

PENGARUH JAMU DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) PADA AZITROMISIN TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Al Fareza Farhan Pradista Irgi Putra, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Daun kelor (*Moringa oleifera*) adalah tanaman herbal yang tumbuh di Indonesia dan sering digunakan dalam sediaan jamu untuk mengobati osteoarthritis (OA) dan memiliki aktivitas antibakteri. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab artritis septik yang merupakan penyulit OA. Azitromisin merupakan antibiotik yang digunakan untuk terapinya. Terapi kombinasi herbal dan antibiotik dapat menimbulkan interaksi farmakologis seperti sinergis, aditif, potensiasi, *not-distinguishable*, dan antagonis. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi kombinasi antara jamu *Moringa oleifera* dengan Azitromisin dalam menghambat *S. aureus*.

Metode: Penelitian *in vitro* ini menggunakan campuran larutan jamu *M. oleifera* dengan etanol dengan lima variasi dosis yaitu 400.000, 200.000, 100.000, 50.000 dan 25.000 ppm. Uji interaksi larutan etanol jamu bersama azitromisin 25 µg sesuai dengan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)*. Data dianalisis menggunakan *One-Way Anova* dilanjutkan dengan *post-test Tamhane's T2* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil: Diameter *zone of inhibition* (ZOI) kombinasi azitromisin dengan jamu *M. oleifera* pada dosis-dosis yang digunakan (dari tertinggi ke terendah) adalah $33,35 \pm 1,77$, $34,50 \pm 1,77$, $34,03 \pm 1,50$, $33,83 \pm 0,21$ dan $32,90 \pm 0,87$ mm. Azitromisin secara tunggal memiliki ZOI dengan rentang $31,33 \pm 0,55$ – $32,53 \pm 0,57$ mm. Perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antara kombinasi dengan antibiotik tunggal didapatkan pada dosis 50.000 ppm saja. Secara tunggal, jamu tidak memiliki ZOI terhadap *S. aureus*.

Kesimpulan: Kombinasi jamu *M. oleifera* dengan azitromisin berpotensi menghambat *S. aureus*.

Kata Kunci : Kombinasi, Jamu, Antibiotik, *S. aureus*

* Penulis Korespondensi:

Rio Risandiansyah, S.Ked., M.P., PhD

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, +62-341-578920

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

THE EFFECT OF *Moringa oleifera* JAMU WITH AZITHROMYCIN ON *Staphylococcus aureus*

Al Fareza Farhan Pradista Irgi Putra, Yoni Rina Bintari, Rio Risandiansyah*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Moringa oleifera* is a herbal plant that grows in Indonesia and is often used in jamu preparations to treat osteoarthritis (OA) and has antibacterial activity. *Staphylococcus aureus* is one of the bacteria that causes septic arthritis which is a complication of OA. Azithromycin is an antibiotic used for its therapy. Combination therapy of herbal and antibiotics can cause pharmacokinetic interactions such as synergistic, additive, potentiating, *not-distinguishable*, and antagonist. The aim of this study was to identify the combination interaction between *Moringa oleifera* jamu and Azithromycin in inhibiting *S. aureus*.

Methods: This *in vitro* study used a mixture of herbal solution of *M. oleifera* with ethanol with five dosage variations, namely 400,000, 200,000, 100,000, 50,000 and 25,000 ppm. Interaction test of herbal ethanol solution with azithromycin 25 µg according to the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)* method. Data were analyzed using *One-Way Anova* followed by *post-test Tamhane's T2* with a significance level of $p < 0.05$.

Results: The diameter of the zone of inhibition (ZOI) of the combination of azithromycin with *M. oleifera* jamu at the doses used (from highest to lowest) was 33.35 ± 1.77 , 34.50 ± 1.77 , 34.03 ± 1.50 , 33.83 ± 0.21 and 32.90 ± 0.87 mm. Azithromycin alone had a ZOI in the range of 31.33 ± 0.55 – 32.53 ± 0.57 mm. A significant difference ($p < 0.05$) between the combination with a single antibiotic was found at a dose of 50,000 ppm only. Alone, jamu did not have ZOI against *S. aureus*.

Conclusion: The combination of jamu *M. oleifera* with azithromycin has the potential to inhibit *S. aureus*.

Keywords : Combination, jamu, antibiotic, *S. aureus*.

Correspondence Writer:

Rio Risandiansyah, S.Ked, M.P., PhD

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang, +62-341-578920

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

Telp. +62341- 558959

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Indonesia ialah negara yang kaya akan sumber daya alam hayati yang tersebar luas di berbagai wilayah dari sabang sampai merauke. Keanekaragaman hayati yang terdapat didalamnya ialah kekayaan yang tidak ternilai harganya.¹ Diantara berbagai macam kekayaan flora tersebut, 9.600 diantaranya berkhasiat sebagai obat. 200 spesies telah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional. Peluang pengembangan keanekaragaman hayati sebagai obat herbal atau jamu sangat terbuka lebar. Hal ini dikarenakan terus meningkatnya permintaan pasar dan pertambahan penduduk Indonesia.² Pernyataan ini didukung data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 yang menunjukkan bahwa konsumsi jamu atau obat herbal sendiri di masyarakat telah mencapai 59,12% dengan didominasi oleh kelompok umur 55-64 (67,69%).³ Daun kelor (*Moringa oleifera*) termasuk tanaman herbal yang tumbuh di Indonesia dan sering digunakan untuk kesehatan yang dapat dikonsumsi dengan sediaan jamu.

Ekstrak *Moringa oleifera* mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan lain-lain yang bermanfaat sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antidiabetes dan manfaat lainnya.⁴ *Moringa oleifera* seringkali digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit inflamasi sendi seperti osteoarthritis (OA) yang bersifat kronis.⁵ Prevalensi terjadinya OA paling banyak terjadi pada usia >61 tahun (65%) dan diikuti oleh usia 40-60 tahun (30%).⁶ Dengan melihat konsumsi jamu dan penderita OA yang kebanyakan pada usia lanjut kemungkinan masyarakat mengonsumsi jamu untuk mengobati OA sangatlah mungkin terjadi.

OA adalah penyakit inflamasi kronis yang terjadi pada sinovium sendi dan mengakibatkan kerusakan mekanis pada tulang dan kartilago sendi.⁷ OA seringkali bersifat kronis dan berdampak signifikan pada kesehatan masyarakat. Selain bersifat kronis, OA dapat berkembang menjadi penyakit infeksi seperti artritis septik, infeksi bakterial yang merusak kartilago sendi dan menyebabkan kehilangan fungsi sendi yang ireversibel. Artritis septik seringkali disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.⁸ Keadaan tersebut memerlukan pemberian antibiotik dalam menanganinya. Azitromisin memiliki afinitas yang tinggi untuk persendian dan potensi sebagai terapi untuk artritis septik yang disebabkan oleh *S. aureus*.^{9,10}

Konsumsi jamu *Moringa oleifera* untuk mengatasi OA dan pemberian azitromisin saat OA berkembang menjadi artritis septik berpotensi menjadi terapi kombinasi. Interaksi kombinasi *Moringa oleifera* dan azitromisin terhadap *S. aureus* telah dilakukan sebelumnya dan berinteraksi secara sinergis namun penelitian ini hanya sebatas menggunakan ekstrak akuades *Moringa oleifera*.¹¹ Sampai saat ini belum ada penelitian yang menguji interaksi antara jamu *Moringa oleifera* dengan azitromisin sehingga penelitian ini masih perlu dilakukan. Pada penelitian ini akan menguji daya hambat azitromisin secara tunggal maupun kombinasi dengan jamu *Moringa oleifera* terhadap bakteri

Staphylococcus aureus. Uji daya hambat antibiotik ini menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) untuk mengidentifikasi jenis interaksi yang terjadi apakah berinteraksi secara sinergis, potensiasi, aditif, *non distinguishable* atau antagonis.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental secara *in vitro* yang bersifat analitik laboratorik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui *Zone of Inhibition* (ZOI) jamu berbasis *Moringa oleifera* secara tunggal dan kombinasi dengan antibiotik Azitromisin terhadap bakteri *S. aureus*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Juli 2021 yang dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Universitas Islam Malang.

Uji Metabolit Sekunder

Kandungan metabolit sekunder flavonoid dan alkaloid yang terdapat pada jamu *Moringa oleifera* akan diuji dengan uji fitokimia metabolit sekunder. Hal ini bertujuan untuk kontrol kualitas sampel apakah jamu yang digunakan pada penelitian ini mengandung metabolit sekunder tersebut atau tidak. Uji fitokimia metabolit sekunder kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid pada jamu daun kelor dilakukan dengan mengirimkan 2 g dalam sediaan serbuk ke Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Jawa Timur. Uji identifikasi metabolit sekunder dengan menggunakan parameter untuk mengetahui kandungan flavonoid dan alkaloid secara kualitatif dengan nomor surat 074/171/102.7-D/2021. Uji flavonoid menggunakan pereaksi HCl dan serbuk Mg sedangkan alkaloid akan diuji dengan tiga pereaksi yaitu Meyer, Bouchardat, dan Dragendorff.

Ekplorasi Pelarut Jamu Daun Kelor

Sediaan serbuk ekstrak dikeluarkan dari kapsul. Sediaan serbuk dicampur dengan tiga pelarut uji yaitu metanol, etanol dan aquades. Sediaan serbuk dilarutkan dengan tiga pelarut dengan perbandingan 1:10 (sediaan serbuk : pelarut). Larutan kemudian diaduk selama 15 menit selama dua jam. Setelah diaduk, larutan disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak yang telah disaring kemudian di evaporasi di dalam oven selama sehari dengan suhu 40°C. Kertas saring kemudian ditimbang dengan mengurangi berat endapan dengan berat kertas untuk diketahui berat bersih endapannya. Dua pelarut yang memiliki endapan paling sedikit akan digunakan dalam uji eksplorasi dosis. Selanjutnya, larutan jamu disaring menggunakan membran filter agar larutan menjadi steril.

Eksplorasi Dosis Larutan Jamu Daun Kelor

Uji eksplorasi dosis larutan jamu daun kelor menggunakan metode ZOI dengan metode Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test (Hudzicki, 2009). Bakteri yang telah diremajakan distandarisasi dengan standar McFarland 0,5. Bakteri yang telah distandarisasi McFarland kemudian diinokulasikan kedalam media

Muller Hinton Agar (MHA) yang telah dibuat sesuai ketentuan *American Society for Microbiology* (ASM). Cakram larutan jamu terdiri atas variasi dosis larutan yang diuji yaitu 100.000 ppm, 50.000 ppm, 25.000 ppm, 12.500 ppm, 6.250 ppm, 3.125 ppm dan 0 ppm sebagai variabel kontrol.

Cakram direndam kedalam variasi dosis larutan jamu selama 10 menit kemudian dikeluarkan dan dikeringkan. Cakram larutan jamu kemudian ditempelkan ke permukaan cawan petri yang telah di siapkan sebelumnya. Cawan petri tersebut diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu diagonal zona hambatan dapat diukur dengan penggaris atau kaliper. Dosis terendah yang didapatkan adanya bentukan zona bening setelah pengukuran akan digolongkan sebagai dosis hambat minimum zona hambat ekstrak jamu daun kelor.

Penentuan dosis larutan jamu daun kelor melanjutkan dari hasil uji eksplorasi dosis. Rentang dosis akan berupa rentang dari dosis hambat minimum yang ditambahkan dua dosis tambahan pada ambang atas dan ambang bawah dosis. Dosis tambahan akan berupa dua kali lipat dosis hambat minimum kelipatan atas dan bawah. Apabila tidak didapatkan zona hambat dalam uji eksplorasi atau rata-rata zona hambat kurang dari 10 mm, maka dosis yang dipilih untuk pengujian adalah dosis 100.000 ppm. Setelah penentuan dosis, cakram direndam selama 10 menit kemudian dikeluarkan dan dikeringanginkan, sebelum diletakkan pada media MHA yang telah ditanami bakteri untuk uji AZDAST.

Uji AZDAST

Media MHA dibuat dengan dua botol skotch yaitu: botol A sebagai lem sebanyak 100 ml dan botol B digunakan sebagai pembuatan media. Keduanya disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 90 menit. Cawan petri steril ditandai untuk memudahkan penempelan cakram antibiotik dan cakram herbal pada dasar cawan petri. Cakram ditempel dengan cara dicelupkan pada media MHA lem. Untuk melakukan hal tersebut, cakram antibiotik dan herbal dicelupkan ke dalam media MHA 'lem' yang berbentuk semisolid dengan menjaga suhu medium tersebut pada 50°C menggunakan hotplate. Setelah semua cakram terpasang di dasar cawan petri, media MHA dituang hingga setengah ketinggian cawan petri ($\pm 20 - 25$ ml).

Bakteri yang telah diremajakan kemudian distandarisasi dengan ketentuan McFarland 0.5. Bakteri tersebut diinokulasi ke media MHA dengan kapas lidi. Kemudian distreaking sesuai metode ASM sebanyak tiga kali pengulangan. Streaking dipola berzig-zag ke seluruh permukaan cawan petri dan diputar 60° setiap pengulangan streaking. Cawan petri tersebut diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong atau penggaris.

Metode Interpretasi Interaksi AZDAST

Interpretasi ZOI kombinasi antibiotik dan jamu diukur berdasarkan metode AZDAST untuk menilai efek kombinasi keduanya dengan mengisi cakram sesuai

dosis yang sudah ditentukan. Hasil dikatakan sinergis apabila diameter zona bening yang terbentuk pada kombinasi antibiotik dan herbal jamu (A+B) lebih besar dari pada antibiotik tunggal (A) dan herbal jamu tunggal (B), antagonis apabila kombinasi (A+B) lebih kecil dibandingkan (A) dan (B), tidak dapat dibedakan (non-distinguishable) apabila (A+B) sama dengan salah satu A atau B, potensiasi apabila salah satu dari antibiotik tau herbal jamu sama dengan nol dan kombinasi herbal jamu dan antibiotik (A+B) lebih besar dari A dan B, serta aditif apabila kombinasi herbal dan antibiotik (A+B) sama dengan antibiotik-antibiotik (AA) dengan atau herbal jamu-herbal jamu (BB) dimana salah satu lebih besar dari antibiotik (A) dan herbal jamu (B).

Analisa Data Statistik

Penghitungan rata-rata dan standar deviasi didapatkan dengan menghitung hasil ZOI tunggal dan kombinasi menggunakan *Statistical package for the social science* (SPSS). Uji statistik yang digunakan ditentukan berdasarkan uji normalitas dan homogenitas untuk melihat distribusi data dan homogenitas data. Pada penelitian ini menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan *post test* Tamhane's T2. Variabel yang terdapat pada penelitian ini adalah diameter ZOI pada antibiotik ganda, larutan herbal ganda, antibiotik & herbal, antibiotik dan herbal yang diinterpretasikan dengan metode AZDAST.

HASIL dan ANALISA DATA

Uji Metabolit Sekunder

Uji fitokimia metabolit sekunder dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam jamu *Moringa oleifera*. Keterangan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam jamu *Moringa oleifera* tercantum pada **Tabel 1**. Yang menunjukkan data hasil uji fitokimia kualitatif jamu daun kelor yang dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Jawa Timur. Berdasarkan hasil tersebut jamu *Moringa oleifera* mengandung metabolit sekunder flavonoid dan alkaloid pada dua dari tiga reagen yang diujikan yaitu pada reagen Meyer dan Bouchardat dan menunjukkan hasil negatif pada reagen Dragendrof.

Uji Eksplorasi Pelarut Jamu Daun Kelor

Hasil dari pengeringan kemudian ditimbang sehingga didapatkan data hasil sebelum dan setelah pengeringan kertas saring seperti pada **Tabel 2**. juga hasil total endapan akhir pada kertas saring pada **Tabel 2**. Berdasarkan hasil endapan pada kertas saring telah ditemukan hasil endapan tertinggi pada pelarut metanol dengan 1,27 gram dan hasil endapan terendah adalah pelarut aquades dengan 0,51 gram. Melihat hasil akhir endapan pada kertas saring ditemukan bahwa pelarut aquades dengan hasil endapan terendah memiliki tingkat kelarutan paling tinggi dibandingkan pelarut etanol dan metanol. Berdasarkan hasil diatas pelarut yang akan digunakan dalam eksplorasi dosis adalah aquades dan etanol.

Tabel 1. Kandungan Metabolit Sekunder Jamu Daun Kelor

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Jingga, Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	(+) Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	(+) Positif
	Dragendorff	Endapan Jingga	(-) Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	(+) Positif

Keterangan: (+)= Positif, (-)= Negatif

Pengukuran Zone of Inhibition (ZOI) Eksplorasi Variasi Dosis Larutan Daun Kelor

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat (ZOI) eksplorasi variasi dosis larutan aquades daun kelor pada **Tabel 3.** terlihat pada dosis 100.000 ppm, 50.000 ppm, 25.000 ppm, 12.500 ppm, 6.250 ppm dan 3.125 ppm memiliki diameter ZOI kurang dari 10 mm dan pada pengulangan pertama dan kedua tidak menunjukkan ada zona hambatan, sehingga tidak sesuai dengan syarat penggunaan dosis terendah yang digunakan. Sedangkan pada eksplorasi variasi dosis larutan etanol daun kelor pada **Tabel 3.** terlihat pada dosis 100.000 ppm, 50.000 ppm, 25.000 ppm, 12.500 ppm, 6.250 ppm dan 3.125 ppm memiliki diameter ZOI kurang dari 10 mm. Dari dua

jenis pelarut yang digunakan, pelarut etanol memiliki zoi yang lebih baik dan memiliki ZOI pada setiap dosis dan pengulangan daripada pelarut aquades sehingga pelarut etanol akan digunakan untuk uji AZDAST. Berdasarkan hasil ZOI variasi dosis jamu daun kelor yang telah dilakukan, dosis tertinggi yaitu 100.000 ppm akan digunakan sebagai dosis minimum zona hambat daun kelor. Rentang variasi diambil dari dua kelipatan keatas dan kebawah dosis 100.000 ppm sehingga didapatkan rentang dosis untuk uji AZDAST yaitu 400.000 ppm, 200.000 ppm, 100.000 ppm, 50.000 ppm, dan 25.000 ppm. Hasil eksplorasi variasi dosis larutan daun kelor didapatkan seperti pada **Tabel 3.**

Tabel 2. Data Hasil Sebelum dan Setelah Pengeringan Larutan Daun Kelor

	Sebelum Pengeringan			Sesudah Pengeringan		
	Aquades	Metanol	Etanol	Aquades	Metanol	Etanol
Berat kertas saring (gr)	1,33gram	1,33 gram	1,33gram	0,51gram	1,27gram	1,19gram

Keterangan: Perbandingan berat endapan larutan jamu daun kelor sebelum dan sesudah pengeringan

Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Variasi Dosis Pelarut Aquades dan Etanol

Variasi Dosis (ppm)	Rerata± SD (mm)	Rerata ± SD (mm)
	Aquades	Etanol
100.000	2,33±4,04	8,53±0,96
50.000	2,10±3,64	7,58±0,73
25.000	2,23±3,87	9,01±2,02
12.500	2,17±3,75	6,24±5,42
6.250	2,10±3,64	9,98±0,49
3.125	2,03±3,52	8,03±1,44
Kontrol	0±0	0±0

Keterangan: ppm= part per million, SD= standar deviasi, mm= milimeter

Pengukuran Zone of Inhibition (ZOI) Kombinasi Jamu *Moringa oleifera* Dengan Azitromisin Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengukuran ZOI kombinasi herbal dan antibiotik diukur dengan memperhatikan panjang diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram dalam satuan

mm. Dalam pengukuran ZOI ini herbal (H) dan herbal herbal (H-H) tidak menghasilkan ZOI sama sekali dan tidak dilakukan pengukuran.

Perhitungan pengukuran ZOI kombinasi *Moringa oleifera* dengan azitromisin terhadap bakteri *S aureus* dapat dilihat pada **Tabel 4.** Pada **Tabel 4.** menunjukkan

hasil uji interaksi kombinasi antara jamu daun kelor dengan antibiotik azitromisin terhadap bakteri *S aureus* yang jenis interaksinya beragam dari potensiasi, aditif, dan non-distinguishable. Pada dosis 400.000 ppm didapatkan hasil tidak signifikan ($p>0,05$) antara H-AB dengan AB-AB dan AB dimana terdapat standar deviasi yang tinggi pada H-AB. Selanjutnya hasil AB-AB dengan AB berbeda signifikan ($p<0,05$), serta didapat hasil signifikan ($p<0,05$) antara H-AB dengan H dan H-H maka interaksi pada dosis 400.000 ppm digolongkan sebagai aditif. Interaksi AZDAST ini diuji melalui *One Way Anova* dengan *post test* Tamhane's T2.

Pada dosis 200.000 ppm didapatkan hasil tidak signifikan ($p>0,05$) H-AB dengan AB-AB dan AB serta signifikan ($p<0,05$) antara H-AB dengan H dan H-H.

Namun karena hasil AB-AB dengan AB yang berbeda signifikan ($p<0,05$), maka interaksi pada dosis 200.00 ppm digolongkan sebagai aditif. Pada dosis 100.000 ppm juga didapatkan hasil yang sama dengan dosis 200.000 ppm dan dapat digolongkan sebagai aditif.

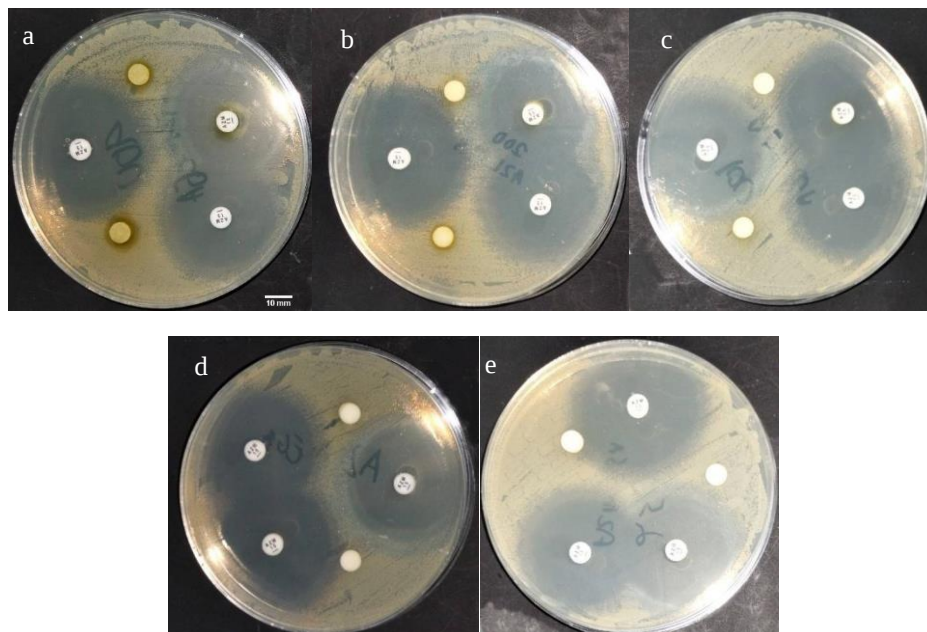
Pada dosis 50.000 ppm didapatkan hasil tidak signifikan ($p>0,05$) H-AB dengan AB-AB dan didapatkan hasil signifikan ($p<0,05$) H-AB dengan AB serta signifikan ($p<0,05$) antara H-AB dengan H dan H-H jadi interaksi pada dosis ini dapat digolongkan sebagai potensiasi.

Terakhir, pada dosis 25.000 ppm didapatkan hasil signifikan ($p<0,05$) H-AB dengan AB-AB dan tidak signifikan ($p>0,05$) H-AB dengan AB serta signifikan ($p<0,05$) antara H-AB dengan H dan H-H jadi interaksi pada dosis ini dapat digolongkan sebagai *Non-Distinguishable*.

Tabel 2. Hasil Rerata Tiga Kali Pengulangan Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi *Moringa oleifera* dengan Azitromisin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Variasi Dosis (ppm)	Sampel	Rerata $\pm$ SD (mm)	Jenis Interaksi
400.000	H	0,00*	Aditif
	H-H	0,00*	
	H-AB	33,35 $\pm$ 1,77	
	AB-AB	34,97 $\pm$ 0,60**	
	AB	31,33 $\pm$ 0,55**	
200.000	H	0,00*	Aditif
	H-H	0,00*	
	H-AB	34,50 $\pm$ 1,77	
	AB-AB	36,27 $\pm$ 0,40**	
	AB	32,53 $\pm$ 0,57**	
100.000	H	0,00*	Aditif
	H-H	0,00*	
	H-AB	34,03 $\pm$ 1,50	
	AB-AB	37,43 $\pm$ 0,93**	
	AB	32,47 $\pm$ 0,61**	
50.000	H	0,00*	Potensiasi
	H-H	0,00*	
	H-AB	33,83 $\pm$ 0,21	
	AB-AB	34,00 $\pm$ 0,56**	
	AB	32,03 $\pm$ 0,25*	
25.000	H	0,00*	<i>Non-Distinguishable</i>
	H-H	0,00*	
	H-AB	32,90 $\pm$ 0,87	
	AB-AB	34,77 $\pm$ 1,00*	
	AB	32,03 $\pm$ 0,81**	

Keterangan: SD= standar deviasi; H= cakram herbal tunggal; H-H= cakram herbal ganda; H-A= cakram gabungan herbal-antibiotik; Ab-Ab= cakram antitibitoik ganda; Ab= cakram antibiotik tunggal; *= berbeda signifikan dengan H-AB; **= berbeda tidak signifikan dengan H-AB.



Gambar 1. Uji ZOI Kombinasi Jamu Daun Kelor dengan Azitromisin Pada Dosis a). 400.000 ppm b). 200.000 ppm c). 100.000 ppm d). 50.000 ppm e). 25.000 ppm

PEMBAHASAN

Jenis Kandungan Metabolit Sekunder dari Hasil Uji Fitokimia Kualitatif

Jamu *Moringa oleifera* mengandung metabolit sekunder flavonoid dan alkaloid. Pada uji alkaloid dua dari tiga reagen yang diujikan yaitu pada reagen Meyer dan Bouchardat dan menunjukkan hasil negatif pada reagen Dragendorff. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa daun kelor mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan lain-lain.¹² Diantara berbagai metabolit sekunder tersebut flavonoid dan alkaloid adalah metabolit sekunder yang terbesar dalam daun kelor.^{13,14} Kuersetin diketahui merupakan jenis flavonoid terbesar yang terkandung dalam tanaman kelor.¹⁵

Pada uji flavonoid ditambahkan pereaksi HCl dan serbuk Mg. Tujuan penambahan kedua pereaksi itu ialah mereduksi inti benzopiron dalam struktur flavonoid. Hal ini menyebabkan senyawa flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl sehingga menghasilkan warna merah, kuning atau jingga.¹⁷

Terbentuknya endapan putih hingga kekuningan pada pereaksi mayer menunjukkan hasil yang positif. Pereaksi Mayer dibentuk dengan cara larutan merkuri(II) klorida (HgCl_2) ditambah dengan kalium iodida bereaksi menjadi merkuri(II) iodida (HgI_2) yang berbentuk endapan merah. Endapan merah tersebut lalu ditambahkan dengan kalium iodida (KI) berlebih sehingga membentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (K_2HgI_4). Pada saat dilakukannya uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, nitrogen dalam alkaloid memiliki pasangan elektron bebas sehingga dapat membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam kalium (K^+) dari K_2HgI_4 dan membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.¹⁶

Endapan coklat yang terbentuk pada uji bouchardat menandakan hasil positif alkaloid. Pereaksi bouchardat memiliki kandungan KI dan iodine (I_2). Pada saat dilakukan uji bouchardat, ion logam dari KI akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen yang terdapat pada alkaloid yang membentuk endapan kompleks kalium alkaloid yang berwarna coklat.^{16,17}

Suatu senyawa dikatakan mengandung alkaloid jika pada pengujian dengan reagen Dragendorff akan membentuk endapan berwarna coklat orange, atau jingga, karena senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodobismut(III) (BiI_3).¹⁷ Endapan tersebut adalah kalium alkaloid.¹⁶ Pada uji kualitatif fitokimia yang telah dilakukan jamu daun kelor, didapatkan hasil negatif pada pereaksi Dragendorff. Penjelasan yang bisa menjelaskan kenapa hasil uji kualitatif tersebut negatif ialah tidak semua alkaloid bisa terdeteksi dengan pereaksi Dragendorff. Berbagai hasil positif palsu dari tes alkaloid seringkali dilaporkan dalam literatur. Berbagai tes tersebut diketahui adalah hasil dari tes reaksi Dragendorff dengan unsur nitrogen dan non-nitrogen. Seluruh unsur non-nitrogen telah diketahui memiliki reaksi positif yang kuat dengan Dragendorff dan begitupun sebaliknya dengan unsur yang mengandung nitrogen.¹⁸ Alkaloid memiliki atom nitrogen yang membagi golongan alkaloid menjadi dua yaitu heterosiklik dan non-heterosiklik berdasarkan letak atom dalam strukturnya.¹⁹

Pemilihan Pelarut Herbal dan Penentuan Variasi Dosis

Etanol ditetapkan sebagai pelarut pada jamu daun kelor untuk digunakan pada uji metode AZDAST. Kemampuan suatu herbal dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme bergantung pada konsentrasi dosis serta pelarut yang ikut berperan dalam

proses pengambilan senyawa metabolit dari suatu herbal. Jenis pelarut yang digunakan tentu akan mempengaruhi daya hambat suatu herbal terhadap pertumbuhan mikroorganisme yang diuji. Dalam memilih jenis pelarut, kandungan senyawa aktif yang dikandung dalam ekstrak harus diperhatikan. Sesuai dengan konsep like dissolve like, senyawa aktif yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, begitupun sebaliknya. Senyawa aktif yang bersifat polar akan larut pada pelarut polar.²⁰

Kuersetin merupakan turunan dari flavonoid yang merupakan golongan polifenol yang terdistribusi secara luas di tumbuhan dan merupakan senyawa yang bersifat polar. Pelarut yang ideal yang sering digunakan dalam mengekstraksi senyawa flavonoid adalah pelarut alkohol atau campurannya dengan air.²¹ Beberapa contoh pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah metanol, aseton, etanol, air dan isopropanol. Pada metode eksplorasi dosis ini menggunakan etanol. Karbon, hidrogen, dan oksigen merupakan unsur-unsur yang menyusun senyawa etanol. Etanol memiliki gugus OH yang membantu melarutkan molekul polar dan ion-ion.²² Metabolit sekunder lain yang terkandung dalam daun kelor adalah alkaloid. Alkaloid adalah senyawa yang bersifat polar dan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar.²³ Pelarut etanol dan aquades adalah pelarut yang paling cocok untuk daun kelor.²¹

Pelarut etanol menunjukkan hasil yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan pelarut air. Pelarut aquades merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol, sehingga komponen yang bersifat polar seperti karbohidrat ikut terekstrak dan menyebabkan total kandungan metabolit sekunder per berat sampel menjadi rendah. Pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang menyerupai dan lebih efektif dalam melarutkan senyawa flavonoid, sehingga ekstrak yang menggunakan pelarut etanol menghasilkan senyawa flavonoid lebih tinggi.²⁴ Pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama dengan flavonoid dan lebih efektif dalam melarutkannya, sehingga ekstrak dengan pelarut etanol menghasilkan senyawa flavonoid tertinggi.²⁵

Variasi dosis 100.000 ppm merupakan dosis yang dianggap paling baik dalam menghambat *Staphylococcus aureus*. Dosis ini kemudian dibuat rentangan dengan mengambil kelipatan dua pada ambang atas dan kelipatan dua pada ambang bawah, sehingga didapatkan dosis uji yaitu 400.000 ppm, 200.000 ppm, 100.000 ppm, 50.000 ppm, dan 25.000 ppm untuk selanjutnya digunakan dalam uji interaksi kombinasi pada metode AZDAST.

Pengaruh Kombinasi Azitromisin dan Jamu Daun Kelor Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Terdapat tiga jenis interaksi yang berbeda saat jamu *Moringa oleifera* dikombinasikan dengan antibiotik azitromisin 25 µg terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kombinasi antara keduanya dapat meningkatkan efek antibakteri dari antibiotik azitromisin baik secara potensiasi maupun aditif pada variasi dosis 400.000 ppm, 200.000 ppm, 100.000 ppm, dan 50.000 ppm. Sedangkan

pada variasi dosis 25.000 ppm tidak dianggap meningkatkan efek antibakteri azitromisin karena interaksinya tidak bisa dibedakan (non-distinguishable). Peningkatan aktivitas antibakteri terjadi jika kedua jenis antibakteri memiliki mekanisme kerja yang berbeda.²⁶

Azitromisin memiliki mekanisme kerja yaitu merusak perpanjangan siklus rantai peptidil dengan menghambat sintesis protein di subunit ribosom 50S.²⁷ Hal ini mencegah translasi dari mRNA dan menghambat pertumbuhan bakteri. Golongan makrolida sendiri biasanya bersifat bakteriostatik namun dapat menjadi bakterisidal apabila dalam konsentrasi yang cukup tinggi dan terhadap bakteri yang sensitif.²⁸ Pada daun kelor, flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder terbesar yang terkandung dalam daun kelor. Kuersetin diketahui merupakan jenis flavonoid terbesar yang terkandung dalam tanaman kelor.¹⁵ Selain komponen fenolik, alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder lain yang terdapat banyak pada daun kelor.¹³

Kuersetin memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan merusak dinding sel bakteri, membran sitoplasma dan menghambat sintesis protein.^{29,30} Perbedaan mekanisme kerja antara kuersetin dan azitromisin diduga menjadi alasan kuat terjadinya peningkatan aktivitas antibakterial dari azitromisin. Selain itu kuersetin juga berperan sebagai agen penghambat inhibitor biofilm pada bakteri *Staphylococcus aureus*.^{26,31,32} Biofilm adalah kumpulan sel mikroorganisme seperti bakteri yang melekat di permukaan bakteri dan berperan dalam membantu mencegah lepasnya sel-sel dari permukaan benda hidup atau mati yang menyebabkan peningkatan toleransi bakteri terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Biofilm dapat melindungi sel bakteri terhadap agen antibakteri dengan membatasi difusi antibakteri tersebut.³³ Biofilm terdapat dimanapun baik di alam atau tempat umum seperti laboratorium, kamar mandi, rumah sakit dan tempat pembuangan air. Biofilm juga dapat terbentuk di permukaan benda. Pembentukannya dapat terjadi pada permukaan benda hidup dan tidak hidup.³⁴

Kuersetin memiliki beberapa mekanisme kerja sebagai inhibitor biofilm seperti menghambat pembentukan biofilm dengan menargetkan BAP (*Biofilm Associated Protein*) sehingga mengurangi kolonisasi dari bakteri *Staphylococcus aureus*.³⁵ BAP berperan penting dalam maturasi biofilm dan berinteraksi dengan bakteri lain sehingga dengan menargetkan BAP secara langsung juga menghambat pembentukan biofilm.³⁶ Selain itu kuersetin juga memiliki mekanisme kerja dengan mencegah perlekatan permukaan sel dengan biofilm sehingga agen antibakteri dengan mudah berdifusi ke dalam sel bakteri.³² Aktivitas kuersetin dalam menghambat pembentukan biofilm lebih tinggi daripada antibiotik namun jika dikombinasikan akan meningkatkan kerja dari antibiotik.²⁶

Disisi lain alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu pembentukan dinding sel, membrane sitoplasma dan sintesis protein.^{37,38} Selain mekanisme kerja yang berbeda dengan azitromisin, alkaloid juga

diketahui memiliki peran sebagai agen *inhibitor* biofilm. *Cinchonidine* salah satu turunan alkaloid diketahui mampu menghambat pembentukan biofilm pada *Staphylococcus aureus* dan jika diberikan dalam dosis yang tinggi dapat mengeradikasi biofilm yang sudah bermaturasi.³⁹ Alkaloid juga memiliki interaksi sinergis meningkatkan kerja antibiotik ketika dikombinasikan dengan antibiotik seperti tetrandrine dari kelas bisbenzylisoquinoline alkaloid dengan cefazolin terhadap *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA),⁴⁰ tomatidine dari kelas steroid alkaloid dengan gentamisin terhadap *Staphylococcus aureus*,⁴¹ dan *sanguinarine* dari *benzophenanthridine alkaloids* dengan Asam etilenadiaminatetraasetat (EDTA) serta streptomisin terhadap *K. pneumoniae* dan *P. aeruginosa*.⁴²

Interaksi aditif pada 400.000, 200.000, dan 100.000 ppm diduga terjadi karena tingginya standar deviasi pada H-AB. Tingginya standar deviasi diduga terjadi karena perbedaan tingkat densitas inokulum. Perbedaan tingkat densitas inokulum menyebabkan berbagai variasi pada diameter ZOI pada setiap pengulangan H-AB di masing-masing dosis. Selain itu faktor lain yang dapat mempengaruhi diameter ZOI adalah komposisi medium, jeda waktu antara penempelan cakram dengan inkubasi, dan temperature inkubasi.^{43,44}

Sedangkan pada dosis 25.000 ppm memiliki efek interaksi yang berbeda yaitu *non-distinguishable* atau tidak dapat dibedakan karena efek penggunaan kombinasi jamu daun kelor dan azitromisin dibandingkan dengan penggunaan tunggal tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Banyak faktor yang mempengaruhi cakram antibiotik termasuk pada cakram jamu daun kelor dengan dosis terendah 25.000 ppm yaitu potensi dari cakram jamu sendiri. Potensi dari cakram dipengaruhi kandungan dalam cakram sehingga semakin tinggi dosis yang terdapat pada cakram semakin tinggi potensinya begitupun sebaliknya.⁴⁵ Dosis 25.000 ppm adalah dosis terendah dari lima dosis dan diduga memiliki potensi yang terendah daripada yang lain sehingga memiliki interaksi *non-distinguishable*.

Daun kelor dan juga kandungan metabolit sekundernya diketahui mampu meningkatkan aktivitas dari azitromisin dan penggunaan kombinasi antara keduanya dapat menjadi alternatif sebagai terapi terhadap infeksi atau resistensi antibiotik yang disebabkan *Staphylococcus aureus*. Namun penelitian ini hanya sebatas pada strain bakteri *S. aureus* non klinis. Dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi interaksi jamu *Moringa oleifera* dengan azitromisin terhadap *S.aureus* klinis maupun strain *S.aureus* yang resisten terhadap antibiotik seperti MRSA.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Jamu daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid dan alkaloid.
2. Kombinasi jamu daun kelor dengan azitromisin pada dosis 400.000 ppm, dosis 200.000 dan

100.000 ppm berinteraksi aditif, dosis 50.000 ppm menunjukkan interaksi potensiasi dan dosis 25.000 ppm berinteraksi *non-distinguishable* dengan azitromisin.

SARAN

Adapun saran untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini lebih lanjut adalah:

1. Melakukan studi survei penggunaan obat herbal (jamu, OHT dan fitofarmaka) bersamaan dengan antibiotik pada masyarakat untuk menunjang data penggunaan herbal di Indonesia.
2. Dilakukannya uji pembandingan kemampuan daya hambat antibakteri antara ekstrak murni herbal, herbal dalam bentuk produk seperti jamu dan isolat bahan aktif guna menilai secara mendetail kemampuan antibakteri masing-masing bahan.
3. Penggunaan bakteri klinis pada model bakteri infeksi pada penyakit kronis
4. Melakukan uji lebih lanjut menggunakan HPLC (*High-performance liquid chromatography*) atau LCMS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*) untuk mengetahui jenis alkaloid yang terkandung dalam jamu daun kelor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku pemberi dana penelitian, kelompok penelitian yang telah membantu dalam berjalannya penelitian dan laboratorium FK UNISMA

REFERENSI

- [1] Fitri, R., Oktiarni, D. and Arso, D. D. (2018) 'Eksplorasi Pengetahuan Obat Tradisional dalam Perspektif Hukum Kekayaan Intelektual di Bengkulu', *Mimbar Hukum - Fakultas Hukum Universitas Gadjah Mada*, 30(2), p. 304. doi: 10.22146/jmh.31021.
- [2] Ulfa, M., Hendrarti, W. and Muhram, P. N. (2016) 'Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Sebagai Anti Inflamasi Topikal Pada Tikus (*Rattus novergicus*)', *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(2), pp. 30–35.
- [3] Dinas Kesehatan Republik Indonesia (2013) 'Riset Kesehatan Dasar', *Diabetes Mellitus*, pp. 87–90. doi: 1 Desember 2013.
- [4] Berawi, K. N., Wahyudo, R. and Pratama, A. A. (2019) 'Potensi Terapi *Moringa oleifera* (Kelor) pada Penyakit Degeneratif Therapeutic Potentials of *Moringa oleifera* (Kelor) in Degenerative Disease', *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 3, pp. 210–214.
- [5] Isnani, W. and M, N. (2017) 'Ragam Manfaat Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Bagi Masyarakat', *Info Teknis EBONI*, 14(1), pp. 63–75.

- [6] Pratiwi, A. I. (2019) 'DIAGNOSIS AND TREATMENT OSTEOARTHRITIS', Supporting Children with Epilepsy, 4, pp. 11–11. doi: 10.4324/9780203064030-7.
- [7] Zaki, A. (2013) Osteoarthritis lutut, pp. 9-9
- [8] Darya, i wayan, T. R. P. (2012) 'Diagnosis Dan Penatalaksanaan Arthritis'.
- [9] Tissi, L. et al. (1995) 'In vivo efficacy of azithromycin in treatment of systemic infection and septic arthritis induced by type IV group B streptococcus strains in mice: Comparative study with erythromycin and penicillin G', Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 39(9), pp. 1938–1947. doi: 10.1128/AAC.39.9.1938.
- [10] Mal, P. et al. (2013) 'Azithromycin in combination with riboflavin decreases the severity of Staphylococcus aureus infection induced septic arthritis by modulating the production of free radicals and endogenous cytokines', Inflammation Research, 62(3), pp. 259–273. doi: 10.1007/s00011-012-0574-z.
- [11].Kehinde Peter, A. et al. (2020) 'Synergistic Evaluation of *Moringa oleifera*, *Hunteria umbellata* and *Azadirachta indica* with Antibiotics Against Environmental MRSA Isolates: An In-vitro Study', American Journal of BioScience, 8(4), p. 91. doi: 10.11648/j.ajbio.20200804.11.
- [12]Pratama Putra, I., Dharmayudha, A. and Sudimartini, L. (2017) 'Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali', Indonesia Medicus Veterinus, 5(5), pp. 464–473.
- [13]Gokila Devi, T. et al. (2017) 'Qualitative and Quantitative Analysis of Secondary Metabolites of *Moringa Oleifera* and its Anticancer Activity', International Journal of Advances in Interdisciplinary Research, 4(3), p. 01. doi: 10.29191/ijaidr.2017.4.3.01.
- [14]Sulistiyawati, R. and Pratiwi, P. Y. (2016) 'PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP AKTIVITAS ANALGESIK DAN ANTIINFLAMASI MELALUI EKSPRESI ENZIM SIKLOOKSIGENASE', Pharmacia, 6(1), pp. 31–38. doi: 10.12928/pharmacia.v6i1.3043.
- [15]Fitri, A. et al. (2015) 'The potential use of secondary metabolites in *moringa oleifera* as an antioxidant source', Media Peternakan, 38(3), pp. 169–175. doi: 10.5398/medpet.2015.38.3.169.
- [16]Marliana, S. D. and Suryanti, V. (2005) 'Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of', Biofarmasi, 3(1), pp. 26–31.
- [17]Sulistyarini, I., Sari, D. A. and Wicaksono, T. A. (2019) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*)', Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta, pp. 56–62.
- [18]Raal, A. et al. (2020) 'Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia', Pharmazie, 75(7), pp. 299–306. doi: 10.1691/ph.2020.0438.
- [19]Craker, L. E. (2018) 'Plant Alkaloids', Plant Alkaloids. doi: 10.1201/9780203743218.
- [20] Arifianti, L. et al. (2014) 'Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. Journal Planta Husada Vol.2,No.1 April 2014', 2(1), pp. 3–6.
- [21] Harsanti, R. S. and Yasi, R. M. (2019) 'Pengaruh jenis pelarut pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*', Edubiotik : Jurnal Pendidikan, Biologi dan Terapan, 4(02), pp. 101–109. doi: 10.33503/ebio.v4i02.506.
- [22] Aziz, T., Cindo, R. and Fresca, A. (2009) 'Pengaruh Pelarut Hexana dan Etanol, Volume Pelarut, Dan Waktu Ekstraksi terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi', Jurnal Teknik Kimia, 16(1), pp. 1–8.
- [23] Ruth Indah Kurniati (2013) 'UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETANOL DAUN BUAS-BUAS (*Premna cordifolia* Linn.) DENGAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)',
- [24] Verdiana, M., Widarta, I. W. R. and Permana, I. D. G. M. (2018) 'PENGARUH JENIS PELARUT PADA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN GELOMBANG ULTRASONIK TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BUAH LEMON (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.)', Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA), 7(4), p. 213. doi: 10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08.
- [25] Kemit, N., Widarta, I. W. R. and Nocianitri, K. A. (2016) 'Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill)', Jurnal Ilmu Teknologi Pangan, 5(2), pp. 130–141.
- [26] Vipin, C. et al. (2020) 'Potential synergistic activity of quercetin with antibiotics against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*', PLoS ONE, 15(11 November), pp. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0241304.
- [27] Donsu, Y. C. and Hasmono, D. (2020) 'Tinjauan Azitromisin Pada Penyakit Virus Korona 2019 (COVID-19)', Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia, 17(2), pp. 133–147. doi: 10.23917/pharmacon.v17i2.12359.
- [28] Kim, M. (2014) 'Update on azithromycin and cardiac side effects Metastatic Pulmonary Calcification', The Southwest Respiratory and Critical Care Chronicles, 2(5), pp. 48–51. doi: 10.12746/swrccc2014.0205.063.
- [29] Osonga, F. J. et al. (2019) 'Antimicrobial activity of a new class of phosphorylated and modified flavonoids', ACS Omega, 4(7), pp. 12865–12871. doi: 10.1021/acsomega.9b00077.
- [30] Yang, D. et al. (2020) 'Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine', Oxidative Medicine and

- Cellular Longevity*, 2020. doi: 10.1155/2020/8825387.
- [31] Lee, J. H. *et al.* (2013) 'Anti-biofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*', *Biofouling*, 29(5), pp. 491–499. doi: 10.1080/08927014.2013.788692.
- [32] Sreelatha, S. and Jayachitra, A. (2018) 'Targeting biofilm inhibition using Quercetin - Interaction with bacterial cell membrane and ROS mediated biofilm control', *Functional Foods in Health and Disease*, 8(6), pp. 292–306. doi: 10.31989/ffhd.v8i6.510.
- [33] Hidayati, A. N. and Liuwan, H. C. (2019) 'Peran Biofilm terhadap Infeksi Saluran Genital yang disebabkan oleh Vaginosis Bakterial', *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 31(2), pp. 150–158.
- [34] Jamal M *et al.* (2015) 'Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology', 4(3), 1–14. Retrieved from <http://www.rr>, *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4(3), pp. 1–14.
- [35] Matilla-Cuenca, L. *et al.* (2020) 'Antibiofilm activity of flavonoids on staphylococcal biofilms through targeting BAP amyloids', *Scientific Reports*, 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-75929-2.
- [36] Dede, K. *et al.* (2019) 'DETEKSI GEN *bap* (BIOFILM-ASSOCIATED PROTEIN) ISOLAT *Acinetobacter baumannii* SEBAGAI GEN PENGKODE BIOFILM DI RSUP SANGLAH MENGGUNAKAN TEKNIK PCR Kadek Dede Frisky Wiyanjana , Ni Nyoman Sri Budayanti2 pathogen penyebab infeksi di rumah sakit . Berdasarkan', 8(7).
- [37] Cushnie, T. P. T., Cushnie, B. and Lamb, A. J. (2014) 'Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities', *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), pp. 377–386. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001.
- [38] Rika Pratiwi Rijayanti; Sri Luliana; Heru Fajar Trianto (2014) 'Naskah publikasi uji aktivitas antibakteri infusa daun mangga bacang (' , pp. 2–19.
- [39] Skogman, M. E. *et al.* (2012) 'Evaluation of antibacterial and anti-biofilm activities of cinchona alkaloid derivatives against *Staphylococcus aureus*', *Natural Product Communications*, 7(9), pp. 1173–1176. doi: 10.1177/1934578x1200700917.
- [40] Weber, C. and Opatz, T. (2019) *Bisbenzylisoquinoline Alkaloids*. 1st edn, *Alkaloids: Chemistry and Biology*. 1st edn. Elsevier Inc. doi: 10.1016/bs.alkal.2018.07.001.
- [41] Mitchell, G. *et al.* (2012) 'Tomatidine acts in synergy with aminoglycoside antibiotics against multiresistant *Staphylococcus aureus* and prevents virulence gene expression', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, s67(3), pp. 559–568. doi: 10.1093/jac/dkr510.
- [42] Hamoud, R., Reichling, J. and Wink, M. (2015) 'Synergistic antibacterial activity of the combination of the alkaloid sanguinarine with EDTA and the antibiotic streptomycin against multidrug resistant bacteria', *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67(2), pp. 264–273. doi: 10.1111/jphp.12326.
- [43] Hedges, A. J. (1999) 'The influence of factors affecting the "critical population" density of inocula on the determination of bacterial susceptibility to antibiotics by disc diffusion methods [1]', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43(2), p. 313. doi: 10.1093/jac/43.2.313.
- [44] Wise, R. and Phillips, I. (2000) 'Towards a common susceptibility testing method?', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45(6), pp. 919–920. doi: 10.1093/jac/45.6.919.
- [45] Geremew, T. *et al.* (2018) 'Antibacterial activity of crude extracts and pure compounds isolated from *Vernonia galamensis* leaves', *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 12(11), pp. 136–141. doi: 10.5897/ajpp2018.4888.