.80	±	0.08
	K	7.05	±	0.19	7.14	±	0.06	6.42	±	0.29
IV	5	10.55	±	0.40	9.60	±	0.34	8.76	±	0.43
	10	10.02	±	0.29	9.69	±	0.27	8.71	±	0.32
	20	13.15	±	1.15	11.55	±	0.23	10.65	±	0.38
	40	10.83	±	0.55	10.57	±	0.26	9.42	±	0.20
	80	10.93	±	1.00	10.88	±	0.83	9.60	±	0.22
	K	6.89	±	0.32	6.56	±	0.55	6.42	±	0.41
V	5	11.42	±	0.09	10.94	±	0.26	10.50	±	0.51
	10	10.06	±	0.62	8.94	±	0.18	8.50	±	0.38
	20	8.79	±	0.83	7.96	±	0.19	7.74	±	0.16
	40	7.97	±	0.54	7.60	±	0.24	7.16	±	0.18
	80	8.17	±	0.07	7.87	±	0.03	7.58	±	0.17
	K	6.99	±	0.21	6.93	±	0.05	6.67	±	0.11

Tabel 5. Aktivitas antiBakteri Fraksi I - V terhadap Bakteri *E.coli*

Fraksi	konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
I	5	9.80	±	0.26	9.45	±	0.33	9.34	±	0.29
	10	12.18	±	0.26	11.82	±	0.42	11.51	±	0.39
	20	12.01	±	0.87	11.48	±	0.61	10.30	±	0.56
	40	12.62	±	0.70	10.90	±	0.74	9.59	±	0.07
	80	11.65	±	0.58	11.01	±	0.30	9.79	±	0.13
	K	7.59	±	0.12	7.25	±	0.18	6.73	±	0.35
II	5	13.06	±	0.24	11.93	±	0.52	10.88	±	0.30
	10	11.09	±	0.49	9.09	±	0.49	7.95	±	0.02
	20	13.07	±	1.59	10.45	±	0.14	9.25	±	0.28
	40	12.18	±	0.57	11.74	±	0.02	10.25	±	0.46
	80	10.91	±	0.49	8.59	±	0.27	7.94	±	0.04
	K	7.72	±	0.17	7.26	±	0.09	7.26	±	0.09

Tabel 5. Aktivitas antiBakteri Fraksi I - V terhadap Bakteri *E.coli* (lanjutan)

Fraksi	konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
III	5	13.10	±	0.04	12.64	±	0.17	11.30	±	0.15
	10	11.19	±	0.34	9.45	±	0.31	8.45	±	0.17
	20	10.37	±	0.27	9.94	±	0.03	8.87	±	0.38
	40	11.40	±	0.12	9.68	±	0.16	8.44	±	0.31
	80	11.13	±	0.44	10.00	±	0.60	9.30	±	0.08
	K	7.09	±	0.22	6.98	±	0.57	6.50	±	0.28
IV	5	8.91	±	0.28	10.94	±	0.35	9.61	±	1.01
	10	8.87	±	0.60	8.58	±	0.36	6.93	±	0.80
	20	12.54	±	0.90	12.21	±	0.08	11.87	±	0.62
	40	10.94	±	0.30	10.61	±	0.58	10.39	±	0.59
	80	10.12	±	0.29	9.71	±	0.53	9.02	±	0.31
	K	7.40	±	0.05	7.19	±	0.04	7.00	±	0.20
V	5	11.60	±	0.17	10.56	±	0.55	9.87	±	0.40
	10	8.70	±	0.60	8.50	±	0.53	8.32	±	0.13
	20	9.30	±	0.64	8.66	±	0.80	8.01	±	0.76
	40	10.62	±	0.25	9.18	±	0.17	8.82	±	0.14
	80	9.79	±	0.54	9.29	±	0.91	9.25	±	0.12
	K	7.07	±	0.25	6.94	±	0.27	6.66	±	0.10

Tabel 6. Aktivitas antiBakteri Fraksi I-V terhadap Bakteri *Pseudomonas sp.*

Fraksi	konsentrasi (µg/disk)	Diameter Zona Hambat (mm)								
		24 jam			48 jam			72 jam		
I	5	8.55	±	0.01	8.20	±	0.01	7.75	±	0.05
	10	9.25	±	0.05	8.79	±	0.01	8.22	±	0.02
	20	9.68	±	0.16	9.09	±	0.09	8.05	±	0.26
	40	9.07	±	0.09	8.78	±	0.21	7.82	±	0.32
	80	7.82	±	0.32	7.45	±	0.09	7.45	±	0.09
	K	7.47	±	0.17	6.72	±	0.24	6.66	±	0.20
II	5	9.77	±	0.10	9.67	±	0.09	8.48	±	0.06
	10	10.16	±	0.32	9.81	±	0.27	9.57	±	0.46
	20	11.63	±	0.26	10.69	±	0.13	9.37	±	0.18
	40	8.92	±	0.59	8.70	±	0.27	7.83	±	0.12
	80	10.36	±	1.17	9.96	±	0.66	9.22	±	0.58
	K	7.63	±	0.28	7.26	±	0.19	6.53	±	0.28
III	5	13.15	±	1.15	12.62	±	0.62	10.53	±	0.18
	10	10.83	±	0.55	9.51	±	0.16	8.27	±	0.07
	20	8.15	±	0.04	7.91	±	0.02	7.15	±	0.03
	40	9.12	±	0.37	7.94	±	0.04	6.74	±	0.14
	80	7.81	±	0.06	7.15	±	0.10	6.86	±	0.18
	K	6.10	±	0.13	5.99	±	0.10	5.96	±	0.06
IV	5	8.31	±	0.23	7.61	±	0.07	7.12	±	0.09
	10	7.28	±	0.04	7.44	±	0.09	6.75	±	0.08
	20	8.78	±	0.04	8.19	±	0.11	7.84	±	0.04
	40	9.81	±	0.01	8.78	±	0.03	7.26	±	0.04
	80	11.30	±	0.01	10.66	±	0.02	8.97	±	0.10
	K	7.60	±	0.11	6.48	±	0.09	5.86	±	0.09
V	5	8.30	±	0.05	8.14	±	0.11	7.47	±	0.04
	10	8.32	±	0.34	8.02	±	0.16	7.35	±	0.05
	20	7.97	±	0.12	7.08	±	0.09	6.93	±	0.09
	40	7.04	±	0.09	6.86	±	0.10	5.97	±	0.16
	80	11.24	±	0.01	10.21	±	0.07	8.68	±	0.07
	K	6.15	±	0.08	6.12	±	0.10	6.11	±	0.10

sedangkan pada pengamatan 48 jam dan 72 jam menunjukkan diameter zona hambat yang menurun. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak jeruju memiliki sifat bakteriostatik. Menurut Purnamaningsih *et al.* (2017), aktivitas bakteriostatik ditandai dengan zona hambat yang terlihat keruh karena masih terdapat titik-titik bakteri. Hasil dari uji aktivitas antibakteri menunjukkan daya hambat bakteri dipengaruhi struktur dari dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif. Struktur dinding sel gram positif lebih sederhana sehingga senyawa antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel dibandingkan dengan gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks (Opa *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Bahwa ekstrak akar, batang, daun jeruju *Acanthus ilicifolius* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella*, *CN*, *Escherichia coli*, *Entero 5*, *Entero 10* dan *Pseudomonas* sp. Aktifitas tertinggi ditunjukkan oleh fraksi III ekstrak akar yaitu terhadap *Enterobacter 10*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. dan *E. coli*

DAFTAR PUSTAKA.

- Adedayo, O., Olajuyigbe, O.O. & Adeoye-Isijola, M.O. 2016. Synergistic Potential of Benzylpenicillin, Amoxicillin, and Streptomycin Antibiotics Against Selected Bacterial Species. *Life Sci. J.*, 13(8):37-44.
- Brock, T.D. & Madigan, M.T. 1991. *Biology of Microorganism* 6th Ed. Prentice-Hall International Inc., New Jersey.
- Burgess, J., Hihi, A.K., Benard, C.Y., Branicky, R. & Hekimi, S. 2003. Molecular Mechanism of Material Rescue in the *clk-1* Mutants of *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.*, 278(49):49555-49562.
- Filius, M.P.G., Gyssens, I.C., Kershof, I.M., Roovers, P.J.E., Ott, A., Vulto, A.G., Verbrugh, H.A. & Endtz, H.P. 2005. Colonization and Resistance Dynamics of Gram-Negative Bacteria in Patients during and after Hospitalization. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(7):2879-2886. doi: 10.1128/AAC.49.7.2879-2886.2005
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 419 hlm.
- Gilman, A.G. 2012. *Dasar Farmakologi Terapi* Ed 10. EGC, Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M. & Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Manilal, A., Sujith, I.S., Kiran, G.S., Selvin, J. & Shakir, C. 2009. Biopotentials of mangroves collected from the Southwest Coast of India. *Glo. J. Biotechnol.* 4(1):59-65.
- Noor, R.Y., Khazali, M. & Suryadiputra, I.N.N. 1999. *Paduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. PKA/WI-IP, Bogor, 228 hlm.
- Opa, S.L., Bara, R.A., Gerung, G.S., Rompas, R.M., Lintang, R.A.J. & Sumilat, D.A. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Metanol dan Air dari Ascidian *Lissoclinum* sp. *J. Pesisir Laut Trop.* 1(1):69-80.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S. & Engel, R.G. 1995. *Introduction to Organic Laboratory Techniques : A Microscale Approach*, 2nd Edition. Harcourt Brace & Company, Florida.
- Purnamaningsih, N.A., Kalor, H. & Atun, S. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *J. Penelit. Saintek.*, 22(2):140-147.
- Putri, A.A., Rasyid, R. & Rahmatini. 2014. Perbedaan Sensitivitas Kuman *Pseudomonas aeruginosa* Penyebab Nosokomial Terhadap Beberapa Antibiotika Generik dan Paten. *J. Kesehatan Andalas.*, 3(3):327-331.
- Septiani, G., S. B. Prayitno dan S. Anggoro. 2013. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap *Vibrio harveyi* secara In Vitro. *J. Kedokteran Hewan.*, 7(1):17-20.
- Siegel, J.D., Rhinehart, E., Jackson, M. Chiarello, L. & The Healthcare Infection Control Practices Advisory Commite. 2007. Management of Multidrug-Resistant Organism in Health Care Setting. *Am. J. Infection Control.*, 35(10):S165-S193.

- Stahl, E. 1985. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Subagiyo, Setyati, W.A. & Ridlo, A. 2005. Uji Bioaktivitas Ekstrak Batang Tumbuhan Benalu Mangrove (*Cassytha filiformis*) : II. Uji Anti Bakteri. *Indo. J. Mar. Sci.* 10(1):35-40.
- Volk & Wheeler. 1990. Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid Dua. Erlangga, Jakarta.
- Wibowo, J.T. 2015. Resistensi Bakteri Patogen dan Strategi Mengatasi Bakteri Resisten. *Oseana.* 9(3):11-17.