

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton dan Etil Asetat Daun, Batang dan Rimpang Teratai Putih (*Nymphaeae alba*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Antibacterial Activity of Acetone and Ethyl Acetate Leaves, Stems and Rhizomes Extract of White Water Lily (*Nymphaeae alba*) Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Mariam Ulfah^{1*}, Ade Irawan¹, Teguh Adiyas Putra¹

¹ Program Studi S1 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Cirebon, Jalan Kalitanjung Timur No. 14-18 A, kelurahan/kecamatan Harjamukti kota Cirebon 45143

Submitted: 20-09-2019

Revised: 25-09-2019

Accepted: 6-11-2019

*Corresponding author
Mariam Ulfah

Email:
mariam_ulfah45@yahoo.com

ABSTRAK

Teratai putih (*Nymphaeae alba*) merupakan salah satu tumbuhan air yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional. Tumbuhan ini memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan. Adapun tujuan akhir dari eksperimen ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak aseton dan etil asetat dari beberapa bagian tumbuhan ini, diantaranya adalah daun, batang dan rimpang terhadap beberapa jenis bakteri diantaranya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode *Disc diffusion Kirby-Bauer* digunakan dalam penelitian ini. Simplisia daun, batang dan rimpang teratai putih dimaserasi masing-masing dengan aseton dan etil asetat selama 3 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji antibakteri terhadap ekstrak aseton dan etil asetat daun, batang dan rimpang teratai putih. Amoksilin sebagai kontrol positif dan Dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi 20% sebagai kontrol negatif. Masing-masing disk mengandung 100 µg ekstrak dan 10 µg amoksilin. Uji antibakteri yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak aseton daun, batang dan rimpang teratai putih memiliki nilai penyerangan terhadap bakteri yang paling tinggi, adapun diameter zona hambat masing-masing sebesar 20 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Ekstrak aseton dan etil asetat daun, batang dan rimpang teratai putih tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *E. coli*.

Kata Kunci : Teratai putih, antibakteri, zona hambat

ABSTRACT

White water lily (*Nymphaeae alba*) is one of the aquatic plants that is often used for traditional medicine. This plant has anticancer and antioxidant activity. The final result of this experiment is to determine the antibacterial activity of acetone and ethyl acetate extract from several parts of this plant, including leaves, stems and rhizomes against several types of bacterial including *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Kirby-Bauer diffusion Disc method is used in this study. Simplicia of leaves, stems and rhizomes of white water lily were macerated with acetone and ethyl acetate for 3 x 24 hours. Antibacterial tests were carried out to acetone and ethyl acetate leaves, stems and rhizome extract of white water lily. Amoxicillin was used as a positive control and dimethyl sulfoxide (DMSO) with concentration 20% as a negative control. The extract and amoxicillin were diluted with 20% DMSO. Each disk contained 100 µg of extract and 10 µg of amoxicillin. Antibacterial tests that have been carried out show that the acetone extract of leaves, stems and rhizomes white water lily has the highest attack value against bacteria, the diameter of the inhibition zone is 20 mm against *S. aureus*. Acetone and ethyl acetate leaves, stems and rhizomes extract of white water lily did not have inhibitory effect on *E. coli*.

Keywords : White water lily, antibacterial, inhibition zone

1. PENDAHULUAN

Pencarian senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas anti-bakteri belakangan ini menjadi perhatian utama para peneliti (Saleem et al., 2010). Pencarian tersebut dilatarbelakangi karena adanya fenomena resistensi bakteri terhadap antibiotik yang beredar. Data WHO (WHO, 2017) memperlihatkan beberapa bakteri yang resisten. Sebagai contoh, *Escherichia coli* telah resisten terhadap sefalosporin, *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten terhadap karbapenem, *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin, dan *Enterococcus faecalis* yang resisten terhadap ampicilin. Pertambahan jumlah bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersebut merupakan dorongan bagi para peneliti untuk mencari agen antibakteri dari bahan alam, diantaranya dari tumbuhan. Senyawa yang berasal dari bahan alam memiliki struktur yang istimewa yang dapat berinteraksi dengan berbagai target protein untuk tujuan tertentu. Protein dengan struktur yang sama antara satu dengan organisme lainnya juga protein dengan struktur yang bervariasi dapat berinteraksi secara spesifik dengan senyawa bahan alam ini. Akibatnya, pencarian senyawa antimikroba dari bahan alam akan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa hasil sintesis kombinatorial. Senyawa dari hasil sintesis ini banyak menghasilkan produk yang tidak diinginkan dan sulit mendapatkan “struktur istimewa” yang secara spesifik dapat berikatan dengan protein target. Senyawa bahan alam dengan

“struktur istimewa” dan bervariasi terbukti menjadi agen antimikroba yang ideal (Ngwoke, Odimegwu, & Esimone, 2011).

Nymphaeae alba atau teratai putih merupakan anggota dari genus *Nymphaea*. Genus ini memiliki anggota 50 spesies yang sebagian besar terdapat di China. Tumbuhan ini memiliki bunga yang beranekaragam warnanya yaitu putih, kuning, merah dan biru (Pareek, 2016). *N. alba* merupakan sumber energi yang kaya akan nitrogen bebas, daun dan bunganya mengandung protein yang tinggi namun kadar lipid rendah di semua bagian, adapun mineral yang banyak terkandung di dalam tumbuhan ini adalah kalium, natrium dan kalsium (Studies, 2017). Semua bagian tumbuhan memiliki kegunaan dalam pengobatan tradisional misalnya antiinflamasi, meningkatkan kesuburan, analgesik, perawatan kulit, perawatan gangguan syaraf (Adnaik, Pai, Sapakal, Naikwade, & Magdum, 2009; Bose, Ray, & Sahoo, 2012). Tumbuhan ini juga memiliki aktivitas antikanker (Yildirim, Karakas, & Turker, 2013) dan antioksidan (Abirami, Nagarani, Saipriya, Ashwathi, & Siddhuraju, 2017). Tumbuhan ini mengandung senyawa metabolit sekunder di antaranya tannin, asam galat, alkaloid, sterol, flavonoid dan senyawa polifenol lain yang memiliki berat molekul yang tinggi (Riham, Reham, Noha, & Ibrahim, 2016). Ekstrak metanol bunga dan buah tumbuhan ini memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi di antara bagian tumbuhan lainnya ini dimungkinkan karena pada bagian ini terkandung senyawa flavonoid apigenin (Cudalbeanu et al., 2018). Untuk aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, ekstrak etanol rimpang *N. alba* memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai MIC 0,25 mg/mL ini dibandingkan dengan senyawa metil galat yang merupakan komponen utama dalam ekstrak etanol rimpang *N. alba* yang memiliki nilai MIC sebesar 0,1 mg/mL. Pada penelitian yang sama juga dikaji aktivitas sitotoksik dari metil galat hasil isolasi dari ekstrak etanol *N. alba* dan didapatkan nilai IC₅₀ metil galat terhadap sel HepG2- sebesar 9.61±0.3 µg/mL dibandingkan dengan Doxorubicin 0.56 µg/ml sebagai standar. Senyawa metil galat menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas dengan nilai IC₅₀ 3±0.36 µg/mL dibandingkan dengan vitamin C sebagai standar sebesar 12±3.5 µg/mL (Riham et al., 2016).

Ekstrak etanol bunga dan akar *N. alba* diketahui memiliki aktivitas antidiabetes dan antihiperlipidemik. Ekstrak ini menurunkan kadar glukosa darah kolesterol, trigliserida, LDL dan VLDL, sedangkan level HDL meningkat (Ma, 2017). Ekstrak etanol *N. alba* juga memiliki aktivitas penyerangan terhadap kerusakan hati pada tikus yang diinduksi oleh isoniazid (INH) (Nasiruddin, Khan, & Arif, 2018). Kombinasi ekstrak *N. alba* dan *Rosa damascene* menunjukkan aktivitas penyerangan terhadap bakteri *Listeria monocytogenes*, percobaan dilakukan pada mencit albino (Batoool, Kalsoom, Akbar, Arshad, & Jamil, 2018). Ekstrak etanol bunga *N. alba* memiliki aktivitas anti-inflamasi dalam vascular yang diinduksi asam asetat dimana aktivitas anti-inflamasinya tergantung dari dosisnya, aktivitas antiinflamasi ekstrak ini mendekati aktivitas anti-inflamasi sodium diklofenak (RS, Jagadeesh, Ganesan, K, & Eerike, 2013).

Aktivitas antioksidan *N. alba* dievaluasi dengan berbagai metode di antaranya antioksidan total, perangkap hidrogen peroksida dan perangkap nitrit oksida. Ekstrak etanol dan air bunga *N. alba* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, namun ekstrak etanol lebih kuat dibandingkan air. Ini mengindikasikan bahwa tumbuhan ini merupakan tumbuhan yang potensial sebagai antioksidan (Madhusudhanan et al., 2011).

2. METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu peralatan gelas laboratorium, mikropipet, neraca analitik dan inkubator IC55.

Bahan yang digunakan yaitu 0,5 Kg batang, 0,75 Kg daun dan 0,6 Kg rimpang teratai putih (*N. alba*). Pelarut untuk maserasi yaitu etil asetat dan aseton yang berkualitas teknis yang terlebih dahulu didestilasi. Pelarut yang digunakan dalam uji antibakteri adalah dimetilsulfoksida p.a (Merck), media padat Mueller Hinton Agar (MHA) digunakan dalam percobaan ini, bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebagai bakteri uji. Semua bakteri berasal dari Laboratorium mikrobiologi Universitas Indonesia.

Preparasi sampel

Sampel dalam eksperimen ini adalah teratai putih (*N. alba*). Sampel diperoleh dari Kuningan Jawa Barat. Bagian batang, daun dan rimpang dipisahkan lalu dibersihkan dan dikeringkan dengan memanfaatkan sinar matahari. Adapun sinar matahari tidak langsung mengenai sampel. Setelah kering, sampel dihaluskan dengan blender dan diayak. Berdasarkan proses ini didapatkan serbuk halus yang memiliki ukuran sama.

Ekstraksi

Simplisia batang, daun dan rimpang teratai putih (*N. alba*) kemudian diekstraksi dengan metode maserasi 3 x 24 jam dengan merendam simplisia dalam pelarut etil asetat dan aseton sampai bening. Penggantian pelarut dilakukan dengan interval 24 jam, dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Maserat dikumpulkan dalam cawan penguap dan diuapkan di dalam waterbath. Hasil akhir berupa ekstrak aseton tumbuhan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji anti-mikroba dilakukan secara *invitro*. Pengujian aktivitas anti-mikroba dengan menggunakan difusi cakram, cakram yang digunakan adalah kertas dengan menentukan zona hambat pertumbuhan mikroba.

Bakteri yang digunakan dalam eksperimen ini diantaranya adalah *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 68967

Agar diffusion method digunakan sebagai uji awal untuk mengetahui aktivitas antimikroba senyawa. Masing – masing mikroba yang berusia 24 jam digoreskan secara merata pada permukaan media MHA. Selanjutnya sebanyak 10 µL ekstrak (konsentrasi 10.000 µg/mL yang dibuat dengan pelarut 20% DMSO dalam air) diteteskan di atas cakram disk blank yang ditempatkan di atas media MHA. Plat MHA lalu ditutup dan diinkubasi secara aerob pada suhu 37°C dengan waktu 24 jam. Adanya potensi sifat antibakteri senyawa dan ekstrak ditentukan dari zona bening di sekitar kertas saring. Digunakan standar positif amoksilin dan kontrol negatif yaitu pelarut DMSO 20%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel teratai putih (*N. alba*) diperoleh dari Kuningan, Jawa Barat. Teratai putih dipisahkan bagian daun, batang dan rimpangnya. Kemudian masing-masing bagian dicuci menggunakan air mengalir dan ditiriskan. Setelah itu, tiga bagian tumbuhan ini dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan memanfaatkan sinar matahari namun tidak langsung mengenai sampel. Hal ini dilakukan agar senyawa metabolit sekunder di dalam tumbuhan tidak rusak. Setelah kering, sampel dihaluskan dengan blender, ini dilakukan untuk memperluas bidang sentuh simplisia dengan pelarut pengekstraksi. Diperoleh sebanyak 20,7 gam serbuk halus daun teratai putih, 20,6 gram serbuk halus batang teratai putih dan 20,8 gram serbuk halus rimpang teratai putih. Masing – masing serbuk halus dari berbagai bagian itu selanjutnya dibagi dua untuk dimaserasi dengan dua pelarut yang berbeda. Setelah diperoleh serbuk, selanjutnya serbuk dimasukkan ke dalam gela kimia dan dimaserasi dengan aseton dan etil asetat selama 3 x 24 jam hingga diperoleh pelarut yang bening. Ekstraksi dengan maserasi ini dilakukan karena kelebihannya, yaitu tidak digunakan suhu tinggi yang akan merusak senyawa metabolit sekunder tumbuhan. Pada hari ketiga, didapatkan pelarut pengekstraksi sudah bening. Ini menandakan senyawa yang larut di dalam pelarut aseton atau etil asetat telah habis terekstraksi. Selanjutnya hasil maserasi disaring dengan penyaringan vakum untuk mempercepat proses penyaringan. Maserat dari ketiga bagian tumbuhan ini dapat dilihat pada Gambar 1. Maserat lalu dipekatkan dengan cawan penguap di *water bath* pada suhu 40⁰ C, suhu yang tidak terlalu tinggi ini dimaksudkan agar senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tumbuhan tidak rusak.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer). Metode ini merupakan tahap awal uji antibakteri. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 10.000 ppm, kemudian dipipet sebanyak 10 µL ke dalam kertas cakram, sehingga setiap cakram mengandung sebanyak 100 µg ekstrak. Untuk standar amoksilin, konsentrasi dibuat sebesar 1.000 ppm, kemudian dipipet sebanyak 10 µL ke dalam kertas cakram, sehingga cakram yang berisi amoksilin mengandung sejumlah 10 µg amoksilin.

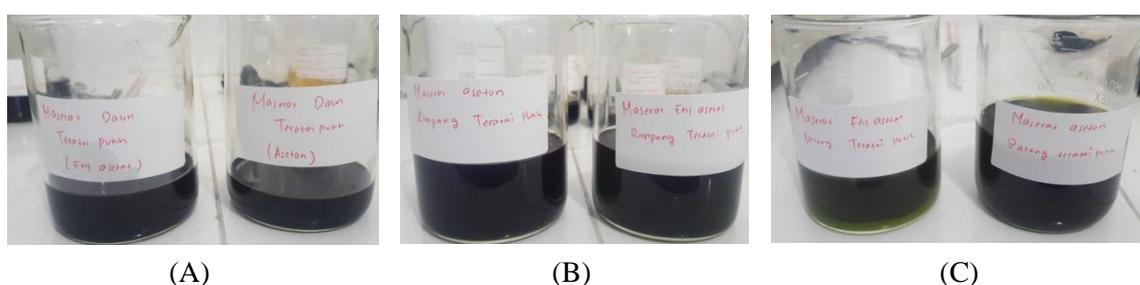
Tabel I. Hasil uji zona hambat

Bakteri uji	Pelarut pengekstraksi	Bagian tumbuhan	Zona hambat (mm)
<i>S. aureus</i>	Aseton	Daun	20
		Batang	20
		Rimpang	20
		Kontrol positif*	31
		Kontrol negatif*	0
	Etil asetat	Daun	0
		Batang	0
		Rimpang	0
		Kontrol positif	20
		Kontrol negatif	0
Rata-rata zona hambat			11.1
Simpangan baku			12.2
		Daun	0
		Batang	0

<i>E. coli</i>	Aseton	Rimpang	0
		Kontrol positif	32
		Kontrol negatif	0
	Etil asetat	Daun	0
		Batang	0
		Rimpang	0
		Kontrol positif	24
		Kontrol negatif	0
		Rata-rata zona hambat	6.2
	Rata-rata simpangan baku	12.5	

*kontrol positif : amoksilin

*kontrol negatif : DMSO 20%



Gambar 1. Maserat hasil maserasi (a) daun (b) rimpang (c) batang teratai putih (*N. alba*)

Ekspirimen ini dilakukan perbandingan aktivitas antibakteri dari ekstrak aseton dan etil asetat bagian batang, daun dan rimpang teratai putih (*N. alba*) dengan bakteri *S. aureus* dan *E.coli*. Dari Tabel 1 dan Gambar 2 terlihat bahwa ekstrak aseton daun, batang dan rimpang teratai putih menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetatnya yang bahkan tidak memiliki aktivitas antibakteri. Pelarut aseton memiliki kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan etil asetat. Ini mengindikasikan bahwa senyawa metabolit sekunder yang kepolarannya sama dengan aseton yang terkandung dalam teratai putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Teratai putih mengandung senyawa metabolit sekunder diataranya tannin, asam galat, alkaloid, sterol, flavonoid dan senyawa polifenol lain yang memiliki berat molekul yang tinggi (Bose et al., 2012). Diduga bahwa gabungan senyawa flavonoid dan polifenol yang memiliki kepolaran yang cukup besar ini yang bertanggung jawab atas aktivitas antibakteri ekstrak aseton daun, batang dan rimpang teratai putih (*N. alba*). Fenol memiliki sifat desinfektan, adapun cara kerjanya adalah mendenaturasi protein yang menyebabkan kematian sel bakteri. Sementara itu, flavonoid merupakan penyebab kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan penyebab hambatan motilitas bakteri.

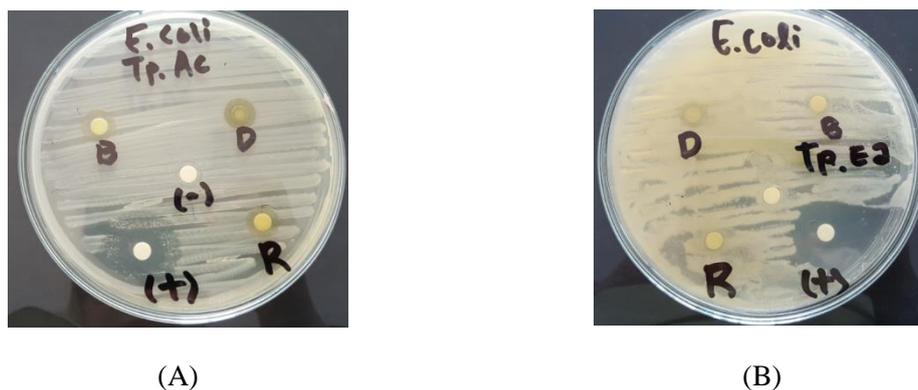
Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dapat kita amati dalam Gambar 3 dan Tabel 1 didapatkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak aseton terhadap

bakteri gram positif *S. aureus* jauh lebih tinggi jika kita bandingkan dengan bakteri gram negatif *E. coli*, ini dikarenakan perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif dimana bakteri gram positif berstruktur dinding sel bakteri yang lebih mudah dan sangat rentan dihancurkan oleh agen antibakteri.

Adapun pelarut yang digunakan dalam eksperimen ini adalah dimetil sulfoksida dengan konsentrasi 20%. Dapat terlihat dalam Gambar 2 bahwa pelarut DMSO sebagai kontrol negatif tidak ada aktivitas antibakteri atau tidak ada zona hambat, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa zona hambat yang dihasilkan adalah zona hambat dari ekstrak aseton teratai putih bukan dari pelarut.



Gambar 2. Hasil uji zona hambat bagian daun (**D**), batang (**B**), rimpang (**R**) teratai putih (*N. alba*) ekstrak etil asetat (A) dan ekstrak aseton (B) terhadap bakteri *S. aureus*. (-) merupakan kontrol negatif yaitu pelarut DMSO 20% dan (+) merupakan kontrol positif amoksisilin



Gambar 3. Hasil uji zona hambat bagian daun (**D**), batang (**B**), rimpang (**R**) teratai putih (*N. alba*) ekstrak etil asetat (a) dan ekstrak aseton (b) terhadap bakteri *E. coli*. (-) merupakan kontrol negatif yaitu pelarut DMSO 20% dan (+) merupakan kontrol positif amoksisilin

4. KESIMPULAN

Ekstrak aseton daun, batang dan rimpang teratai putih (*N. alba*) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi jika kita bandingkan ekstrak etil asetatnya dengan diameter zona hambat 20 mm, ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder yang polar yang larut di dalam aseton memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi. Aktivitas antibakteri ekstrak aseton terhadap bakteri gram positif *S. aureus* jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif *E. coli*, ini dikarenakan perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif dimana bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel bakteri yang lebih mudah dan sangat rentan untuk dihancurkan oleh agen antibakteri.

5. CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there no competing conflicts of interest.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Abirami, A., Nagarani, G., Saipriya, V., Ashwathi, R., & Siddhuraju, P. (2017). Influence of Thermal Treatments on Polyphenolic Contents and Antioxidant Properties of Underutilized Edible Flowers of *Nelumbo nucifera* and *Nymphaea alba*. *International Journal of Health Sciences & Research (Www.ijhsr.org) International Journal of Health Sciences and Research*, 2107(10), 210–223. Retrieved from http://www.ijhsr.org/IJHSR_Vol.7_Issue.10_Oct2017/30.pdf
- Adnaik, R. S., Pai, P. T., Sapakal, V. D., Naikwade, N. S., & Magdum, C. S. (2009). *Anxiolytic activity of Vitex negundo Linn . in experimental models of anxiety in mice*. (September), 243–247. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.56284>
- Batool, R., Kalsoom, A., Akbar, I., Arshad, N., & Jamil, N. (2018). Antilisterial Effect of *Rosa damascena* and *Nymphaea alba* in *Mus musculus*. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4543723>
- Bose, A., Ray, S., & Sahoo, M. (2012). Evaluation of analgesic and antioxidant potential of ethanolic extract of *Nymphaea alba* rhizome. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 1(3), 217. <https://doi.org/10.5455/oams.140912.or.017>
- Cudalbeanu, M., Ghinea, I. O., Furdui, B., Dah-Nouvlessounon, D., Raclea, R., Costache, T., ... Dinica, R. M. (2018). Exploring new antioxidant and mineral compounds from *Nymphaea alba* wild-grown in danube delta biosphere. *Molecules*, 23(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules23061247>
- A, Mustaq., N,Iqbal., M,Jamil., NR,Khawaja., UF,Gohar dan MA,Mehmood. (2017). Antidiabetic and antihyperlidemic of aqueous ethanolic ekstrak of *mentha spicata* (leaves), *plumeria alba* (leaves) and *nymphaeae alba* (flowers and rhizomes), *International Journal of Biology, Pharmacy and Apllied Sciences*, 6(1), 108–124.
- Madhusudhanan, N., Lakshmi, T., Gowtham, K. S., Ramakrishanan, N., Venu Gopala Rao, K., Roy, A., & Geetha, R. V. (2011). Invitro antioxidant and free radical scavenging activity of aqueous and ethanolic flower extract of *Nymphaea alba*. *International Journal of Drug Development and Research*, 3(3), 252–258.
- Nasiruddin, M., Khan, I. A., & Arif, S. H. (2018). Therapeutic effect of *Nymphaea alba* Linn. Flowers against isoniazid-induced hepatotoxicity: An experimental study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(5), 333–336. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i5.2283>
- Ngwoke, K. G., Odimegwu, D. C., & Esimone, C. O. (2011). Antimicrobial natural products Antimicrobial resistance Epidemiology of resistance. *Formatex*, 1011–1026.

- Pareek, S. (2016). Chapter 17 – Nutritional and Biochemical Composition of Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) Cultivars. In *Nutritional Composition of Fruit Cultivars* (pp. 395–418). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00017-9>
- Riham, O. B., Reham, W., Noha, S., & Ibrahim, E. S. (2016). Characterization of the bioactive constituents of *Nymphaea alba* rhizomes and evaluation of anti-biofilm as well as antioxidant and cytotoxic properties. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(26), 390–401. <https://doi.org/10.5897/jmpr2016.6162>
- RS, J. J., Jagadeesh, S., Ganesan, S., K, V. R., & Eerike, M. (2013). Anti inflammatory activity of ethanolic extract of *Nymphaea Alba* flower in Swiss albino mice. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 2(3), 474. <https://doi.org/10.5958/j.2319-5886.2.3.082>
- Saleem, M., Nazir, M., Ali, M. S., Hussain, H., Lee, Y. S., Riaz, N., & Jabbar, A. (2010). Antimicrobial natural products: An update on future antibiotic drug candidates. *Natural Product Reports*, 27(2), 238–254. <https://doi.org/10.1039/b916096e>
- Studies, R. (2017). *UDS International Journal of Development [UDSIJD] Volume 4 No. 1, August, 2017* <http://www.udsijd.org>. 4(1), 46–63.
- WHO. *Antimicrobial resistance*. (2017). Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/#.UFDmbKuzN0w.mendeley>
- Yildirim, A. B., Karakas, F. P., & Turker, A. U. (2013). In vitro antibacterial and antitumor activities of some medicinal plant extracts, growing in Turkey. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(8), 616–624. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60106-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60106-6)