

Efektivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Beberapa Bakteri

Renaldy¹, Elsa Trinovita^{2,4*}, Dewi Klarita Furtuna³, Fatmaria², Oktaviani Naulita Turnip³

Artikel Penelitian

Abstract: The prevalence of infectious diseases is increasing in developing countries such as Indonesia, and they have become a health problem. One infectious disease caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria is necrotizing fasciitis. The subcutaneous tissues and fascia necrosis characterize necrotizing fasciitis. Antibiotic therapy is one way to prevent the growth and development of bacteria, but continuous use can cause resistance to bacteria. This research aimed to determine the antibacterial effectiveness of red betel leaf extract in cream preparations against the growth activity of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria using the ditch plate method. Red betel leaves were extracted using the UAE method (temperature 60° C for 15 minutes), then made into a cream dosage form with a formulation of 20% extract concentration (F1), 40% extract concentration (F2), and 80% extract concentration (F3) then tested evaluation of cream preparations and antibacterial activity test using the ditch plate method. The extraction of red betel leaves used the UAE method in concentrations of 20%(F1), concentrations of 40%(F2), and concentrations of 80% (F3) in cream preparation form. The cream was evaluated, and antibacterial activity was tested using the ditch plate method. The red betel leaf extract cream inhibits *Staphylococcus aureus* growth by the ditch plate method but does not have antibacterial activity on *Escherichia coli*.

- ¹ Prodi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Palangkaraya, Indonesia
² Departemen Farmakoterapi, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Palangkaraya, Indonesia
³ Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Palangkaraya, Indonesia
⁴ Divisi Produk Olahan Makanan dan Obat Tradisional, Pusat Pengembangan Iptek dan Inovasi Gambut, Universitas Palangka Raya, Palangkaraya, Indonesia

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Piper crocatum*, Antibacterial, Ditch Plate Method

Abstrak: Prevalensi penyakit infeksi meningkat pada negara berkembang seperti Indonesia sehingga menjadi masalah kesehatan. Salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah *necrotizing fasciitis*. *Necrotizing fasciitis* ditandai dengan nekrosis jaringan subkutan dan fascia. Terapi antibiotik merupakan salah satu cara untuk mencegah pertumbuhan serta perkembangan bakteri, namun dengan penggunaan secara terus menerus dapat menyebabkan resistensi terhadap bakteri. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai salah satu terapi alternatif berbahan alam yang banyak ditemukan di Indonesia dan dapat digunakan sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini guna mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah dalam sediaan krim terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode pelat parit. Daun sirih merah diekstraksi menggunakan metode UAE (suhu 60° C selama 15 menit), kemudian dibuat dalam bentuk sediaan krim dengan formulasi konsentrasi 20% ekstrak (F1), konsentrasi 40% ekstrak (F2) dan konsentrasi 80% ekstrak (F3) lalu dilakukan uji evaluasi sediaan krim dan uji aktivitas antibakteri dengan metode pelat parit. Sediaan krim ekstrak daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan metode pelat parit, namun tidak memiliki aktivitas antiakteri pada bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Piper crocatum*, Antibakteri, Metode Pelat Parit

Korespondensi:

Elsa Trinovita
elsa3novita@gmail.com



Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International License

Pendahuluan

Penyakit infeksi di Indonesia masih termasuk dalam sepuluh penyakit penyebab kesakitan di masyarakat. Infeksi merupakan masuknya bakteri, virus, jamur atau mikroorganisme lainnya di jaringan tubuh yang menyebabkan peradangan (1). Data WHO tahun 2015 menunjukkan kasus infeksi di dunia sebesar 6,3 juta orang yang sebagian besar terdiri dari anak-anak dibawah usia 5 tahun yang tinggal di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah. Frekuensi tertinggi infeksi dilaporkan di Rumah Sakit di Negara Eropa sebesar 7,7%, sedangkan di Negara Berkembang di Asia tenggara seperti di Indonesia meningkat sebesar 9,0%. Berdasarkan Kemenkes RI (2010), penyakit infeksi tertentu menjadi penyakit urutan ke-2 dari 10 penyakit utama penyebab kematian di Rumah Sakit. Data Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Tengah (2021) melaporkan jumlah kasus sebanyak 77.999 kasus, termasuk kasus di Kota Palangka Raya sebanyak 8.328 kasus penyakit infeksi (2).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi pada tubuh manusia yang paling sering terjadi di dunia. Bakteri *Staphylococcus aureus* paling umum terdapat pada kulit manusia yang menginfeksi jaringan tubuh sehingga menimbulkan peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. Beberapa penyakit kulit yang disebabkan oleh infeksi bakteri ini diantaranya yaitu jerawat, abses kulit, furunkel (bisul) dan selulitis (3). Bakteri *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan *necrotizing fasciitis*. *Necrotizing fasciitis* adalah penyakit parah yang ditandai dengan nekrosis jaringan subkutan dan fascia, mortalitas yang disebabkan oleh *necrotizing fasciitis* dapat mencapai 30% (4).

Prevalensi infeksi bakteri *Escherichia coli* juga sangat tinggi di negara berkembang dengan perkiraan angka kejadian lebih dari 100 kasus per 100.000 pendudukan (5). *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan berbagai penyakit ekstraintestinal, kemampuan tersebut dikaitkan dengan perolehan virulensi yang tidak ada pada strain komersial. Gen virulensi ini dapat mengkodekan *adhesins*, *invasins*, *siderophores*, *protectins* dan *toksin* yang dapat berkontribusi pada hasil yang

fatal. Pada kasus tertentu bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan *necrotizing fasciitis*, isolate tersebut mampu menghasilkan toksin *Cnf1* dan setidaknya sembilan faktor virulensi lainnya. Kasus *necrotizing fasciitis* yang disebabkan oleh *Escherichia coli* menyebar melalui jaringan lunak, DNA *microarray* mengungkapkan adanya empat gen toksin yaitu *Cnf1*, *hlya*, *hra* dan *vat* (4).

Penyakit infeksi yang masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting, khususnya pada negara berkembang seperti di Indonesia. Salah satu terapi farmakologi yang digunakan untuk mengatasi masalah tersebut adalah golongan antimikroba meliputi antibakteri/antibiotik, antijamur, antivirus, antiprotozoa. Antibiotik merupakan obat pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri (6). Penggunaan antibiotik dipilih untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri yang dapat menginfeksi tubuh manusia, namun kenyataannya masalah infeksi masih terus mengalami peningkatan. Penyalahgunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan ketentuan seperti tidak sesuai dosis, tanpa pengawasan dokter, dan penghentian antibiotik sebelum penyakit sembuh dapat menyebabkan munculnya sifat resistensi pada bakteri patogen (7). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengobatan yang lebih aman dan efektif, seperti pemanfaatan bahan alami atau herbal yang memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi, mudah ditemukan, dan aman (8).

Tanaman obat herbal memiliki potensi yang sangat besar untuk dikembangkan dalam pengobatan terhadap infeksi salah satunya yaitu tanaman sirih merah (*Piper crocatum*). Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) di Indonesia sudah lama dikenal sebagai obat tradisional dan banyak tumbuh tersebar. Daun sirih merah telah diketahui memiliki berbagai khasiat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit diantaranya penyakit pada rongga mulut, gatal-gatal, keputihan, batuk dan penyakit pada mata. Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung flavonoid, alkaloid senyawa polifenol, dan tannin (9).

Manfaat dari daun sirih merah terhadap antibakteri telah dibuktikan bahwa ekstrak daun sirih merah dengan pelarut etanol 70%

menggunakan metode dilusi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kemampuan antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* paling efektif pada percobaan konsentrasi 25% (b/v) dan bakteri *Escherichia coli* paling efektif pada konsentrasi 6,25% (b/v). Perbandingan manfaat daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan daun sirih hijau (*Piper bettle L.*) juga telah dibuktikan bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki daya hambat yang lebih baik terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dibandingkan ekstrak daun sirih hijau (*Piper bettle L.*). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka daya hambat terhadap bakteri akan semakin besar (10).

Penelitian ini akan dilakukan dengan metode pelat parit atau *ditch-plate technique* untuk menguji nilai zona hambat terhadap penggunaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada area bening. Metode ini merupakan salah satu metode untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri suatu tanaman atau ekstrak. Metode *ditch plate technique* atau metode pelat parit efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori sedang berdasarkan kriteria Davis dan Stout (11).

Mengenai hasil uji ketahanan saat dipakai sediaan gel, krim dan salep menunjukkan bahwa sediaan krim merupakan salah satu bentuk sediaan topikal yang umumnya digunakan untuk terapi yang bersifat lokal. Bentuk sediaan krim lebih banyak disukai karena mudah dibersihkan, mudah menyebar di kulit, tidak berbau, tidak mengandung bakteri patogen, tidak mengiritasi kulit, tidak mengandung pewarna, dan memiliki stabilitas yang baik (12).

Oleh karena itu, pada penelitian mengenai daun sirih merah ini dilakukan formulasi dalam bentuk sediaan krim. Berdasarkan penjabaran di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan efektivitas antibakteri krim ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap beberapa bakteri.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*), etanol

96% *Gentamisin sulfat* 0,1% *media blood agar* (MBA), *mueller hinton agar* (MHA), mikroba uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 serta asam stearate, setil alkohol, *trietanolamin* (TEA), metil paraben, propil paraben, gliserin, dan aquades.

Metode

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah berbagai alat gelas (Pyrex®), kertas saring (Whatman), timbangan analitik (RADWAG), *Laminar Air Flow* (BIOBASE), *autoclave* (Memmert), mikropipet (DIAB®), pH universal (NESCO®), *rotary evaporator* (HAHN SHIN®), *Digital Ultrasonic Cleaner* (Skymen®), jangka sorong (TRICLE BRAND®), medical sterilizer (elitech®).

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah

Metode UAE yang digunakan adalah dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 30g simplisia dimasukkan ke dalam toples bersama dengan etanol 96% sebanyak 150 ml (rasio sampel/pelarut 1:5 g/mL). Kemudian diekstraksi dengan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 20 kHz selama 15 menit. Setelah proses ekstraksi selesai lalu disaring dengan kertas saring halus. Filtrat yang didapatkan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 60°C dan kecepatan 60 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan perhitungan rendemen ekstrak (13).

Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin dilakukan dengan metode kualitatif dan kuantitatif (14).

Uji Fitokimia Kualitatif

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun sirih merah ditambahkan 5 ml methanol 30% lalu dipanaskan selama 5 menit. Filtrat ditambahkan dengan H₂SO₄. Warna merah karena penambahan H₂SO₄ menunjukkan adanya flavonoid (14).

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun sirih merah dilarutkan dengan 5 ml kloroform dan 3 tetes NH₄OH. Fraksi kloroform dipisahkan dan

diasamkan dengan 2 tetes H_2SO_4 2 M. Lapis atas (asam) diambil, lalu diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan 3 tetes pereaksi Dregendorff, Mayer dan Wagner yang akan menimbulkan endapan dengan warna merah, jingga, putih dan cokelat (14).

c. Uji Tanin

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun sirih merah ditambahkan dengan 5 ml akuades kemudian dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat yang didapat ditambahkan dengan 5 tetes $FeCl_3$ 1%. Jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin (14).

Uji Fitokimia Kuantitatif

a. Uji Flavonoid

Sampel ekstrak yang telah di preparasi menggunakan mikropipet 500 μL yang dituang ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml aquadest. Tambahkan $NaNO_2$ 5% sebanyak 150 μL dan diamkan 6 menit, kemudian tambahkan 150 μL $AlCl_3$ 10% dan didiamkan selama 6 menit. $NaOH$ 4% ditambahkan sebanyak 2 ml dan diencerkan dengan aquadest hingga volume tabung mencapai 15 ml dan diamkan selama 5 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm (15)

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 10 g sampel ekstrak ditambahkan dalam 250 ml *beaker glass*, lalu ditambahkan asam asetat 10% sebanyak 200 ml. Beaker glass ditutup dan didiamkan selama 4 jam, kemudian disaring. Seperempat ekstrak diuapkan dengan waterbath dan ditambahkan ammonium hidroksida lalu diendapkan. Endapan dicuci dengan ammonium hidroksida encer dan disaring. Residu diuapkan hingga diperoleh berat konstan (15)

c. Uji Tanin

Sebanyak 100 mg sampel ekstrak, ekstraksi dalam 10 ml *diethyl-eter* selama 20 jam, kemudian di saring, kemudian diuapkan sisa *diethyl-eter*, tambahkan aquadest ke dalam sampel hingga volume 10 ml, lalu mengambil 1 ml larutan sampel, menambahkan 0,1 ml reagen Folin

Ciocalteu dan divortex, diamkan selama 5 menit lalu tambahkan 2 ml natrium karbonat 20% dan divortex kembali, diamkan selama 5 menit, tambahkan dengan aquadest hingga volume 10 ml, dibuatkan pengenceran mulai dari 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8,16 ppm, absorbansi dibaca pada panjang 760 nm setelah diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar (16).

Evaluasi Sediaan Krim

Penentuan konsentrasi pada formulasi ekstrak daun sirih merah yang diperoleh berdasarkan perolehan konsentrasi efektif pada hasil penelitian sebelumnya yaitu 40% (b/v) (17). Basis krim tipe M/A yang dibuat terdiri dari dua fase yaitu fase minyak (asam stearat dan setil alkohol) dan fase air (TEA), metil paraben, propil paraben, gliserin dan aquades). Fase air terlebih dahulu dicampur kemudian dipanaskan diatas penangas air. Campurkan fase minyak dan fase air sedikit demi sedikit kemudian gerus sampai terbentuk massa krim. Dimasukkan ekstrak daun sirih merah yang sudah ditentukan konsentrasinya yaitu formulasi F1(20%), F2(40%) dan F3(80%) lalu gerus sampai halus dan homogen kemudian masukkan ke dalam wadah (12,18), lalu dilakukan pengujian sediaan krim (uji organoleptik, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, tipe emulsi).

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik meliputi pemeriksaan perubahan bau, warna, dan konsistensi dari formula sebelum dan sesudah kondisi dipaksakan (19).

b. Uji Homogenitas

Pengujian dilakukan dengan meletakkan krim secukupnya diantara dua obyek gelas, kemudian diamati adanya butiran kasar atau tidak (12).

c. Uji pH

Krim pada masing-masing konsentrasi disiapkan, kemudian diukur pH nya menggunakan pH meter dan selanjutnya dilihat perubahan warna yang terjadi. Nilai pH yang ideal yaitu 4,5-6,5 (12).

d. Uji Daya Sebar

Ditimbang 1 g krim, diletakkan ditengah kaca arloji dengan berat 22,5 g. Diletakkan sekeping kaca objek transparan yang lain di atas krim, dibiarkan 1 menit. Dicatat diameter krim yang menyebar (12).

e. Uji Daya Lekat

Pengujian daya lekat sediaan dilakukan dengan cara krim diletakkan pada satu sisi kaca objek dengan sisi bawahnya telah dipasangkan tali untuk mengikat beban, lalu ditempelkan pada kaca objek yang lain. Beban yang digunakan adalah 80 g. Kemudian diamati waktu yang dibutuhkan beban tersebut untuk memisahkan kedua kaca (12).

f. Uji Tipe Emulsi

Menggunakan metode pengenceran, krim yang telah dibuat dimasukkan kedalan gelas kimia kemudian diencerkan dengan aquades (12).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan mensterilisasi alat dan bahan terlebih dahulu, lalu membuat Media Blood Agar Base (BAB) dan Media Mueller Hinton Agar (MHA), suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta dilakukan uji efektivitas sediaan krim ekstrak daun sirih merah terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Uji antibakteri sediaan krim dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan pada masing-masing sampel. Prosedur diawali dengan menyiapkan alat dan bahan yang telah disterilkan dengan menggunakan alat autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Siapkan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, media MHA yang telah padat digoreskan suspensi bakteri menggunakan spatula steril. Parit akan dibuat dalam cawan petri dengan menggunakan punch. Parit-parit akan diisi dengan jumlah yang sama dari ekstrak yang sudah dibuat yaitu 20%, 40%, dan 80% diisi juga dengan kontrol positif

dan kontrol negatif. Plate kemudian dibiarkan selama 1 jam disuhu ruang dan kemudian akan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu ukur zona hambat (10). Pengukuran zona hambat pada metode pelat parit dilakukan di sekitar parit yang memiliki zona hambat terjelas. Metode pelat parit digunakan pada pengujian aktivitas mikroorganisme. Metode ini menggunakan suatu lempeng agar yang diinokulasikan dengan bakteri uji lalu dibuat sebidang parit selebar 1 cm. Parit dibiarkan selama 1 jam pada suhu ruang dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diperiksa zona hambat mikroorganisme disekitar parit. Metode ini memiliki beberapa keuntungan, seperti dapat menguji berbeda mikroorganisme pada satu cawan petri dan memiliki perbandingan langsung dari efek tertentu antibiotik pada setiap mikroorganisme (21). Setelah uji antibakteri selesai bakteri yang digunakan akan dimusnahkan.

Analisis Data

Data dibuat dan dianalisis dengan menggunakan SPSS versi 26. Data diuji terlebih dahulu dengan uji normalitas lalu selanjutnya dilakukan uji homogenitas. Didapatkan hasil data tidak normal dan tidak homogen maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis, selanjutnya dilakukan uji pos hoc *Mann whitney* (22).

Hasil dan Diskusi

Hasil

Perolehan rendeman ekstrak daun sirih merah yang diekstraksi menggunakan metode UAE sebesar 6,32%. Pada penelitian ini, (**tabel 1**) dan tabel 2 menunjukkan bahwa daun sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan tannin. Pada penelitian ini dilakukan beberapa uji evaluasi pada sediaan krim yaitu uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji tipe emulsi yang dapat dilihat pada (**tabel 3**).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Pada Ekstrak Daun Sungkai.

Senyawa Fitokimia	Hasil	Reaksi
Alkaloid	+	Berwarna jingga dengan reagen Dragendroff Terdapat endapan putih dengan reagen Meyer Berwarna jingga kecoklatan dengan reagen Wagner
Flavonoid	+	Terbentuk warna jingga
Tannin	+	Terbentuk warna hitam kehijauan

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Kuantitatif Pada Ekstrak Daun Sirih Merah.

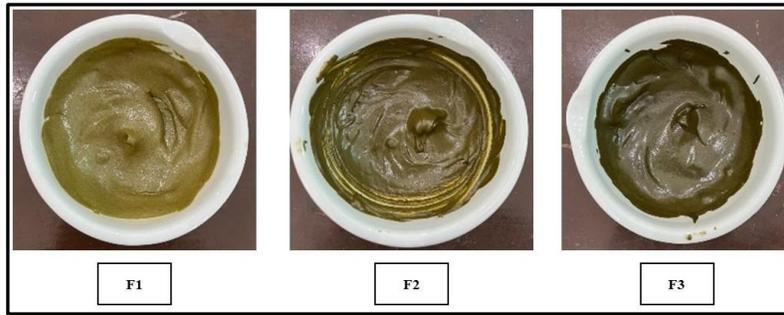
Senyawa Fitokimia	Kadar Daun Sirih Merah
Alkaloid (mg/mL)	64,166
Flavonoid (mg/mL)	120,833
Tannin (mg/mL)	0,554

Tabel 3. Hasil Uji Evaluasi pada Sediaan Krim.

Kelompok Perlakuan	Hasil Evaluasi Sediaan Krim					
	Uji Organoleptik	Uji Homogenitas	Uji pH (Rentang normal 4,5-6,5)	Daya Sebar (Rentang normal 5-7 cm)	Uji Daya Lekat (Nilai normal >4 detik)	Uji Tipe Emulsi
F1	<ul style="list-style-type: none"> Warna : Hijau muda Bau : Khas sirih merah, lembut dan tidak tajam Bentuk : Semi solid 	Homogen	7	6,5	3,66	A/M
F2	<ul style="list-style-type: none"> Warna : Hijau tua Bau : Khas sirih merah, lembut dan tidak tajam Bentuk : Semi solid 	Homogen	6	5,4	4,39	A/M
F3	<ul style="list-style-type: none"> Warna : Hijau tua Bau : Khas sirih merah, lembut dan tidak tajam Bentuk : Semi solid 	Homogen	6	5,6	4,58	A/M

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik

Kelompok Perlakuan	Warna	Bau	Bentuk
F1	Hijau muda	Khas sirih merah, lembut dan tidak tajam	Semi solid
F2	Hijau tua	Khas sirih merah, lembut dan tidak tajam	Semi solid
F3	Hijau tua	Khas sirih merah, lembut dan tidak tajam	Semi solid



Gambar 1. Hasil Uji Organoleptik

Keterangan :

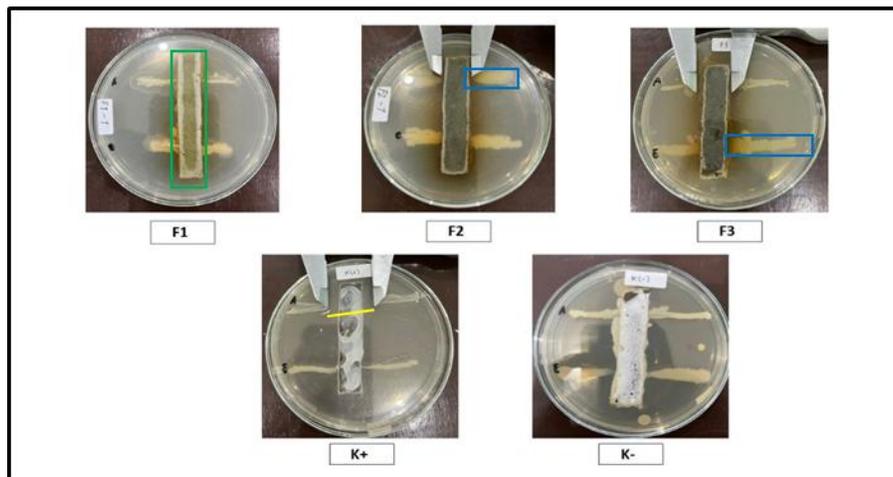
F1 : Formulasi sediaan krim ekstrak daun sirih merah konsentrasi 20%

F2 : Formulasi sediaan krim ekstrak daun sirih merah konsentrasi 40%

F3 : Formulasi sediaan krim ekstrak daun sirih merah konsentrasi 80%

A/M : Air terdispersi dalam minyak

Hasil pengukuran zona hambat sediaan krim ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 2.



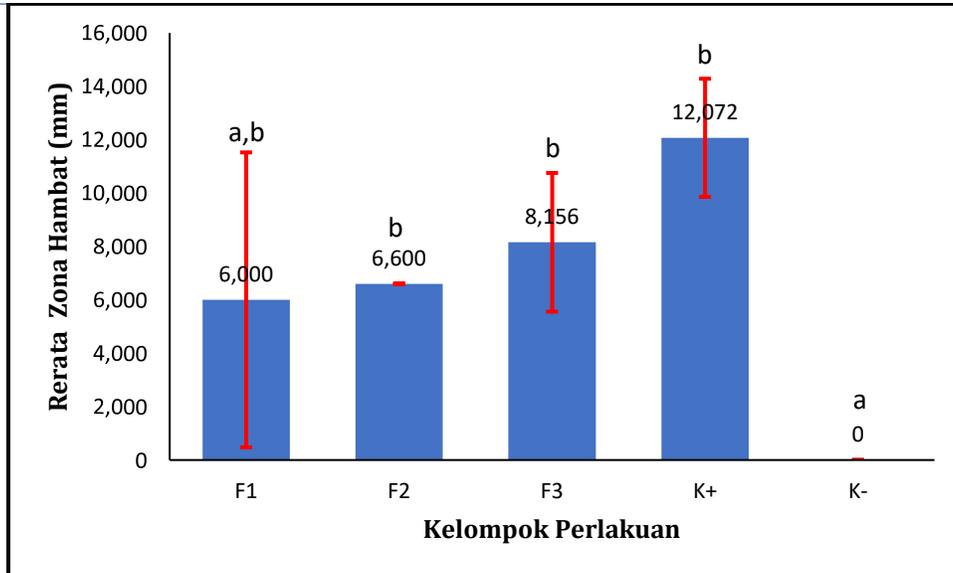
Gambar 2. Hasil Uji Bakteri Menggunakan Metode Pelat Parit

Keterangan :

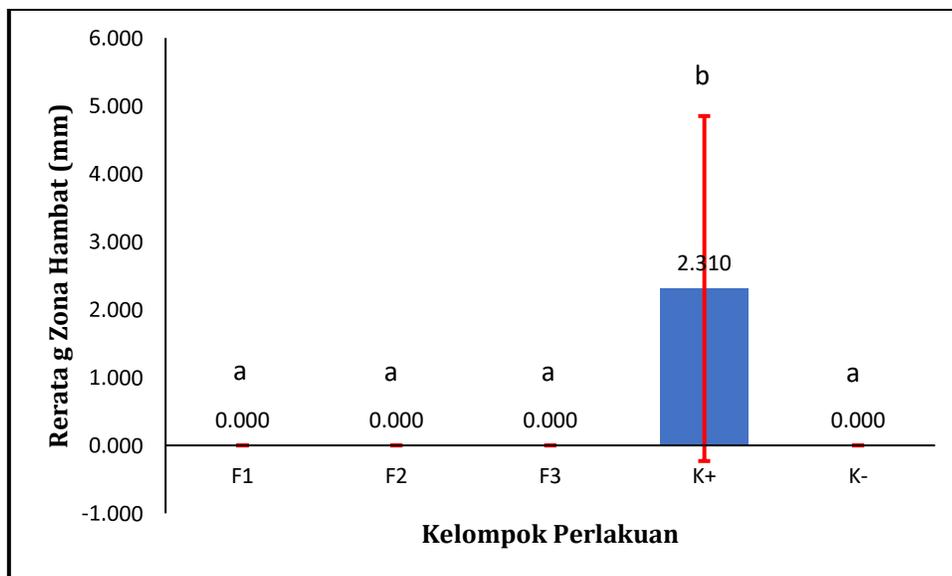
Hijau : Pelat parit

Kuning : Zona hambat yang di ukur

Biru : Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* (A) dan *Echerichia coli* (B)



Grafik 1. Rerata panjang zona hambat sediaan krim ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi



Grafik 2 Rerata panjang zona hambat sediaan krim ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan berbagai konsentrasi

Keterangan :

F1 : Formulasi sediaan krim ekstrak daun sirih merah konsentrasi 20%

F2 : Formulasi sediaan krim ekstrak daun sirih merah konsentrasi 40%

F3 : Formulasi sediaan krim ekstrak daun sirih merah konsentrasi 80%

K+ : *Gentamisin sulfat* 0,1%

K- : Basis krim

a : Berbeda signifikan dengan K+ (nilai $p < 0,05$)

b : Berbeda signifikan dengan K- (nilai $p < 0,05$)

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pengaruh antibakteri krim ekstrak daun sirih merah terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan probabilitas sebesar 0,003. Hal ini dapat diketahui bahwa nilai *probabilitas* < 0,05% sehingga H_0 ditolak, dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang perlakuan pada uji aktivitas antibakteri sediaan krim ekstrak daun sirih merah yang memiliki zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berbeda signifikan. Untuk mengetahui perbedaan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan perlakuan yang berbeda signifikan dilakukan menggunakan uji *Mann Whitney* yang memperoleh hasil bahwa zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* setelah diberi basis krim (K-) menghasilkan rata-rata zona hambat yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberi formulasi sediaan krim F2 (konsentrasi 40%) dan F3 (konsentrasi 80%) serta berbeda signifikan dengan zona hambat bakteri setelah diberikan *Gentamisin sulfate* 0,1% (K+). Namun berbeda tidak signifikan dengan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* setelah diberi formulasi sediaan krim F1 (Konsentrasi 20%). Sementara zona hambat yang terbentuk setelah diberi *Gentamisin sulfate* 0,1% (K+) menghasilkan rata-rata paling tinggi dan berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

Diskusi

Pada penelitian ini menunjukkan hasil rendemen ekstrak sebesar 6,32%. Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan hasil rendemen ekstrak sebesar 14,48%. Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan volume pelarut yang digunakan, jumlah rasio pelarut 300 ml etanol 96%, lebih besar dibandingkan dengan jumlah rasio pelarut pada penelitian ini, yaitu sebesar 150 ml. Faktor – faktor lain yang mempengaruhi hasil perhitungan jumlah rendemen yaitu, ukuran serbuk, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi dan jenis dan jumlah pelarut, semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin banyak hasil rendemen yang didapat jika semakin tinggi jumlah rendemen maka semakin tinggi pula senyawa aktif dari sampel yang diekstraksi (23).

Pada penelitian ini etanol 96% yang digunakan dalam proses ekstraksi dikarenakan bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% digunakan karena tidak toksik, absorpsinya baik dan memiliki kemampuan penyarian yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, polar dan semi polar (24). Etanol 96% lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel ekstrak dari pada pelarut etanol dengan konsentrasi etanol yang lebih rendah dan mudah menguap (25).

Uji fitokimia kualitatif adalah metode analisis kimia yang digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit yang terdapat pada ekstrak daun sirih merah. Hasil skrining kandungan kimia menunjukkan bahwa daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan tannin. Pada penelitian ini, identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun sirih merah menunjukkan bahwa terbentuknya warna jingga, dikarenakan adanya penambahan logam Mg dan HCl. Reaksi ini menunjukkan adanya reduksi benzepiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk flavilium yang berwarna merah atau jingga (26).

Hasil uji alkaloid menunjukkan terbentuknya warna jingga dengan reagen Dragendroff, terdapat endapan putih dengan reagen Meyer dan berwarna jingga kecoklatan dengan reagen Wegner, hasil uji dinyatakan positif jika terbentuk endapan merah hingga jingga (27). Hasil tannin pada ekstrak daun sirih merah menunjukkan terbentuknya warna hitam kehijauan, hal ini dikarenakan penambahan sampel $FeCl_3$ kemudian campuran dihomogenkan maka hasil dinyatakan positif jika terbentuknya warna hitam kehijauan pada campuran (26).

Pada penelitian ini sediaan ekstrak daun sirih merah dibuat dalam sediaan krim yaitu sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan pelarut. Formulasi sediaan krim pada penelitian ini terdiri dari dua fase yaitu fase minyak (asam stearat dan setil alkohol) dan fase air (trietanolamin, metil paraben, propil paraben, gliserin dan aquades) serta ditambahkan ekstrak daun sirih merah dengan berbagai formulasi F1 (konsentrasi 20%), F2 (konsentrasi 40%) dan F3 (konsentrasi 80%). Asam stearat berfungsi sebagai pengemulsi, konsentrasi asam stearat dan

trietanolamin dapat mempengaruhi karakteristik fisik sediaan krim, seperti viskositas, daya sebar, daya lekat, dan pemisahan fase krim. Setil alkohol juga berfungsi sebagai pengemulsi, pengental dan penstabil dalam formulasi krim. Pada penelitian ini metil paraben dan propil paraben digunakan untuk zat pengawet serta gliserin ditambahkan dalam formulasi ini sebagai penahan lembab yang dapat menyebabkan daya sebar (28).

Pada penelitian ini dilakukan evaluasi sediaan krim dengan beberapa uji seperti uji organoleptik. Uji organoleptik dilakukan guna mengetahui tampilan krim berupa wujud, warna dan bau dari sediaan krim. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa krim berbentuk semi solid. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bahan formulasi krim tercampur dengan baik dengan warna hijau yang mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka warna hijau akan semakin pekat. Bau sediaan krim yang dihasilkan memiliki bau khas sirih merah, lembut dan tidak tajam (12).

Sediaan krim dinyatakan homogen apabila sediaan menunjukkan tidak adanya butiran kasar dan memiliki susunan yang homogen. Pada hasil uji homogenitas yang dilakukan pada penelitian ini didapati bahwa semua formulasi menghasilkan sediaan yang homogen karena tidak ditemukan butiran sisa ekstrak pada sediaan. Hasil uji pH krim pada penelitian ini menunjukkan pada formulasi F1 tidak dapat diterima oleh pH kulit tetapi pada formulasi F2 (pH 6) dan F3 (pH 6) masih dapat diterima oleh pH kulit dengan rentang nilai sebesar 4,5-6,5 (12). Nilai pH yang tinggi dapat menimbulkan kulit bersisik dan jika sediaan memiliki nilai pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan iritasi pada kulit (29).

Pada penelitian ini menunjukkan nilai uji daya sebar yang baik pada setiap konsentrasi. Uji daya sebar dilakukan guna mengetahui penyebaran krim saat diaplikasikan pada kulit. Daya sebar yang baik yaitu 5-7 cm (12,30). Uji daya lekat pada penelitian menghasilkan daya lekat yang berbeda pada formulasi F1 (konsentrasi 20%) yaitu sebesar 3 detik, namun pada formulasi F2 (konsentrasi 40%) dan F3 (konsentrasi 80%) menghasilkan nilai daya lekat sebesar 4 detik. Uji daya lekat sediaan krim pada penelitian ini

bertujuan untuk mengetahui kemampuan krim melekat pada kulit dan semakin lama melekat pada kulit maka semakin baik karena zat aktif yang dilepaskan pada sediaan krim akan semakin banyak diabsorpsi. Nilai uji daya lekat yang baik adalah lebih dari 4 detik (30). Hasil uji tipe emulsi sediaan krim pada penelitian ini menunjukkan tipe A/M pada semua kelompok konsentrasi baik F1, F2 dan F3 yang artinya sediaan krim pada penelitian ini memiliki tipe air terdispersi dalam minyak (A/M) (29).

Mekanisme senyawa flavonoid dengan menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan gangguan pembentukan DNA dan RNA bakteri sehingga terjadi kerusakan dinding sel bakteri (31). Mekanisme senyawa alkaloid adalah penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan kematian terhadap sel tersebut (26). Pada senyawa tannin sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk, tannin juga menyerang pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel tidak sempurna (8). Aktivitas yang terjadi dari interaksi sesama senyawa metabolit yang terdapat di dalam ekstrak daun sirih merah dapat mengakibatkan kerusakan pada dinding sel bakteri dan akan terjadi gangguan metabolisme bakteri yang menyebabkan kebocoran sehingga keluaranya molekul penting dan ion yang menyebabkan kematian sel (33).

Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa perbedaan sensitifitas pada bakteri Gram positif dan negatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak daun sirih merah karena perbedaan struktur dinding sel, seperti jumlah peptidoglikan, jumlah lipid dan aktivitas enzim yang menentukan aktivitas antibakteri (34). Sensitifitas bakteri Gram positif seperti bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat dikarenakan tidak memiliki membran luar yang melindungi dinding sel secara langsung (35). Senyawa metabolit sekunder ekstrak daun sirih merah seperti flavonoid, alkaloid dan tannin yang memiliki mekanisme kerja merusak dinding sel

bakteri *Staphylococcus aureus* dan mengakibatkan sitoplasma mengalami kebocoran.

Gentamisin sulfat sebagai (K+) memiliki zona hambat paling tinggi berdasarkan kemampuannya yang kuat untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom di dalam sel (36). Zona hambat paling rendah terlihat pada basis krim sebagai K(-) hal ini dikarenakan tidak terdapat senyawa yang mengandung antibakteri (16). Diantara kelompok perlakuan F1 (konsentrasi 20%), F2 (konsentrasi 40%) dan F3 (konsentrasi 80%) didapatkan zona hambat paling tinggi pada kelompok perlakuan F3 (konsentrasi 80%). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan (37).

Kelompok sediaan krim ekstrak sirih merah pada konsentrasi ekstrak 20 % (F1); konsentrasi ekstrak 40% (F2); konsentrasi ekstrak 80 % (F3) menunjukkan rata-rata zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 0 mm. Kelompok *Gentamisin sulfat* 0,1% sebagai (K+) menunjukkan rata-rata zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 2,31 mm. Kelompok basis krim (K-) menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 0 mm. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan rata-rata zona hambat yang terbentuk lebih tinggi pada bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal ini dikarenakan bakteri Gram positif tidak memiliki *barrier* fosfolipid pada lapisan peptidoglikan sehingga mudah ditembus oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak daun sirih merah yang bersifat lipofilik seperti alkaloid, flavonoid dan tannin. Sedangkan pada bakteri Gram negatif yang memiliki *barrier* fosfolipid pada lapisan peptidoglikan sehingga tidak mudah ditembus oleh senyawa yang bersifat lipofilik seperti alkaloid, flavonoid dan tannin (35). Perbedaan struktur dinding sel pada bakteri Gram positif dan negatif yang mempengaruhi aktivitas antibakteri, pada bakteri Gram positif memiliki kandungan lipid yang lebih rendah dibandingkan bakteri Gram negatif yang memiliki kandungan lipid yang tinggi sehingga sulit ditembus oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak daun sirih merah (34).

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan pengaruh antibakteri krim ekstrak daun sirih merah terhadap zona hambat bakteri *Escherichia coli* menghasilkan probabilitas sebesar 0,000 (nilai $p < 0,05$). Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa zona hambat pada kelompok basis krim (K-) berbeda secara signifikan dengan zona hambat bakteri *Escherichia coli* pada kelompok yang diberikan *gentamisin sulfat* 0,1% (K+).

Pada grafik 2 menunjukkan berbeda tidak signifikan pada kelompok formulasi sediaan krim F1 (konsentrasi ekstrak 20%), F2 (konsentrasi ekstrak 40%) dan F3 (konsentrasi ekstrak 80%). Kelompok *Gentamisin sulfat* 0,1 % (K+) menunjukkan rata-rata zona hambat paling tinggi dan berbeda signifikan dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan..

Kesimpulan

Sediaan krim ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan nilai rata-rata zona hambat. Namun tidak memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan nilai rata-rata zona hambat yang diperoleh. Konsentrasi efektif pada sediaan krim ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antibakteri dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada kelompok F1 (konsentrasi 20%) dengan rata-rata zona hambat sebesar 6 mm. Pada kelompok F1 (konsentrasi 20%), F2 (konsentrasi 40%) dan F3 (konsentrasi 80%) pada sediaan krim ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) tidak menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sehingga tidak dapat ditemukan konsentrasi efektif.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam tulisan ini.

Referensi

1. WHO. Penyebab Penyakit Infeksi Report. World Health Organization; 2017.
2. Dinas Kesehatan Provinsi Kalteng. Profil Kesehatan Provinsi Kalimantan Tengah. Palangka Raya: Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Tengah; 2021.
3. Asri W, Siti H, Dadan R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teh Putih Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 2015;18(1):55–60.
4. Bekal S, Vincent A, Lin A, Harel J, Côté J, Tremblay C. Case Report A Fatal Case of Necrotizing Fasciitis Caused by a Highly Virulent *Escherichia coli* Strain. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2016;2016:4–7.
5. Kristina, Saraswati NP, Aryasa IWT, Apriyanthi DPR. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tulak (*Schefflera Elliptica* (Blume) Harms) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia* 2023; 16(1) 41-51.
6. Kurniasari S, Humaidi F, Sofiyati I. Penggunaan Antibiotik oleh Penderita Infeksi Saluran Kemih di Instalasi Rawat Inap (IRNA) 2 RSUD dr.H.Slamet Martodirjo Pamekasan Tahun 2018. *Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru (JIFA)* 2020;1(1)15-27.
7. WHO. Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Switzerland 2021.
8. Nuryah A, Yuniarti N, Puspitasari I. Prevalensi dan Evaluasi Kesesuaian Penggunaan Antibiotik pada Pasien dengan Infeksi Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten. *Majalah Farmaseutik* 2019;15(2):123.
9. Fadlilah M. Benefit of Red Betel (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) As Antibiotics. *Jurnal Majority*. 2015;4(3):71–4.
10. Syahrinastiti TA, Djamal A, Irawati L. Artikel Penelitian Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Daun Sirih Merah terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2015;4(2):421–4.
11. Khasanah HR. Uji aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduus* (L.) Roxb) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurna. Ilmiah Avicenna* 2021;16(1):8–15.
12. Majid NS, Citraningtyas G. Formulasi Dan Uji Efektivitas Krim Antibakteri Ekstrak Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*, 2019;8(1), 225–233.
13. Andriani M, Widarta IDGMP, Rai IW. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *ITEPA* 2019;8(3):330–40.
14. Puspita PJ, Safithri M, Sugiharti, Peni N. Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts. *Current Biochemistry* 2019;5(3):1-10
15. Hutasuhut, Diza Afira; Aspriyanto, Didit; Firdaus, I. Wayan Arya Krishnawan. Uji Fitokimia Kualitatif Dan Kuantitatif Ekstrak Kulit Buah Rambai (*Baccaurea Motleyana*) Konsentrasi 100%. *Dentin*, 2022, 6.2.
16. Dewi, Niluh Puspita. Uji Kuantitatif Metabolit Standar Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus Septica* Burm. F) Dengan Metode Kromatografi. *Acta Holistica Pharmacia*, 2020, 2.1: 16-24.
17. Candrasari A, Romas MA, Astuti OR. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 Dan *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, 2011; 4(1)
18. Simanjuntak HA, Gurning K. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Sediaan Krim Ekstrak Etanol Herba Tumbuhan Balsem (*Polygala paniculata* L.) Terhadap Bakteri *Propionebacterium acnes* Penyebab Jerawat. *EKSAKTA Jurnal Penelitian dan Pembelajaran MIPA* 2020; 5(2):133-40
19. Mursyid AM. Evaluasi Stabilitas Fisik Dan Profil Difusi Sediaan Gel (Minyak

- Zaitun). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2017, 4.1: 205-211.
20. Shah A, Jani M, Shah H, Chaudhary N, Shah A. Antimicrobial Effect of Clove Oil (Laung) Extract on *Enterococcus faecalis*. *Journal of Academy of Advanced Dental Research* 2014; 5(3):36-8.
21. Adriska K. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*. L) Terhadap *Bakteri Staphylococcus aureus*. 2022. PhD Thesis. ITS Kes Insan Cendekia Medika Jombang.
22. Shintre Sayali, Ramteke Ashok, Phadke Manju PV. Preliminary Antimicrobial Study Of Katakari (*Solanum Xanthocarpum Schrad & Wendl*) By Ditch Plate Technique. 2019;(August):22-7.
23. Najib A. Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. CV Budi Utama. 2018:155.
24. Virgin J. Kadar Etanol Dalam Tape Sebagai Hasil Fermentasi Beras Ketan (*Oryza sativa glutinosa*) dengan *Saccaromyces cerevisiae*. *Jurnal Virgin* 2015;1(1) 16-9.
25. Wiratmaja IG, Bagus IG, Kusuma W, Winaya INS. Pembuatan Etanol Generasi Kedua Dengan Memanfaatkan Limbah Rumpun Laut *Eucheuma Cottonii* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal Harian Regional* 2011;5(1).
26. Fitriyani A. Uji Anti Inflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*, 2011;16(1): 34-42.
27. Rukmini A, Danang HU, Ainun NL. Skrining Fitokimia Familia Piperaceae. *Prosiding Seminar Nasional Hayati*. 2019: Vol. 7.
28. Hasniar, Yusriadi, Akhmad K. Formulasi krim antioksidan ekstrak daun kapas (*Gossypium sp.*). *Jurnal Farmasi Galenika* 2015; 9-15.
29. Pratasik MCM, Yamlean PVY, Wiyono WI. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan krim Ekstrak Daun Sesewanuwa (*Clerodendron squamatum Vahl*). *PHARMACON* 2019; 8(2), 261-267.
30. Tungad R, Pakaya SM, A'sali PWD. Formulasi dan Evaluasi Stabilitas Fisik Sediaan Krim Senyawa Astaxanthin. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education* 2023; 3(1).
31. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 2018;6(1):21-9.
32. Wardiah S. Perbandingan Sifat Fisik Sediaan Krim, Gel, Dan Salep Yang Mengandung Etil P- Metoksisinamat Dari Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga linn.*). Skripsi. 2017;104.
33. Sadewo B. Basmi Penyakit dengan Sirih Merah. Jakarta, Agro Media Pustaka. 2010.
34. Soleha TU, Carolia N, Kurniawan SW. The Inhibition Test Of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) Towards *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Medical Journal of Lampung University* 2015;4:117-22.
35. Perwitasari M, Anindita R, Beandrade MU, Nathalia DD. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii* dan *Eschericia coli*. *Jurnal ILMU DASAR* 2023;24(2):143-50.
36. Radigan EA, Gilchrist NA, Miller MA. Management Of Aminoglycosides In The Intensive Care Unit. *Journal Intensive Care Medicine* 2010;25(6):327-42.
37. Suswati I. Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Pneumoniae*. *Saintika Medika* 2017;8(1):1-5.