

EFEKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAUN KETEPENG CINA (*Cassia alata* L.) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* SECARA TUNGGAL DAN KOMBINASI

Annisa Putri Hanifa¹, Dina Erliana², Avidlyandi Avidlyandi³, Meika Rizka⁴, Deni Agus Triawan⁵,
Sal Prima Yudha S.⁶, Morina Adfa^{7*}

^{1,2,3,4,5,6,7}Jurusan Kimia, Universitas Bengkulu, Jln. WR. Supratman, Kandang Limun, Kota
Bengkulu, Bengkulu, 38371

*Corresponding author, e-mail: morina@unib.ac.id

ABSTRACT

The goal of this study was to determine the antibacterial activity and combined effect of a 10% w/v methanol extract of ketepeng cina leaves (*Cassia alata*) with six selected plant extracts against *Staphylococcus epidermidis* using the diffusion and paper strip methods. The results revealed that the average antibacterial activity of each extract inhibited the growth of *S. epidermidis*. The inhibition zones of single extract of *C. alata*, *Excocaria cochinchinensis*, *Ocinum tenuiflorum*, *Persea americana*, *Oroxylum indicum*, *Impatiens balsamina*, and *Peronema canescens* were 6.28 ± 0.20 mm, 7.90 ± 0.31 mm, 2.30 ± 0.37 mm, 3.53 ± 0.50 mm, 4.35 ± 0.52 mm, and 4.69 ± 0.17 mm, respectively. Furthermore, the combination of ketepeng cina leaves (*C. alata*) methanol extract with the six selected plants extract in an average diameter of inhibition zone greater than the average diameter of inhibition zone of each extract. However, the combined extract's average diameter of the inhibition zone was not significantly larger than the sum of the diameters of the inhibition zones of each extract. According to the findings of this study, combining the methanol extract of *C. alata* with six selected plant extracts has an additive/indifferent effect on the growth of *S. epidermidis*.

Keywords: Antibacterial, Additive/Indifferent, Combination, *Cassia alata*, *Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Jerawat merupakan salah satu infeksi kulit yang umumnya menyerang para remaja. Jerawat itu sendiri disebabkan adanya penyumbatan pori-pori kulit oleh timbunan lemak yang kemudian terjadi peradangan yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, dan *Staphylococcus aureus*. Pengobatan jerawat biasanya menggunakan antibiotik sebagai antiinflamasi seperti klindamisin, dan tetrasiklin, namun karena pemakaian yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi bakteri (Lestari et al., 2021).

Penggunaan obat herbal atau obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit termasuk infeksi kulit kembali menjadi *trend* di Indonesia. Masyarakat mempercayai penggunaan obat tradisional memiliki efek negatif yang relatif kecil, biasanya mereka mengkonsumsi obat tradisional dengan cara merebus satu jenis tumbuhan atau dicampur dengan beberapa jenis tumbuhan yang dipercaya memberikan efek yang lebih baik jika dibandingkan dengan mengkonsumsi satu jenis tumbuhan saja (Cheesman et al., 2017). Penggunaan kombinasi 2 jenis herbal atau lebih tentu saja perlu pembuktian secara ilmiah.

Pada penelitian Adfa et al. (2021) telah mengombinasikan ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) (A) dengan ekstrak metanol biji alpukat (*Persea americana*) (B) dengan perbandingan konsentrasi A mg/mL : B mg/mL adalah 4 : 4, 4 : 8, 4 : 12, 8 : 4, dan 12 : 4 yang menghasilkan zona hambat sebesar 4,01; 5,14; 5,66; 3,81; dan 4,33 mm terhadap bakteri *S. epidermidis*, dimana efek kombinasi yang dihasilkan adalah efek *indifferent*. Untuk melanjutkan pencarian kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan beberapa ekstrak tanaman herbal lainnya dengan aktivitas yang lebih baik maka perlu diselidiki efek kombinasi yang ditimbulkan jika ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dikombinasikan dengan beberapa ekstrak tumbuhan terpilih lainnya dalam menghambat pertumbuhan *S. epidermidis*.

Hasil skrining fitokimia tanaman ketepeng cina (*C. alata*) dilaporkan mengandung flavonoid, tannin, saponin, fenol dan alkaloid (Lathifah et al., 2021), dan berhasil diisolasi senyawa 3,4 dihidroksi asam sinamat dari daunnya. Disisi lain, aktivitas antibakteri 6 ekstrak tumbuhan terpilih yang akan dikombinasikan dengan ekstrak ketepeng cina sudah banyak dilaporkan. Berdasarkan penelitian Nizar dan Monika (2015), ekstrak etil asetat daun sambang darah (*Excocaria cochinchinensis*) dengan konsentrasi terendah 0,78% dan tertinggi 50% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat 7,1 mm dan 12,25 mm. Ekstrak metanol daun pacar air (*Impatiens balsamina*) dapat menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* dan *P. acnes* (Dermawan et al., 2015; Yang et al., 2001). Ekstrak tanaman ruku-ruku (*Ocinum tenuiflorum*) dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *B. cereus* dan *S. aureus* (Chetia et al., 2021). Ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens*) dengan konsentrasi 25% dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* (Fransisca et al., 2020). Ekstrak daun bungli (*Oroxylum indicum*) memiliki daya hambat terhadap bakteri penyebab infeksi saluran kemih, salah satunya pada bakteri *S. aureus* (Dubey et al., 2021), dan ekstrak biji alpukat (*Persea americana*) menunjukkan hambatan terhadap *S. epidermidis* (Adfa et al., 2021).

Berdasarkan penelusuran literatur, sejauh ini belum ada laporan aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih (sambang darah, pacar air, ruku-ruku, sungkai, bungli dan biji alpukat) dalam menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* dan juga belum dilaporkan efek apa yang ditimbulkannya. Untuk itu, perlu diketahui efek kombinasi yang ditimbulkan dari penggunaan ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan 6 ekstrak tumbuhan terpilih tersebut, supaya diketahui keefektifannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* jika digunakan bersama-sama (kombinasi) untuk mengatasi infeksi pada penggunaan obat secara tradisional.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan penelitian adalah ekstrak metanol daun ketepeng cina (*Cassia alata*), ekstrak metanol daun pacar air (*Impatiens balsamina*), ekstrak metanol daun sambang darah (*Excoecaria cochichinensis*), ekstrak metanol daun ruku-ruku (*Ocinum tenuiflorum*), ekstrak etanol daun sungkai tua (*Peronema canescens*), ekstrak metanol daun bungli (*Oroxylum indicum*) dan ekstrak metanol biji alpukat (*Persea americana*), serta bakteri uji adalah *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228). Bahan lainnya yang digunakan NA (*Nutrient Agar*, Merck), DMSO (Dimetil Sulfoksida, Merck), dan NB (*Nutrient Broth*, Merck). Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis

(Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis), neraca analitik (caADAM), inkubator (Froilabo), *hotplate* dan *stirrer* (Vision), *rotary evaporator* (Heidolph), *laminar air flow* (Telstar AV-100), oven (Philip Harris Ltd.) dan autoklaf (GEA), serta alat-alat gelas yang biasa digunakan untuk uji antibakteri. Alat-alat gelas dan media tumbuh yang digunakan telah disterilkan terlebih dahulu (Adfa et al., 2021; Zahrah et al., 2018).

Peremajaan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Biakan bakteri *S. epidermidis* (ATCC 12228) didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Institut Pertanian Bogor (IPB). Biakan bakteri *S. epidermidis* dilakukan peremajaan terlebih dahulu pada cawan petri dan tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Adfa et al., 2021; Zahrah et al., 2018).

Uji Skrining Awal Penentuan Efek Kombinasi dengan Metode Difusi Sumuran

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi sumuran. Media NA yang telah steril diambil sebanyak 15 mL lalu dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan sebanyak 1 ml suspensi bakteri dengan OD 0,1 dan diaduk dengan memutar cawan secara perlahan-lahan membentuk angka delapan. Setelah media memadat dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 6 mm sebanyak 9 sumuran dalam satu cawan petri. Masing-masing sumuran ditambahkan sebanyak 10 µL larutan sampel uji yang dilarutkan dalam DMSO 50% untuk membuat konsentrasi 10% b/v. Untuk sumuran pertama ditambahkan larutan sampel utama yaitu ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*), kemudian untuk sumuran kedua dimasukkan ekstrak tunggal daun bungli (*O. indicum*). Untuk sumuran ke-tiga dikombinasikan antara ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan ekstrak metanol daun bungli (*O. indicum*), untuk sumuran selanjutnya dibuat perlakuan yang sama terhadap 5 ekstrak tumbuhan terpilih lainnya. Klindamisin 250 ppm digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO 50% (v/v) sebagai kontrol negatif. Setelah ekstrak terpenetrasi kedalam media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada incubator dengan suhu 37 °C. Zona bening/zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan cara mengurangi zona bening yang terbentuk dengan diameter lubang sumuran (Haryati et al., 2017), uji skrining awal penentuan efek kombinasi dilakukan 3 kali pengulangan.

Penentuan Pola Efek Kombinasi Ekstrak dengan Metode Pita Kertas

Penentuan pola efek kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan 6 ekstrak tanaman terpilih menggunakan metode pita kertas. Pola efek interaksi yang terjadi dapat ditentukan dengan melihat efek kombinasi secara visual. Masing-masing ekstrak uji yang diteteskan sebanyak 30 µL dengan konsentrasi 10% b/v pada pita kertas berukuran 3 cm x 0,5 cm, kemudian pita kertas diletakkan di atas media agar NA yang telah diinokulasi bakteri uji dengan membentuk sudut 90° dan saling tumpang tindih pada sudut siku-siku. Setelah itu, cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pola efek yang terbentuk dapat menunjukkan efek *synergistic*, *additive/indifferent* atau *antagonist* dilihat dari pola zona bening yang terbentuk pada pertemuan 2 buah pita kertas membentuk sudut 90°. Efek *synergistic* dapat dilihat jika adanya peningkatan zona hambat yang terbentuk pada sudut 90° pertemuan 2 buah pita kertas, sedangkan *antagonist* sebaliknya dan untuk efek *additive/indifferent* dapat dilihat dari tidak ada peningkatan maupun pengurangan zona bening yang terbentuk pada sudut 90° jika dibandingkan dengan zona bening

pada masing masing pita kertas (Laishram et al., 2017). Uji penentuan pola efek kombinasi menggunakan pita kertas dilakukan duplo.

Analisis Data

Analisis data zona hambat dilakukan secara kuantitatif dengan merata-ratakan hasil pengukuran daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan metode sumuran dari 3 kali pengulangan dan dihitung juga standar deviasinya menggunakan excel. Data uji pita kertas berupa visual pola zona bening yang terbentuk dari 2 kali pengulangan dideskripsikan dengan efek *synergistic*, *additive/indifferent* atau *antagonist*.

HASIL DAN DISKUSI

Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Ketepeng Cina (*C. alata*) dengan 6 Ekstrak Tumbuhan Terpilih Menggunakan Metode Sumuran

Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan metode difusi sumuran. Pemberian ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) baik secara tunggal maupun dikombinasi dengan 6 ekstrak tumbuhan terpilih memberikan zona hambat yang ditandai dengan zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran yang dapat dilihat pada (Gambar 1 dan Gambar 2).

Aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan 6 ekstrak tanaman terpilih secara keseluruhan menghasilkan zona hambat yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal namun tidak lebih besar dari penjumlahan keduanya. Seperti terlihat pada Gambar 3, rata-rata diameter zona hambat ekstrak tunggal ketepeng cina, ekstrak metanol daun sambang darah, ekstrak metanol daun ruku-ruku dan ekstrak metanol biji alpukat adalah sebesar $6,28 \pm 0,20$ mm; $7,90 \pm 0,31$ mm; $2,30 \pm 0,37$ mm; dan $1,30 \pm 0,05$. Zona hambat yang dihasilkan ketika ekstrak metanol daun ketepeng cina dikombinasikan dengan ekstrak metanol daun sambang darah, ekstrak metanol daun ruku-ruku, dan ekstrak metanol biji alpukat menghasilkan zona hambat sebesar $9,41 \pm 0,14$ mm; $6,73 \pm 0,30$ mm; dan $6,95 \pm 0,61$, berturut-turut.

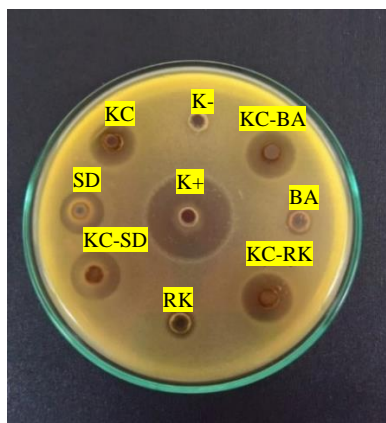
Rata-rata diameter zona hambat ekstrak metanol daun ketepeng cina secara tunggal bersama dengan ekstrak metanol daun bungli, ekstrak metanol daun pacar air dan ekstrak etanol daun tua sungkai adalah sebesar $7,43 \pm 0,35$ mm; $3,53 \pm 0,50$ mm, $4,35 \pm 0,52$ mm; dan $4,69 \pm 0,17$ mm. Zona hambat yang dihasilkan ketika kombinasi antara ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan ekstrak metanol daun bungli, ekstrak metanol daun pacar air, dan ekstrak etanol daun tua sungkai menghasilkan zona hambat sebesar $8,72 \pm 0,24$ mm; $7,81 \pm 0,20$ mm; dan $7,93 \pm 0,39$ mm yang dapat dilihat pada Gambar 4.

Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri oleh ekstrak metanol daun ketepeng cina dan enam ekstrak tumbuhan terpilih lainnya diduga karena kandungan kimianya, terutama senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari daun ketepeng cina (*C. alata*) oleh Paul et al. (2013) adalah 3,4 dihidroksi asam sinamat yang merupakan golongan fenol. Hubungan struktur senyawa 3,4 dihidroksi asam sinamat dengan aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh gugus hidroksil yang mengendalikan pertumbuhan bakteri dengan mengubah permeabilitas membran atau mengurangi pH sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri menjadi tidak stabil (Sabir, 2005).

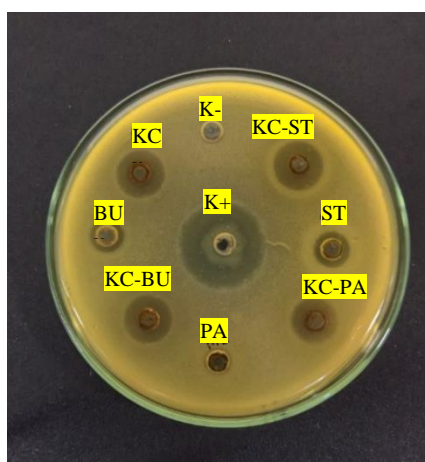
Hasil skrining fitokimia daun sambang darah (*E. cochinchinensis*) mengandung senyawa flavonoid dan saponin (Oktariza et al., 2013). Hasil isolasi yang dilakukan oleh Giang et al. (2005) pada daun sambang darah (*E. cochinchinensis*) menunjukkan

adanya senyawa *excoecariosides* A dan *excoecariosides* B yang merupakan senyawa glikosida.

Publikasi Yang et al. (2001) melaporkan daun pacar air (*I. balsamina*) mengandung senyawa 2-metoksi-1,4 naftaquinon yang termasuk golongan kuinon yang tersubstitusi gugus metoksi. Hubungan struktur senyawa 2-metoksi-1,4 naftaquinon dengan aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh cincin aromatik dengan 2 gugus ketonnya, dimana kuinon ini berperan sebagai agen inaktivasi protein yang menyebabkan metabolisme mikroorganisme tidak berfungsi dengan baik, selain itu juga dapat membuat substrat tidak tersedia bagi mikroorganisme (Cowan, 1999). Kitagawa et al. (1994) mengisolasi salah satu metabolit sekunder yang dikandung daun sungkai (*P. canescens*) adalah peronemins B₁ yang merupakan golongan diterpenoid. Hubungan mekanisme kerja struktur peronemins B₁ dengan aktivitas antibakteri tidak sepenuhnya diketahui, namun berdasarkan (Cowan, 1999) dijelaskan bahwa mekanisme kerja terpenoid diduga melibatkan gangguan membran oleh senyawa lipofilik.

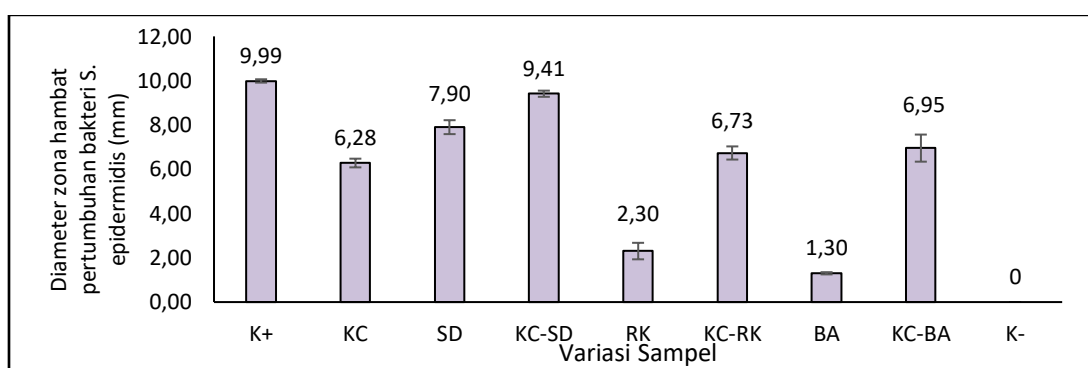


Gambar 1. Zona hambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* pemberian ekstrak daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC), daun sambang darah (SD), daun ruku-ruku (RK) dan biji alpukat (BA) secara tunggal dan kombinasi menggunakan metode sumuran. Catatan: K+ = Kontrol positif klindamisin 250 ppm, K- = Kontrol negatif larutan DMSO 50% (v/v).

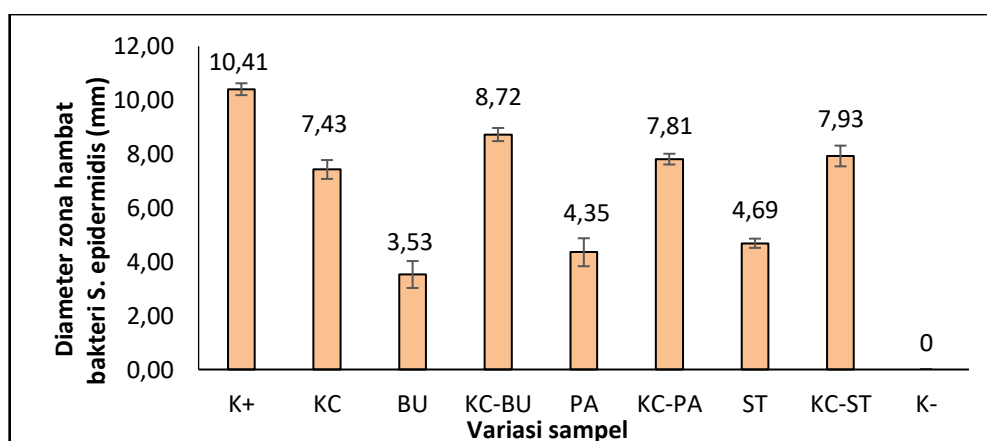


Gambar 2. Zona hambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* pemberian ekstrak daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC), daun bungli (BU), daun pacar air (PA) dan daun tua sungkai (ST) secara tunggal dan kombinasi menggunakan metode sumuran. Catatan: K+ = Kontrol positif klindamisin 250 ppm, K- = Kontrol negatif larutan DMSO 50% (v/v).

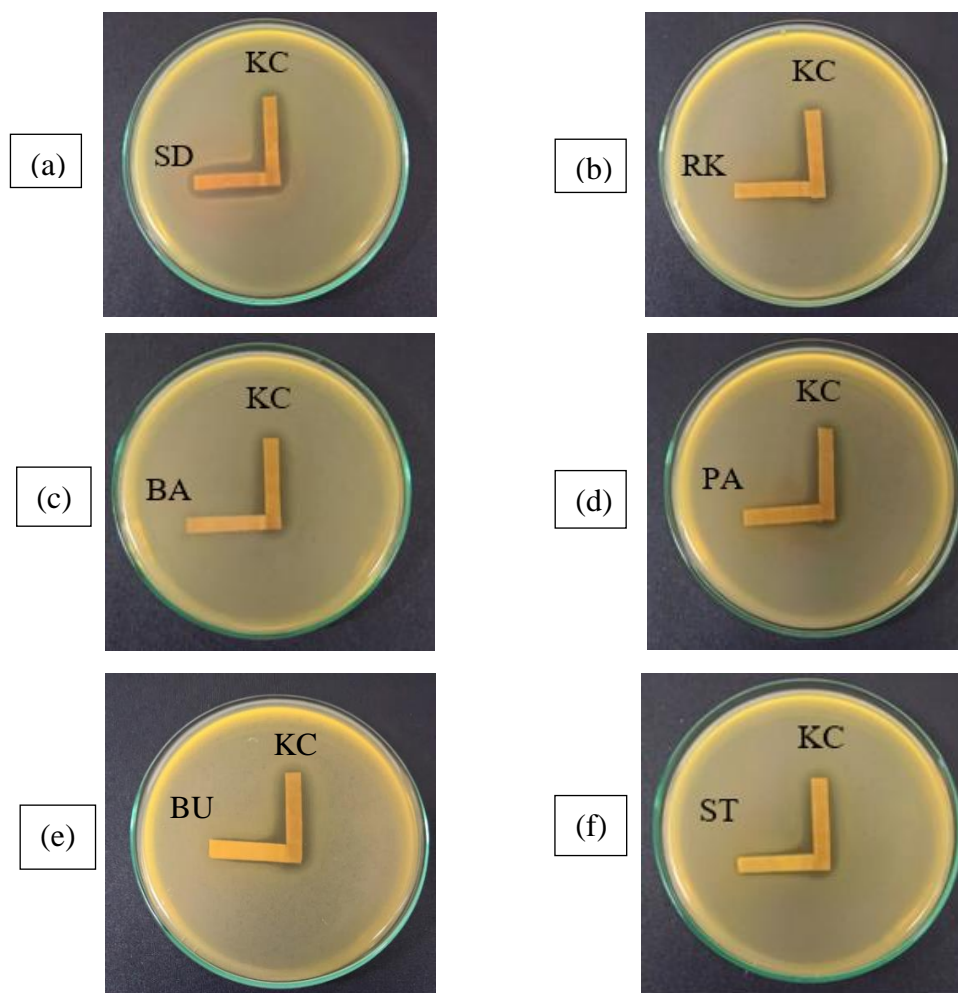
Hasil uji fitokimia biji alpukat (*P. americana*) menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, antosianin, polifenol, triterpenoid, kuinon, saponin dan steroid (Ekom et al., 2022; Leite et al., 2009). Serta, menurut Yamani et al., (2016) minyak atsiri daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*) mengandung senyawa volatil yang terdiri dari monoterpena dan seskuiterpena dengan kandungan utamanya adalah metil eugenol. Eswari et al., (2018) melakukan uji fitokimia pada daun bungli (*O. indicum*) yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol bungli mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenol dan tanin. Berdasarkan laporan Ngazizah et al. (2016) mekanisme kerja senyawa tanin yang memiliki gugus hidroksil akan menyebabkan bakteri menjadi inaktif akibat perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebutlah yang diduga mempunyai peranan terhadap aktivitas antibakteri ke-7 ekstrak tanaman yang diuji, dimana interaksi senyawa-senyawa tersebut ketika dikombinasikan juga berbeda-beda.



Gambar 3. Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* setelah diaplikasikan ekstrak daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC), daun sambang darah (SD), daun ruku-ruku (RK) dan biji alpukat (BA) secara tunggal dan kombinasi. Catatan: K+ = Kontrol positif klindamisin 250 ppm, K- = Kontrol negatif larutan DMSO 50% (v/v).



Gambar 4. Rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* setelah diaplikasikan ekstrak daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC), daun bungli (BU), daun pacar air (PA) dan daun tua sungkai (ST) secara tunggal dan kombinasi. Catatan: K+ = Kontrol positif klindamisin 250 ppm, K- = Kontrol negatif larutan DMSO 50% (v/v).



Gambar 5. Visual Zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC) dengan 6 ekstrak tanaman terpilih (a) sambang darah (SD), (b) ruku-ruku (RK), (c) biji alpukat (BA), (d) pacar air (PA), (e) bungli (BU), dan (f) sungkai (ST) menggunakan metode pita kertas.

Pola Efek Kombinasi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Ketepeng Cina (*C. alata*) dengan 6 Ekstrak Tumbuhan Terpilih Menggunakan Metode Pita Kertas

Pada uji aktivitas kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) sebagai sampel utama dikombinasikan dengan 6 jenis ekstrak tanaman obat menggunakan metode pita kertas. Pita kertas yang telah dibuat dengan ukuran 3 x 0,5 cm diletakkan di atas media yang telah diinokulasikan bakteri dengan membentuk sudut 90° dan saling tumpang tindih. Pada Gambar 5 dapat dilihat visual pola efek interaksi yang dihasilkan dari enam kombinasi ekstrak sampel uji, terjadi sedikit peningkatan zona hambat atau disebut memiliki efek *additive/indifferent*. Sejalan dengan laporan yang disampaikan oleh Yang et al. (2017), ketika kedua ekstrak dikombinasikan terjadi sedikit peningkatan zona hambat meskipun tidak sebesar efek *synergism* dikatakan memberikan efek *additive/indifferent*. Efek kombinasi keenam ekstrak tidak dapat dikatakan *antagonism* karena saat kedua ekstrak dikombinasikan tidak menunjukkan penurunan zona hambat yang lebih rendah dari zona hambat kedua ekstrak secara individual, dan tidak juga menunjukkan

peningkatan zona hambat yang signifikan (*synergism*) (Cheesman et al., 2017). Pola efek kombinasi yang diberikan dengan metode pita kertas ini memperkuat hasil pengamatan pengaruh pemberian 2 ekstrak secara bersama/kombinasi dengan metode sumuran bahwa tidak terjadi peningkatan zona hambat pertumbuhan bakteri secara signifikan, namun juga tidak terjadi penurunan diameter zona hambat secara signifikan. Pengamatan secara kuantitatif efek kombinasi dalam penghambatan pertumbuhan bakteri dapat ditentukan dengan menghitung indeks *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) yang didapat dengan menentukan *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) kombinasi ekstrak dan MIC ekstrak tunggal. Efek *synergism* jika $FIC \leq 0,5$; *additive* jika $FIC > 0,5-1$; *indifferent* jika $FIC > 1$ atau < 2 , dan *antagonism* jika $FIC \geq 2$ (ESCMID, 2000).

SIMPULAN

Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan 6 jenis ekstrak tanaman terpilih menggunakan metode sumuran dan pita kertas mengalami kenaikan diameter zona hambat dibandingkan aplikasi ekstrak secara tunggal, walaupun diameter zona hambat yang dihasilkan tidak lebih besar dari penjumlahan diameter zona hambat dari kedua ekstrak secara tunggal terhadap bakteri *S. epidermidis*. Visualisasi penghambatan pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dengan pita kertas mempertegas kesimpulan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih (daun sambang darah, biji alpukat, daun ruku-ruku, daun pacar air, daun bungli, dan daun sungkai tua) menghasilkan efek *additive/indifferent*. Untuk mengetahui efek kombinasi secara kuantitatif perlu dihitung indeks FIC.

REFERENSI

- Adfa, M., Gusatyana, N. M. C., Mudyanto, A., Avidlyandi, A., Oktiarni, D., & Yudha S., S. (2021). Combined Effect of Methanol Extract of *Persea americana* Seeds and *Cassia alata* Leaves Against *Staphylococcus epidermidis*. *Proceedings of the International Seminar on Promoting Local Resources for Sustainable Agriculture and Development (ISPLRSAD 2020)*, 13(Isplrsad 2020), 36–40. <https://doi.org/10.2991/absr.k.210609.006>
- Cheesman, M. J., Ilanko, A., Blonk, B., & Cock, I. E. (2017). Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/Compounds with Conventional Antibiotics the Solution? *Pharmacognosy Reviews*, 11(22), 57–72. <https://doi.org/10.4103/phrev.phrev>
- Chetia, J., Saikia, L. R., Upadhyaya, S., Khatiwora, E., & Bawri, A. (2021). Comparative Antimicrobial Study of Different Parts of *Ocimum americanum* L., *O. basilicum* L. and *O. sanctum* L. in Comparison to Standard Antibiotics Collected from Dibrugarh, Assam. *Journal of Scientific Research*, 13(1), 195–208. <https://doi.org/10.3329/jsr.v13i1.47322>
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Mikrobiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Dermawan, A. M., Pratiwi, L., & Kusharyanti, I. (2015). Efektivitas Krim Antijerawat Ekstrak Metanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.). *Traditional Medicine Journal*, 20(3), 127–133. Retrieved from <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8851>
- Dubey, D., Sahu, M. C., & Naik, P. K. (2021). Evaluation of the Antibacterial Activity of the Leave Extract of *Oroxylum indicum* Against Multidrug Resistant Bacteria

- Causing Urinary Tract Infection. *International Journal of Current Research and Review*, 13(15), 133–138. <https://doi.org/10.31782/ijcrr.2021.131525>
- Ekom, S. E., Tamokou, J. D. D., & Kuete, V. (2022). Methanol Extract from The Seeds of *Persea americana* Displays Antibacterial and Wound Healing Activities in Rat Model. *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114573>
- ESCMID, E. C. for A. S. T. (EUCAST) of the E. S. of C. M. and I. D. (ESCMID). (2000). Terminology Relating to Methods for the Determination of Susceptibility of Bacteria to Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology and Infection*, 6(9), 503–508. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00149.x>
- Eswari, J. S., Dha-Gat, S., Naik, S., & Dibya, S. (2018). Phytochemical and Antimicrobial Studies of *Oroxylum indicum* Extracts. *Pharmaceutical Bioprocessing*, 6(1), 7–14.
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 4(1), 460–470. <https://doi.org/10.36813/jplb.4.1.460-470>
- Giang, P. M., Son, P. T., Matsunami, K., & Otsuka, H. (2005). New Megastigmane Glucosides from *Excoecaria cochinchinensis* Lour. var. *cochinchinensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(12), 1600–1603. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.1600>
- Haryati, S. D., Darmawati, S., & Wilson, W. (2017). Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang*, (September), 348–352.
- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H., & Kobayashi, M. (1994). Indonesian Medical Plants. *Chemistry Pharmacy Bull*, 42(5), 1050–1055.
- Laishram, S., Pragasam, A. K., Bakthavatchalam, Y. D., & Veeraraghavan, B. (2017). An Update on Technical, Interpretative and Clinical Relevance of Antimicrobial Synergy Testing Methodologies. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 35(4), 445–468. https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_17_189
- Lathifah, Q. A., Turista, D. D. R., & Puspitasari, E. (2021). Daya Antibakteri Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumonia*. *Jurnal Analis Kesehatan*, 10(1), 29–34. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.26630/jak.v10i1.2718>
- Leite, J. J. G., Brito, É. H. S., Cordeiro, R. A., Brillhante, R. S. N., Sidrim, J. J. C., Bertini, L. M., ... Rocha, M. F. G. (2009). Chemical Composition, Toxicity and Larvicidal and Antifungal Activities of *Persea americana* (avocado) Seed Extracts. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(2), 110–113. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200003>
- Lestari, R. T., Gifanda, L. Z., Kurniasari, E. L., Harwiningrum, R. P., Kelana, A. P. I., Fauziah, K., ... Priyandani, Y. (2021). Perilaku Mahasiswa Terkait Cara Mengatasi Jerawat. *Jurnal Farmasi Komunitas*, 8(1), 15–19. <https://doi.org/10.20473/jfk.v8i1.21922>
- Ngazizah, F. N., Ekowati, N., & Septiana, A. T. (2016). Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella* Link) sebagai Antibakteri dan Antifungi. *Biosfera*, 33(3), 126–133. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2016.33.3.309>

- Nizar, M., & Monika, A. F. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sambang Darah (*Excocaria cochinchinensis* Lour) Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Poltekes Palembang*, 11(2), 216–223.
- Oktariza, S., Ma'ruf, Y., & Etika, S. B. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Flavonoid dari Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* L). *Chemistry Journal of State University of Padang*, 2(2), 22–27.
- Paul, B., Mitra, P., Ghosh, T., Salhan, R., Singh, T. A., Chakrabarti, A., ... Mitra, P. K. (2013). Isolation and Structural Determination of an Anti Bacterial Constituent from the Leaves of *Cassia alata* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1), 326–333.
- Sabir, A. (2005). Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro) (In vitro Antibacterial Activity of Flavonoids Trigona sp Propolis Against *Streptococcus mutans*). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 38(3), 135. <https://doi.org/10.20473/j.djmkkg.v38.i3.p135-141>
- Yamani, H. A., Pang, E. C., Mantri, N., & Deighton, M. A. (2016). Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) Essential Oil and Their Major Constituents against Three Species of Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00681>
- Yang, S.-K., Yusoff, K., Mai, C.-W., Lim, W.-M., Yap, W.-S., Lim, S.-H. E., & Lai, K.-S. (2017). Additivity vs. Synergism: Investigation of The Additive Interaction of Cinnamon Bark Oil and Meropenem in Combinatory Therapy. *Molecules*, 22(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22111733>
- Yang, X., Summerhurst, D. K., Koval, S. F., Ficker, C., Smith, M. L., & Bernards, M. A. (2001). Isolation of an Antimicrobial Compound from *Impatiens balsamina* L. Using Bioassay-Guided Fractionation. *Phytotherapy Research*, 15(8), 676–680. <https://doi.org/10.1002/ptr.906>
- Zahrah, H., Mustika, A., & Debora, K. (2018). Aktivitas Antibakteri dan Perubahan Morfologi dari *Propionibacterium acnes* Setelah Pemberian Ekstrak *Curcuma Xanthorrhiza*. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 20(3), 160–169. <https://doi.org/10.20473/jbp.v20i3.2018.160-169>