

**Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun
Senggugu (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.) terhadap
*Staphylococcus aureus***

**Phytochemical Screening and Antibacterial Activity Assay of Extract and
Fraction of *Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb. Leaves against
*Staphylococcus aureus***

Nimas Ayu Amanda Putri, Bawon Triatmoko, Ari Satia Nugraha*

Drug Utilization and Discovery Research Group (DUDRG), Fakultas Farmasi,
Universitas Jember
Jl Kalimantan No.37, Jember 68121, Indonesia

*Corresponding author email: arisatia@unej.ac.id

Received 13-07-2019 Accepted 07-03-2021 Available online 17-09-2021

ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang masih memiliki banyak permasalahan di bidang kesehatan, salah satu diantaranya adalah penyakit infeksi. Pencarian atau penelusuran agen antibakteri baru perlu dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen. Salah satu cara untuk mendapatkan antibiotik baru adalah dengan memanfaatkan agen antibakteri yang bersumber dari tanaman seperti senggugu (*Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb.). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri yang ada pada daun senggugu. Daun senggugu diekstraksi dengan menggunakan metanol. Ekstrak dari daun senggugu kemudian difraksinasi dengan metode fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut heksana, diklorometana dan etil asetat. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk melihat secara kualitatif adanya kandungan alkaloid, terpenoid, polifenol dan flavonoid. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk mendapatkan nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi daun senggugu terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun senggugu menunjukkan bahwa fraksi heksana ($323,729 \pm 2,025 \mu\text{g/mL}$) memiliki aktivitas yang paling besar dengan kandungan senyawa kimia berupa terpenoid.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, *Rotheca serrata* (L.) Steane & Mabb., skrining fitokimia, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Indonesia is a developing country that still have many problems in health, such as infectious diseases. Searching for new antibacterial agents are needed to get the alternative for antibiotic to fight pathogenic microorganisms. The search for the new antibiotics can be conducted by utilizing antibacterial agents from plants, such as blue fountain bush (*Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb.). The purpose of this research was to evaluate the class of phytochemical compounds and antibacterial activity of blue fountain bush leaves. The leaves of blue fountain bush were extracted by methanol. Then, the extract was fractionated by hexane, dichloromethane, and ethyl acetate using liquid partition method. Phytochemical screening was conducted to find whether extract and fraction contain an alkaloid, terpenoid, polyphenol and flavonoid. Broth microdilution method was used to determine the IC_{50} of extract and fraction against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The antibacterial assay recorded that hexane fraction has the biggest activity ($323.729 \pm 2.025 \mu\text{g/mL}$) which was contain terpenoid.

Keywords: antibacterial activity, phytochemical screening, *Rothea serrata* (L.) Steane & Mabb., *Staphylococcus aureus*

Pendahuluan

Penyakit infeksi bertanggung jawab atas kematian lebih dari 8,7 juta orang di seluruh dunia pada tahun 2008 (World Health Organization, 2012). Penyakit infeksi disebabkan invasi mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, jamur maupun parasit ke dalam tubuh dan dapat menyebar dari satu orang ke orang lain baik secara langsung maupun tidak langsung (WHO, 2016). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi dengan menggunakan antibiotik. Beberapa tahun terakhir penggunaan antibiotik mengalami masalah terkait dengan peningkatan resistensi beberapa bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik (*Multi Drug Resistance*) (Rahayu, 2011). Salah satu contoh bakteri yang mengalami peningkatan resistensi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Oliveira dkk., 2002).

Pencarian atau penelusuran agen antibakteri baru perlu dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik lain yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen (Zulkifli dkk., 2016). Salah satu cara untuk mendapatkan antibiotik baru adalah dengan memanfaatkan agen antibakteri yang bersumber dari tanaman seperti senggugu (*Rothea serrata* (L.)). Tanaman ini dapat ditemukan di beberapa tempat seperti hutan, padang ilalang maupun pekarangan rumah (Dalimartha, 1999). Masyarakat Indonesia telah mengenal senggugu sebagai tanaman obat, hampir semua bagian tanaman tersebut dapat digunakan untuk mengobati penyakit. Daun senggugu memiliki manfaat sebagai obat luka, bisul, borok berair, rematik, dan cacingan, buahnya digunakan untuk mengobati batuk, sedangkan akarnya dapat digunakan untuk mengobati

wasir, guruh, asma dan batu ginjal (Dalimartha, 1999).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak akar senggugu memiliki aktivitas hepatoprotektif (Vidya dkk., 2007), antioksidan (Nasrudin dkk., 2017), antinoseptik, antiinflamasi dan antipiretik (Narayanan dkk., 1999). Daunnya memiliki aktivitas antioksidan (Prasad dkk., 2012) dan antibakteri (Indriani, 2007). Pada penelitian oleh Indriani (2007) menunjukkan ekstrak aseton daun senggugu memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* dengan MIC sebesar 2 mg/mL, sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki MIC sebesar 3 mg/mL. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri tersebut adalah alkaloid, terpenoid dan steroid (Indriani, 2007).

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi dari daun senggugu (*R. serrata*) terhadap *S. aureus* untuk mengetahui nilai konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50% atau *Inhibitory Concentration 50%* (IC_{50}). Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut metanol, sedangkan fraksinasi dilakukan dengan partisi cair-cair menggunakan corong pisah. Pelarut yang digunakan adalah heksana, diklorometana, dan etil asetat. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara

in vitro dengan menggunakan metode mikrodilusi.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini menggunakan alat seperti neraca analitik (ES 225SM-DR), seperangkat alat gelas, ayakan mesh 100, *blender*, spatula logam, jarum ose, mikropipet (Socorex dan Eppendorf), *yellow tip*, *blue tip*, eppendorf, pembakar spiritus, *orbital incubator* (Stuart SI600), *microplate flat bottom 96 wells* (Iwaki), *Laminar Air Flow* (LabGard AIR), *microplate reader* (Corona SH-1000), *hot plate* (UC152), *vortex* (GENIE2), corong pisah (Pyrex), cawan petri (Duran), autoklaf (TOMY ES-315), *orbital shaker* (Stuart SSL1), *rotary evaporator* (Strike 300), penyemprot reagen, *TLC chamber* (Duran).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia daun senggugu dari Materia Medika Kota Batu Malang, Jawa Timur. Determinasi dilakukan oleh *botanist* Materia Medika Kota Batu Malang, Jawa Timur. Spesimen sampel di simpan di Laboratorium DUDRG Fakultas Farmasi, Universitas Jember. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah metanol terdestil, heksana terdestil, diklorometan terdestil, etil asetat terdestil. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri antara lain DMSO (Merck), aquades demineralisata (Hydrobatt), parafilm (M Parafilm), $CaCl_2$ dan $MgCl_2$ (Brataco). Bakteri uji yang digunakan

adalah bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Media bakteri yang digunakan antara lain *Mueller Hinton Broth* (Merck) dan *Mueller Hinton Agar* (Merck). Zat pembanding antibakteri adalah gentamisin sediaan injeksi 40 mg/mL (Indofarma). Bahan kimia yang digunakan untuk skrining fitokimia antara lain butanol, asam asetat glasial, kloroform, reagen Dragendorff, KOH, anisaldehyd asam sulfat, FeCl₃, vanilin, H₂SO₄, dan silika gel F₂₅₄ (Merck).

Jalannya Penelitian

1. Ekstraksi dan fraksinasi

Simplisia kering daun senggugu dibersihkan dan dilakukan pengecilan ukuran partikel sehingga diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang didapat kemudian diekstraksi secara maserasi. Serbuk dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Pelarut ditambahkan ke dalam serbuk dengan perbandingan 1:5 (b/v). Ekstraksi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruangan dengan pengadukan yang dibantu *magnetic stirrer* kecepatan 200 rpm. Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan corong Buchner. Residu simplisia diremaserasi lagi dengan menambahkan pelarut yang sama hingga jernih. Maserat yang didapat kemudian digabung untuk dipekatkan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C.

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan heksana, diklorometana dan etil asetat secara bertingkat sehingga didapat fraksi heksana, fraksi

diklorometana, fraksi etil asetat dan residu.

2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan metode KLT secara kualitatif. Kandungan senyawa yang ingin diketahui adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, serta terpenoid. Skrining alkaloid dilakukan dengan menimbang ekstrak dan fraksi daun senggugu sebesar 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam metanol. Sejumlah larutan ditotolkan ke atas lempeng KLT kemudian dielusi dalam fase gerak toluen - etil asetat - metanol (7:2:1). Plat KLT yang telah dielusi kemudian dikeringkan dan disemprot dengan pereksi Dragendorff. Noda berwarna jingga menunjukkan adanya alkaloid di dalam ekstrak.

Skrining flavonoid dilakukan dengan menimbang ekstrak dan fraksi sebesar 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan kemudian ditotolkan di atas plat KLT dan dielusi pada lapisan atas dari campuran butanol - asam asetat glasial - air (4:1:5). Setelah dielusi, plat KLT dikeringkan dan diberi penampak noda uap amonia. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulkan warna kuning.

Skrining polifenol dilakukan dengan melarutkan ekstrak dan fraksi dalam metanol. Larutan ditotolkan di atas plat KLT dan dielusi dengan menggunakan fase gerak kloroform - etil asetat - metanol (1:5:4). Setelah plat KLT dielusi dan

dikeringkan, penampak noda berupa FeCl_3 disemprotkan kemudian dipanaskan selama 1-2 menit. Polifenol diindikasikan dengan timbulnya warna hitam.

Skrining terpenoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dan fraksi dalam metanol. Sampel ditotolkan di atas lempeng KLT dan dielusi dengan fase gerak heksana - etil asetat (4:1). Plat KLT yang telah dielusi, kemudian dikeringkan lalu disemprot dengan reagen anisaldehyd asam sulfat. Plat KLT dipanaskan, jika timbul warna merah-ungu atau ungu maka sampel mengandung triterpenoid.

3. Uji aktivitas antibakteri

Media CAMHB dibuat dengan menambahkan *Mueller Hinton Broth* dengan larutan MgCl_2 dan CaCl_2 . Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Volume yang ditambahkan ke dalam 80 mL media yaitu 80 μL untuk larutan $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 160 μL untuk larutan induk $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Larutan Standar 0,5 McFarland dibuat dengan menambahkan larutan BaCl_2 1,175% sebanyak 0,05 mL ke dalam larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL.

Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 2.048, 1.024, 512, 256, dan 128 $\mu\text{g/mL}$ dalam DMSO 1%. Kontrol positif yang digunakan adalah sediaan injeksi gentamisin dengan konsentrasi 4; 2; 1; dan 0,5

$\mu\text{g/mL}$. DMSO 1% digunakan sebagai kontrol negatif.

Bakteri *S. aureus* diambil dari kultur peremajaan dengan menggunakan jarum ose. Suspensi bakteri kemudian dinilai kekeruhannya dengan cara membandingkan nilai absorbansi suspensi bakteri dengan absorbansi 0,5 McFarland pada panjang gelombang 625 nm. Absorbansi yang didapat berkisar antara 0,08 sampai 0,13 sehingga didapat jumlah bakteri sekitar 1×10^8 CFU/mL. Suspensi bakteri diencerkan 100 kali sehingga didapat konsentrasi bakteri 1×10^6 CFU/mL. Perlakuan terdiri dari campuran 50 μL ekstrak atau fraksi dalam konsentrasi 2.048, 1.024, 512, 256, atau 128 $\mu\text{g/mL}$ dan bakteri dalam media CAMHB. Kontrol ekstrak terdiri dari campuran 50 μL ekstrak atau fraksi masing-masing dalam konsentrasi 2.048, 1.024, 512, 256, atau 128 $\mu\text{g/mL}$ dengan 50 μL media CAMHB. Kontrol negatif terdiri dari campuran 50 μL DMSO 1% dalam media CAMHB dan 50 μL bakteri dalam media CAMHB. Kontrol DMSO 1% terdiri dari 50 μL media CAMHB dan 50 μL DMSO 1% dalam media CAMHB. Kontrol positif terdiri dari 50 μL gentamisin dengan konsentrasi 4; 2; 1; dan 0,5 $\mu\text{g/mL}$ dan 50 μL bakteri dalam media CAMHB. Kontrol gentamisin terdiri dari 50 μL gentamisin dengan konsentrasi 4; 2; 1; dan 0,5 $\mu\text{g/mL}$ dan 50 μL media CAMHB. Kontrol negatif gentamisin terdiri dari 50 μL

media CAMHB dan 50 µL bakteri dalam media CAMHB. Kontrol media terdiri dari 100 µL CAMHB. Sampel dan kontrol diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37°C dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 625 nm.

$$\% \text{ Penghambatan} = 1 - \frac{(AbsR - AbsS)}{(AbsP - AbsQ)} \times 100\%$$

Dengan Abs = absorbansi, P = kontrol negatif (DMSO 1% atau media + suspensi bakteri), Q = kontrol media (DMSO 1% atau media), R = uji (ekstrak/fraksi/gentamisin + suspensi bakteri), dan S = kontrol uji (ekstrak/fraksi/gentamisin + media).

Hasil dan Pembahasan

Skrining Fitokimia

Hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun senggugu ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil skrining fitokimia tersebut menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun senggugu tidak mengandung senyawa golongan alkaloid. Hasil tersebut sesuai dengan literatur bahwa golongan senyawa yang terdapat pada daun genus *Clerodendrum* adalah

karbohidrat, flavonoid, polifenol, terpenoid dan steroid (Kumar, 2013).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada ekstrak dan fraksi daun senggugu dilakukan dengan metode mikrodilusi untuk menentukan nilai IC₅₀. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi heksana, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat, serta residu daun senggugu memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Keterulangan metode pada penelitian ini dapat diterima karena nilai CV tidak melebihi 30%, hal ini sesuai dengan persyaratan nilai CV <30% bagi pengujian berbasis sel (EEC, 2009). Nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak dan fraksi disajikan pada Tabel 2.

Menurut literatur, standar nilai atau persyaratan IC₅₀ yang baik pada pengujian senyawa anti-infektif adalah <100 µg/mL bagi sampel yang mengandung lebih dari satu senyawa seperti ekstrak atau fraksi (Cos dkk., 2006). Pada literatur lain ekstrak tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antibakteri yang poten terhadap *Staphylococcus epidermidis* dengan IC₅₀ 53,91 ppm (Januarti dkk., 2019).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun senggugu

Sampel	Alkaloid	Terpenoid	Flavonoid	Polifenol
Ekstrak metanol	-	+	+	+
Fraksi heksana	-	+	-	-
Fraksi diklorometana	-	+	-	-
Fraksi etil asetat	-	-	+	+
Residu	-	-	+	+

Keterangan: (+) = ada, (-) = tidak ada

Tabel 2. Nilai IC₅₀ ekstrak dan fraksi daun senggugu terhadap *S. aureus*

Kelompok uji	IC ₅₀ (µg/mL)	CV (%)
Ekstrak metanol	463,214±1,829 ^a	0,395
Fraksi heksana	323,729±2,025 ^b	0,626
Fraksi diklorometana	441,060±7,641 ^c	1,732
Fraksi etil asetat	650,296±4,053 ^d	0,623
Residu	724,929±8,181 ^e	1,285

Keterangan: (a, b, c, d, e) notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan (p>0,05) antar kelompok uji berdasarkan uji *one-way anova*

Pada penelitian ini, nilai IC₅₀ terkecil dicapai oleh fraksi heksana, yakni 323,729±2,025 µg/mL dengan CV sebesar 0,626%. Nilai IC₅₀ terkecil fraksi heksana daun senggugu tidak memenuhi persyaratan nilai IC₅₀, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak dan fraksi daun senggugu tidak poten dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal tersebut disebabkan oleh sampel ekstrak dan fraksi daun senggugu tidak larut sempurna dalam pelarut DMSO 1%, sehingga kemungkinan konsentrasi uji lebih kecil dari yang seharusnya.

Semakin kecil nilai IC₅₀, maka kemampuan kelompok uji sebagai antibakteri tersebut semakin besar. Urutan IC₅₀ dari yang terkecil yaitu fraksi heksana, ekstrak, fraksi diklorometana, fraksi etil asetat dan diikuti residu. Perbedaan aktivitas antibakteri kelompok ekstrak dan fraksi daun senggugu dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan dan konsentrasi golongan senyawa yang terdapat di dalamnya.

Golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi daun senggugu yang mampu berperan sebagai

antibakteri memiliki mekanisme yang berbeda-beda. Terpenoid atau steroid bebas mampu mengganggu membran lipid dan menyebabkan kebocoran liposom. Flavonoid memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri (Mujeeb dkk., 2014). Polifenol memiliki mekanisme penghambatan enzim hidrolitik yang menonaktifkan adhesin, serta interaksi dengan karbohidrat (Karou dkk., 2005).

Sampel ekstrak metanol memiliki kandungan senyawa kimia lebih banyak seperti terpenoid atau steroid bebas, flavonoid dan polifenol memiliki IC₅₀ lebih besar dari fraksi heksana, begitu juga dengan fraksi etil asetat dan residu daun senggugu yang memiliki golongan senyawa fitokimia seperti polifenol dan flavonoid juga memiliki nilai IC₅₀ yang lebih besar dari fraksi heksana. Hal tersebut dimungkinkan karena senyawa fitokimia yang terdapat pada sampel ekstrak dan fraksi tersebut bukan merupakan senyawa antibakteri, atau hanya memiliki aktivitas antibakteri yang rendah. Fraksi heksana memiliki aktivitas antibakteri yang paling kuat dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi

lain. Hal ini dimungkinkan karena dinding bakteri gram positif lebih sensitif dengan senyawa nonpolar (heksana) atau relatif semipolar (metanol).

Pada penelitian beberapa spesies tanaman yang termasuk ke dalam famili Lamiaceae seperti *Thymus vulgaris* L., *Ziziphora tenuior* L. dan *Mentha piperita* L. memiliki kandungan senyawa terpen yang lebih sensitif terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan senyawa lain seperti polifenol dan flavonoid (Chergui dkk., 2018).

Kesimpulan

Ekstrak metanol daun senggugu mengandung golongan senyawa kimia terpenoid/ steroid bebas, polifenol dan flavonoid. Fraksi heksana dan fraksi diklorometana mengandung terpenoid/ steroid bebas. Fraksi etil asetat dan residu mengandung polifenol dan flavonoid. Berdasarkan senyawa kimia tersebut fraksi heksana memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* yang lebih besar daripada fraksi etil asetat dan residu. Hal tersebut menunjukkan dinding bakteri gram positif lebih sensitive dengan senyawa non polar atau relatif semipolar.

Daftar Pustaka

- Chergui, A., M. Kecha, A. Tighrine, N. Adrar, S. Bouzida, Y. Titouche, L. Boughani, N. Kadri, dan K. Houali. 2018. Antibacterial activity of some Lamiaceae species against *Staphylococcus aureus* in yoghurt-based drink (doogh). *Cellular and Molecular Biology*. (10)
- Cos, P., A. J. Vlietinck, D. Vanden Berghe, dan L. Maes. 2006. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro "proof-of-concept". *Journal of Ethnopharmacology*. 106(3): 290–302.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Puspa Swara.
- EEC. 2009. Commission regulation (ec) no 152/2009 of 27 january 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal of the European Union*. L 054, 26.(152):1–170.
- Indriani, N. 2007. Aktivitas antibakteri daun senggugu (*Clerodendron serratum* [L.] Spr.)
- Januarti, I., R. Wijayanti, dan S. Wahyuningsih. 2019. Potensi ekstrak terpurifikasi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebagai antioksidan dan antibakteri. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 4:60.
- Karou, S. D., M. Dicko, J. Simpore, dan A. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of burkina faso. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*. 4:823–828.
- Kumar, P. 2013. Phytochemical and pharmacological profiles of *Clerodendrum serratum* linn. (bharngi): a review. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm*. 4(2)

- Mujeeb, F., P. Bajpai, dan N. Pathak. 2014. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. *BioMed Research International*. 2014:497606.
- Narayanan, N., P. Thirugnanasambantham, S. Viswanathan, V. Vijayasekaran, dan E. Sukumar. 1999. Antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of ethanol extract of *Clerodendron serratum* roots in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*. 65(3):237–241.
- Nasrudin, N., M. Mustofa, dan R. Asmah. 2017. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit akar senggugu (*Clerodendrum serratum*) asal Imogiri, Yogyakarta. *E-Publikasi Fakultas Farmasi*. 0(0):112–117.
- Oliveira, D. C., A. Tomasz, dan H. de Lencastre. 2002. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet. Infectious Diseases*. 2(3):180–189.
- Prasad, M. P., S. Sushant, dan B. K. Chikkaswamy. 2012. Phytochemical analysis, antioxidant potential, antibacterial activity and molecular characterization of *Clerodendrum* species. *International Journal of Molecular Biology*. 3(3):71–76.
- Rahayu, E. U. 2011. Antibiotika, resistensi, dan rasionalitas terapi. *El-Hayah*. 1(4):191–198.
- Vidya, S. M., V. Krishna, B. K. Manjunatha, K. L. Mankani, M. Ahmed, dan S. D. J. Singh. 2007. Evaluation of hepatoprotective activity of *Clerodendrum serratum* L. *Indian Journal of Experimental Biology*. 45(6):538–542.
- WHO. 2016. WHO | Infectious Diseases
- World Health Organization. 2012. Global report for infectious diseases of poverty 2012. 1–168.
- Zulkifli, L., D. S. D. Jekti, N. Lestari, dan D. A. C. Rasmi. 2016. Isolasi bakteri endofit dari sea grass yang tumbuh di kawasan pantai Pulau Lombok dan potensinya sebagai sumber antimikroba terhadap bakteri patogen 1). 16(2):80–93.