

**RESISTIBILITY OF CHERRY WATER EXTRACT LEAVES (*Muntingia calabura L.*)
TOWARD OF *Escherichia coli* GROWTH THAT CAUSE MASTITIS DISEASES IN
DAIRY COWS**

Rahmad Adi Gunawan¹, Sarwiyono² and Puguh Surjowardojo²

¹*Student of Animal Husbandry Faculty, Brawijaya University, Malang*^{*)}

²*Lecturer of Animal Husbandry Faculty, Brawijaya University, Malang*

^{*)}*Email: adi_2@ymail.com*

ABSTRACT

The purpose of this research was to find out the resistibility of cherry water extract leaves in various concentration toward of *Escherichia coli* growth that cause mastitis diseases in dairy cows. The method of this research was Completely Randomized Design (CRD) using five replication. Concentration of cherry water extract leaves treatments was 10%; 20%; 30%; 40%; 50% and control using Iodips solution. Result of this research showed that concentration of cherry water extract leaves did not gave significant different effect ($P>0.05$) on resistibility of *Escherichia coli* growth. Conclusion of this research was the cherry water extract leaves had capability to inhibit *Escherichia coli* growth. Cherry anticeptical substance is easy to find on dairy farm area.

Keyword : Resistibility, *Muntingia calabura L.*, *Escherichia coli* and Anticeptical.

**DAYA HAMBAT DEKOK DAUN KERSEN (*Muntingia Calabura L.*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* PENYEBAB PENYAKIT MASTITIS SAPI PERAH**

Rahmad Adi Gunawan¹, Sarwiyono² and Puguh Surjowardojo²

¹*Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya*^{*)}

²*Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya*

^{*)}*Email : adi_2@ymail.com*

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat dekok daun kersen pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* penyebab mastitis pada sapi perah. Metode dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 5 ulangan. Konsentrasi dari dekok daun kersen adalah 10%; 20%; 30%; 40%; 50% dan larutan Iodips sebagai kontrol. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi dekok daun kersen tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P>0.05$) terhadap daya hambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa dekok daun kersen memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Daun kersen sebagai antiseptik pengganti yang mudah dijumpai dilingkungan peternakan.

Kata Kunci : Daya Hambat, *Muntingia calabura L.*, *Escherichia coli*, Antiseptik.

PENDAHULUAN

Susu merupakan komoditas utama pada usaha ternak sapi perah. Salah satu kendala yang dihadapi dalam produksi susu sapi perah adalah adanya penyakit infeksi mastitis. Mastitis merupakan salah satu penyakit yang sering dialami oleh peternak perah dan sangat merugikan peternak sapi perah yang berakibat menurunnya produksi susu. Penyakit ini disebabkan karena masuknya kuman atau bakteri kedalam ambing sapi perah. Beberapa faktor penyebab yang mempermudah terjadinya mastitis, yaitu kondisi sapi sebagai inang, kondisi lingkungan yang buruk dan mikroorganisme sebagai agen penyebab penyakit (Hermanto, Sugoro, dan Ikmalia, 2012).

Insiden mastitis pada sapi perah di Indonesia sangat tinggi sekitar 85% dan sebagian besar penyakit mastitis yang sering menyerang sapi perah adalah mastitis sub-klinis (Masniari, 2009). Tiga bakteri penyebab utama penyakit mastitis sub-klinis adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, dan *Escherichia coli* (Wibawan, sudarwanto, Herlina, dan Zakasie, 1999). Ditambahkan oleh Persson, Nyman and Andersson (2011) bahwa *Escherichia coli* adalah bakteri yang diwaspadai mempunyai peranan sebagai salah satu penyebab mastitis subklinis pada sapi perah (4,8%) dan merupakan hambatan utama dalam peningkatan produksi susu.

Banyak cara yang telah dilakukan untuk pengobatan mastitis, salah satunya dengan penggunaan antiseptik dalam *teat dipping*. Pengobatan penyakit mastitis banyak dilakukan melalui pemberian antiseptik yang dampaknya bisa menimbulkan resistensi pada mikroba dan

adanya residu pada susu. Sehingga perlu dicari alternatif lainnya untuk mencegah penyakit tersebut. Salah satu alternatif pencegahan penyakit mastitis adalah dengan menggunakan antibakteri yang berasal dari alam yang diharapkan tidak menimbulkan resistensi, lebih alami dan meminimalisir masuknya zat-zat kimia (Kurniawan, 2013).

Menurut Sastroamidjojo (1997), Indonesia memiliki jenis tanaman obat yang banyak ragamnya. Jenis tanaman yang termasuk dalam kelompok tanaman obat mencapai lebih dari 1000 jenis. Salah satunya tumbuhan kersen atau keres (*Muntingia calabura L.*).

Tumbuhan kersen mudah dijumpai di sekitar pemukiman, kurangnya pengetahuan masyarakat tentang tanaman kersen yang banyak sekali manfaat dan kegunaannya menjadikan tanaman kersen dianggap sebagai tanaman yang menyebabkan kotor pada halaman karena setiap hari daunnya selalu berguguran. Kandungan senyawa organik yang ada di tanaman kersen yang terdapat pada buah, batang dan daun sangat bermanfaat untuk dijadikan obat tradisional. Tumbuhan kersen sering digunakan secara tradisional untuk penyembuhan asam urat, antiseptik, antinflamasi dan antitumor. Daun kersen dapat dijadikan sebagai antibakteri karena mengandung senyawa tannin, flavonoid dan saponin.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu diteliti pengaruh dekok daun kersen terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit mastitis pada sapi perah.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Mei 2013 – Juni 2013 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang untuk pembiakan dan penanaman bakteri *Escherichia coli*, serta pengujian daya hambat bakteri *Escherichia coli*.

Materi

Materi penelitian ini adalah menggunakan Bakteri *Escherichia coli* stok biakan bakteri dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) diperoleh di sekitar perumahan warga Tlogomas. Larutan iodips sebagai kontrol perlakuan yang biasa digunakan di Koperasi Agro Niaga (KAN) Jabung Malang dalam mencegah penyakit mastitis pada sapi perah. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli*, dekok daun kersen, kertas cakram, media nutrient agar (NA), media Nutrien Broth (NB), aquades, aquabidest dan *alcohol* 70%.

Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah percobaan laboratorium dengan menggunakan metode difusi cakram kertas. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan untuk masing-masing perlakuan: P_K (perlakuan kontrol) yaitu larutan iodips, P₁ (dekok daun kersen 10%), P₂ (dekok daun kersen 20%), P₃ (dekok daun kersen 30%), P₄ (dekok daun kersen 40%), P₅ (dekok daun kersen 50%).

Prosedur Penelitian

Pembuatan dekok daun kersen

1. Daun kersen yang telah dipersiapkan dicuci terlebih dahulu hingga bersih.
2. Daun kersen yang sudah dicuci kemudian ditiriskan hingga bebas air.
3. Tahap selanjutnya daun kersen yang sudah tiris tersebut dicincang melintang dan membujur, kemudian direbus dengan air mendidih selama 15 menit dengan perbandingan 50 ml air dan 500 gr daun kersen untuk mendapatkan konsentrasi dekok 50%.
4. Setelah 15 menit rebusan tersebut didinginkan.
5. Setelah dingin dekok daun kersen dibuat konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dengan rumus pengenceran dan dapat digunakan untuk pengujian daya hambat. Rumus pengenceran menurut Anonim (2013) yaitu sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Dengan: V₁ = Volume awal

N₁ = Nilai konsentrasi awal

V₂ = Volume akhir

N₂ = Nilai konsentasi akhir

Pembuatan Media

Prosedur pembuatan media menurut Prawira (2013) yaitu sebagai berikut: Pembuatan media nutrien agar (NA) yaitu dengan melarutkan 2,8 gr nutrien agar dengan 100 ml aquadest kedalam erlenmeyer dan ditutup aluminium foil, distirer dengan pemanas hingga mendidih kemudian distireril dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan tekanan 1 atm. Setelah itu media dituangkan ke cawan petri masing – masing 10 ml, dibiarkan dingin hingga menjadi gel.

Pembuatan media nutrisi broth (NB) yaitu dengan melarutkan 1,3 gr nutrisi broth dengan 100 ml aquadest ke dalam erlenmeyer dan ditutup aluminium foil, distirer dengan pemanas hingga mendidih lalu dimasukkan ke tabung reaksi masing – masing 5 ml, kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu disteril dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan tekanan 1 atm.

Pembiakan Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* diinokulasi ke medium cair (nutrien broth) dengan menggunakan spet volume sebanyak 1 ml bakteri. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Pengujian daya hambat

Uji daya hambat menggunakan metode difusi cakram kertas. Disiapkan 5 cawan petri yang telah diisi media padat kemudian ditambahkan 0,1 ml bakteri aktif media cair NB. Diratakan dengan spreader (metode sebar). Kemudian cakram disk dicelupkan pada masing-masing perlakuan konsentrasi dekok daun kersen. Cakram disk hasil celupan tersebut ditiriskan hingga cairan tidak menetes dan diletakkan pada permukaan media NA. Setelah itu media tersebut diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambat/zona bening disekeliling paper disk yang menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan bakteri.

Penentuan zona hambat dilakukan dengan cara mengamati zona terang yang berada di zona terluar kertas cakram. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri mengacu pada standar umum untuk bakteri *Escherichia coli* yaitu dengan range < 11 mm tidak peka, 12-13 mm cukup peka dan

> 13 mm sangat peka (Subchan, Tjahjaningsih dan Sianita, 2012).

Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

a. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah dekok daun kersen dengan berbagai konsentrasi.

b. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat berupa daerah bening pada permukaan medium antara dekok daun kersen dengan bakteri uji dan membandingkan besarnya diameter yang terbentuk terhadap konsentrasi yang ditentukan.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut petunjuk Bambang (2005) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan, Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan uji lanjutan apabila memiliki perbedaan nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

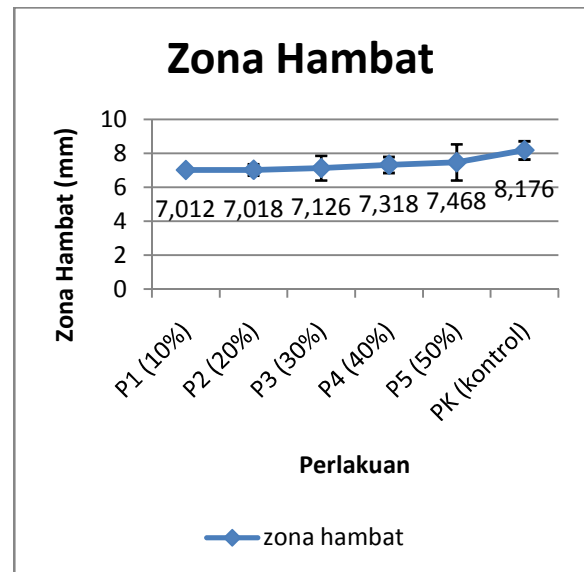
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara dekok daun kersen dan antiseptik kimia dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Rataan skor daya hambat dekok daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rataan dan simpangan baku diameter daya hambat dekok daun kersen dan Iodips terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Perlakuan	Ulangan (mm)					rata2 (mm)	STD (mm)
	1	2	3	4	5		
P _K (kontrol)	7,86	8,1	8,29	7,61	9,02	8,176	0,536498
P ₁ (10%)	6,87	6,97	7,08	7,12	7,02	7,012	0,097826
P ₂ (20%)	7,13	7,27	6,43	7,18	7,08	7,018	0,33611
P ₃ (30%)	7,81	7,23	6,28	6,48	7,83	7,126	0,725831
P ₄ (40%)	7,66	6,81	6,80	7,62	7,70	7,318	0,469169
P ₅ (50%)	8,20	8,43	6,32	6,30	8,09	7,468	1,064223

Tabel 1 menjelaskan bahwa perlakuan dekok daun kersen P₅ menghasilkan rata-rata diameter daya hambat tertinggi sebesar 7,468 mm sedangkan pada perlakuan P₁, P₂, P₃, dan P₄ menghasilkan rata-rata diameter daya hambat masing-masing sebesar 7,012 mm; 7,018 mm; 7,126 mm; dan 7,318 mm. Kemampuan menghambat dari dekok daun kersen terhadap bakteri *Escherichia coli* tampaknya lebih lemah dibandingkan dengan perlakuan kontrol (P_K) yaitu larutan Iodips yang dijadikan pembanding konsentrasi. Larutan Iodips memiliki nilai daya hambat 8,176 mm.

Apabila hasil di atas (Tabel 1) dikaitkan dengan ketentuan respon zona hambat bakteri *Escherichia coli* yang dikemukakan oleh Subchan, dkk (2012), maka respon zona hambat bakteri *Escherichia coli* terhadap dekok daun kersen masuk dalam kategori tidak peka (dibawah 11 mm). Diketahui oleh Eni, Setyo dan Rusdin (2009) bahwa bakteri Gram negatif *Escherichia coli* mempunyai ketahanan yang baik terhadap senyawa antibakteri sehingga respon hambatan bakteri *Escherichia coli* lemah.



Gambar 1. Grafik zona hambat

Gambar 1 menunjukkan bahwa terdapat kenaikan diameter zona hambat dengan semakin tingginya konsentrasi dekok daun kersen. Semakin tinggi konsentrasi dekok daun kersen, semakin besar daya hambatnya, hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi dekok daun kersen berarti semakin banyak kandungan antibakterinya. Menurut Darmayasa (2008) pemberian konsentrasi yang berbeda-beda menunjukkan pengaruh yang berbeda pula terhadap zona hambatan yang dihasilkan. Besarnya diameter zona hambat juga tergantung pada daya resap zat antibakteri ke dalam lempeng agar dan kepekaan bakteri terhadap zat antibakteri tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktifitas antibakteri menurut Maharti (2007) diantaranya pH lingkungan, komponen pembenihan, stabilitas zat aktif, besarnya inokulum, masa pengeraman dan aktifitas metabolis bakteri.

Tingginya zona hambat PK dari pada perlakuan dekok P1 sampai P5, tidak bisa dijadikan acuan bahwa zona hambat PK lebih baik dari pada P5. Berdasarkan hasil analisis ragam (lampiran 4) semua

perlakuan tidak memiliki perbedaan nyata ($P > 0,05$), P1 sampai P5 serta PK, artinya semua perlakuan sama baiknya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penggunaan dekok daun kersen lebih efisien karena mudah didapat dan lebih aman sebagai zat antimikroba alami pengganti zat antimikroba kimia buatan pabrik.

Berdasarkan penelitian Yuniar (2010) menggunakan metode isolasi senyawa yang terdapat pada daun kersen dengan menggunakan larutan etanol dan metanol mempunyai sifat antibakteri yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi yang lebih tinggi mempunyai daya hambat paling tinggi.

Menurut Jawetz and Adelberg's (2001) pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat suatu zat antibakteri yang dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein atau penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh dekok daun kersen berasal dari unsur-unsur yang terkandung didalamnya yaitu flavonoid, saponin dan tannin (Zakaria *et al.*, 2010). Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh suatu enzim (apoenzim). Berhentinya aktifitas metabolisme ini akan mengakibatkan kematian sel bakteri. Flavonoid juga bersifat bakteriostatik yang bekerja melalui penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Soedibyo, 2004).

Siswandoro dan Soekarjo (1995) menyatakan bahwa saponin adalah senyawa aktif yang kuat dan menimbulkan busa jika digosok dalam air sehingga bersifat seperti sabun dan mempunyai kemampuan antibakterial. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis.

Juliantina, Citra, Nirwani, Nurmasitoh dan Bowo (2009) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa yang memiliki zat antibakteri dengan cara kerja mengkerutkan dinding sel atau membran sel yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, sehingga menyebabkan senyawa tannin dapat dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri, akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup dan pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati).

Menurut Dzen, dkk (2003), mekanisme ketiga senyawa aktif ini adalah bekerja pada bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma. Membran sitoplasma bakteri sendiri berfungsi mengatur masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi, apabila membran sitoplasma rusak maka metabolit penting dalam bakteri akan keluar dan bahan makanan untuk menghasilkan energi tidak dapat masuk sehingga terjadi ketidakmampuan sel bakteri untuk tumbuh dan pada akhirnya terjadi kematian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

Dekok daun kersen (*Muntingia calabura L*) dengan konsentrasi 10% sampai 50% memiliki kemampuan yang setara dengan larutan kontrol yaitu Iodips, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan untuk meneliti lebih lanjut mengenai dekok daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap bakteri lain yang menyebabkan mastitis pada sapi perah. Dekok daun kersen (*Muntingia calabura L*) dapat dijadikan sebagai bahan antiseptik alami untuk menggantikan antiseptik kimia.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013. Pengenceran Larutan. <http://lansida.blogspot.com/2010/10/pengenceran-larutan.html> diakses 26 juli 2013
- Darmayasa, I.B.C. 2008. Daya Hambat Fraksinasi Ekstrak Sembung Delan (*Sphaerantus indicus L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Biologi XI (2):74-77.
- Dzen S., M. Roekistiningsih, Santoso, S. Winarsih, S. Sumarno, N. Murwani, dan S. Santosaningsih. 2003. Bakteriologi Medik. Bayumedia Publishing : Malang. Hlm.24-25,132.
- Eni P., Setyo W.N.H., Rusdin R. 2009. Respon Hambatan Bakteri Gram Positif dan Negatif Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diawetkan Dengan Ekstrak Jahe (*Zingerber officinale*). Jurnal Kesehatan ISSN 1979-7621, 2 (1): 61-70.
- Hermanto, S., L. Sugoro, Ikmalia. 2012. Profil Protein *Escherichia coli* Hasil Inaktivasi Iradiasi Gamma Sebagai Bahan Vaksin Mastitis. Jurnal. Pusat Aplikasi Tenaga Isotop dan Radiasi – BATAN.
- Jawetz, M., Adelberg's. 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Dialihbahasakan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: Salemba Medika.
- Juliantina R.F., M.D.A. Citra, B. Nirwani, T. Nurmasitoh dan E.T. Bowo. 2009. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bacterial terhadap bakteri gram positif dan gram negative. Jurnal kedokteran dan kesehatan Indonesia.
- Kurniawan, I. 2013. Pengaruh *Teat Dipping* Menggunakan Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Tingkat Kejadian Mastitis. Jurnal Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Maharti, I.D., 2007. Efek Antibakteri Ekstrak daging buah avokad (*Persea Americana*) terhadap *Streptococcus mutans*. (Skripsi) Fakultas Kedokteran Gigi UI.
- Murdiyanto, Bambang. 2005. Rancangan Percobaan Acak Lengkap. www.ikanlaut.tripod.com/xdesign.pdf.
- Persson Y., A.K.J. Nyman and U.G. Andersson. 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy

- cows in Sweden . Acta Veterinaria Scandinavica. Sweden.
- Poeloengan, Masniari. 2009. Aktivitas Air Perasan Dan Ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri Yang Diisolasi Dari Sapi Mastitis Subklinis. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor.
- Prawira, M.Y. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis pada Sapi Perah. Jurnal Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Sastroamidjojo, S. 1997. Obat Asli Indonesia. Dian Rakyat. Jakarta.
- Siswandoro dan Soekarjo, B. 1995. Kimia Nedisial. Airlangga University Press.
- Soedibyo, 2004. Pengaruh Pemberian Bawang Putih Terhadap Total Bakteri Feses Ayam. <http://digilib.litbang.deptan>.
- Subchan, Y.B. W. Tjahjaningsih dan N. Sianita. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum sp.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Journal of Marine and Coastal Science, 1(1): 53-60.
- Wibawan, I. W. T, M. Sudarwanto, E. Harlina dan K. Zarkasie. 1999. Preparasi dan Penggunaan Vaksin Polivalen Sebagai Pendekatan Baru Pencegahan Mastitis pada Sapi Perah. Laporan HB PT Tahap II.
- Yuniar, P.A. 2010. Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Tugas Akhir II. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negri Semarang.
- Zakaria Z.A., A.S. Sufian, K. Ramasamy, N. Ahmat, M.R. Sulaiman, A.K. Arifah, A. Zuraini, and M. N. Somchit. 2010. *In vitro* antimicrobial activity of *Muntingia calabura* extracts and fractions . African Journal of Microbiology Research. 4 (4), : 304-308.