

UJI *IN VITRO* AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK AIR RIMPANG LEMPUYANG EMPRIT (*Zingiber littorale*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Nanda Maulidha Nur Zanuba, Anita Puspa Widiyana, Dian Novita W*
Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Infeksi kulit adalah penyakit disebabkan oleh bakteri gram positif yang menyerang jaringan tubuh dan menyebabkan kerusakan pada kulit. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat dicegah dengan pengembangan herbal *Zingiber littorale* yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dan diameter zona hambat ekstrak air rimpang lempuyang emprit (*Zingiber littorale*)

Metode: Ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* menggunakan pelarut akuades (1:15) selama 15 menit dan dihilangkan pelarutnya menggunakan *freeze drying*. Ekstrak yang dihasilkan diuji fitokimia selanjutnya diuji antimikroba dengan metode *Disc Diffusion* (Tes Kirby-Bauer) dengan cara mengukur diameter zona hambat pada daerah zona bening disekitar cakram. Penelitian ini menggunakan kelompok kontrol negatif DMSO 10% dan Konsentrasi yang digunakan yaitu 10%, 20%, 40% dan 80%. Uji Statistik menggunakan *Kruskal wallis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc* dengan nilai signifikan $p \leq 0,05$.

Hasil: Ekstrak air *Z. littorale* mengandung senyawa flavonoid, saponin dan minyak atsiri. Diameter zona hambat pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80 % berturut-turut adalah $0,74 \pm 0,32$ mm; $0,99 \pm 0,29$ mm; $1,88 \pm 0,83$ mm and $2,47 \pm 0,58$ mm. Hasil pengujian dengan *Kruskal wallis* menyatakan terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) diantara kelompok konsentrasi.

Simpulan: Ekstrak air *Z. littorale* mengandung senyawa flavonoid, saponin dan minyak atsiri serta uji aktivitas antimikroba diperoleh konsentrasi 80% memiliki zoi paling besar dan potensinya lemah

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, *Zone of Inhibition*, *Zingiber littorale*

*Korespondensi: Dian Novita W

Alamat Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144. Telp. (0341)578920.

Email: diannovi@unisma.ac.id

IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Zingiber littorale* RHIZOME WATER EXTRACTS AGAINST *Staphylococcus aureus*

Nanda Maulidha Nur Zanuba, Anita Puspa Widiyana, Dian Novita W*
Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Skin infections are diseases caused by gram-positive bacteria that attack body tissues and cause damage to the skin. Increased bacterial resistance to antibiotics can be prevented by the development of a herb *Zingiber littorale* that has an antimicrobial activity. Objective of this study is to determine the content of active compounds and the diameter of the barrier zone extract of *Zingiber littorale*.

Method: The extraction is done using the *Ultrasonic Assisted Extraction* method using the aquadest solvent (1:15) for 15 minutes and the solvent is removed using *freeze drying*. The extract was phytochemically tested and subsequently antibacterially tested with the *disc diffusion* method (Kirby-Bauer test) by measuring the diameter of the zone of inhibition in the clear area around the disc. This study used a negative control group of 10% DMSO and used concentrations of 10%, 20%, 40% and 80%. Statistical test using *Kruskal wallis* and continued *Post Hoc* test with a significant value $p \leq 0,05$.

Result: Water extract of *Z. littorale* contains flavonoid compounds, saponins and essential oils. The diameter of the barrier zone at concentrations of 10%, 20%, 40% and 80% in a row is 0.74 ± 0.32 mm; 0.99 ± 0.29 mm; 1.88 ± 0.86 mm and 2.47 ± 0.58 mm. Test results with *Kruskal wallis* showed significant differences ($p \leq 0,05$) between the concentration groups.

Conclusion: *Z. littorale* water extract contains flavonoid compounds, saponins and essential oils as well as an antibacterial activity test obtained concentration 80% has the greatest zoi and weak potency.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Zone of Inhibition*, *Zingiber littorale*

*Correspondence: Dian Novita W

Address Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144. Tel. (0341)578920.

Email: diannovi@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit akibat mikroba patogen yang seringkali membahayakan manusia yang penyebarannya menginfeksi dari satu individu ke individu lain. Faktor yang mempengaruhi penularan adalah kebersihan yang kurang baik, lingkungan yang kotor dan perilaku yang tidak mendukung kesehatan.¹ Indonesia memiliki angka kejadian penyakit infeksi nasokomial pada tahun 2014 sebesar 148.703 kasus. Bakteri yang berperan sebagai infeksi kulit diantaranya seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* termasuk salah satu mikroba penyebab penyakit infeksi kulit paling sering di dunia. Tingkat keparahan infeksi bermacam-macam diantaranya jerawat, abses kulit, furunkel (bisul) dan selulitis.³ Profil Kesehatan Indonesia (2021) menyatakan bahwa data epidemiologi selulitis di Indonesia masih sangat terbatas, namun penyakit kulit dan jaringan subkutan merupakan penyakit kedua terbanyak yaitu sebesar 3.16% dari total penduduk di Indonesia dan angka tertinggi penyakit selulitis pada ekstremitas bawah sebanyak 199 kejadian dari 100.000 orang setiap tahun.

Antibiotik merupakan pengobatan yang digunakan pada penyakit infeksi kulit, dan penggunaan harus aman dan tepat sesuai anjuran dokter. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dapat menimbulkan kekebalan mikroorganisme terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik adalah kurangnya pengaruh khasiat obat terhadap bakteri dan tidak sensitif oleh perlakuan antibiotik. Pada tahun 2019, sebanyak 1,27 juta orang meninggal dunia disebabkan resistensi antibiotik.⁵ Golongan bakteri *Staphylococcal* resisten terhadap berbagai jenis golongan antibiotik, salah satunya beta-laktam yaitu cloxacillin, oxacillin, nafcillin, methicillin, carbapenem, dicloxacillin, dan cephalosporin yang sangat berkembang cepat.^{6,7} Adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik menimbulkan ide pengembangan sumber pengobatan antimikroba dari bahan alam yang mudah digunakan oleh masyarakat.

Indonesia memiliki banyak tanaman yang berkhasiat sebagai alternatif pengobatan. Bahan alam kaya akan kandungan senyawa aktif yang potensial sebagai antimikroba adalah flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, saponin, tanin, dan minyak atsiri yang dimana efeknya dapat membunuh bakteri. Bahan alam yang digunakan adalah rimpang lempuyang empurit (*Zingiber littorale*) yang dimana tanaman ini memiliki potensi sebagai obat alternatif tradisional, mudah didapat dan mudah digunakan oleh masyarakat. Rimpang *Z. littorale* mengandung metabolit sekunder saponin, minyak atsiri, dan flavonoid. Pada penelitian yang dilakukan oleh cylen *et.al* (2022), menyatakan bahwa ekstrak etanol rimpang lempuyang gajah (*Z. zerumbet*) memiliki kandungan senyawa saponin, alkaloid, tanin, terpenoid, steroid, dan flavonoid, juga daya hambat pada aktivitas antimikroba yaitu sangat kuat sebesar 43,94 mm pada konsentrasi 100%. Berdasarkan

uraian tersebut, diperlukan penelitian untuk menganalisis kandungan senyawa fitokimia dan aktivitas antimikroba pada ekstrak air rimpang lempuyang empurit (*Z. littorale*) terhadap bakteri *S. aureus*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental laboratoris yang menganalisis kandungan fitokimia serta menguji aktivitas antimikroba pada ekstrak air rimpang *Z. littorale*.

Bahan Penelitian

Simplisia rimpang *Z. littorale* dari UPT Laboratorium Herba Materia Medika Batu dengan nomor determinasi 000.9.3/175/102.20/2024. Bahan ekstraksi dan skrining fitokimia: Akuades, HCl pekat, serbuk magnesium, pereaksi mayer, FeCl_3 1%, CHCl_3 , pereaksi Lieberman Burchard. Bahan uji antibakteri: media Mueller Hinton Agar (MHA), DMSO 10%, BaCl_2 1%, H_2SO_4 1%, dan bakteri *S. aureus*.

Alat Penelitian

Timbangan analitik, satu set alat gelas, satu set alat Ultrasonic Assisted Extraction (UAE), corong buchner, Freeze drying, LAF, inkubator, dan autoklaf.

TAHAPAN PENELITIAN

Ekstraksi

Dimasukkan sebanyak 30 gram serbuk rimpang *Z. Littorale* ke erlenmeyer, ditambahkan pelarut akuades sebanyak 450 mL (1:15), dimasukkan ke dalam UAE selama 15 menit, disaring hasil ekstraksi menggunakan corong buchner kemudian diuapkan menggunakan freeze drying.⁹

Skrining Fitokimia

Dimasukkan 2 gram ekstrak ke corong pisah, ditambahkan pelarut kloroform dan air sebanyak 10 ml (1:1), dikocok dan diamkan hingga terjadi pemisahan dua fase. Bagian bawah yaitu fase kloroform untuk meguji alkaloid, terpenoid dan steroid. Fase air berada di bagian atas untuk mendeteksi flavonoid, tanin, saponin dan minyak atsiri.¹⁰

Flavonoid

Diambil 2 ml fase air, dimasukkan 2 mg serbuk magnesium dan diteteskan 3 tetes HCl pekat, dikocok dan amati perubahan. adanya perubahan warna merah, kuning hingga jingga termasuk positif senyawa flavonoid¹¹

Alkaloid

Dimasukkan 2 ml fase kloroform ke tabung reaksi, diteteskan 2 tetes pereaksi mayer, diamati perubahan selama 30 menit. Adanya endapan warna putih menunjukkan hasil positif alkaloid.¹¹

Tanin

Disi tabung reaksi dengan 2 ml fase air, ditetaskan larutan FeCl_3 1% secukupnya dan amati perubahan warna. Adanya perubahan larutan berwarna biru tua atau hitam kehijauan merupakan hasil positif dari tanin.¹¹

Saponin

Dimasukkan 2 ml fase air ke tabung reaksi, ditambah air panas, dikocok selama 10 detik, amati perubahannya. Hasil positif ditandai adanya busa selama 30 menit.¹¹

Terpenoid dan steroid

Ditetaskan beberapa fase klorofom ke plat tetes, ditunggu hingga kering, ditambahkan pereaksi *Liebermann Burcahrd*. Hasil positif terpenoid adanya perubahan warna merah dan steroid adanya perubahan warna biru atau hijau.¹¹

Minyak Atsiri

Diuapkan 2 ml fase air di atas cawan porselin hingga mendapatkan adanya bau khas aromatikum yang menandakan positif minyak atsiri.¹¹

Uji Aktivitas Antimikroba

Tahapan persiapan meliputi sterilisasi alat dan bahan, pembuatan medium agar, peremajaan bakteri, pembuatan *Mc Farland* 0,5, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan larutan uji, pembuatan kontrol negatif, dan kelompok konsentrasi. Uji antimikroba menggunakan metode *Disc Diffusion*, disterilkan area LAF, disiapkan media yang sudah memadat, digoreskan suspensi larutan uji ke media agar, dicelupkan kertas cakram berukuran 6 mm ke larutan DMSO 10% sebagai kontrol negatif dan ke larutan ekstrak air rimpang *Z. littorale* dengan berbagai konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80% selama 5 menit, diletakkan kertas cakram diatas permukaan media dengan posisi secara berurutan. Diinkubasi cawan petri pada suhu 37°C selama 24 jam dalam

inkubator, diukur diameter zona bening disekitar cakram dengan jangka sorong. Perlakuan ini diulang sebanyak 9 kali.

Rumus perhitungan diameter zona hambat (Harti, 2015) :

$$\frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan :

Dv : Diameter vertikal

Dh : diameter horizontal

Dc : Diameter cakram/sumuran

Kekuatan daya hambat dapat dilihat berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Ukuran diameter ≤ 5 mm (lemah), 6-10 mm (sedang), 11-20 mm (kuat) dan ≥ 21 mm (sangat kuat).¹²

Analisa Data

Data yang dihasilkan diuji normalitas dan homogenitas. Kemudian dilakukan uji perbandingan menggunakan *Kruskal wallis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc LSD (Least Significant Different)* untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan. Hasil dinyatakan signifikan jika $p \leq 0,05$. Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versi 26.

HASIL PENELITIAN

Skrining fitokimia ekstrak air rimpang *Z. littorale*

Pada penelitian ini kandungan senyawa metabolit sekunder dapat diamati **Tabel 1** dan **Gambar 1** menunjukkan bahwa ekstrak air rimpang *Z. littorale* mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan minyak atsiri. Senyawa yang tidak terkandung yaitu tanin, steroid, terpenoid dan saponin.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak air rimpang *Zingiber littorale*

No	Metabolit sekunder	Hasil	Ket
1	Flavonoid	Perubahan warna jingga	+
2	Alkaloid	Terbentuk endapan putih	+
3	Tanin	Tidak ada perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan	-
4	Saponin	Tidak terbentuk busa selama 30 menit	-
5	Terpenoid dan steroid	Terpenoid : tidak terbentuknya warna merah Steroid : tidak terbentuk warna biru atau hijau	-
6	Essential oil	Khas aromatikum	+

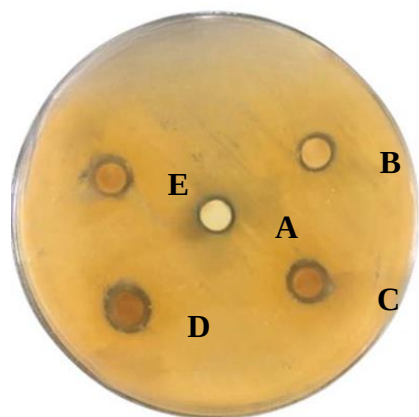
Keterangan: (+) : ada , (-) : tidak ada



Gambar 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak air rimpang *Zingiber littorale*

Uji Aktivitas Antimikroba

Zona bening pada sekitar kertas cakram dapat diamati pada **Gambar 2**, yang menunjukkan adanya daya hambat oleh ekstrak air rimpang *Z. littorale* terhadap *S. aureus*.



Gambar 2. Diameter zona hambat ekstrak air rimpang *Z. littorale* terhadap *S. aureus*

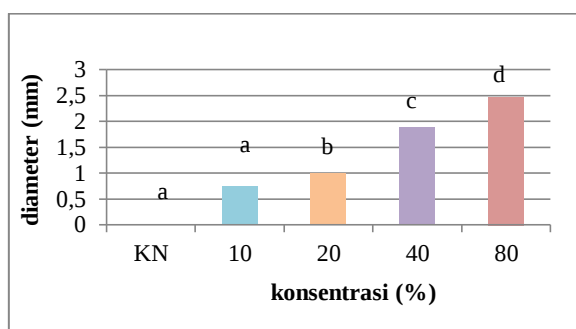
Keterangan : (A) : kontrol negatif; (B) : konsentrasi 10%; (C) : konsentrasi 20%; (D): konsentrasi 40%; (E) : konsentrasi 80%, rasio 2:3

Nilai diameter zona hambat diamati pada **Tabel 2**. Hasil menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) antara kontrol negatif dan konsentrasi 10% dengan konsentrasi 20%, 40% dan 80%.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Air Rimpang *Z. littorale*

Kelompok	n	Rata2 $\pm$ SD (mm)	Kekuatan
Kontrol negatif	9	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	Tidak ada
10%	9	0,74 $\pm$ 0,32 ^a	Lemah
20%	9	0,99 $\pm$ 0,29 ^b	Lemah
40%	9	1,88 $\pm$ 0,83 ^c	Lemah
80%	9	2,47 $\pm$ 0,58 ^d	Lemah

Keterangan: Huruf berbeda a,b,c,d,e menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$)., Kekuatan antimikroba dikategorikan menurut Davis and Stoud, 1971



Gambar 3. Histogram zona hambat ekstrak air *Z. littorale*

PEMBAHASAN

Kandungan Fitokimia

Pada penelitian ini, hasil skrining fitokimia dipengaruhi oleh faktor bias yang dimana menyebabkan perbedaan hasil jika diamati secara visual, sehingga pengujian ini dilakukan pada 3 orang pengamat. kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak air rimpang *Z. littorale* diuji dengan cara uji warna menggunakan masing-masing pereaksi sesuai metode. Skrining fitokimia ekstrak air rimpang *Z. littorale* menghasilkan flavonoid, alkaloid dan minyak atsiri. Penelitian ini menggunakan metode UAE dengan pelarut aquadest untuk penarikan senyawa aktif *Z. littorale*. Beberapa hal yang akan mempengaruhi ekstraksi diantaranya pemilihan pelarut, bahan tanaman, dan metode ekstraksi. Tanaman berupa bagian utuh atau hanya bagian tertentu yang sudah dikeringkan dan menjadi serbuk. Pemilihan metode dan pelarut mempengaruhi hasil yang didapat. Jika pemilihannya tepat maka hasil yang diperoleh juga baik.¹³ Metode ekstraksi UAE mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan metode maserasi yaitu meningkatkan penetrasi, suhu yang digunakan rendah, perpindahan massa lebih cepat, meningkatkan rendemen, penggunaan pelarut sedikit, dan waktu yang singkat.¹⁴ Pelarut aquadest adalah pelarut polar yang digunakan untuk menarik senyawa polar, semipolar dan non polar.

Flavonoid termasuk senyawa yang bersifat polar karena pada senyawa ini terdapat beberapa gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Flavonoid dibagi menjadi beberapa bagian yaitu antosianin, isoflavon, flavonol, khalkon, antosianidin, flavon dan flavanon.¹⁵ Pada proses ekstraksi dari suatu jaringan tumbuhan, pelarut yang memiliki sifat polar mampu menarik senyawa ini.¹⁶ Alkaloid termasuk senyawa yang bersifat semipolar karena memiliki banyak substituen yang bervariasi seperti gugus fenol, amina, metoksi, dan amida juga memiliki basa nitrogen pada rantai sikliknya.¹⁷ senyawa ini dapat tertarik pada pelarut polar. Minyak atsiri merupakan minyak yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Minyak atsiri merupakan senyawa bersifat non polar dan mudah tertarik pada pelarut non polar juga, karena dan terikat dengan gugus gula dan mempunyai susunan dengan rantai panjang hidrokarbon C-30 sehingga akan tertarik oleh pelarut semi polar dan polar.¹⁸

Pada penelitian ini tidak terdeteksi senyawa lain seperti tanin, saponin, terpenoid dan steroid karena diduga adanya beberapa faktor, salah satunya yaitu rendahnya kadar senyawa tersebut pada ekstrak air rimpang *Z. littorale* yang menyebabkan tidak adanya senyawa tersebut yang ikut tertarik. Pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak *Z. littorale* mengandung mengandung saponin, tanin dan flavonoid. Pada penelitian lain juga menyatakan bahwa ekstrak ethanol rimpang *Z. zerumbet* mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, tanin, terpenoid, flavonoid, saponin, dan steroid¹⁹

Uji Aktivitas Antimikroba

Hasil uji zona hambat penelitian ini, pada kontrol negatif dengan rata-rata 0,00 mm; konsentrasi 10% dengan rata-rata 0,74 mm; konsentrasi 20% dengan rata-rata 0,99 mm; konsentrasi 40% dengan rata-rata 1,88 mm; dan konsentrasi 80% dengan rata-rata 2,47 mm. diameter tersebut termasuk kategori lemah menurut Davis and Stoud 1971 karena rata-rata diameter zona hambat ≤ 5 mm. Peningkatan konsentrasi berpengaruh pada meningkatnya aktivitas antimikroba. Pada gambar histogram menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi maka meningkat juga rata-rata diameter zona hambat dimana paling tinggi terdapat pada konsentrasi 80% dengan rata-rata 2,47 mm. Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode *Disc Diffusion (Tes Kirby-Bauer)* dengan mengamati daerah zona bening pada sekitar cakram. Kelebihan metode difusi cakram dibandingkan metode lain yaitu proses pengujian cepat, tidak memerlukan alat dan keahlian khusus.²⁰

Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa data terdistribusi tidak normal dan tidak homogen. Hasil uji *kruskal wallis* yang didapat bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) antara kelompok konsentrasi. Selanjutnya hasil dari uji *post hoc (LSD)* menyatakan bahwa terdapat perbedaan kontrol negatif dan konsentrasi 10% dengan konsentrasi 40% dan 80%; konsentrasi 20% dengan 80%. Pada penelitian sebelumnya, uji aktivitas antibakteri menyatakan bahwa ekstrak memiliki daya hambat yang kuat sebesar 43,94 mm pada konsentrasi 100%.

Mekanisme *S. aureus* yaitu menginvasi jaringan disebabkan pengaruh toksin yang dihasilkan. Infeksi dimulai di tubuh manusia lalu ditularkan ke tempat bakteri masuk, contoh seperti pada luka, tempat masuk kateter dan tempat lain yang pertahanannya lemah. Agen antimikroba mempengaruhi penghambatan fungsi dinding dan membran sel, asam nukleat dan sintesis protein. Suatu ekstrak atau tanaman perlu diketahui kekuatan antimikroba. Zona hambat pada hasil penelitian ini termasuk ke dalam kategori lemah. Hal tersebut kemungkinan terjadi karena senyawa yang teridentifikasi didalam ekstrak air *Z. littorale* hanya alkaloid, flavonoid dan minyak atsiri sehingga semakin sedikit senyawa yang terkandung menyebabkan potensi antimikroba menjadi lemah. Pernyataan ini dikaitkan dengan penelitian Hilal, *et al* (2016) bahwa semakin banyak jenis dan jumlah bahan aktif suatu herbal maka semakin kuat untuk memberikan aktivitas farmakologi.

Senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak air *Z. littorale* berperan sebagai antimikroba. Mekanisme kerja flavonoid akan mengikat protein dan memberikan respon hambatan dengan adanya pembentukan senyawa kompleks dari protein ekstraseluler yang mengganggu membran sel bakteri.²² Alkaloid memiliki mekanisme sebagai antimikroba yaitu mengganggu atau menghancurkan lapisan dinding sel pada bagian komponen penyusun peptidoglikan sehingga menyebabkan kematian

sel.^{23,24} Minyak atsiri memiliki mekanisme antimikroba jika terjadi penghambatan pada proses terbentuknya dinding atau membran sel sehingga tidak terbentuk.²⁵

KESIMPULAN

1. Ekstrak air rimpang *Z. littorale* mempunyai kandungan flavonoid, saponin dan minyak atsiri
2. Ekstrak air rimpang *Z. littorale* memiliki aktivitas antimikroba paling besar pada konsentrasi 80% dan potensinya lemah

SARAN

1. Diperlukan penelitian penetapan kadar metabolit sekunder dalam ekstrak air rimpang *Z. littorale*
2. Diperlukan peningkatan konsentrasi diatas 80% pada uji aktivitas antimikroba ekstrak air rimpang *Z. littorale*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih saya sampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan bantuan pembiayaan sehingga penelitian dapat berjalan lancar. Terimakasih kepada Dr. H. Yudi Purnomo, M.Kes., Apt selaku *peer reviewer*.

REFERENSI

1. Utomo, *et al.*, 2018. Antibacterial Activity Test Of The C-4 Methoxyphenylcalix [4] Resorcinarene Compound Modified By Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Against *Staphylococcus Aureus* And *Escherichia Coli* Bacteria. *Jkpk (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201.
2. Kementerian Kesehatan RI. 2015. Sekretariat Jenderal. Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun Rencana Strategis Kementerian Kesehatan. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI.
3. Putra MI, Suwanto S, Loho T, Abdullah M. 2014. Faktor Risiko *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada Pasien Infeksi Kulit dan Jaringan Lunak di Ruang Rawat Inap. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*. Jul 31; 1(1): 3-14
4. Julaeah, J., Farisma, N., & Jakarta, N. 2022. Laporan Kasus Selulitis Pedis Pada Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Terapi Antibiotik dan Insulin. 2(1), 20–25.
5. O'Neill J. 2016. Tackling Drug Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations The Review on Antimicrobial Resistance. London: HM Government.
6. Bekele T, Lakew M, Terefe G, Koran T, Olani A, Yimesgen L, Tamiru M dan

- Demissie T. 2019. 'Study on bovine mastitis with isolation of bacterial and fungal causal agents and assessing antimicrobial resistance patterns of isolated *Staphylococcus* species in and around Sebeta town, Ethiopia', *African Journal of Microbiology Research*, **13**(1), hal. 23-32.
7. El-Ashker M., Gwida M., Monecke S., ElGohary F., Ehricht R., Elsayed M., Akinduti P., El-Fateh M., dan Maurischat S. 2020. 'Antimicrobial resistance pattern and virulence profile of *S. aureus* isolated from household cattle and buffalo with mastitis in Egypt', *Veterinary Microbiology*, **240**:108535.
 8. Rohmah, Chylen S.R., Nur Indah N.A., Rika K. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoeex Sm.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pneumonia*
 9. Novita, Bintari YR, Marista. 2022. Pengaruh Variasi Pelarut Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* Terhadap Rendemen Dan Total Flavonoid dari Serai dapur (*Cymbopogon Citratus*)
 10. Susanah, W. Ni Ketut S., dan Ni Made P. 2016. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antimikroba *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*, *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, **4** (2), 131.
 11. Purwanti F, Isnawati I, dan Trimulyono G. 2017. Efektivitas Antimikroba Ekstrak *Lichen Parmelia sulcata* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Bacillus cereus*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; **6**(3): 55–61.
 12. Davis, W.W. And Stoud, T.R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Jurnal of Microbiology*. **22**: 659-665.
 13. Rompas, R. A., Hosea, J. E., dan Adithya, Y. 2012. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *J. Pharmacon*. **1**(2): 59-63.
 14. Dey, S., & Rathod, V. K. 2013. Ultrasound Assisted Extraction Of β -Carotene From *Spirulina Platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, **20**(1), 271-276.
 15. Sadhana, Singh, Ashok Kumar Gupta, and Amita Verma. 2013. Review On-Natural Compounds Used for Antioxidant Activity. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science* ISSN: 0975-8585.
 16. Darmawati A.A.S.K., Brawa I.G.A.G., Suirta I.W. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid Pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) Dan Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia*. Bali. Halaman 208.
 17. Putranti, R.I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Perairan Jepara. Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai, Program Pasca Sarjana, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang, 144 hlm.
 18. Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 23, 47
 19. Mukharomah, I. N. 2011. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Pahit (*Zingiber littorale* Val) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
 20. Handayani, R., Qamariah, N., & Mardova, S. A. (2018). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Batang Saluang Belum terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Borneo Journal of Pharmacy*, **1**(1), 16– 18.
 21. Hilal A. Syahrir, N., Mochamad Afendi, F. dan Susetyo, B. 2016. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring dengan Protein Target. *Jurnal Jamu Indonesia*. **1**(1), pp. 35-46. doi: 10.29244/jjdn.v1i1.30594.
 22. Insanu, M., Komar R., Irda F., dan Sienny W. 2011. Isolasi Flavonoid dari Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr., Bombacaceae). *Acta Pharmaceutica Indonesia*. **36**(1):6-10.
 23. Retnowati, Y., N. Bialangi, dan N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*), *Saintek*, **6**(2).
 24. Jati, N. K. 2016. Isolasi, Identifikasi, Dan Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa Alkaloid Dari Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). Universitas Negeri Semarang. Available at: lib.unnes.ac.id/26936/.
 25. Kurniawan, Betta dan Wayan Ferly Aryana. 2015. *Binahong (Cassia alata L) as Inhibitor of Escherichia coli* Growth. *J Majority*; **4**(4).