

# Uji Antimikroba Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) terhadap Bakteri dan Jamur Penyebab Penyakit pada Ternak Unggas

Nurhayati<sup>1)</sup>, Madyawati Latief<sup>2)</sup>, dan Heru Handoko<sup>1)</sup>

1) Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak *Fakultas Peternakan Universitas Jambi, Kampus Pinang Masak KM 15 Mendalo Darat Jambi 36361*

2) *Fakultas Pertanian Universitas Jambi, Kampus Pinang Masak KM 15 Mendalo Darat Jambi 36361*

Diterima Januari 2006 disetujui untuk diterbitkan September 2006

## Abstract

*An experiment was conducted to determine the activity of pearl grass (rumput mutiara, Hedyotis corymbosa) in inhibiting growth of bacterial and fungi causing diseases in poultry. The current study used 3000 gram of sorted and cleaned pearl grass from dust and other weeds. This study employed sample collection, extraction, fractionation, preparation of medium of Agar and Mueller Hinton Broth, culturing bacterial, antimicrobial test and measuring minimum inhibitory concentrations. Extraction was conducted by maceration of pearl grass with methanol for five days followed by evaporating in vacuo to get methanol extract. The extract was then fractionated by adding hexane or acetic acid and ethyl acetate or sodium bicarbonate or n-butanol to get fraction of hexane, acid ethyl acetate, base ethyl acetate, n-butanol. Each fraction was then tested with microbial test that were Salmonella sp, Escherichia coli, and Candida albicans. The results showed that each fraction at 2 % of concentration could inhibit bacterial growth except for Candida albicans that was not inhibited by any fraction of pearl grass. The minimum inhibitory concentrations was 0.4 – 0.8% (4 µg/ml – 8 µg/ml) indicating that pearl grass fractions were highly active on inhibiting bacterial growth that cause poultry diseases and the inhibiting activity on E. coli was found higher than that on Salmonella sp.*

**Key words:** *rumput mutiara, Hedyotis corymbosa, antimicrobial, Salmonella sp., Escherichia coli, Candida albicans.*

## Pendahuluan

Usaha ternak unggas saat ini masih terkendala oleh faktor penyakit yang dapat menurunkan produktivitas. Oleh karena itu, berbagai upaya dilakukan untuk meningkatkan daya tahan tubuh ternak, di antaranya dengan memperbaiki kualitas ransum dan penambahan *feed additive* ke dalam ransum yang disusun. Akan tetapi, penggunaan *feed additive* sintesis yang dilakukan tidak tepat dan terus menerus dapat meningkatkan resistensi pada mikroorganisme tersebut (Van den Bogaard *et al.*, 2001). Menurut Diarti (2004), hal ini karena mikroorganisme sebagai makhluk hidup mempunyai kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru. Selain itu, pemakaian *feed additive* tersebut juga dapat mengakibatkan terbentuknya produk metabolit berupa residu yang dapat terakumulasi dalam produk ternak unggas seperti daging, telur, atau organ lainnya. Rusiana dan Iswarawanti (2004) melaporkan bahwa 85% daging dan 37% hati ayam broiler yang diperjualbelikan di sejumlah pasar di kawasan Jabotabek mengandung residu antibiotik tilosin, penisilin, oksitetrasiklin, dan kanamisin dengan residu dari kelompok penisilin yang paling banyak dijumpai. Purwaningtyas dan Cahyaningtyas (2004) melaporkan adanya residu antibiotik kloramfenikol pada hati dan ginjal ayam petelur afkir yang dipasarkan di Kecamatan Kota Kabupaten Ponorogo. Ayam petelur afkir adalah ayam petelur yang kurang atau sudah tidak produktif lagi dalam menghasilkan telur. Meskipun Follet (2000) melaporkan bahwa resistensi antibiotik pada manusia tidak nyata disebabkan oleh ternak yang mengonsumsi antibiotik yang sama, residu kloramfenikol dari ayam petelur afkir tersebut dapat mengakibatkan timbulnya alergi dan resistensi terhadap kloramfenikol jika terakumulasi (Sundlof dan Cooper, 1996) atau bahkan menyebabkan hipersensitivitas terhadap stimulan, yang pada akhirnya dapat

bersifat karsinogenik, mutagenik, dan keracunan (Voogd, 1981). Oleh karena itu, Masyarakat Ekonomi Eropa mengeluarkan aturan pembatasan dan pelarangan penggunaan beberapa antibiotik pemacu pertumbuhan dalam ransum mulai 1 Januari 2006 untuk melindungi konsumen dan mencegah efek negatif tersebut bagi manusia (The European Parliament and the Council of the European Union, 2003). Selain itu, tingkat kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat dan keinginan untuk “kembali ke alam” dengan mengurangi konsumsi obat-obatan sintetis telah mendorong peningkatan penggunaan obat dari bahan alam (Hargono, 1996). Begitu pula untuk bidang peternakan, penggunaan antibiotik dan obat-obatan sejenis makin dikurangi, bahkan beberapa jenis antibiotik sudah dilarang untuk digunakan dan mulai dicari berbagai bahan alam.

Hal tersebut di atas mendorong berkembangnya ilmu pengetahuan di bidang nutrisi pakan ternak dalam upaya untuk mencari *feed additive* baru yang bersifat alami dan dapat digunakan selain untuk meningkatkan kualitas dan daya simpan ransum, juga untuk mencegah dan mengatasi berkembangnya mikroorganisme yang bersifat patogen di dalam saluran pencernaan tanpa mengakibatkan efek negatif baik bagi ternak itu sendiri maupun bagi manusia yang mengonsumsinya. Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi beberapa jenis senyawa aktif yang terkandung di dalam berbagai jenis tumbuhan yang terbukti memiliki aktivitas antimikroba (Mitscher *et.al.*, 1987; Kubo dan Kubo, 1995). Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan masyarakat Indonesia adalah rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa*).

Rumput mutiara digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi gangguan pencernaan, kanker, radang usus buntu, mengobati penyakit akibat infeksi oleh mikroba (bakteri, protozoa, dan jamur), serta mengatasi keracunan (Dalimartha, 2002). Hal ini karena di dalam rumput mutiara terkandung beberapa senyawa biologi aktif seperti asam oleonat,  $\beta$ -sitosterol, sitosterol, D-glukosida, asam ursolat, p-asam kumarat, flavonoid, tannin, kumarin (Anonymous, 2004) dan iridoid (Sudarsono, 1999).

Berdasarkan atas hal tersebut diduga rumput mutiara memiliki keaktifan yang sama terhadap mikroba penyebab penyakit pada unggas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas rumput mutiara dalam menghambat pertumbuhan mikroba penyebab penyakit dan kematian pada unggas.

## **Materi dan Metode**

Tiga ribu gram rumput mutiara yang telah berbunga dan berbuah diambil seluruh bagian tubuhnya, yang meliputi akar, batang, daun, buah, dan bunga. Tumbuhan ini dipisahkan dari tumbuhan lain dan dari bagian tumbuhan yang rusak atau berubah warna dan mengering, serta dibersihkan dari kotoran yang menempel.

Tumbuhan segar rumput mutiara tersebut, dirajang halus lalu dimaserasi dengan metanol selama lima hari. Perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali. Kemudian, hasil maserasi disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya, lalu dilakukan penyaringan menggunakan kain panel dan pemekatan *in vacuo* sehingga akan diperoleh ekstrak pekat metanol yang selanjutnya disimpan dalam botol (wadah) tertutup. Selanjutnya, ekstrak pekat metanol difraksinasi dengan cara menambahkan 250 ml air suling. Kemudian, dilakukan ekstraksi dengan heksan dalam corong pisah. Fraksi heksan dipisahkan dan dipekatkan *in vacuo* sehingga diperoleh fraksi heksan yang berbentuk massa kental hijau. Selanjutnya, fraksi air/metanol ditambah dengan asam asetat dan diekstraksi dengan etil asetat, dipisahkan, dan diuapkan *in vacuo* sehingga didapatkan fraksi etil asetat asam. Fraksi air/metanol selanjutnya dibasakan dengan natrium bikarbonat dan diekstraksi dengan etil asetat, dipisahkan, dan diuapkan *in vacuo* sehingga didapatkan fraksi etil asetat basa. Akhirnya, fraksi air/metanol diekstraksi dengan n-butanol, dipisahkan, dan diuapkan *in vacuo* sehingga didapatkan fraksi n-butanol. Masing-masing fraksi (fraksi heksan, etil asetat asam, etil asetat basa, dan n-butanol) serta fraksi air/metanol diuji aktivitas antimikrobanya.

Uji aktivitas antimikroba dilakukan menurut petunjuk Pickman *et al.* (1990). Medium yang digunakan adalah Nutrien Agar (NA) (Oxoid, 1998) dan Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid). Tiga mata jarum ose mikroba uji diinokulasikan ke dalam media Mueller Hinton Broth (MHB), kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam untuk bakteri dan 72 jam untuk jamur pada suhu 37°C. Suspensi mikroba hasil inkubasi dikocok dengan sentrifuga agar homogen, kemudian diukur transmisinya pada panjang gelombang 580 nm. Transmitan (T) diatur sebesar 25% (jumlah mikroba lebih kurang  $10^5$ ) dengan cara menambahkan suspensi mikroba bila jumlah selnya terlalu sedikit (transmitansnya lebih dari 25%) atau dengan menambahkan medium MHB cair apabila jumlah selnya terlalu banyak (transmitannya kurang dari 25%). Suspensi mikroba T25% dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 0,1 ml, kemudian ditambahkan medium NA yang belum membeku sebanyak 10 ml dengan suhu sekitar 40°C. Selanjutnya, cawan petri digoyang-goyang hingga suspensi mikroba tercampur sempurna di dalam medium, lalu didiamkan hingga medium membeku atau menjadi padat. Setelah itu, kertas cakram dengan diameter 6 mm diletakkan di atas permukaan medium biakan yang telah membeku, kemudian secara aseptis ditetesi 20 µl larutan fraksi ekstrak dengan konsentrasi 2% (20 mg/ml) yang telah dilarutkan terlebih dahulu dalam larutan dimetilsulfoksida (DMSO). Kemudian, dilakukan inkubasi selama 24 jam untuk bakteri dan 72 jam untuk jamur pada suhu 37°C. Pengujian aktivitas antimikroba dikatakan bernilai positif apabila di sekitar kertas cakram terdapat zone bening yang bebas dari pertumbuhan mikroba.

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) atau *minimum inhibiting concentration* (MIC) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Fraksi ekstrak yang diameter zone hambatnya nyata berbeda dengan kontrol dibuat dengan konsentrasi 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,80; dan 2,00%. Pelarut yang digunakan adalah dimetilsulfoksida (DMSO). Suspensi bakteri dengan transmitan 25% pada panjang gelombang 580 nm dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 0,1 ml, kemudian ditambahkan medium NA sebanyak 10 ml yang belum membeku. Cawan petri lalu digoyang-goyang hingga membeku. Kertas cakram yang berdiameter 6 mm yang telah ditetesi dengan larutan fraksi ekstrak sebanyak 20 µl/cakram dimasukkan ke dalam medium biakan dengan konsentrasi fraksi ekstrak 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,80; dan 2,00%; serta DMSO yang berfungsi sebagai kontrol. Setelah itu, dilakukan inkubasi selama 24 jam untuk bakteri dan 72 jam untuk jamur pada inkubator dengan suhu 37°C. Kemudian, diukur diameter zone hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Bagian yang diukur adalah besar zone bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Pengukuran diameter zone bening dilakukan dengan cara mengukur lebarnya dari sisi sebelah kiri hingga sisi sebelah kanan dan dari sisi sebelah bawah hingga sisi sebelah atas. Konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan mikroba merupakan MIC (Pickman *et al.*, 1990).

Data diameter zone hambat yang terhimpun dianalisis menggunakan analisis ragam (Anova). Jika terdapat pengaruh yang nyata antarfraksi ekstrak, maka dilakukan uji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan (DMRT).

## Hasil dan Pembahasan

Hasil uji antimikroba masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1. Sementara itu, rataan zone hambat yang terbentuk untuk masing masing fraksi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil uji antimikroba ekstrak rumput mutiara pada konsentrasi 2% (b/v)  
Table 1. Antimicrobial test of pearl grass extract at concentration of 2% (w/v)

No.	Bakteri Uji	Fraksi Ekstrak					
		Kontrol (1)	Butanol (2)	Metanol (3)	Etil Asetat Basa (4)	Etil Asetat Asam (5)	N-hexan (6)
1	<i>Candida albicans</i>	0	-	-	-	-	-
2	<i>Salmonella</i> sp.	0	+	+	+	+	+
3	<i>Escherichia coli</i>	0	+	+	+	+	+

Keterangan:

+ = zone hambat yang terbentuk lebih besar bila dibandingkan dengan kontrol

- = zone hambat yang terbentuk sama atau lebih kecil bila dibandingkan dengan kontrol

0 = simbol untuk zone hambat yang terbentuk pada kontrol

Dari Tabel 1 dan 2 terlihat bahwa semua fraksi ekstrak mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini terlihat dari terbentuknya zone hambat di sekitar kertas cakram pada medium agar yang telah ditumbuhi bakteri uji. Kemampuan ini diduga karena pada rumput mutiara terkandung berbagai senyawa aktif seperti alkaloid, iridoid (Sudarsono, 1999), dan flavonoid (Anonymous, 2005). Seperti yang dinyatakan oleh Hufford *et al.* (1993), Ivanovska *et al.* (1996), dan Cowan (1999) bahwa di dalam tanaman terkandung berbagai senyawa yang berfungsi sebagai antimikroba seperti fenol, kuinon, flavonoid, tanin, kumarin, terpenoid, *essential oil*, alkaloid, lektin, polipeptida, dan komponen-komponen kombinasi lainnya. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri, jamur, dan protozoa.

Tabel 2. Rataan diameter zone hambat (mm) yang terbentuk dari fraksi ekstrak rumput mutiara pada konsentrasi 2% (b/v)

Table 2. Diameter average (mm) of inhibiting zones produced by pearl grass extract at concentration of 2% (w/v)

No.	Bakteri Uji	Fraksi Ekstrak					
		Kontrol (1)	Butanol (2)	Metanol (3)	Etil Asetat Basa (4)	Etil Asetat Asam (5)	N-hexan (6)
1	<i>Candida albicans</i>	0,25	0	0	0	0	0
2	<i>Salmonella</i> sp	0,77 <sup>a</sup>	0,83 <sup>ab</sup>	0,97 <sup>c</sup>	0,83 <sup>ab</sup>	0,93 <sup>bc</sup>	1,03 <sup>c</sup>
3	<i>Escherichia coli</i>	0,78 <sup>a</sup>	1,20 <sup>ab</sup>	1,10 <sup>ab</sup>	1,29 <sup>b</sup>	1,37 <sup>b</sup>	0,93 <sup>ab</sup>

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf uji 5%.

Meskipun demikian, semua fraksi ekstrak tidak memiliki aktivitas yang positif terhadap *Candida albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa rumput mutiara tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan fungi. Ketidakaktifan fraksi ekstrak rumput mutiara diduga karena rendahnya kandungan atau tidak terdapatnya senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan jamur pada rumput tersebut seperti laktone dan polifenol. Kubo *et al.* (1993) mengatakan bahwa laktone dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Suresh *et al.* (1997) mengatakan bahwa asam lemak yang terdapat pada

*Santolina chamaecyparissus* memperlihatkan keaktifannya dalam menghambat pertumbuhan *Candida*.

Diameter zone hambat lebih tinggi diperoleh pada perlakuan fraksi ekstrak rumput mutiara terhadap bakteri *E. coli* dan terlihat lebih sensitif hanya pada fraksi etil asetat asam dan basa. Untuk bakteri *Salmonella* sp., fraksi metanol dan heksan nyata lebih aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* lebih sensitif pada fraksi dengan pelarut yang bersifat semipolar (etil asetat), sedangkan *Salmonella* sp. lebih sensitif pada fraksi dengan pelarut yang bersifat polar (metanol) dan nonpolar (heksan). Harborne (1987) menyatakan bahwa setiap senyawa aktif (metabolit sekunder tanaman) memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, mulai dari nonpolar, semipolar hingga polar.

Tabel 3. Nilai konsentrasi hambat minimum  
Table 3. Minimum values of inhibiting concentrations.

Konsentrasi (%)	Kemampuan Menghambat <i>E. coli</i>		Kemampuan Menghambat <i>Salmonella</i> sp.		
	Ekstrak Etil Asetat Basa	Ekstrak Etil Asetat Asam	Ekstrak Etil Asetat Asam	Ekstrak Metanol	Ekstrak N-Heksan
0,0	-	-	-	-	-
0,2	-	-	-	-	-
0,4	-	-	-	+	+
0,6	+	-	+	+	+
0,8	+	+	+	+	+
1,0	+	+	+	+	+
1,2	+	+	+	+	+
1,4	+	+	+	+	+
1,6	+	+	+	+	+
1,8	+	+	+	+	+
2,0	+	+	+	+	+

Keterangan: + mampu menghambat  
- tidak mampu menghambat

Konsentrasi hambat minimum (MIC) diukur pada fraksi yang nyata mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji (Tabel 3). Berdasarkan atas uji statistik terlihat bahwa pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. nyata terhambat ( $P < 0.05$ ) pada fraksi n-heksan dan methanol dengan nilai MIC masing-masing 0,4% (4  $\mu\text{g/ml}$ ). Untuk bakteri *E. coli*, pertumbuhannya nyata dapat dihambat oleh fraksi etil asetat asam dan etil asetat basa dengan nilai MIC masing masing fraksi 0,8% (8  $\mu\text{g/ml}$ ) dan 0,6% (6  $\mu\text{g/ml}$ ). Didapatkannya nilai MIC kurang dari 10  $\mu\text{g/ml}$  larutan memperlihatkan bahwa ekstrak rumput mutiara memiliki kemampuan yang sangat kuat untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Holetz *et al.* (2002) menyatakan bahwa berdasarkan atas nilai konsentrasi hambat minimum (MIC) yang dimilikinya, senyawa antibakteri dibedakan menjadi empat kelompok, yaitu senyawa aktif dengan nilai MIC kurang dari 100  $\mu\text{g/ml}$  (sangat kuat), nilai MIC antara 100 dan 500  $\mu\text{g/ml}$  (cukup kuat), nilai MIC antara 500 dan 1000  $\mu\text{g/ml}$  (lemah), nilai MIC lebih dari 1000  $\mu\text{g/ml}$  (tidak memiliki aktivitas antibakteri).

Dari hasil uji antimikroba terlihat bahwa terdapat perbedaan keaktifan masing-masing fraksi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Ada satu jenis fraksi yang terlihat hanya aktif terhadap satu mikroba uji, tetapi ada pula jenis fraksi yang menunjukkan adanya nilai positif pada lebih dari satu mikroba uji. Hal ini dapat

disebabkan oleh sifat suatu senyawa yang sinergis ataupun antagonis. Senyawa dikatakan bersifat sinergis bila dalam keadaan bergabung aktivitasnya akan saling menguatkan dan dikatakan bersifat antagonis jika saling meniadakan. Di samping itu, kesensitifan mikroba uji, medium kultur, kondisi inkubasi, kecepatan difusi senyawa antibakteri, dan konsentrasi senyawa antibakteri dalam kertas cakram juga akan mempengaruhi keefektifan senyawa antibakteri.

### **Kesimpulan dan Saran**

Disimpulkan bahwa rumput mutiara (*Hedyotis corymbosa*) memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang dapat menyebabkan penyakit pada ternak unggas, yaitu bakteri *Salmonella sp* dan *E. coli*, tetapi tidak memperlihatkan aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan fungi *Candida albicans*. Aktivitas penghambatan ekstrak rumput mutiara lebih tinggi pada *E. coli* bila dibandingkan dengan aktivitasnya pada *Salmonella sp*. Nilai konsentrasi hambat minimum rumput mutiara terhadap mikroba penyebab penyakit pada unggas bergantung kepada jenis ekstrak dan bakteri yang diuji. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi serta menentukan struktur kimia bahan aktif yang terkandung dalam rumput mutiara secara spesifik sehingga peranannya dalam menghambat pertumbuhan mikroba dapat dijelaskan secara ilmiah. Selain itu, penggunaannya sebagai *feed additive* dalam ransum unggas tidak menimbulkan terbentuknya metabolit sekunder yang dapat membahayakan bagi ternak itu sendiri maupun bagi manusia yang mengkonsumsi produk ternak tersebut.

### **Daftar Pustaka**

- Anonymous. 2004. Rumput mutiara mengaktifkan sirkulasi darah. *Republika* 14 September 2004.
- Anonymous. 2005. Tanaman Obat Indonesia. Leaflet BPPT, Jakarta.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): 564 – 582.
- Dalimartha, S. 2002. Tumbuhan Obat untuk Mengatasi Keputihan. Cetakan II. Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Diarti, M.W. 2004. Wiwin, penemu senyawa antimikroba dari rumput laut. *Harian Umum Kompas* edisi 12 Mei 2004.
- Follet, G. 2000. Antibiotic resistance in the European Union – Science, Politics and Policy. *AgBioForum* 3(2 – 3): 148 – 155.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB, Bandung.
- Hargono, J. 1996. Efek samping obat dari bahan alam lebih kecil daripada efek samping obat kimia murni. *Cermin Dunia Farmasi* 28: 9 – 12.
- Holetz, F.B., G.L. Pessini, N.R. Sachedz, D. Aparicio, G. Cortez, C.V. Nakamura, and B.P.D. Filho. 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious. *J. Bioline International*. <http://www.bioline-org.br/request?oc02229>

- Hufford, C. D., Y. Jia, E.M. Croom Jr., I. Muhammed, A.L. Okunade, A.M. Clark, and R. D. Rogers. 1993. Antimicrobial compounds from *Petalostemum purpureum*. J. Nat. Prod. 56: 1878–1889.
- Ivanovska, N., S. Philipov, R. Istatkova, and P. Georgieva. 1996. Antimicrobial and immunological activity of ethanol extracts and fractions from *Isopyrum thalictroides*. J. Ethnopharmacol. 54: 143–151.
- Kubo, A. and I. Kubo. 1995. Antimicrobial agents from *Tanacetum balsamita*. J. Nat. Prod. 58: 1565 – 1569.
- Kubo, I., H. Muroi, and M. Himejima. 1993. Combination effects of antifungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids. J. Nat. Prod. 56: 220–226.
- Mitscher, L.A., S. Drake, S.R. Gollapudi, and S.K. Okwute. 1987. A modern look at Folkloric use of anti-infective agents. J. Nat. Prod. 50: 1025 – 1040.
- Oxoid. 1998. The Oxoid Manual. 8<sup>th</sup> ed. Oxoid Agents and Main Distribution. Oxoid Ltd., Hampshire.
- Pickman, A.K., E.F. Schneider, and J. Gershenzon. 1990. Antifungi activity of sunflower terpenoid. Biochemistry System and Ecology 18(5): 235 – 238.
- Purwaningtyas, L. dan N. Cahyaningtyas. 2004. Residu antibiotik pada hati dan ginjal ayam petelur apkir. Republika Jumat, 10 Desember 2004.
- Rusiana dan D.N, Iswarawanti. 2004. 85% daging ayam broiler mengandung antibiotik. Tabloid Senior No. 236/ Edisi 23 – 29 Januari 2004.
- Sudarsono. 1999. Asperulosid, senyawa iridoid *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk. (*Oldenlandia corymbosa* linn.), suku rubiaceae. Indonesian Journal of Pharmacy 10 (3):
- Sundlof, S.F. and J. Cooper. 1996. Human health risks associated with drug residues in animal-derived foods. In W.A. Moats and M.B. Medina (eds). 1996. Veterinary Drug Residues: Food Safety. American Chemical Society Symposium Series 636: 5 – 17.
- Suresh, B., S. Sriram, S.A. Dhanaraj, K. Eango, and K. Chinnaswamy. 1997. Anticandidal activity of *Santolina chamaecyparissus* volatile oil. J. Ethnopharmacol. 55: 151–159.
- The European Parliament and the Council of the European Union. 2003. Regulation (EC) 1831/2003 of The European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition. Brussels, Belgium.
- Van den Bogaard, A.E., N. London, C. Driesen, and E.E. Stobberingh. 2001. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. J. Antimicrobial Chemotherapy 47: 763 – 771.
- Voogd, C.E. 1981. On the mutagenicity of nitroimidazoles. Mutat. Res. 86(3): 243 – 277.