

Efektivitas SNEDDS Ekstrak Kulit Manggis Terhadap Bakteri *P. mirabilis* dan *S. epidermidis* yang Terdapat pada Ulkus Diabetik

Rafika Sari¹, Liza Pratiwi¹, Pratiwi Apridamayanti¹

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak 78124, Indonesia

Email : rafikasari.untan@gmail.com

Abstrak

Kulit buah manggis memiliki aktivitas antibakteri. Dalam pengembangan sistem penghantaran obat, SNEDDS memiliki banyak keuntungan untuk meningkatkan penetrasi senyawa aktif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan efektivitas antibakteri dari sediaan SNEDDS dan ekstrak etanol kulit buah manggis sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab ulkus diabetik dengan prevalensi tertinggi baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif yaitu *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus epidermidis*. Pada penelitian ini diawali dengan maserasi sehingga diperoleh ekstrak kental dilanjutkan skrining fitokimia, kemudian dipersiapkan menjadi bentuk sediaan SNEDDS. Sediaan obat yang sudah disiapkan kemudian dianalisis kandungan senyawa aktif dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan pengukuran daya aktivitas antibakteri dengan parameter daya hambat pertumbuhan bakteri terhadap sediaan SNEDDS ekstrak etanol kulit manggis dibandingkan dengan siprofloksasin kemudian data dianalisis menggunakan ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan SNEDDS ekstrak kulit manggis memiliki aktivitas terhadap kedua jenis bakteri penyebab ulkus diabetik terlihat adanya perbedaan bermakna pada tiap kelompok pada bakteri *P. mirabilis* dan *S. epidermidis* yang ditunjukkan dengan anova dengan angka signifikansi pada 0,000.

Abstract

Mangosteen rind possesses the ability to conduct antibacterial activity. Under the development relating to drug delivery system, SNEDDS were known to boost the penetration of active compound. The aim of this research is to compare the effectiveness of the antibacterial activity at both SNEDDS preparation and the ethanol extract of mangosteen rind as the antibacteria against the bacteria that cause diabetic ulcers with the most prevalence whether it was Gram positive or Gram negative bacteria like *Proteus mirabilis* and *Staphylococcus epidermidis*. The research started by maceration process with the crude extract as the result continued with the phytochemical screening which subsequently prepared as SNEDDS preparations. The SNEDDS preparation prepared earlier were then analyzed to see the content of the active compound using spectrophotometer UV-Vis and the measuring of antibacteria activity with bacteria growth inhibitory parameter at ethanol extract SNEDDS preparations of mangosteen rind then compared to ciprofloxacin and were analyzed the data afterwards using ANOVA. The results shows that SNEDDS preparation of mangosteen extract have an activity against both typed of bacteria that cause diabetic ulcers shows by significant differences between both group which is *P.mirabilis* bacteria group and *S.epidermidis* bacteria group in ANOVA test with significant number of 0,000 and shows significant differences between both group.

Keywords : SNEDDS, Mangosteen rind, bacterial activity, Ulcus diabetik

PENDAHULUAN

Pengobatan penyakit diabetes melitus (DM) merupakan pengobatan menahun bahkan sampai seumur hidup. Kadar glukosa darah yang tinggi dapat menyebabkan komplikasi yang fatal seperti gangren (*gangrene foot*), penyakit jantung, ginjal, kebutaan, dan aterosklerosis (Susanto *et al.*, 2009). Ganggren diabetik di Indonesia menempati urutan ke-10 dalam daftar komplikasi DM yang sering dijumpai dimana pada tahun 2010 jumlah penderita sebesar 4,6% dari jumlah penduduk yang berusia 20 tahun sampai 79 tahun (Susanto *et al.*, 2009).

Penderita diabetes dengan komplikasi ganggren dapat menyebabkan lamanya waktu perawatan dan biaya pengobatan akan meningkat. Ganggren akibat infeksi dapat mengakibatkan tindakan amputasi. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Sutjahjo A 2013 bahwa diketahui bakteri yang dominan menginfeksi pada pasien rawat inap diabetes dengan komplikasi ganggren adalah *Pseudomonas*, *Stafilokokus*, *Klebsiella*, *Bacillus* dan *E.coli*. Salah satu terapi yang diberikan pada penderita DM dengan komplikasi ulkus diabetik adalah dengan mengkonsumsi antibiotik. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Sari R dan Apridamayanti P tahun 2015 bahwa pasien ulkus diabetik mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik, sehingga mulai dikembangkan alternatif terapi obat tradisional untuk dapat menekan terjadinya resistensi. Salah satu tanaman yang dapat

berpotensi untuk digunakan adalah kulit manggis.

Manggis merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah Asia Tenggara yaitu Indonesia, Malaysia, Thailand dan Myanmar. Manggis merupakan tumbuhan fungsional yang secara tradisional digunakan sebagai obat (Moongkandi *et al.*, 2004; Weecharangan *et al.*, 2006). Kulit buah manggis telah banyak diteliti dan diketahui memiliki kandungan senyawa fenolik, seperti tannin, flavonoid dan xanton (Pedraza *et al.*, 2008).

Menurut Pedraza dkk, (2008) xanton merupakan metabolit sekunder utama pada kulit manggis, dari beberapa penelitian diketahui bahwa xanton memiliki sifat sebagai antidiabetes, antikanker, antiperadangan, meningkatkan kekebalan tubuh, antibakteri, antifungi, dan digunakan sebagai pewarna alami. Senyawa xanton yang diisolasi dari kulit manggis juga memiliki daya antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Formulasi dari ekstrak kulit manggis perlu dilakukan karena dapat meningkatkan penetrasi senyawa aktif ke dalam tubuh sehingga dapat meningkatkan aktivitas senyawa aktif dan meningkatkan efektivitas pengobatan dan menghindari terjadinya resistensi. Dalam pengembangan sistem penghantaran obat berbasis teknologi farmasi diperlukan suatu sediaan yang dapat meningkatkan kemampuan senyawa aktif untuk berpenetrasi, salah satunya dengan *self nanoemulsifying drug delivery system* (SNEDDS) (Gupta S *et al.*, 2011).

SNEDDS merupakan campuran isotropis yang terdiri dari minyak, surfaktan, ko-surfaktan yang secara cepat membentuk emulsi ketika bertemu air (Nazal & Khan, 2002). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa SNEDDS mampu meningkatkan bioavailabilitas sehingga mampu meningkatkan efek dari obat. Keunggulan nanoemulsi minyak dalam air ialah kemampuan membawa obat yang bersifat hidrofobik di dalam minyak sehingga dapat teremulsi di dalam air dan pada akhirnya akan meningkatkan kelarutan obat tersebut ketika berada didalam tubuh (Shafiq-un-Nabi *et al.*, 2007).

Bakteri golongan *Proteus*, *Pseudomonas*, *Stafilokokus*, *Klebsiella*, *Bacillus* dan *E.coli* merupakan beberapa bakteri yang sering menginfeksi pada luka diabetes, sedangkan terbentuknya gas gangren disebabkan oleh *Clostridium perfringens* (Mohammad NA *et al.*, 2014). Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas antibakteri dari sediaan SNEDDS ekstrak etanol kulit buah manggis dengan batasan penelitian antibakteri terhadap bakteri yang ditemukan dengan prevalensi tertinggi pada ulkus kaki diabetik baik itu bakteri Gram positif (*Proteus mirabilis*) maupun bakteri Gram negatif (*S.epidermidis*).

Pada penelitian ini sediaan nanoemulsi berupa SNEDDS diuji aktivitas antibakteri pada bakteri yang diisolasi dari penderita Ulkus diabetik derajat III dan IV Wagner dengan prevalensi tertinggi baik dari jenis

Gram positif maupun Gram negatif yaitu *P.mirabilis* dan *S.epidermidis*. Selanjutnya daya hambat pertumbuhan bakteri terhadap sediaan SNEDDS ekstrak etanol kulit manggis dibandingkan dengan antibiotik siprofloksasin serta ekstrak kulit manggis yang tidak diformulasi dalam bentuk SNEDDS kemudian data zona hambat dianalisis menggunakan *ANOVA*.

METODE

Pengumpulan sampel

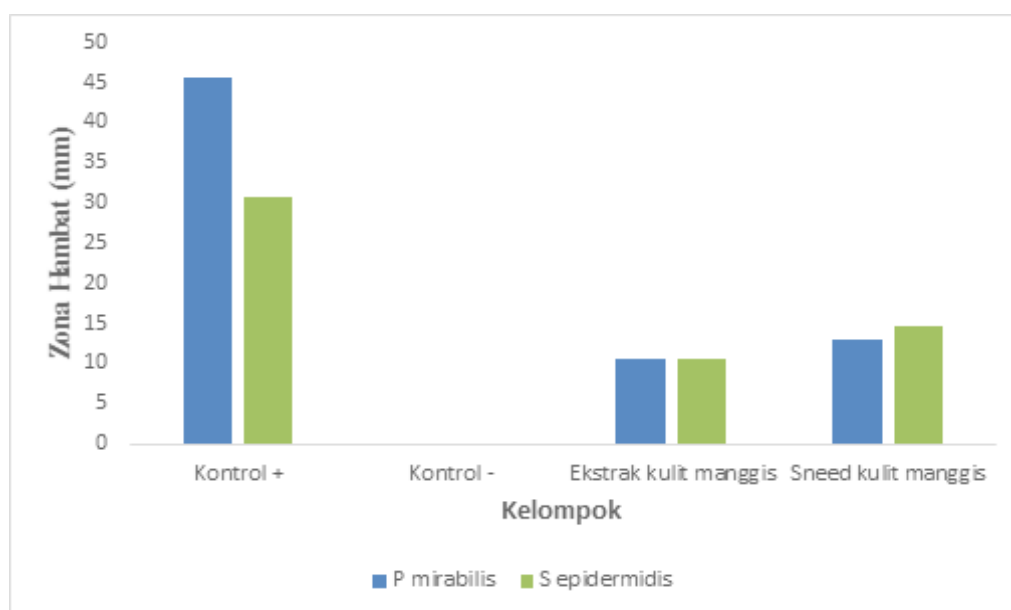
Kulit manggis yang digunakan diambil di sungai kakap kuburaya. Bagian yang diambil adalah kulit yang bebas hama, penyakit dan kerusakan lainnya. Kulit manggis dibersihkan dengan air mengalir, kemudian ditiriskan. Kulit manggis kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka.

Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura

Pembuatan ekstrak

Tanaman kulit manggis sebelumnya dilakukan determinasi kemudian diekstraksi secara maserasi. Simplisia kulit manggis dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana kaca atau toples, kemudian dituangi dan direndam dengan penyari etanol teknis hingga terendam seluruhnya, kemudian ditutup dan didiamkan selama 24 jam sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama, maserat ditampung pada botol



Gambar 1. Grafik rata-rata zona hambat bakteri

kaca kemudian dimaserasi kembali hingga 5 hari. Setelah 5 hari diserakai, maserat dikumpul, ampas diperas, disaring dengan corong buchner dan diambil maseratnya. Selanjutnya ekstrak hasil maserasi yang bercampur dengan pelarut dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol kulit manggis. Filtrat kemudian diuapkan lebih lanjut pada *hot plate*. Sisa pelarut dihilangkan dengan meletakkan sisa residu pada desikator berisi silika atau pengering selama ± 24 jam.

Meserasi kulit buah manggis

Uji efektivitas antibakteri

1. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara menutup alat-alat yang akan disterilkan dengan aluminium foil dan kapas. Dimasukkan ke dalam autoklaf dan diatur pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (*per square inch*) (Radji M, 2010).

2. Pembuatan media

a. Media *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 23 g *nutrient agar* dilarutkan dalam akuadest steril sebanyak 1000 mL kemudian dipanaskan hingga semua larut, dalam keadaan panas larutan tersebut kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer, dilanjutkan pengecekan pH media berkisar $6,8 \pm 0,2$. Media kemudian disterilkan di autoklaf 121°C selama 15 menit. (Difco, 1977)

b. Media *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

Media MHA dibuat dengan cara 38 g media dilarutkan dengan 1 L akuades sambil dipanaskan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. (Difco, 1977)

Peremajaan bakteri

Biakan murni bakteri uji dari media NA digoreskan secara aseptis dengan jarum

Ose pada media NA miring. Penggoresan dilakukan dengan cara zig zag pada permukaan medianya. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan suspensi bakteri *P.mirabilis* dan *S.epidermidis*

Biakan masing-masing suspensi bakteri diinokulasikan pada media peremajaan yang berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum Ose dan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl steril 0,9%. Kekeruhan yang diperoleh kemudian disetarakan dengan standar Mc. Farland no. 0,5 yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan 1×10^8 sel bakteri/mL dan setelah setara maka suspensi ini yang digunakan sebagai bakteri uji (Radji M, 2010).

Pembuatan konsentrasi larutan uji

Kulit buah manggis memiliki nilai KHM 200 µg/ml sebagai antimikroba Vishnu Priya *et al.*, 2010. Berdasarkan hal tersebut maka larutan uji dibuat menjadi konsentrasi yaitu 200 µg/ml; kemudian diformulasikan kedalam SNEDDS.

Formulasi SNEDDS kulit buah manggis

1. Pembuatan kurva baku ekstrak etanol kulit manggis

Dibuat larutan stok dengan melarutkan 10 mg ekstrak etanol kulit manggis dalam 50 ml etil asetat. Larutan stok diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak manggis sebesar 7 ppm. Larutan ini digunakan untuk scan panjang gelombang maksimal kulit manggis pada rentang

panjang gelombang 300-400 nm. Panjang gelombang yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk setiap pengukuran serapan sepanjang analisis. Dibuat pula seri konsentrasi ekstrak etanol kulit manggis sebesar 5 hingga 9 ppm. Seri konsentrasi larutan diukur serapannya pada panjang gelombang yang telah diperoleh. Kurva baku ekstrak etanol kulit manggis dibuat sebagai hasil regresi linier konsentrasi versus absorbansi.

2. Pengukuran solubilitas ekstrak dalam pembawa

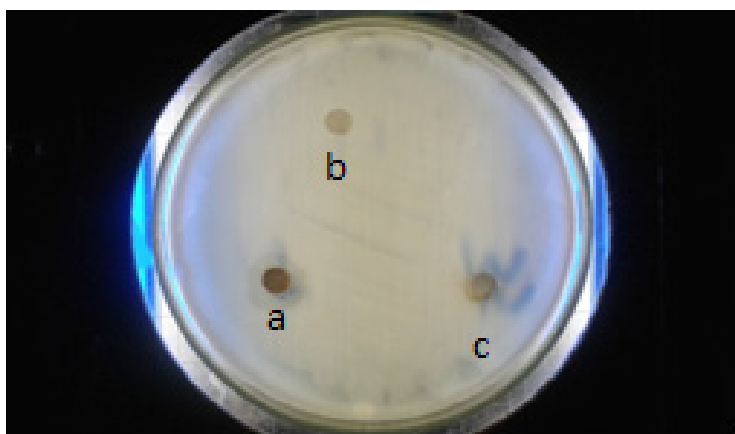
Sebanyak 10 mg ekstrak etanol kulit manggis ditambahkan kedalam 10 ml pembawa (minyak zaitun, tween 20, tween 80, span 20, span 80, cremophor el, PEG 400, dan propilen glikol) secara terpisah. Campuran ini dikondisikan dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 10 menit. Proses pelarutan ekstrak etanol dalam pembawa dimaksimalkan dengan alat sonikator selama 15 menit dan dibiarkan selama dua hari dalam suhu ruang. Setelah dua hari ekstrak etanol yg tidak terlarut dipisahkan dari bagian yang terlarut melalui sentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit. Sisa ekstrak etanol berupa endapan, dipisahkan dari supernatan, diambil sebanyak 10 ml dan diukur konsentrasinya dengan spektrofotometri pada panjang gelombang maksimal kulit manggis. Ekstrak etanol yang larut maupun yang tidak larut diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum menggunakan metode spektrofotometri.

3. Drug loading

Sebanyak 125 mg ekstrak etanol kulit manggis ditambahkan ke dalam 5 mL formula optimal SNEDDS. Cara pembuatan ini mengacu pada metode *solid dispersion technique* (Shah dkk., 2010). Ekstrak etanol kulit manggis dalam SNEDDS kemudian dihomogenkan dengan *vortex* selama 5 menit, dengan sonikator selama 5 menit, *waterbath* 45°C selama 5 menit, diulangi kembali dengan *vortex* selama 5 menit dan sonikator selama 10 menit kemudian dikondisikan dalam *waterbath* 45°C selama 5 menit. Pengamatan kelarutan ekstrak dalam SNEDDS dilakukan secara visual. Konsentrasi tinggi yang menghasilkan campuran jernih tanpa keberadaan partikel ekstrak etanol kulit manggis merupakan konsentrasi maksimal yang dapat dicapai melalui metode ini.

4. Uji kejernihan dan transmitan

Sejumlah 100,0 μL calon formula *preconcentrate* ditambah akuades hingga volume akhir 5,0 mL. Campuran dihomogenisasikan dengan bantuan *vortex* selama 30 detik. Hasil pencampuran yang homogen dan memberikan tampilan visual jernih menjadi tanda awal keberhasilan pembuatan SNEDDS. Emulsi yang telah diperoleh diukur serapannya pada panjang gelombang 650 nm dengan blanko akuades untuk mengetahui tingkat kejernihannya (Patel *et al.*, 2011). Semakin jernih atau absorbansi semakin mendekati absorbansi akuades maka diperkirakan tetesan emulsi telah mencapai ukuran nanometer (Patel *et al.*, 2011).



Keterangan gambar :

- a. Kontrol positif siprofloksasin
- b. SNEDDS kulit manggis konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$
- c. ekstrak kulit manggis konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$

Gambar 2. Uji efektivitas ekstrak kulit manggis dan SNEDDS kulit manggis terhadap bakteri *P.mirabilis*

Uji efektivitas SNEDDS kulit manggis terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dan *Staphylococcus epidermidis*

Pengujian daya antibakteri ini dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Bakteri uji masing-masing diinokulasikan pada media MHA. Cakram kertas ukuran 6 mm ditempatkan diatas permukaan media, kemudian sampel dengan variasi konsentrasi yaitu 200 µg/ml; diteteskan sebanyak 20 µL. Kontrol positif dan kontrol negatif masing-masing diteteskan sebanyak 20 µL di dalam sumuran. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambat yang terbentuk yang diinterpretasikan dengan melihat daerah bening disekitar cakram secara vertikal dan horizontal dengan jangka sorong yang menunjukkan bahwa tidak adanya pertumbuhan bakteri (Radji M, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan dan pengolahan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis. Jumlah simplisia kulit manggis yang diperoleh setelah melalui tahap pengolahan memiliki bobot 1.650 g atau memiliki nilai rendemen sebesar 74,0909 % dari bobot sampel buah keseluruhan. Nilai rendemen tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yakni jumlah kandungan air yang cukup tinggi, baik dalam buah utuh maupun kulitnya.

Ekstraksi kulit buah manggis

Pelarut yang digunakan pada ekstraksi kulit

manggis menggunakan dua pelarut yang berbeda bertujuan untuk mengetahui nilai IC_{50} yang lebih kecil atau memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Ekstrak etanol 70% yang didapat setelah pemekatan adalah sebanyak 290,0346 g atau dengan nilai rendemen sebesar 17,5778 % dari jumlah simplisia. Ekstrak etil asetat yang didapat setelah pemekatan adalah sebanyak 3,3423 g atau dengan nilai rendemen sebesar 3,3423 % dari jumlah simplisia.

Formulasi SNEDDS

Cremophor el dipilih sebagai surfaktan karena memiliki kemampuan melarutkan ekstrak kulit manggis, ko surfaktan yang digunakan adalah PEG 400. Dasar pemilihan senyawa aktif kulit manggis berdasarkan pada uji kelarutan dalam minyak yaitu Virgin Coconut Oil (VCO). Berdasarkan data transmitan dan contour plot transmitan, maka diperoleh persamaan simplex lattice design sebagai berikut:

$$Y = 16,5535 A - 1,7021 B + 9,7197 C - 2,00639 (A)(B) - 5,1854(A)(C) + 5,7964 (B)(C)$$

Keterangan: Y = Transmitan
A = Komponen Cremophor el
B = Komponen PEG 400
C = Komponen VCO

Ekstraksi kulit buah manggis

Nilai rendemen menunjukkan seberapa besar jumlah kandungan yang dapat terekstraksi oleh pelarut dalam persen (%). Salah satu faktor yang mempengaruhi besarnya nilai rendemen adalah proses ekstraksi.

Pemilihan metode ekstraksi dalam penelitian ini didasarkan atas sensitivitas senyawa antioksidan terhadap suhu yang tinggi, oleh karena itu dipilih metode maserasi, dimana metode ekstraksi ini dilakukan tanpa pemanasan serta dilakukan dalam suhu ruangan. Prinsip ekstraksi dengan metode maserasi adalah terjadinya proses difusi larutan penyari ke dalam sel tumbuhan yang mengandung senyawa aktif. Difusi tersebut mengakibatkan tekanan osmosis dalam sel menjadi berbeda dengan keadaan di luar sel. Sehingga senyawa yang memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut kemudian terdesak keluar karena adanya perbedaan tekanan osmosis di dalam sel dan di luar sel (Dean, 2009).

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah etanol 70% dan etil asetat. Pemilihan pelarut etanol 70% sebagai pelarut maserasi didasarkan atas penyarian yang optimal sehingga diharapkan banyak senyawa aktif yang terkandung didalamnya, sedangkan pelarut etil asetat yang memiliki sifat semi polar diharapkan mampu menyari senyawa xanton yaitu α -mangostin. Dengan penggunaan kedua pelarut yang berbeda pada ekstraksi kulit manggis bertujuan dapat dihasilkan nilai IC_{50} yang lebih kecil atau memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Formulasi SNEDDS

Berdasarkan persamaan yang diperoleh dari hasil formulasi SNEDDS kulit manggis

terlihat bahwa interaksi antara Cremophor el dengan PEG 400 serta Cremophor el dengan VCO memberikan koefisien dengan nilai negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa interaksi tersebut menurunkan nilai transmitan SNEDDS. Sedangkan interaksi antara PEG 400 dan VCO meningkatkan nilai transmitan. Semakin jernih emulsi maka ukuran partikel akan semakin kecil dan semakin keruh emulsi maka ukuran partikel semakin besar.

Efektivitas SNEDDS terhadap bakteri

Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dan data kualitatif. Data kualitatif yaitu berupa ada tidaknya zona hambat yang dapat diamati dari SNEDDS, sedangkan data kuantitatif terdiri atas besarnya zona hambat dari sampel. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program *one way anova* 17.,0. Berdasarkan hasil analisis terlihat adanya perbedaan bermakna pada tiap kelompok pada bakteri *P mirabilis* dan *S epidermidis* yang ditunjukkan dengan anova dengan angka signifikansi pada 0,000. pengujian dengan post hoc LSD berikutnya menunjukkan terdapat signifikansi pada semua kelompok, baik kontrol positif, negatif, ekstrak maupun SNEDDS Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak dan SNEDDS memberikan efek zona hambat yang lebih baik dari kelompok kontrol negatif. hasil analisis pada kelompok SNEDDS dan ekstrak pada *P.mirabilis* menunjukkan angka 0,002 yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada kedua kelompok tersebut.

DAFTAR ACUAN

- Dean, J. (2009). *Extraction techniques in analytical science*. London: John Wiley And Sons LTD
- Difco. (1977). *Manual of dehydrated culture media and reagents for microbiology and clinical laboratory procedures* (9th ed.). Detroit Michigan: Difco Laboratories
- Gupta, S., Sandip, C., Sawan, K. (2011). Self-nanoemulsifying drug delivery system characterization in vitro and ex vivo evaluation. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 392, 145-155
- Mohamad, N.A., Jusoh, N.A., Htike, Z.Z., Win, S.L. (2014). Bacteria identification from microscopic morphology: A review. *International Journal on Soft Computing, Artificial Intelligence and Applications*, 3(2)
- Moongkarndi, P., et al. (2004). Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *Journal of Ethnopharmacol*, 90(1), 161–166
- Nazzal, S., Khan, M.A. (2002). Response surface methodology for the optimization of ubiquinone self-nanoemulsified drug delivery system. *AAPS PharmSciTech*, 3, 23–31
- Patel, J., Kevin, G., Patel, A., Raval, M., dan Sheth, N. (2011). Design and development of a self-nanoemulsifying drug delivery system for telmisartan for oral drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 1, 112–118
- Pedraza-Chaverri, J., et al. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *FCT*, 46, 3227–3239
- Radji, Maksum. (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Sari, R., Apridamayanti, P. (2015). Bacteria Pathogen isolation and their sensitivity against antibiotic in diabetic foot ulcer specimens in West Borneo. *Microbiology J. Submitted*
- Shah, P., Bhalodia, D., Shelat, P. (2010). Nanoemulsion: A pharmaceutical review. *Sys Rev Pharm*, 1(1), 24-32
- Shafiq-un-Nabi, S., et al. (2007). Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: a technical note. *AAPS pharmscitech*, 8, 12-17
- Susanto, Y., et al. (2009). Efek serbuk biji kopi robusta (*Coffea robusta* Lindl Ex de Willd), terhadap waktu penutupan luka pada mencit jantan galur Balb/c yang diinduksi aloksan. *JKM*, 8(2), 121-126
- Sutjahjo, A. (2013). Kuman dan uji kepekaan antibiotik. *JICP*, 20(1), 20-24
- Vishnu, P., et al. (2010). Antimicrobial activity of pericarp extract of *Garcinia mangostana* Linn. *IJPSR*, 1(8), 278-281
- Weecharangsan, W., et al. (2006). Antioxidative and neuro protective activities of extracts from the fruit hull of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Medical Principles and Practice*, 15, 281-287