

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TENGGULUN
(*Protium javanicum* Burm. F.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

N. M. Puspawati*, N. L. P. F. Widiari, I M. Sukadana

*Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia*

**Email : made_puspawati@unud.ac.id*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat, dan n-butanol daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), menentukan konsentrasi hambat minimum ekstrak yang paling aktif dan mengidentifikasi senyawa aktifnya. Maserasi 1000 g serbuk daun tenggulun dengan metanol diperoleh 91,78 g ekstrak kental metanol yang selanjutnya dipartisi dengan n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Masing-masing ekstrak hasil partisi di uji aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 20 % dengan metode sumur difusi. Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas paling kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 20,08 mm, diikuti dengan ekstrak n-butanol 16,66 mm, dan n-heksana 13,33 mm. Ekstrak aktif etil asetat menunjukkan daya hambat minimum pada konsentrasi 0,2% dengan diameter zona hambat sebesar 6,20 mm. Pemisahan ekstrak aktif etil asetat yang dilakukan dengan kromatografi kolom silica gel dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (7,5 : 2,5) menghasilkan 6 fraksi gabungan. Fraksi B, G, H dan I menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 50% dengan daya hambat sedang. Pada penelitian ini hanya fraksi G dan I dengan diameter zona hambat masing-masing 6,87 dan 6,75 mm yang diidentifikasi dengan LC-MS/MS. Hasil analisis spektra massa dari puncak-puncak kromatogram dengan software *MassLynx V4.1* dan berdasarkan database *Chemspider*, fraksi aktif G dan I diduga mengandung senyawa *crotarin*, *2-benzophenone*, dan *medroxyprogesterone acetate* yang secara sinergis berkontribusi terhadap aktivitas antibakterinya.

Kata kunci: antibakteri, tenggulun, *Staphylococcus aureus*, LC-MS/MS.

ABSTRACT

This study aims to examine the antibacterial activity of n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol extract of tenggulun leaves (*Protium javanicum* Burm. F.) in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria and determine the minimum inhibitory concentration of the most active extracts and identify its active compounds. A total of 1000 g of tenggulun leaf powder was macerated with methanol and 91.78 g of crude methanol extract was obtained which was further partitioned into n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol extracts. Antibacterial activity test was carried out using the diffusion well method and the result showed that the ethyl acetate extract at a concentration of 20% was strongly able to inhibit the growth of *S. aureus* bacteria with inhibition zones of 20.08 mm, followed by n-butanol 16.66 mm, and n-hexane 13.33 mm. The minimum concentration of ethyl acetate extract was 0.2% in inhibiting the growth of *S. aureus* with inhibition zone diameter of 6.20 mm. Separation of the active ethyl acetate extract was conducted by silica gel column chromatography with mobile phase of n-hexane: ethyl acetate (7.5: 2.5) gave 6 combined fractions. Fractions B, G, H and I showed antibacterial activity at concentrations of 50% with a diameter of inhibition zone of 5.62 mm, 6.87 mm, 8.50 mm, and 6.75 mm respectively. The results of mass spectra analysis from the chromatogram peaks of LC-MS / MS suggested that the G and I fractions were tentatively identified as *crotarin*, *benzophenone-2*, and *medroxyprogesterone acetate* which may contributed to the antibacterial activity by acting synergistically.

Keywords: antibacterial, tenggulun, *Staphylococcus aureus*, LC-MS/MS.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi pada kulit yang disebabkan oleh bakteri adalah salah satu penyakit infeksi yang masih banyak ditemukan di masyarakat Indonesia. Bakteri yang menjadi

penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Selain penyakit infeksi pada kulit, bakteri *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik yang ditandai dengan gejala

muntah, diare, demam tinggi dan ruam. Bakteri *S.aureus* merupakan mikroflora normal dari manusia dan bakteri ini biasanya hidup dalam saluran pernapasan dan kulit. Penderita infeksi *S. aureus* biasanya diberikan obat antibiotik, seperti turunan tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol, eritromisin, dan streptomisin. Resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik terjadi sejak penggunaan penisilin pada tahun 1940-an. Infeksi *S. aureus* juga meningkat dengan munculnya strain yang resisten terhadap methicillin (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*/MRSA) (Radji, 2011).

Salah satu tumbuhan yang secara tradisional telah dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah tenggulun. Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) Merupakan tumbuhan dari genus protium yang secara tradisional daunnya telah digunakan oleh masyarakat di Bali sebagai obat sakit perut, obat batuk, dan obat mencret. Kulit batangnya dapat digunakan untuk mengobati bengkak dan kusta (Segatri, 1989) serta aktif sebagai antiinflamasi (Suirta dkk, 2016; Dewi dkk, 2015). Kandungan kimia daun tenggulun dilaporkan meliputi senyawa golongan flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, dan minyak atsiri (Kriswiyanti, 1997; Sukmajaya dkk, 2012). Senyawa golongan terpenoid, steroid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri diketahui berpotensi sebagai antibakteri.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui potensi daun tenggulun dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan menggunakan ekstrak kasar metanol. Hasil uji pendahuluan menunjukkan ekstrak kasar metanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 10 mm. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat, dan n-butanol daun tenggulun dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan menentukan konsentrasi hambat minimum ekstrak yang paling aktif serta mengidentifikasi senyawa aktifnya.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun tenggulun yang diperoleh dari Desa Bengkel, Kediri, Tabanan dan telah diterminasi

di Kebun Raya “Eka Karya” Bali dan merupakan *Protium javanicum* Burm. F. Bakteri uji yang digunakan adalah *S. aureus*. Bahan kimia yang digunakan yaitu metanol teknis, akuades, n-heksana, etil asetat, dan n-butanol p.a, Nutrient Agar (NA), *Nutrient Broth*, kapas, *amoxicillin*, silika gel 60, *glass wool*, kloroform, H₂SO₄ pekat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, HCl pekat, Magnesium, NaOH 10%, asam asetat anhidrat, etanol 70%, KMnO₄, FeCl₃ 1 %, FeCl₃ 10 %..

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat, gelas neraca analitik, cawan petri, *rotary evaporator*, botol kaca, mikro pipet, kertas saring, corong pemisah, jarum ose, *cork borer*, bunsen, *autoklaf*, *magnetic stirrer*, inkubator, *hotplate*, plat KLT, bejana KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, seperangkat alat kromatografi kolom, dan LC-MS/MS Waters.

Cara Kerja

Penyiapan bahan

Daun tenggulun dicuci bersih dan dikeringkan anginkan selanjutnya dipotong kecil-kecil dan di haluskan sehingga diperoleh serbuk halus.

Ekstraksi daun tenggulun

Sebanyak 1000 g serbuk kering daun tenggulun dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 kali pengulangan (3×24 jam). Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan n-butanol. Masing-masing filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana, etil asetat dan n-butanol.

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana, etil asetat dan n-butanol dilakukan menggunakan metode sumur difusi. Larutan uji dibuat pada konsentrasi 20% (b/v). Sebanyak 20 µL ekstrak sampel (n-heksana, etil asetat dan n-butanol), kontrol positif (*amoxicillin* 20% b/v) dan kontrol negatif (metanol 20% v/v) dimasukkan ke dalam sumur difusi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu

37°C. Zona bening yang dihasilkan diamati dan diukur diameternya menggunakan penggaris. Fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi kemudian ditentukan konsentrasi hambat minimumnya.

Pemisahan dan pemurnian

Ekstrak yang paling aktif selanjutnya dikromatografi kolom menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat dengan perbandingan (7,5:2,5). Eluat yang diperoleh ditampung setiap 3 mL dalam botol vial. Masing-masing eluat kemudian dianalisis dengan KLT dan eluat yang memiliki pola pemisahan atau nilai *R_f* yang sama digabungkan, lalu diuapkan dan diuji aktivitas antibakterinya.

Skrining fitokimia

Uji alkaloid

Sebanyak 1-2 mL isolat dilarutkan dalam 2 mL kloroform dan ditambah H₂SO₄ pekat sebanyak 3-5 tetes lalu dikocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam yang tidak berwarna dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi dan ditambah pereaksi Wegner dan Meyer sebanyak 4-5 tetes. Terbentuknya endapan berwarna coklat pada pereaksi Wagner menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid sedangkan pada pereaksi Meyer terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan positif alkaloid.

Uji flavonoid

Pereaksi *Wilstater*: sebanyak 1 mL isolat ditambah 2-4 tetes HCl pekat dan sedikit serbuk Magnesium. Campuran kemudian dikocok hingga terbentuk warna jingga yang menunjukkan positif flavonoid.

Pereaksi *Bate Smite-Metcalf*: sebanyak 1 mL isolat ditambah beberapa tetes HCl pekat dan dipanaskan selama 15 menit. Terbentuknya warna merah menunjukkan positif mengandung flavonoid.

Pereaksi NaOH 10%: sebanyak 1 mL isolat ditambah beberapa tetes NaOH 10%. Terbentuknya warna kuning-merah menunjukkan positif mengandung flavonoid.

Uji terpenoid dan steroid

Sebanyak 1 mL isolat ditambah 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 2 mL H₂SO₄ pekat (Uji *Lieberman-Burchard*). Adanya senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah/ungu, sedangkan adanya perubahan

warna biru/hijau positif mengandung senyawa steroid.

Uji fenol

Sebanyak 1 mL isolat ditambah beberapa tetes FeCl₃ 10 %. Terbentuknya warna hitam kebiruan menunjukkan positif mengandung senyawa fenol.

Uji tanin

Sebanyak 1 mL isolat direaksikan dengan FeCl₃ 10 %, adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

Identifikasi LC-MS/MS

Fraksi gabungan hasil kromatografi kolom yang aktif terhadap bakteri *S. aureus* selanjutnya diidentifikasi menggunakan *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) Waters*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi dari 1000 g serbuk daun tenggulun dengan pelarut metanol diperoleh 91,78 g ekstrak kental yang berwarna hijau kehitaman. Selanjutnya hasil partisi terhadap 20 g ekstrak kental metanol diperoleh masing-masing 3,24 g ekstrak *n*-heksana berwarna hijau tua, 1,85 g ekstrak etil asetat berwarna hijau, 8,43 g ekstrak *n*-butanol berwarna merah tua, dan 5,22 g ekstrak air berwarna merah tua.

Hasil uji aktivitas antibakteri untuk masing-masing ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan *n*-butanol terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 20% (b/v) disajikan pada Tabel 1. Seperti data pada Tabel 1. ekstrak etil asetat menunjukkan daya hambat yang sangat kuat dengan diameter zona hambat $20,08 \pm 1,43$ mm diikuti ekstrak *n*-heksana dan *n*-butanol dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar $13,33 \pm 1,52$ mm dan $16,66 \pm 1,15$.

Ekstrak etil asetat dengan daya hambat sangat kuat selanjutnya ditentukan konsentrasi hambat minimumnya dengan menggunakan beberapa konsentrasi untuk mengetahui pada konsentrasi berapa fraksi etil asetat masih menunjukkan daya hambat pada bakteri *S. aureus*. Hasil yang diperoleh seperti yang tertera pada Tabel 2, menunjukkan konsentrasi terendah yang masih menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah 0,2% dengan zona hambat sedang sebesar 6,20 mm (Nazri *et al*, 2011).

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

No.	Bahan Uji	Daya Hambat (mm)			Rata-rata ± Standar Deviasi
		I	II	III	
1.	Amoxicillin	30	29	30	29,66 ± 0,57
2.	Ekstrak n-heksana	12	15	13	13,33 ± 1,52
3.	Ekstrak etil asetat	19,25	21,75	19,25	20,08 ± 1,43
4.	Ekstrak n-butanol	16	18	16	16,66 ± 1,15
5.	Metanol	0	0	0	0 ± 0

Tabel 2. Konsentrasi Hambat Minimum Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Konsentrasi (% (b/v))	Daya Hambat (mm)			Rata-rata ± Standar Deviasi
		I	II	III	
1.	0,4	7,25	8,0	7,5	7,58 ± 0,38
2.	0,3	6,5	6,5	6,5	6,5 ± 0
3.	0,2	6,25	6,125	6,25	6,20 ± 0,07
4.	0,1	0	0	0	0±0

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat

No.	Uji Fitokimia	Perekasi	Pengamatan	Kesimpulan
1.	Alkaloid	<i>Mayer</i>	Endapan putih	-
		<i>Wegner</i>	Endapan coklat	-
2.	Flavonoid	<i>Wilstater</i>	Merah-jingga	+
		<i>Bate smith-metcalf</i>	Merah	
3.	Terpenoid	NaOH 10 %	Kuning-merah	-
		<i>Lieberman</i>	Merah/ungu	
4.	Steroid	<i>Burchard</i>	Hijau/biru	+
		<i>Lieberman</i>		
5.	Fenol	FeCl ₃	Hitam kebiruan	+
6.	Tanin	FeCl ₃	Biru tua/ hitam kehijauan	+
7.	Saponin	Aquades-asam	Adanya buih/busa	-

Keterangan : (+) mengandung senyawa
(-) tidak mengandung senyawa

Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etil asetat meliputi senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, fenol, tanin dan saponin. Hasil skrining fitokimia seperti yang tertera pada Tabel 3 di atas, menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat mengandung senyawa flavonoid, steroid, fenol, dan tanin.

Fraksi hasil kromatografi kolom dianalisis dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (7,5:2,5) diperoleh 10 fraksi yang digabungkan berdasarkan pola pemisahan yang sama seperti disarikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Kromatografi Kolom

Fraksi	Warna	Jumlah noda	Berat (g)
A (1-17)	Kuning	1	0,0209
B (18-25)	Merah muda	4	0,0087
C (26-40)	Hijau tua	6	0,0146
D (41-58)	Hijau tua	4	0,0229
E (59-76)	Coklat	3	0,0190
F (77-104)	Coklat	5	0,0271
G (105-137)	Hijau	3	0,0227
H (138-211)	Hijau	5	0,0619
I (212-293)	Kuning	3	0,0441
J (Metanol)	Hitam	2	0,3175

Kesepuluh fraksi hasil kromatografi kolom selanjutnya diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 50 %. Hasil yang diperoleh seperti pada Tabel 5 menunjukkan bahwa fraksi B, G, H dan I dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Selanjutnya fraksi yang aktif dilanjutkan untuk identifikasi senyawa aktifnya menggunakan LCMS/MS.

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas antibakteri

Fraksi	Daya Hambat (mm)
A	0,0
B	5,62
C	0,0
D	0,0
E	0,0
F	0,0
G	6,87
H	8,50
I	6,75
J	0,0

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri, pada fraksi gabungan hasil kromatografi kolom memiliki diameter zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi B, G, H, dan I bekerja secara sinergis dalam memberikan aktivitas antibakteri pada ekstrak etil asetat

Hasil kromatografi kolom menunjukkan bahwa fraksi H berdasarkan harga Rfnya merupakan gabungan komponen fraksi G dan I. Untuk itu identifikasi dengan LCMS/MS dilakukan pada fraksi G dan I dengan pertimbangan bahwa fraksi G dan I mempunyai komponen yang lebih sedikit dari H sehingga lebih mudah untuk dianalisis. Sebelum dianalisis dengan LCMS/MS sampel dimurnikan dengan metode *solid phase extraction (SPE)* dengan pelarut metanol dan diklorometana (DCM) Hasil analisis fraksi G dan I menggunakan pelarut metanol dan DCM dan dugaan senyawanya berdasarkan data base *Chemspider* dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Tabel 6. Perkiraan Senyawa Hasil Identifikasi Dengan LC-MS/MS Menggunakan Eluen Metanol

Fraksi	Waktu Retensi (Rt)	[M+H] ⁺	Dugaan senyawa
G	10,105	353,1031	<i>Crotarin</i>
	10,747	247,0597	<i>2-Benzophenone</i>
	12,623	387,2583	<i>Medroxyprogesterone acetate</i>
I	11,327	467,1928	<i>4-Propylphenyl 2,3,4,6-tetra-O-acetylhexopyranoside</i>
	12,528	529,2115	<i>Glaucine B</i>
	12,612	387,2536	<i>Medroxyprogesterone acetate</i>

Tabel 7. Perkiraan Senyawa Hasil Identifikasi Dengan LC-MS/MS Menggunakan Eluen DCM

Fraksi	Waktu Retensi (Rt)	[M+H] ⁺	Dugaan senyawa
G	10,095	763,2094	Tidak teridentifikasi
	10,916	727,1710	Tidak teridentifikasi
	11,790	779,1235	Tidak teridentifikasi
I	1,223	383,1180	(6S)-2,6-Anhydro-6-methyl-3-O-(4-O-methyl-β-D-mannopyranuronosyl)-D-allonic acid

Hasil analisis dengan LC-MS/MS ekstrak etil asetat pada fraksi G dan fraksi I dari 7 senyawa yang terdeteksi diketahui beberapa senyawa yang aktif sebagai antibakteri meliputi *Crotarin*, *2-Benzophenone*, *Medroxyprogesterone acetate*. Senyawa *Crotarin* (5,7-Dihydroxy-3-(4-hydroxy-2-isopropenyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-7-yl)-4H-chromen-4-on) merupakan senyawa flavonoid golongan isoflavon. Salah satu senyawa isoflavon yaitu 8-(y,y-dimethylallyl)-wighteone yang memiliki struktur dasar yang sama dengan *crotarin* dilaporkan aktif antibakteri dimana adanya gugus hidroksil fenolik yang memiliki afinitas terhadap protein bertindak sebagai inhibitor enzim mikroba dan mengganggu membran sel bakteri (Mukne *et al*, 2011). Senyawa *2-Benzophenone* (2,2',4,4'-tetrahydroxybenzophenone) merupakan salah satu senyawa golongan fenolat yang aktif sebagai antibakteri. Senyawa *benzophenone* bertindak sebagai penghambat pembentukan dinding sel, penghambat sintesis protein dan menghalangi jalur metabolisme bakteri (Naldoni *et al*, 2009). Senyawa *Medroxyprogesterone acetate* merupakan senyawa dari golongan steroid. Senyawa steroid dilaporkan aktif sebagai antibakteri dengan mekanisme kerjanya yaitu merusak membran sel sehingga terjadi kebocoran dalam sel, yang menyebabkan integritas membran sel menurun serta morfologi membran berubah yang mengakibatkan sel lisis atau mati (Rijayanti, 2014). Ketiga senyawa tersebut kemungkinan berperan dalam aktivitas antibakteri berdasarkan struktur dasarnya, namun belum pernah dilaporkan bahwa secara tunggal senyawa tersebut bertindak sebagai antibakteri.

Beberapa senyawa seperti 4-Propylphenyl 2,3,4,6-tetra-O-acetylhexopyranoside, *Glaucine B*, (6S)-2,6-Anhydro-6-methyl-3-O-(4-O-methyl-β-D-mannopyranuronosyl)-D-allonic acid, belum dilaporkan bersifat sebagai antibakteri. Senyawa dengan berat molekul 763,2094, 727,1710, 779,1235 tidak dapat diidentifikasi lebih lanjut, karena tidak adanya kemiripan antara spectrum massa dengan database. Pada fraksi B hasil kolom yang juga aktif sebagai antibakteri juga perlu diidentifikasi lebih lanjut, karena senyawa-senyawa yang terdapat pada fraksi B, G, H dan I memberikan efek sinergisme terhadap aktivitas antibakteri pada ekstrak etil asetat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, ekstrak n-heksana, etil asetat, dan n-butanol daun tenggulun aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dengan diameter daya hambat berturut-turut 13,33, 20,08 dan 16,66 mm. Ekstrak etil asetat yang paling aktif antibakteri menunjukkan daya hambat minimum pada konsentrasi 0,2 % dengan diameter hambat sebesar 6,20 mm. Dari hasil identifikasi menggunakan LC-MS/MS, senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun tenggulun (*Protium Javanicum* Burm. F.) diduga senyawa *Crotarin*, *Benzophenone-2*, dan *Medroxyprogesterone acetate*.

DAFTAR PUSTAKA

- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiwa Farmasi & Kedokteran*. Penerbit Buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Segatri. 1989. *Taru Pramana Khasiat Tanaman Untuk Obat Tradisional*. Penerbit Upada Sastra. Denpasar
- Suirta, I.W., Puspawati, N.M., Asih, A.A.R.A. 2016. Aktivitas Antiinflamasi Topikal Minyak Atsiri dan Ekstrak Eter Tumbuhan Tenggulun, *Protium javanicum*, Burm Terhadap Model Inflamasi Kulit Pada Tikus. *Cakra Kimia (Indonesia E-Journal of Applied Chemistry)*. 4 (1): 8-17
- Dewi, A.A.T.S., Puspawati, N.M., Suarya, P. 2015. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Eter Kulit Batang Tenggulun (*Protium Javanicum* Burm. F) Terhadap Edema Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi Dengan Karagenan. *Jurnal Kimia*. 9 (1): 13-19.
- Kriswiyanti, E. 1997. *Identifikasi, Struktur Anatomi, dan Studi Pendahuluan Golongan Senyawa Kimia Daun Pelengkap Bumbu Lawar dan Betutu*. Laporan Penelitian Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana. Bukit Jimbaran .
- Sukmajaya, A. P. I. G. P., Puspawati, N. M. dan Putra, A. A. Bawa. 2012. Analisis Kandungan Minyak Atsiri Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F) Dengan Metode Kromatografi Gas-Spektrometri Massa. *Jurnal Kimia*. 6 (2): 155-162.
- Nazri, N. A. A.M., Ahmat, N., Adnan, A., Mohamad, S. A. S., Ruzaina, S. A. S. 2011. In vitro antibacterial and radical scavenging activities of Malaysian table salad. *African Journal of Biotechnology*. 10 (30): 5728-5735.
- Mukne, A., Viswanathan, V., and Phadataré, A. 2011. Structure pre-requisites for isoflavones as effective antibacterial agents. *Pharmacognosy Reviews*. 5 (9): 13
- Naldoni, F.J., A. L. R. Claudino., J. W. Cruz, jr., J.K. Chavasco., P.M. Faria e Silva., M. P. Veloso and M. H. Dos Santos, 2009. Antimicrobial Activity of Benzophenones and Extracts from the Fruits of *Garcinia brasiliensis*. *Journal of Medicinal Food*. 12 (2): 403-407
- Rijayanti, R. P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak.