

# EFEKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP ISOLAT KLINIS *Pseudomonas aeruginosa* MULTIDRUG RESISTANT (MDR)

Fina Alimatul Gina, Bayu Tirta Dirja, Lina Permatasari

## ABSTARK

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri merupakan salah satu ancaman utama bagi kesehatan masyarakat. Penyakit infeksi yang sering terjadi adalah infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi dirumah sakit, di mana sebelum masuk rumah sakit pasien tidak menderita penyakit tersebut. Salah satu efek infeksi nosokomial adalah pneumonia yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pemberian antibiotik dilakukan sebagai pengobatan utama, akan tetapi terjadi banyak penggunaan antibiotik yang tidak tepat sehingga terjadi *multidrug resistant* (MDR) terhadap golongan obat. Oleh karena itu, perlu pengembangan antibiotik baru sebagai alternatif pengobatan lain seperti yang berasal dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antimikroba adalah herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia ekstrak etil asetat herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.) dan mengetahui nilai zona hambat dari ekstrak etil asetat herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dalam membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa multidrug resistant* (MDR). Herba pegagan diekstrak menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etil asetat dan dilakukan skrining fitokimia dengan uji tabung. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dan dilakukan pengukuran diameter zona hambat setelah 24 jam. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan 3 konsentrasi yaitu 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm. Zona hambat yang didapatkan secara berturut-turut yaitu 0.375 mm, 1.25 mm, dan 1.75 mm. Akan tetapi hasil ini tidak akurat menurut SPSS, sehingga dikatakan uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat herba pegagan memiliki efek yang lemah terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR.

**Kata kunci:** *Centella asiatica*, *Multidrug Resistant* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa*.

## ABSTRACT

*Infectious diseases caused by bacteria are a major threat to public health. The most common infectious disease is nosocomial infection. Nosocomial infection is an infection that occurs in a hospital, where before entering the hospital the patient did not suffer from the disease. One of the effects of nosocomial infection is pneumonia caused by infection with the bacterium Pseudomonas aeruginosa. Antibiotics are given as the main treatment, but there is a lot of inappropriate use of antibiotics resulting in multidrug resistant (MDR) to this class of drugs. Therefore, it is necessary to develop new antibiotics as an alternative to other treatments such as those derived from natural ingredients. One of the natural ingredients that has the potential as an antimicrobial is Centella asiatica (L.) Urban.. This study aims to determine the phytochemical profile of the ethyl acetate extract of Centella asiatica (L.) Urban. and determine the inhibitory zone value of the ethyl acetate extract of Centella asiatica (L.) Urban. in killing Pseudomonas bacteria. aeruginosa multidrug resistant (MDR). Centella asiatica herb was extracted using the sonication method with ethyl acetate solvent and the phytochemical screening was carried out using a test tube. The antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method and the diameter of the inhibition zone was measured after 24 hours. Antibacterial activity test was carried out with 3 concentrations, namely 1000 ppm, 3000 ppm and 5000 ppm. The inhibition zones obtained were 0.375 mm, 1.25 mm and 1.75 mm respectively. However, this result was not accurate according to SPSS, so it was said that the antibacterial activity test of the ethyl acetate extract of Centella asiatica has a weak effect on Pseudomonas aeruginosa MDR bacteria.*

**Keywords:** *Centella asiatica*, *Multidrug Resistant* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa*.

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba menjadi salah satu ancaman

utama bagi kesehatan masyarakat. Penyakit akibat infeksi merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia.

Data World Health Organization (WHO) menyatakan pada tahun 2010 penyebab tertinggi kematian anak berusia dibawah 5 tahun di Indonesia disebabkan oleh penyakit infeksi dengan persentase 2-25% (WHO, 2013). Penyebab infeksi yang paling banyak ditemui disebabkan oleh bakteri, sehingga pemberian antibiotik merupakan pilihan utama untuk pengobatan infeksi. Berbagai studi menemukan bahwa sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat antara lain untuk penyakit-penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik (Menkes RI, 2011). Oleh karena itu, timbul berbagai macam organisme Multidrug Resistant (MDR) terhadap beberapa golongan obat.

Penyakit infeksi yang sering terjadi adalah infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi di rumah sakit atau fasilitas pelayanan kesehatan setelah pasien dirawat selama 2 x 24 jam, dimana sebelum dirawat pasien tidak menderita penyakit tersebut (Rikayanti dan Sang, 2014). Data World Health Organization (WHO) 2009 menunjukkan pasien rumah sakit sekitar 8,7% orang mengalami infeksi nosokomial dan lebih 1,4 juta orang di dunia menderita infeksi yang didapat di rumah sakit dari negara Mediterania Timur, Eropa, Asia Tenggara dan Pasifik Barat. Salah satu bakteri yang menjadi penyebab infeksi nosokomial adalah bakteri *P. aeruginosa*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lutpiatina (2017) menunjukkan bahwa *P. aeruginosa* menjadi salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial di rumah sakit di kota Banjarbaru dengan presentase 17%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di RSUP dr. M. Djamil Padang dengan menggunakan sampel klinis pasien dengan hasil penelitian dari 79 isolat *P. aeruginosa* sebanyak 34,17% bersifat MDR dan 15,19% bersifat resisten terhadap satu atau dua jenis antibiotik (Rustini *et al.*, 2016).

Hingga saat ini terapi yang digunakan untuk pengobatan infeksi adalah dengan

pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik secara tidak rasional dapat menyebabkan banyak bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Kuswandi, 2011). Adanya resistensi antibiotik ini menunjukkan bahwa perlu untuk mengembangkan antibakteri baru sebagai alternatif pengobatan antibakteri yang bersumber dari bahan alam. Terdapat beberapa keuntungan dari senyawa antibakteri bahan alam yaitu seperti efek samping yang lebih sedikit, mudah diterima oleh pasien, lebih murah dan mudah didapatkan (Gur *et al.*, 2006).

Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antimikroba adalah herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.). Pegagan adalah tanaman liar yang banyak ditemukan di perkebunan, persawahan, tepi jalan dan ladang. Tanaman ini berasal dari Asia tropik dan tersebar di Asia tenggara. Tanaman ini dikenal di masyarakat memiliki banyak khasiat sebagai obat. Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sudah sejak lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Tanaman ini memiliki efek farmakologi yang telah dibuktikan dari penelitian sebelumnya (Aulia *et al.*, 2018). Salah satu manfaat dari pegagan yaitu sebagai antibakteri yang berasal dari kandungan metabolit sekunder dari pegagan diantaranya yaitu flavonoid, saponin, tannin, fenol dan steroid (Sutrisno *et al.*, 2014). Belum terdapat penelitian yang meneliti mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat herba pegagan terhadap bakteri *P. aeruginosa multidrug resistant* (MDR). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas antimikroba ekstrak etil asetat herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap bakteri *P. aeruginosa multidrug resistant* (MDR).

## **METODE PENELITIAN**

### **1. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung Erlenmeyer (IWAKI CTE33, Indonesia), gelas beaker (IWAKI CTE33, Indonesia), sonikator (ELMA,

Germany), kertas saring, batang pengaduk (IWAKI CTE33, Indonesia), *rotary evaporator* (Heidolph, UK), lemari asam, *water bath* (Labnet, USA), cawan porselin (IWAKI CTE33, Indonesia), *thermometer* (IWAKI CTE33, Indonesia), *autoclave*, *petri dish*, ose, bunsen, *laminar air flow* (Thermo Scientific, UK), inkubator (Mettler UN 55, Germany), mikropipet, *vortex* (Labnet, UK), hot plate, penggaris, *blue tip*, *yellow tip*, *rubber bulb*, pipet ukur (IWAKI CTE33, Indonesia), pipet tetes, vial, aluminium foil, timbangan analitik (Ohaus®, USA), ayakan nomor mesh 40 dan *blander*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia herba *Centella asiatica* (L.) Urban., Etil Asetat teknis, isolat bakteri *P. aeruginosa* bagian sputum, aquades, *Mac Konkey Agar*, *Mueller Hinton Agar*, kapas, kertas perkamen, kertas cakram (Oxoid), cakram Colistin 10µg (BD BBL™ Sensi-Disc™), aluminium foil, catton swab steril (Onemad).

## 2. Perolehan Sampel Uji

Sampel herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.) didapatkan dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Karanganyar, Jawa tengah yang sudah berbentuk simplisia.

## 3. Determinasi Sampel

Determinasi sampel dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Karanganyar, Jawa tengah.

## 4. Ekstraksi

Simplisia kering dihaluskan menggunakan *blander* kemudian diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 40 karena dibutuhkan serbuk yang sedikit kasar dengan ukuran serbuk 425 µm. Serbuk kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat agar terlindungi dari

debu maupun partikel lain (Lestari *et al.*, 2015). Serbuk simplisia kemudian diambil sebanyak 300gram dan dicampurkan dengan 1500 mL etil asetat kemudian di sonikasi menggunakan sonikator dengan suhu 35°C selama 30 menit dan diulangi sebanyak 2 kali dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 1500 mL pada tiap pengulangan. Hasil sonikasi disaring untuk memisahkan filtrat dan bahan pengotor lain menggunakan kertas saring. Filtrat diupkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan kecepatan 50 rpm dengan suhu pemanasan 40°C dan kemudian dipekatkan menggunakan *water bath* pada suhu 40°C hingga pelarut menguap dan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung rendemen dan disimpan dengan wadah tertutup (Putra *et al.*, 2020). Dihitung persen rendemen dari ekstrak yang dihasilkan dengan rumus (Nahor *et al.*, 2020).

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100$$

## 5. Skrining Fitokimia

### a. Alkaloid

Uji alkaloid menggunakan 3 reagen berbeda yaitu, reagen wagner, mayer dan dragendorff. Ekstrak cair sebanyak 6 mL ditambahkan dengan 1 mL HCl 2N, kemudian dibagi dalam 3 tabung reaksi berbeda. Tabung I ditambahkan 3 tetes reagen mayer, kemudian dilihat perubahan warna yang terjadi, hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan berwarna putih. Tabung II ditambahkan 3 tetes reagen wagner, hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan jingga hingga coklat. Tabung III ditambahkan dengan 3 tetes reagen dragendorff, dengan hasil positif ditandai dengan warna menjadi jingga (Setiawan, 2016).

#### **b. Flavonoid**

Uji Flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Ekstrak cair ditambahkan dengan sedikit serbuk magnesium dan 3 tetes asam klorida pekat. Tanda positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi warna merah (Yanti & Yulia, 2019).

#### **c. Fenolik**

Ekstrak cair diteteskan sebanyak 2 – 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5 % kemudian diamati. Jika teramati warna hijau kekuningan, menunjukkan sampel mengandung senyawa fenolik (Abriyani *et al.*, 2022).

#### **d. Tanin**

Uji senyawa saponin dilakukan dengan menambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% ke larutan sampel. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kecokelatan (Yanti & Yulia, 2019).

#### **e. Saponin**

Uji saponin dengan melarutkan sampel dalam aquades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih atau busa yang stabil selama 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N, maka sampel tersebut positif mengandung saponin (Yanti & Yulia, 2019).

#### **f. Triterpenoid dan Steroid**

Uji ini dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pereaksi *Liebermann Burchard* (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Hasil positif senyawa golongan steroid akan berubah warna menjadi hijau kebiruan, sedangkan senyawa golongan triterpenoid akan berubah warna membentuk cincin coklat atau violet (Yanti & Yulia, 2019).

### **6. Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **a. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Semua alat yang akan digunakan harus melalui tahap sterilisasi yang bertujuan untuk mematikan semua bentuk kehidupan mikroorganisme yang ada pada alat, khususnya alat-alat dari gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit sedangkan alat ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran di atas api spiritus (Isnaeni *et al.*, 2021).

#### **b. Pembuatan Media MHA**

Serbuk MHA ditimbang sebanyak 38 gram dan dilarutkan dalam 1 L aquades dengan bantuan pemanasan menggunakan *hot plate* supaya cepat homogen. Larutan yang sudah homogen kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Larutan media yang sudah di sterilisasi, dituangkan ke dalam *petri dish* di dalam *laminar air flow* untuk menjamin kesterilan dari media yang akan digunakan.

#### **c. Peremajaan Bakteri**

Bakteri diambil menggunakan jarum ose pada media *Mac Conkey* agar kemudian dioleskan ke dalam media MHA secara aseptis di bawah LAF dengan mendekatkan mulut *petri dish* ke pijara api bunsen. *Petri dish* yang sudah berisi bakteri diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam.

#### **d. Preparasi Sampel**

Sampel ekstrak etil asetat herba pegagan dilarutkan ke dalam larutan etil asetat dengan konsentrasi yang sudah ditentukan yaitu 1000 ppm, 3000 ppm dan 5000 ppm. Setiap konsentrasi dibuat dengan menggunakan 4 replikasi larutan yang berbeda. Ekstrak ditimbang menggunakan timbangan analitik masing-masing sebanyak 5 mg, 15 mg, dan 25 mg.

Proses penimbangan ini dilakukan dengan 4 kali penimbangan. Ekstrak dilarutkan dengan 2 mL etil asetat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan di *ad* hingga tanda batas, dan dihomogenkan.

**e. Pembuatan Suspensi Bakteri**

Larutan NaCl 0,9% disiapkan didalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi, kemudian dimasukkan sedikit bakteri *P. aeruginosa* menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan bantuan *vortex*. Suspensi yang terbentuk dibandingkan kekeruhannya menggunakan larutan standar 0,5 *McFarland*.

**f. Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat herba pegagan terhadap bakteri *P. aeruginosa* dilakukan dengan metode difusi cakram. Kertas cakram dicelupkan ke dalam setiap bahan uji dengan seri konsentrasi ekstrak etil asetat herba pegagan. Perendaman kertas cakram dilakukan selama 15 menit (Zeniusa *et al.*, 2019). Suspensi bakteri yang sudah dibuat dioleskan secara menyeluruh menggunakan *catton swab* steril pada permukaan media MHA. Kertas cakram diletakkan di atas permukaan media MHA menggunakan pinset steril. *Petri dish* diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan (Munthe *et al.*, 2020).

Zona bening yang terbentuk diamati setelah 24 jam inkubasi kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang ditandai dengan zona bening yang terbentuk di sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong.

**7. Analisis Data**

Data yang diperoleh pada uji aktivitas antibakteri yaitu berupa diameter zona hambat dari variasi konsentrasi ekstrak dianalisis menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna atau tidak pada data uji aktivitas antibakteri, kemudian dilanjutkan dengan uji tukey. Sebelum uji *One Way ANOVA* dilakukan uji normalitas menggunakan metode *shapiro willk* terlebih dahulu, jika  $p > 0,05$  artinya ada terdistribusi normal, kemudian dilakukan uji homogenitas, jika  $p > 0,05$  artinya data homogen. Jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji non parametrik seperti *Kruskal Walis* dan *Mann Whitney* (Wahyudin *et al.*, 2017).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya tanaman yang akan diteliti dengan tanaman lain (Klau & Rosa, 2021). Determinasi sampel simplisia pegagan dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Karanganyar, Jawa tengah. Hasil determinasi sampel adalah benar simplisia yang digunakan adalah simplisia herba pegagan (*Centella asiatica* (L). Urban). Hasil determinasi dapat tertera dalam surat nomor KM.04.01/2/1526/2022.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi cara dingin dengan metode sonikasi. Metode sonikasi menggunakan alat sonikator yang menggunakan gelombang ultrasound dengan frekuensi tinggi yaitu 20 kHz. Hal ini dilakukan untuk membuat rongga pada sampel dan dapat meningkatkan kelarutan senyawa dalam pelarut (Tetti, 2014).

Simplisia dihaluskan menggunakan blander kemudian diayak menggunakan ayakan nomor mesh 40. Tujuan dari pengayakan ini adalah untuk menyeragamkan ukuran simplisia agar lebih mudah larut dan senyawa yang diharapkan terserap dengan baik (Handayono & Pranoto, 2020). Menurut Jayani dan Helena (2018) tujuan penyerbukan simplisia adalah untuk memperkecil ukuran partikel yang dapat membesarkan luas permukaan simplisia, sehingga dapat mempermudah proses ekstraksi, sedangkan tujuan pengayakan adalah agar ukuran simplisia seragam.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan perbandingan 1:5 antara simplisia dan pelarut. Sonikator diatur dengan suhu 35°C selama 30 menit. Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan menggunakan pelarut baru. Ekstrak cair kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan cairan ekstrak. Ekstrak cair yang sudah disaring kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Penguapan dan pengentalan ekstrak dilanjutkan menggunakan *waterbath* agar seluruh larutan habis dan tersisa ekstrak kental.

Pelarut yang digunakan pada ekstraksi ini adalah pelarut etil asetat.

Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar yang memiliki gugus metoksi yang dapat membentuk ikatan hidrogen (Romadanu *et al*, 2014). Penggunaan pelarut etil asetat ini dipilih karena dapat menyari senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri seperti alkaloid, flavonoid dan steroid (Kusuma & Rizal, 2021).

Rendemen ekstrak dihitung dan didapatkan hasil sebanyak 7,254% hal ini < 10%. Ekstrak yang bagus memiliki nilai rendemen > 10%. Nilai rendemen yang rendah pada ekstraksi ini menandakan pelarut etil asetat yang semi polar menarik sedikit metabolit sekunder (Kusuma & Rizal, 2021). Hasil rendemen ini menandakan bahwa senyawa semipolar yang ditarik pada ekstrak etil asetat herba pegagan sedikit.

Uji pendahuluan yang dilakukan adalah skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak yang dihasilkan. Uji ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, saponin, triterpenoid dan steroid. Skrining fitokimia ini dilakukan dengan menggunakan ekstrak etil asetat herba pegagan dan reagen pendeteksi senyawa aktif. Hasil uji dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia

Pengujian	Hasil	Keterangan
Alkaloid :		
- Mayer	-	Tidak ada
- Wagner	+	Merah-jingga
- Dragendorff	+	Merah kecoklatan
Flavonoid	-	Tidak ada
Fenolik	-	Tidak ada
Saponin	-	Tidak ada
Tanin	-	Tidak ada
Steroid dan Triterpenoid	-	Tidak ada

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan 3 reagen berbeda yaitu, mayer, wagner, dan dragendorff. Hasil yang didapatkan yaitu

pada tabung I dengan reagen mayer, tidak terbentuk endapan berwarna putih. Tabung II dengan reagen wagner, terjadi perubahan warna menjadi merah-jingga.

Tabung III dengan reagen dragendorff, terjadi perubahan menjadi warna kuning kecoklatan.

Uji senyawa alkaloid menggunakan reagen wagner membentuk warna jingga hingga kecoklatan. Wagner mengandung KI dan I<sub>2</sub> yang dapat beraksi membentuk I<sub>3</sub><sup>-</sup> yang berwarna kecoklatan. Pada saat terjadinya reaksi ion logam K<sup>+</sup> membentuk kompleks kalium-alkaloid yang menghasilkan endapan (Kopon *et al.*, 2020).

Uji senyawa alkaloid dengan reagen dragendorff menghasilkan warna jingga. Reagen dragendorff mengandung kalium tetraiodo-bismutat (K[BiL<sub>4</sub>]). Gugus nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K<sup>+</sup> dan kalium tetraiodobismutat (K[BiL<sub>4</sub>]) sehingga membentuk endapan berwarna jingga cokelat (Yanti & Yulia, 2019).

Senyawa alkaloid merupakan senyawa semipolar sehingga dapat ditarik oleh pelarut etil asetat yang bersifat semipolar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Kurniawan & Wayan, 2015).

Hasil skrining fitokimia yang diperoleh yaitu pada sampel ekstrak etil asetat *Centella asiatica* tidak mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Senyawa flavonoid, fenolik, dan tanin merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga dapat larut pada pelarut polar (Harborne, 1984; Robinson 1995; Novita dan Rahmat 2021). Etil asetat merupakan senyawa semipolar yang dapat menarik senyawa polar maupun nonpolar, akan tetapi etil asetat tidak dapat menarik senyawa yang terlalu polar maupun terlalu nonpolar (Putri *et al.*, 2013).

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan oleh Saadati dan Nofran (2022) berbeda dengan hasil yang didapatkan pada penelitian ini, dimana pada penelitian

tersebut didapatkan hasil positif alkaloid, fenolik, saponin, tanin, terpenoid dan steroid, sedangkan pada penelitian ini hanya positif alkaloid. Perbedaan hasil skrining fitokimia ini dapat dikarenakan adanya perbedaan lokasi pengambilan sampel sehingga dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder (Nomer *et al.*, 2019).

Isolat klinis bakteri *P. aeruginosa* bagian *scutum* didapatkan dari Balai Laboratorium Pengujian Dan Kalibrasi Provinsi Nusa Tenggara Barat, dalam bentuk isolat bakteri dalam *petri dish* menggunakan media *Mac Conkey Agar*. Peremajaan bakteri dilakukan 24 jam sebelum dilakukannya uji aktivitas antibakteri agar mendapatkan isolat bakteri yang baru. Peremajaan dilakukan untuk mengaktifasi isolat bakteri dan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri tersebut (Prihanto *et al.*, 2018).

Preparasi sampel dilakukan dengan membuat 3 konsentrasi ekstrak dengan masing-masing sebanyak 4 replikasi. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm. Pemilihan seri konsentrasi berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh sutrisno *et al.*, 2014 yang menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% pegagan memiliki aktivitas bakteriostatik terhadap *P. aeruginosa* pada konsentrasi 1000 ppm aktivitas bakterisidal pada konsentrasi 3000 ppm, dan 5000 ppm.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Media yang digunakan untuk peremajaan bakteri dan uji antibakteri adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA). MHA merupakan media yang memiliki nutrisi yang baik untuk kebanyakan kultur bakteri, MHA juga memiliki sifat yang netral sehingga tidak memiliki pengaruh dalam uji antibakteri (Utomo *et al.*, 2018).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan membuat suspensi bakteri dalam larutan NaCl 0,9 % dengan kekeruhan sebanding dengan larutan standar 0,5 McFarland. Larutan standar McFarland digunakan sebagai pembandingan kekeruhan

suspensi bakteri dalam media cair (Rosmania & Fitri, 2020). Suspensi bakteri yang sudah setara dengan larutan standar 0,5 McFarland dioleskan secara aseptis menggunakan *catton swab* di atas permukaan media MHA secara menyeluruh. Kertas cakram dimasukkan ke dalam tiap-tiap larutan uji dan kontrol negatif, kemudian didiamkan selama 15 menit. Kertas cakram yang sudah direndam diletakkan diatas permukaan media yang sudah terdapat bakteri.

Kontrol positif yang digunakan pada uji ini adalah colistin yang sudah berbentuk cakram dengan konsentrasi 10 µg. Colistin digunakan sebagai kontrol positif karena colistin merupakan antibiotik yang efektif melawan sebagian besar basil gram negatif. Colistin efektif terutama dalam mengobati infeksi yang

bakteri gram negatif yang resistensi terhadap berbagai obat (MDR-GNB) (Si *et al*, 2018). Kontrol negatif yang digunakan adalah larutan etil asetat. Larutan etil asetat digunakan sebagai control negatif karena ekstrak etil asetat *Centella asiatica* tidak larut dalam pelarut DMSO. Hal ini disebabkan karena ekstrak etil asetat merupakan senyawa semipolar dan DMSO merupakan senyawa polar.

Masing-masing petri dish diisi dengan kertas cakram uji yang sudah disiapkan. *Petri dish* yang sudah berisi bakteri dan cakram uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Zona hambat dihitung setelah 24 jam dengan menggunakan penggaris. Hasil diameter zona hambat dapat dilihat pada **Tabel 2**.

	Konsentrasi	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Kekuatan Antibakteri
2. Hasil Pengamatan Diameter	1000 ppm	0.375	Lemah
	3000 ppm	1.25	Lemah
	5000 ppm	1.75	Lemah
	Kontrol Negatif	0	Lemah
	Kontrol Positif	8	Sedang

#### Zona Hambat

Diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikatakan memiliki aktivitas penghambatan kategori lemah, diameter zona hambat 6-10 mm masuk ke dalam kategori sedang, dan diameter zona hambat 10-20 mm masuk ke dalam kategori sangat kuat (Susanto *et al*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian ekstrak etil asetat herba pegagan seluruh larutan uji berada di kategori lemah. Hal ini dapat terjadi karena hasil skrining fitokimia hanya positif pada senyawa alkaloid.

Data diameter zona hambat di olah menggunakan SPSS. Data tersebut dilakukan uji normalitas menggunakan metode *shapiro wilk*, dengan nilai sigma

$p > 0.05$ . Uji homogenitas kemudian dilakukan dengan nilai sigma  $p > 0.05$ . Uji normalitas dan homogenitas menggunakan data diameter zona hambat pada masing-masing kelompok uji. Nilai sigma uji normalitas dan homogenitas yang didapatkan sesuai dengan **Tabel 3**, dimana nilai tersebut lebih kecil dari 0.05 yang berarti data tidak normal dan tidak homogen. Data tidak normal dan tidak homogen dilanjutkan dengan tes nonparametrik yaitu *kruskal wallis test* dengan sigma 0.13, dimana ini dibawah sigma level 0.05. Hal ini dapat disimpulkan bahwa hipotesis ditolak yang artinya ekstrak etil asetat herba pegagan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *p. aeruginosa* MDR.



**Tabel 3.** Hasil Analisis Data dengan SPSS

Kategori	Sigma
Uji normalitas shapiro wilk	
- 1000 ppm	0.001
- 3000 ppm	0.086
- 5000 ppm	0.161
- Kontrol negatif	.
- Kontrol positif	.
Uji homogenitas	0.001
Kruskal wallis	0.013

#### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Profil fitokimia ekstrak etil asetat herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang dianalisis menggunakan uji tabung yaitu positif mengandung senyawa alkaloid, sedangkan senyawa fenolik, flavonoid, tannin, saponin, triterpenoid dan steroid tidak terdeteksi pada ekstrak ini.
2. Ekstrak etil asetat herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dengan konsentrasi 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm memiliki nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) secara berurutan yaitu 0.375 mm, 1.25 mm, dan 1.75 mm dan termasuk kategori lemah terhadap bakteri *P. aeruginosa* MDR.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Nia Y., Lia F., & Devi S. (2022). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *Clitoria Ternatea* L dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udag *Artemia Salina*. *Journal of Pharmacopolium*, 5(2), 220-22.
- Agustina, Sry., Ruslan., & Agrippina W. (2016). Skrining Fitokimia

Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakara Kimia*, 4(1), 71-76.

- Atilla A, Doğanay Z, Çelik HK, Demirağ MD, Kiliç SS. (2017). Central line-associated blood stream infections: characteristics and risk factors for mortality over a 5.5-year period. *Turk J Med Sci*, 47(2), 646-652

Ansel, H. C. (2005). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. UI Press.

- Aulia, R. M., M. Ulfah, & D. A. K. Mulangsari. (2018). Standarisasi Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) di Dua Tempat Tumbuh. *J. Inov. Tek. Kim.*, 3(1), 67-71.

- Balafif, R. A. R., Andayani, Y., & Gunawan, R. (2013). Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* Linn). *Chemistry Progress*, 6(2), 56-61.

<https://doi.org/10.35799/cp.6.2.2013.3495>

- Bamasri, Topgati Hanif. (2021). Daun Kersen *Muntingia Calabura* Sebagai Antibakteri. *Jurnal*

- Penelitian Perawat Profesional*, 3(2), 231-236.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2011). Vital signs: central line-associated blood stream infections-United States, 2001, 2008, and 2009. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 60(8), 243-248.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). *Catheter-associated Urinary Tract Infections (CAUTI)*.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34 : 540 – 560 . <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chi, Su Young., Kim Tae Ok., Park Chan Woo., Yu Jin Young., Lee Boram., Lee Ho Sung., Kim Yu Il., Lim Sung Chul., dan Kwon Yong Soo. (2012). Bacterial pathogens of ventilator associated pneumonia in a tertiary referral hospital. *Tuberc Respir Dis*, 73(1):32–37. [10.4046%252Ftrd.2012.73.1.32](https://doi.org/10.4046%252Ftrd.2012.73.1.32)
- Diniatik, Suparman, Dwi, A., & Ibnu, A. (2015). Uji antioksidan ekstrak etanol daun dan kulit batang manggis. *Pharmaciana*, 6, 21-30.
- Dhurhania, Crescentiana Emy., Agil Novianto. (2018). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 62-68.
- Endah, Sri Rezeki Nur. (2017). Pembuatan Ekstrak Etanol dan Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Sintok (*Cinnamomum sintoc* Bl.). *Jurnal Hexagro*, 1(2), 29-35.
- Fabian, Pascalis., Lindawari Alimsardjono., & Danti Nur Indiasuti. (2020). Pola Resistensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Acinetobacter baumannii* Pada Spesimen Darah Terhadap Antibiotik Golongan  $\beta$ -laktam dan aminoglikosida di Rumah Sakit dr. Soetomo Periode Januari 2016 – Desember 2016. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 20(1), 31-36.
- Fajriaty, Inarah., Hariyanto IH., Andres., & Risky Setyaningrum. (2018). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum Soulattri* Burm. F.). *Jurnal Informatika dan Sains*, 7(1), 54-67.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. (2004). *Ilmu Obat Alam: Farmakognosi. Jilid I*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haddad Kashani, H., Schmelcher, M., Sabzalipoor, H., Seyed Hosseini, E., & Moniri, R. (2018). Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: Current status of research and novel delivery strategies. *Clinical microbiology reviews*, 31(1), e00071-17.
- Handayono, Diana Lady Y., dan M. Eko Pranoto. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tincutra*, 1(2), 45-54.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: ITB.

- Harti, S.A. (2015). *Mikrobiologi Kesehatan*. CV. ANDI OFFSET: Yogyakarta.
- Harvey, Richard A., dan Pamela C. Champe. (2022). *Farmakologi Ulasan Bergambar*. EGC : Jakarta.
- Haque M, Sartelli M, McKimm J, Abu Bakar M. (2018) Health care-associated infections – an overview. *Infection and Drug Resistant* 2018(11), 2321–2333
- Horcajada, J. P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., Benito, N., & Grau, S. (2019). Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clinical microbiology reviews*, 32(4), e00031-19.
- Illing, I., Safitri W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1),1-19.
- Jayani, Nikmatul I E., dan Helena Oktaviani H. (2018). Standarisasi Simplisia Daun Tempuyung (*Sonchi Folium*) Hasil Budidaya Di Ubaya Training Center Trawas Mojokerto. *Journal of Pharmacy Science and Tachnology*, 1(1), 68-79.
- Kemenkes RI. (2011). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/Menkes/PER/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Menkes RI.
- Kemenkes RI. (2017). *Permenkes Nomor 27 Tahun 2017 Tentang Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan*.
- Kemenkes RI. (2021). *Pedoman Penggunaan Antibiotik*. Jakarta: Menkes RI.
- Klau, Maria H C., dan Rosa Juwita H. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgesik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Journal stifera*, 4(1), 6-12.
- Kopon, Aloisius M., Anselmus B. Baunsele., & Erly G. Boelan. (2020). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Asal Pulau Timor. *Akta kimindo*, 5(1), 43-52.
- Kurniawan, Betta., & Wayan FerlyAryana. (2015). Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitor Of Escherichiacoli Growth. *J Majority*, 4(4),100-104.
- Kusmiyati., dan Ni Wayan Sri Agustini. (2007). Uji Aktivitas Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*, 8(1), 48-53.
- Kusuma, Ika Maruya., dan Rizal Adhitya. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Kawista (*Limonia acidissima* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *SFJ*, 14(1), 54-58.
- Kuswandi, M. (2011). *Strategi Mengatasi Bakteri yang Resisten terhadap Antibiotika*, 10-12. Yogyakarta: UGM
- Lai, How Yee., Lim, Y.Y. (2011). Evaluation of Antioxidant Activities of the Methanolic Extracts of Selected Ferns in Malaysia. *Internasional Journal of Environmental Science and Development*, 2(6), 442-447.
- Lestari, A. B. S., Fudholi. A., Nugroho, A. K., dan Setyowati, E. P. (2015). Pengaruh Purifikasi n-Heksana pada Serbuk Simplisia terhadap Kadar Asiatikosida, Penangkapan Radikal Bebas dan Kadar Fenol Total Ekstrak Etanolik Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.*, 13(1), 10-16.
- Listari, Y. (2009). Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* dari

- Rizosferfamilia poaceae* terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal online*, 1-6.
- Lutpiatina, L. (2017). Cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aerogenosa* pada Stetoskop di Rumah Sakit. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(2), 61–66.
- Madduluri, Suresh., Rao, K. Babu., & Sitaram, B. (2013). In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 679-684.
- Marfuah, Isnaini., Eko Nurcahya Dewi., & Laras Rianingsih. (2018). Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *J. peng. & Biotek. Hasil Pi*, 7(1), 7-14.
- Marpaung, Mauritz P., & Romelan. (2018). Analisis Jenis dan Kadar Saponin Ekstrak Metanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Menggunakan Metode Gravitasi. *Jurnal Farmasi Lampung*, 7(2), 81-86.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2011). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406 / MENKES / PER / XII / 2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta : Menteri Kesehatan.
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Mol. Basel Switz*, 19, 16240–16265.
- Muthmainnah B. (2018). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 13(2), 23-28.
- Nahor, E.M., Rumagit, B.I., dan Tou, H.Y. (2020). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fyticosa* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi. *Prosiding Seminar Nasional Tahun 2020 ISBN: 978-623-93457-1-6*, 40-44.
- Nomer, N., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 216–225.
- Nasrudin, N. (2017). Isolasi Senyawa Steroid Dari Kukit Akar Senggugu (*Clerodendrum Serratum* L. Moon). *Pharmacon*, 6(3.) <https://doi.org/10.35799/pha.6.2017.17119>
- National Healthcare Safety Network - NHSN. (2021). *Urinary Tract Infection (Catheter-Associated Urinary Tract Infection [CAUTI] and Non-Catheter-Associated Urinary Tract Infection [UTI]) Events*.
- Noer, Shafa., Rosa Dewi P., dan Efri Gresinta. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Firokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Ingggu (*Rutu angustifolia* L.). *Eksakta: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*, 18(1), 19-29. DOI: 10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3
- Nurhayati, Lilih Siti., Nadhira Yahdiyani., dan Akhmad Hidayatullah. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2),

- 41-46. DOI: 10.24198/jthp.v1i2.27537
- Owen CD & Stoessel K. (2008). Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *Journal of Hospital Infection*, 70 (S2), 3–10
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S. (2006). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. UI Press. Jakarta.
- Permenkes RI. (2011). *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *J. Nutr. Sci.* 5, e47.
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 7(2), 57–68.
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Prihanto, A.A., Timur, H.D.L., Jaziri, A.A., Nurdiani, R., dan Pradarameswari, K.A. (2018). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia Alba* Penghasil Enzim Gelatinase Dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia Journal of Halal*, 1(1), 31-42.
- Putra, I Kadek Widhiana., G.P. Ganda Putra., dan Luh Putu Wrasati. (2020). Pengaruh Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 167-176.
- Purwantiningsih, T. I., Yustina Y. S., dan Widodo. (2014). Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*, 38(1).
- Purwati, S., Lumora, S. V. T., & Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana Camara* L) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama Dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura Di Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2017*, 153–158.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59.
- Ramlah, Riza Pratiwi., dan Siti Nani N. (2019). Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Daun Semanggi (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal farmasi Kalbar*, 4(1), 1-6.
- Rikayanti, Kadek Herna., Sang Ketut Arta. (2014). Hubungan Tingkat Pengetahuan Dengan Perilaku Mencuci Tangan Petugas Kesehatan Di Rumah Sakit Umum Daerah Badung Tahun 2013. *Community Health*, II(1), 21-31.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Romandanu., Siti Hanggita., & Shanti Dwita L. (2014). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Journal Fishtech*, 3(1), 1-7. <https://doi.org/10.36706/fishtech.v3i1.3523>
- Rosmania., & Fitri Yanti. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal penelitian sains*, 22(2), 76-86.
- Rustini, Istiqamah S. & Armin, F. (2016). *Penentuan Multi Drug Resisten P.*

- aeruginosa* (MDRPA) yang Berasal dari Sampel Klinis Pasien RSUP Dr. Djamil Padang. *Prosiding Rakernas dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia*. Padang: Universitas Andalas.
- Sardi, Arif. (2021). Infeksi Nosomial: Jenis Infeksi dan Patogen Penyebabnya. *Seminar Nasional Riset Kedokteran*, 2:117-125.
- Satiawan, MH., S Mursiti., & E Kusumo. (2016). Aisolasi Dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. Merr). *Jurnal MIPA* 39(2), 128-134.
- Setyowati E, Retnowati E, Rosita V, Rosiana LH. (2019). Skrining aktivitas antibakteri tanaman famili myrtaceae terhadap *pseudomonas aeruginosa*. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 4(1):6-11
- Sharma, V. K., Johnson, N., Cizmas, L., McDonald, T. J., & Kim, H. (2016). A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistant genes. *Chemosphere*, 150, 702–714. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosp.2015.12.084>
- Si, wei., Liangliang Wang., Valentine Usongo., & Xin Zhao. (2018). Colistin Induces *S. aureus* Susceptibility to Bacitracin. *Forentiers in Microbiology*, 9: 2805. <https://doi.org/10.3389%2Ffmicb.2018.02805>
- Sulistyoningdyah, F., & Ramayani L.S. (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Infusa Kulit Petai (*Parkia speciosa* Hassk). *Jurnal Jawara*, 4(1), 1-3.
- Susanto, D. Sudrajat dan R. Ruga. (2012). Studi kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie*, 11(2),181-190.
- Susetyarini, Rr. E., Roimil L., Poncojari W, dan Endrik N. (2020). *Atlas Morfologi dan Anatomi Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban)*. UMM : Malang.
- Sutardi. (2016). Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya Untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *Jurnal Lotbang pertanian*, 35(3), 121-130.
- Sutrisno, E., Adnyana, I.K., Sukandar, E.Y., Fidrianny, dan I., Lestari, T. (2014) Kajian Aktivitas Penyembuhan Luka Dan Antibakteri Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Dari Pasien Luka Kaki Diabetes. *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 16(2),78 – 82.
- Tacconelli, E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth S., Mendelson M., Monnet D. L., Pulcini C., Kahlmeter G., Kluytmans J., & Carmeli Y. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: The WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Tetti, Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2), 361-367. <https://doi.org/10.24252/kesehatan.v7i2.55>
- Utomo, Suryadi Budi., Mita Fujianti., Warih Puji Lestari, dan Sri Mulyani. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks[4] Resorsinarena Termodifikasi

- Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKPK*, 3(3), 201-209.
- World Helth Organization. (2009). *Prevention of hospital-acquired infections World Health Organization*.
- Wijaya, Heri., Novitasari., dan Siti Jubaidah. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendaman Ekstraksi Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79-83.
- Wowor, Meriam G.G., Josua Tampara., Snigid. P. Saogo., Edi Suryanto., dan Lidya I. Momuat. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Masker Peel-Off Ekstrak Etanol Daun Kalu Burung (*Barleria prionitis* L.). *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(1), 75-86.
- Yanti, Susi., dan Yulia Vera. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*, 4(2), 41-46.
- Yayan, J., Ghebremedhin B., Rasche K. (2015). Antibiotic resistant of *Pseudomonas aeruginosa* in pneumonia at a single university hospital center in Germany over a 10-year period. *PLoS One*. 10(10):e0139836. doi: 10.1371/journal.pone.0139836
- Yunus, Reni., Ruth Mongan., & Rosnani. (2017). Cemaran Bakteri Gram Negatif Pada Jajanan Siomay di Kota Kendari. *MLTJ*, 3(1), 87-92.
- Zeniusa, Popi., M. R. Ramadhian., Syahrul H.N., dan Nisa Karima. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau Terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Majority*, 8(2), 136-142.