

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kombinasi Daun Kepel (*Stelechocarpus Burahol*) dan Pegagan (*Centella Asiatica*)

Suzan Astyamalia¹, Maulana Tegar Aditya Nugraha^{2*}, Ferli Eko³

^{1,2*}Fakultas Pertanian, Universitas Tidar, Magelang, Indonesia

³Jurusan Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Madani, Yogyakarta, Indonesia

Email: ¹suzanasty@gmail.com, ^{2*}nugrahamaulana07@gmail.com

Abstract

Kepel and pegagan (kola) leaves have been used as traditional- medicine. Combination kepel and pegagan leaves wasn't known exactly how its antibacterial activity yet. The purpose of this study was to determine the combination ethanol extract of kepel and kola leaves as antibacterial activity. The method of this study is the well diffusion method. The data were analyzed using quantitative descriptive methods to obtain the minimum, maximum, mean and standard deviation values for the data. The analysis used a descriptive method to explain the antibacterial activity of the ethanol extract of kepel and pegagan leaves against Escherichia coli and Staphylococcus epidermidis with the ratio of kepel and pegagan leaves in extracts 10:90, 30:70, 50:50, 70:30 and 90:10. The results showed that Escherichia coli bacteria had the largest inhibitory diameter in a combination of 70 parts of Kepel leaves and 30 parts of pegagan leaves with an inhibitory diameter of 0.800 cm, while for gram-positive bacteria, Staphylococcus epidermidis, the optimal inhibitory diameter was 0.950 cm in a combination of 40 parts kepel leaves and 60 parts of pegagan leaves. The combination of kepel and pegagan leaves is in providing bacterial inhibition. Escherichia coli bacteria are bacteria that are commonly found in the digestive tract and Staphylococcus epidermidis which generally causes acne.

Keywords: Antibacterial, Traditional Medicinal Agents, Kepel Leaves, Pegagan Leaves, Ethanol Extract Combination

Abstrak

Daun kepel dan pegagan telah digunakan sebagai obat tradisional. Namun, kombinasi daun kepel dan daun pegagan belum diketahui secara pasti bagaimana aktivitas antibakterinya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kombinasi ekstrak etanol daun kepel dan daun pegagan sebagai agen antibakteri. Metode difusi sumur digunakan dalam penelitian ini. Data dianalisis dengan menggunakan metode deskriptif kuantitatif untuk mendapatkan nilai minimum, maksimum, rata-rata dan standar deviasi dari data tersebut. Analisis menggunakan metode deskriptif ini untuk menjelaskan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kepel dan pegagan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan perbandingan daun kepel dan pegagan dalam ekstrak 10:90, 30:70, 50:50, 70:30 dan 90:10. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak pada bakteri *Escherichia coli* memiliki diameter hambat terbesar pada kombinasi 70 bagian daun kepel dan 30 bagian daun pegagan dengan diameter hambat 0,800 cm, sedangkan pada bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis* diameter hambat yang optimal adalah 0,950 cm dalam kombinasi 40 bagian daun kepel dan 60 bagian daun pegagan. Kombinasi daun kepel dan daun pegagan memberikan daya hambat bakteri. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada saluran pencernaan dan *Staphylococcus epidermidis* yang umumnya menyebabkan jerawat.

Kata Kunci: Antibakteri, Agen Obat Tradisional, Daun Kepel, Daun Pegagan, Kombinasi Ekstrak Etanol.

1. PENDAHULUAN

Antibiotik adalah obat yang sering digunakan sebagai antibakteri. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri semakin meningkat setiap tahunnya di Indonesia, sehingga antibiotik sering digunakan untuk pengobatan (Adewole et al., 2009). Penggunaan obat-obatan kimia seperti antibiotik seringkali berbahaya karena selain memiliki efek samping tertentu, juga dapat menyebabkan resistensi jika pemakaiannya tidak sesuai. Penyebabnya diawali karena penggunaan antibiotik yang tidak sampai habis sehingga bakteri tidak mati secara keseluruhan.

Bakteri adalah salah satu mikroorganisme penyebab berbagai penyakit pada tubuh manusia, contohnya bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang berada di usus manusia yang menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK) dan diare. Kedua penyakit ini, khususnya diare merupakan penyakit paling sering menyerang anak-anak di seluruh dunia termasuk negara berkembang seperti Indonesia. Diare dan ISK merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan pengobatannya perlu menggunakan antibiotik. Bahan-bahan tersebut bisa berasal dari tumbuh-tumbuhan. Selain itu, tumbuhan dapat menjadi salah satu alternatif pengobatan dalam mengurangi resistensi terhadap antibiotik. Diketahui bahwa tanaman herbal memiliki efek samping yang lebih sedikit dibandingkan obat-obatan kimia (Akhouri et al., 2014).

Antibiotik biasa digunakan untuk mencegah penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik yang berasal dari bahan kimia memiliki efek samping resistensi sehingga penggunaan antibiotik selalu menggunakan resep dokter. Resistensi antibiotik merupakan masalah besar di masyarakat dan berdampak pada pilihan terapi infeksi yang menjadi sangat terbatas. Ditambah lagi dengan prevalensi resistensi antibiotik yang cenderung makin meningkat dari tahun ke tahun sehingga ini masih belum dapat ditanggulangi (Bhargavi et al., 2013).

Di Indonesia banyak tanaman herbal yang memiliki banyak manfaat, seperti daun kepel dan daun pegagan (Biswas et al., 2022). Daun kepel (*S. burahol*) dan daun pegagan atau yang memiliki nama lain daun kola (*Centella asiatica*) biasa digunakan masyarakat untuk pengobatan obat tradisional. Kandungan senyawa tanin dan flavonoid memiliki aktivitas sebagai antiseptik dan antibakteri. masyarakat yang tinggal di negara berkembang memakai kepel untuk perawatan kesehatan dan mengobati banyak penyakit dan sudah digunakan sebagai pewangi alami dan biofarmasi (Amin et al., 2018).

Pada penelitian ini kombinasi ekstrak daun kepel dan ekstrak daun pegagan diuji aktivitas antibakterinya pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis* dimana keduanya mewakili bakteri gram negatif dan positif yang sering menyebabkan penyakit pada manusia. Oleh karena itu, diharapkan penelitian ini dapat memberikan inovasi obat antibiotik herbal yang lebih aman dan bermanfaat bagi masyarakat (Ganguly dan Abdul, 2014). Penyebaran *Escherichia coli* dapat terjadi melalui kontak langsung dan kemudian ditularkan melalui mulut (Lorent et al., 2014).

Selain itu, resistensi antibiotik menggunakan bahan kimia jika dikonsumsi secara teratur akan menyebabkan kerusakan hati karena metabolisme obat yang berasal dari bahan kimia. Untuk itu diperlukan bahan yang lebih aman dari bahan kimia obat untuk digunakan sebagai antibiotik. Daun kepel dan pegagan merupakan simplisia yang mudah didapat dan harganya relatif murah. Topik penelitian ini penting untuk diteliti karena peneliti ingin menemukan obat herbal yang lebih aman daripada obat kimia. Daun kepel dan Pegagan banyak ditemukan di Indonesia dan belum dimanfaatkan sebagai obat herbal. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan obat alternatif baru dari obat herbal

yang memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat kimia seperti antibiotik. Sehingga memiliki potensi untuk memajukan pengetahuan baru.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tahapan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimen tentang obat-obatan herbal yang digunakan sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan terhitung dari bulan Januari - Mei 2021. Penelitian dimulai dari persiapan sampel, kontrol negatif dan kontrol positif, serta uji aktivitas bakteri.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen yang bertujuan untuk mengukur diameter hambat ekstrak yang digunakan. Ekstrak area kombinasi ekstrak daun kepel dan pegagan dengan konsentrasi yang berbeda (10:90, 30:70, 50:50, 70:30, 90:10) dan penghambatan pertumbuhan *Escherichia coli* serta bakteri epidermidis.

Dalam penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kepel-pegagan. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat daun kepel-pegagan. ekstrak etanol daun kepel dan Pegagan sebagai parameter aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun kepel dan Pegagan, bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*, etanol 96%, etanol 70%, aquadest, tablet Ciprofloxacin, media Nutrient Agar (NA), NaCl 0,9%, kertas saring, kertas label, aluminium foil, FeCl₃, serbuk magnesium, HCl pekat 32%, pereaksi Dragendorff, CH₃COOH anhidrat, H₂SO₄ pekat 98%.

2.2 Persiapan sampel

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Sebelumnya, daun kepel dan pegagan disortir lalu dicincang hingga halus. Setelah dicincang di oven selama 24 jam pada suhu 60°C. Setelah kering, dicincang halus (Osman et al., 2011). Serbuk halus ditimbang sebanyak 250 g kemudian dimaserasi dengan 1000 mL. etanol 96%. Maserasi dilakukan sampai semua senyawa tertarik sempurna (3 x 24 jam), dalam wadah tertutup, terlindung dari sinar matahari langsung, dan pada suhu kamar, dengan beberapa kali pengadukan. Setelah 3 hari, kemudian disaring dengan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh diuapkan di atas penangas air dengan suhu 80°C sampai diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemennya

2.3 Kontrol Negatif dan Positif

Kontrol negatif dibuat dari *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 1% dengan cara 1 g serbuk CMC dilarutkan dalam 100 mL aquades steril. Kemudian dikocok hingga larutan menjadi homogen (Pieri et al., 2014). Kontrol positif dibuat dari tablet Ciprofloxacin® 500 mg. Satu tablet Ciprofloxacin digerus, kemudian ditimbang dan disamakan dengan 500 mg. Kemudian serbuk Ciprofloxacin dilarutkan dalam larutan CMC 1% sehingga diperoleh larutan Ciprofloxacin 50µg/50µl.

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Alat-alat yang akan disterilkan terlebih dahulu harus dicuci dan dikeringkan. Cawan petri dibungkus dengan kertas perkamen. Untuk barang pecah belah, mulut ditutup

dengan kapas steril yang dibungkus dengan kain kasa steril, kemudian dibungkus dengan kertas roti, disterilkan dalam oven pada suhu 150°C selama 2 jam. Kasa, kapas, gelas ukur, pipet, dan slide juga dibungkus dengan kertas roti dan disterilkan dengan autoklaf pada 121°C pada tekanan 1atm selama 15 menit. Untuk alat seperti ose, batang L (untuk metode spread plate) dan pinset disterilisasi dengan metode Flamber, direndam dalam etanol 70% selama 5 menit kemudian dinyalakan dengan api Bunsen. Instrumen yang terbuat dari karet berupa pipet disterilkan dengan cara merendamnya dalam etanol 70% selama 5 menit. Media steril tersebut kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 8 mL. Media dituangkan dalam kondisi hangat (40°C-45°C). Cawan petri yang berisi media diletakkan pada permukaan horizontal untuk memberikan kedalaman yang seragam $\pm 0,5$ cm, kemudian menunggu media memadat. Media dibuat secara aseptik (Vieira et al., 2010). Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat steril kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 2 mL NaCl 0,9% dan dikocok hingga diperoleh nilai kekeruhan standar 0,5.

2.5 Metode Difusi Sumur

Media NA yang sudah siap diolesi dengan koleksi swab steril yang telah dimasukkan ke dalam suspensi bakteri secara merata dengan metode swab. Buat sumur sebanyak yang dibutuhkan dengan ukuran sumur 6 mm. Setelah itu, ekstrak daun kepel dan ekstrak daun pegagan dengan beberapa konsentrasi beserta kontrol positif dan kontrol negatif dipipet menggunakan mikropipet. Kemudian cawan Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Diameter zona hambat kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Escherichia coli termasuk bakteri gram negatif. *Escherichia coli* biasanya berhubungan dengan sistem pencernaan manusia. Berdasarkan diameter hambat kombinasi ekstrak kepel dan pegagan, ekstrak daun pegagan yang memberikan aktivitas zona hambat tertinggi, yaitu rasio 70 bagian daun kepel dan 30 bagian daun pegagan dengan zona hambat 0,800. Kandungan terpenoid dan flavonoid pada daun kepel dengan komposisi 70 bagian diduga cukup efektif membunuh *Escherichia coli* dengan kombinasi 30 bagian daun Pegagan yang diketahui mengandung alkaloid dan saponin. Jika dilihat dari Tabel 1, terjadi peningkatan aktivitas hambat bakteri *Escherichia coli* dari perbandingan 30 sampai 70 bagian daun kepel. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan dengan meningkatnya kandungan terpenoid dan flavonoid dalam ekstrak, maka aktivitas zona hambat untuk gram negatif bakteri akan meningkat pula, akan tetapi bagian 90 justru menurunkan aktivitas zona hambat. Dari hasil penelitian didapat juga bahwa ekstrak daun pegagan lebih efektif melawan bakteri gram negatif bila dikombinasikan dengan 30 bagian daun Pegagan, terlihat dari zona hambat yang lebih tinggi dari perbandingan ekstrak lainnya. Hal ini bisa disebabkan karena adanya kombinasi antara flavonoid dan alkaloid sehingga menjadi anti bakteri yang kuat untuk *Escherichia coli*.

Tabel 1. Zona hambat bakteri *Escherichia coli*

Sampel /part	10 : 90	30 : 70	50 : 50	70 : 30	90 : 10
1	0,46	0,55	0,63	0,79	0,45
2	0,47	0,54	0,64	0,80	0,47
3	0,49	0,56	0,64	0,81	0,48
Rata-rata	0,473	0,550	0,637	0,800	0,467

Kombinasi daun kepel dan Pegagan juga diuji aktivitas antibakterinya pada gram positif. oleh karena itu, dalam penelitian ini juga digunakan bakteri positif, yaitu *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri ini biasanya terdapat pada kulit yang menyebabkan permasalahan pada kulit, seperti timbulnya jerawat. Aktivitas penghambatan tertinggi terdapat pada 40 bagian daun kepel dan 60 bagian daun pegagan. Dapat dilihat pada tabel 2, terjadi penurunan aktivitas hambat daun kepel dari 40 hingga 80 bagian. Kemungkinan penurunan jumlah kandungan alkaloid yang umumnya banyak terdapat pada daun pegagan juga menurunkan aktivitas hambat *Staphylococcus epidermidis*, sehingga kombinasi ekstrak yang paling efektif untuk penghambatan gram positif adalah 40 bagian daun kepel dan 60 bagian daun pegagan, meskipun 20 bagian daun kepel dan 80 bagian daun Pegagan menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih besar daripada 50:50 bagian. Kombinasi daun kepel dan pegagan terbukti memiliki komposisi yang efektif untuk penghambatan gram negatif dan gram positif. Zona hambat terbaik pada gram negatif pada ekstrak dengan perbandingan 70 bagian daun kepel dan 30 bagian daun pegagan, sedangkan pada gram positif, zona hambat paling baik dihasilkan oleh ekstrak dengan 40 bagian daun kepel dan 60 bagian pegagan.

Tabel 2. Zona hambat bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sampel / Part	20 : 80	40 : 60	50 : 50	60 : 40	80 : 20
1	0,74	0,95	0,63	0,55	0,44
2	0,77	0,975	0,66	0,56	0,42
3	0,78	0,925	0,64	0,57	0,46
Rata-rata	0,763	0,950	0,643	0,560	0,440

Uji gram positif dan gram negatif ini dilakukan untuk mengetahui seberapa efektif kombinasi daun kepel dan daun pegagan dalam memberikan penghambatan bakteri. dengan adanya penelitian kombinasi daun kepel dan pegagan sebagai antibakteri merupakan inovasi sehingga dapat memberikan pengobatan alternatif untuk membantu mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri khususnya *Escherichia coli* sehingga dapat diformulasikan sebagai obat pendamping herbal. Selain itu, kombinasi Pegagan

juga bermanfaat untuk menghambat bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis* yang umumnya menyebabkan jerawat. Hal ini dapat memberikan inovasi bahwa kombinasi daun pegagan dan kepel dapat diformulasikan sebagai salep atau lotion yang mampu menjadi obat jerawat herbal. Namun untuk menciptakan produk yang berkualitas, diperlukan penelitian lebih lanjut. Kekurangan atau kendala dari penelitian ini adalah kurangnya bahan-bahan penunjang penelitian sehingga penelitian ini kurang optimal, sehingga kedepannya perlu dilakukan perbaikan baik bahan yang digunakan maupun metode yang digunakan. Dapat disimpulkan bahwa diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mencapai perbandingan yang optimal antara kepel dan Pegagan sehingga kombinasi yang optimal dapat digunakan baik untuk bakteri gram positif maupun gram negatif.

Dari penelitian ini kepel dan pegagan menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. Kombinasi konsentrasi dari daun kepel dan pegagan memberikan perbedaan zona hambat bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun kepel dan Pegagan mampu menghambat bakteri gram positif dan gram negatif secara signifikan. Publikasi lain menunjukkan bahwa banyak obat-obatan herbal yang mampu menghambat gram positif dan gram negatif, tetapi mereka tidak pernah mencari kombinasi konsentrasi daun kepel dan pegagan yang dapat melakukannya dengan baik. Bakteri *Escherichia coli* telah resisten terhadap banyak antibiotik, begitu pula *Staphylococcus epidermidis*. Beriringan dengan diperlukannya penggunaan antibiotik baru untuk membunuh bakteri, penemuan antibiotik baru juga sangat penting. Mencari obat antibiotik baru yang potensial dan memiliki efek samping yang lebih sedikit diperlukan (Nassan et al., 2015). Ada bahan herbal yang telah diuji secara in vitro dan menunjukkan adanya zona hambat pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis* (Revati et al., 2015). Namun belum ada penelitian tentang kombinasi daun kepel dan pegagan untuk kedua bakteri tersebut. Jadi penelitian ini memiliki potensi untuk memajukan pengetahuan baru.

4. KESIMPULAN

Ekstrak kombinasi 70 bagian daun kepel dan 30 bagian daun pegagan memiliki diameter hambat terbesar pada bakteri *Escherichia coli* dengan diameter hambat 0,800, sedangkan untuk bakteri gram positif (*Staphylococcus epidermidis*) memiliki diameter hambat optimal 0,950 pada kombinasi dari 40 bagian daun kepel dan 60 bagian daun pegagan. Namun, keterbatasan penelitian ini adalah hanya menggunakan 2 sampel bakteri, hal ini dikarenakan keterbatasan dana penelitian. penelitian ini juga hanya menggunakan satu parameter yaitu zona hambat sehingga disarankan lebih banyak parameter untuk mengetahui bagaimana obat herbal yang efektif membunuh bakteri. Saran kedua adalah gunakan lebih banyak bakteri untuk sampel penelitian Anda. Lebih banyak sampel bakteri akan mendukung hasil yang lebih baik jika dana penelitian mendukung.

UCAPAN TERIMAKASIH

Karya ini didukung dan dana penelitian fundamental oleh *Health Science Collage* Madani Yogyakarta Indonesia

5. REFERENCES

- Adewole, S.O., Ojewole, J.A.O. (2009). Protective Effects of *Annonamuicata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *Afr J Tradit Complement Altren Med.* 6(1): 30-41. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v6i1.57071>
- Amin A. Radji M. Mun'im A. Rahardjo A. Suryadi H. (2018). Antimicrobial activity of ethyl acetate fraction from *Stelechocarpus burahol* fruit against oral bacteria and total flavonoids content. *Journal of Young Pharmacists.* 10(2):97-98. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.2s.19>
- Akhouri, S., Prasad, A., and Ganguly, S. 2014. A poultry performance enhancer herb: a review. *World. J.Pharm. &Pharma. Sci.* 3 (7):523-525. https://wjpps.com/Wjpps_controller/abstract_id/1594
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R.K., Bandyopadhyay, U., 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*, 82 (11): 1336-1345. <https://doi.org/10.22435/jtoi.v11i2.100>
- Bhargavi S, Buthapalli K, Dantu KS, Buchiraju R, Sreekanth N. 2013. An evaluation of the antibacterial activity of root extracts of *Manilkarazapota* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *International Journal of Phytopharmacology.* 4(3):171-3.2231815ja
- Ganguly A and Abdur R. 2014. Evaluation of the cytotoxic, antimicrobial, antioxidant, anthelmintic and CNS depressant activities of *Manilkarazapota* leaf (Sapotaceae). *World Journal of Pharmaceutical Research.* 4(1):272-83.2231818ja
- Lorent JH, Quetin-Leclercq J, Mingeot-Leclercq MP. 2014. The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. *Org Biomol Chem.* 12(44): 8803-22.1889283ja
- Nassan, M.A.; Mohamed, E.H.; Abdelhafez, S.; Ismail, T.A. 2015. Effect of clove and cinnamon extracts on experimental model of acute hematogenous pyelonephritis in albino rats: Immuno pathological and antimicrobial study. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 28, 60–68. <https://doi.org/10.1177/0394632015572075>
- Osman MA, Abdul A, Rowshanul H and Rezaul K. 2011. Antimicrobial investigation on *Manilkarazapota* (L.) P. Royen. *International Journal of Drug Development and Research.* 3(1):185-90.2231825ja
- Pieri, F.A., Silva, V.O., Vargas, F.S., Junior, V.V.F., Moreira, M.A.S. 2014. Antimicrobial Activity of *Copaifera langsdorffii* Oil and Evaluation of its Most Bioactive Fraction against Bacteria of Dog's Dental Plaque. *Pak Vet J.* 34(2): 165-169. http://www.pvj.com.pk/archive/Volume_34_Issue_2_2014.htm
- Revati, S.; Bipin, C.; Chitra, P.; Minakshi, B. 2018. In vitro antibacterial activity of seven Indian spices against high level gentamicin resistant strains of enterococci. *Arch. Med. Sci.* 11, 863–868. [doi://10.5114/aoms.2015.53307](https://doi.org/10.5114/aoms.2015.53307)
- Vieira, G.H.F., Mourão, J.A., Ângelo, A.M., Costa, R.A. & Vieira, R.H.S.F. 2010. Antibacterial Effect (In Vitro) Of *Moringa Oleifera* and *Annona Muricata* Against Gram Positive and Gram-Negative Bacteria. 2010. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 52(3):129-132. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK2016000472>