

Efek kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Effect combination of ethanol extract of moringa leaf (*Moringa oleifera* L.) and basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) against *Staphylococcus aureus*

Dewi Arum Sari^{1*}, Ismi Rahmawati^{1*}, Ismi Puspitasari¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta
Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Jebres, Surakarta, 57127 Indonesia

Article Info:

Received: 26-08-2023

Revised: 09-09-2023

Accepted: 20-09-2023

✉ E-mail Author: ismirahmawati@setiabudi.ac.id, 02216739a@mhs.setiabudi.ac.id

ABSTRACT

Resistance of bacteria oftenly occur to *Staphylococcus aureus* bacteria. Bacterial resistance to antibiotics causes the increase of death rate. Moringa and basil leaves contain active compounds i.e flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins that have the potential as antibacterial against *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine the activity of the combination of ethanol extract of moringa and basil leaves against *Staphylococcus aureus*. They were extracted by maceration method using 96% ethanol solvent and then identified the group of compounds. Preliminary tests were carried out using the liquid dilution method to obtain the MIC value of each extract. The combination of moringa leaf extract and basil leaf extract was carried out in concentration with a ratio of 1:1; 1:2; and 2:1. The antibacterial activity test was carried out using disc diffusion method, to determine the best results, statistical tests were carried out with Shapiro Wilk and Levene homogeneity continued by one way ANOVA, post-hoc tukey. Determination of combination effect between two extract were done by paper tape method. The results showed that the combination of ethanol extracts of moringa and basil leaves had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The combination concentration of 1:2 was the most effective combination with an average inhibition zone diameter of 15.46 ± 0.003 mm and provided a synergistic combination effect against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: : antibacterial, moringan leaf, basil leaf, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Resistensi bakteri sering terjadi pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Kekebalan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Daun kelor dan daun kemangi mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan daun kemangi terhadap *Staphylococcus aureus*. Daun kelor dan daun kemangi di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu dilakukan identifikasi golongan senyawa. Dilakukan uji pendahuluan dengan metode dilusi cair untuk memperoleh nilai KHM masing- masing ekstrak. Kombinasi ekstrak daun kelor dan daun kemangi dilakukan variasi konsentrasi dengan perbandingan 1:1; 1:2; dan 2:1. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram, untuk menentukan hasil terbaik dilakukan uji statistik dengan Shapiro willk dan homogenitas Levene dilanjutkan one way ANOVA, post-hoc Tukey. Penentuan efek kombinasi kedua ekstrak dengan dilakukan dengan metode pita kertas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi kombinasi 1:2 merupakan kombinasi yang paling efektif dengan rata-rata diameter zona hambat $15,46 \pm 0,003$ mm dan memberikan efek kombinasi sinergis terhadap *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: antibakteri, daun kelor, daun kemangi, *Staphylococcus aureus*

1. PENDAHULUAN

WHO melaporkan bahwa infeksi merupakan penyebab kematian kedua (25%) setelah penyakit kardiovaskular ^[1]. Kejadian penyakit infeksi dengan frekuensi prevalensi tertinggi di Indonesia dipicu oleh bakteri, virus, parasit, dan jamur yang dapat ditularkan dari orang ke orang atau dari hewan ke manusia ^[2]. Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada hewan dan manusia adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang merupakan bakteri normal dalam tubuh manusia seperti pada mulut dan saluran pernafasan, akan tetapi apabila jumlahnya melebihi ambang batas maka dapat menyebabkan terjadinya infeksi. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain infeksi pada kulit, pneumonia, endocarditis, meningitis, abses, selulitis, dan infeksi luka ^[3], ^[4].

Antibiotik secara klinis digunakan untuk menangani penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri, bekerja dengan cara berkaitan dengan molekul protein sel mikroba dan dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme mikroba ^[5]. Penggunaan antibiotik yang kurang atau tidak tepat dapat menyebabkan terjadinya resistensi ^[6]. Kondisi dimana tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik dosis normal atau dengan kadar hambat minimal disebut resistensi. Salah satu bakteri resisten yang sering terjadi adalah *Staphylococcus aureus* ^[7]. Hal ini mendorong penemuan sumber antibakteri lain yang berasal dari bahan alam, seperti tumbuhan dan rempah-rempah serta bahan antibakteri lainnya yang berasal dari mikroorganisme yang bukan antimikroba olahan bahan sintetik ^[8].

Salah satu khasiat dari tanaman kelor yakni sebagai antibakteri ^[9],^[10]. Daun kelor dalam pengobatan tradisional mempunyai potensi sebagai antibakteri karena mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin ^[11],^[12]. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumuran pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 % diperoleh rata-rata diameter zona bunuh ekstrak etanol daun kelor sebesar 7,773; 8,512; 8,827; 9,133; dan 10,011 mm ^[13]. Khasiat tanaman kemangi yakni sebagai antibakteri, yang mempunyai kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, minyak atsiri, alkaloid, dan saponin ^[14]. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 1; 2; 4; 6; 8; dan 10% sebesar 10; 14; 16; 18; 23; dan 25 mm ^[15].

Aktivitas antibakteri dari kombinasi dua atau lebih ekstrak tanaman mempunyai aktivitas yang lebih besar dibandingkan ekstrak tunggal ^[16]. Obat herbal yang berbeda apabila digunakan secara bersamaan diharapkan dapat bekerja sama dengan baik (efek sinergis) dan saling meningkatkan efeknya. Kombinasi zat aktif dalam obat multikomponen berpotensi menghasilkan interaksi dengan sifat sinergis ataupun antagonis. Kombinasi dikatakan menguntungkan apabila zat aktif memiliki

efek sinergis. Efek kombinasi yang diinginkan pada penelitian ini adalah efek sinergis. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan daun kemangi bertujuan untuk memperoleh perbandingan konsentrasi paling efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* serta penelitian terkait hal tersebut belum ada yang melakukan ^[17].

2. METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, *rotary evaporator*, *moisture balance*, vakum, timbangan analitik, oven, tabung reaksi, gelas erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, bejana maserasi, labu bulat, cawan petri, cawan porselin, cawan krusible, batang pengaduk, sendok tanduk, botol semprot, chamber, pipa kapiler, corong, lampu spiritus, ose bulat, botol vial, pinset, pipet tetes, *cryotube* steril 15 mL, kaca objek, jangka sorong digital caliper, dan kertas whatman no. 1. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, bakteri *Staphylococcus aureus*, medium Nutrient agar (NA), medium Mueller Hinton Agar (MHA), medium Vogel Jhonson Agar (VJA), etanol 96%, klindamisin dengan dosis 2µg, larutan fisiologis NaCl 0,9%, DMSO 10%, n-Heksan, plat KLT, etil asetat, aquades, serbuk Mg, HCL 2N, reagen dragendroff, reagen mayer, FeCl₃, mikropipet 10-100 µL, aluminium foil, kertas timbang, dan kertas saring.

Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kelor dan Kemangi

Daun kelor dan daun kemangi yang sudah dilakukan sortasi basah dan sortasi kering ditimbang dan diserbuk dengan blender kemudian diayak dengan ayakan no. 40 sehingga diperoleh serbuk simplisia yang memiliki derajat kehalusan yang relatif homogen. Tahap pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu ±40°C hingga kering. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat.

Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Kelor dan Kemangi

Masing-masing serbuk daun kelor dan daun kemangi ditimbang sebanyak 2 g, kemudian serbuk diukur presentase susut pengeringan menggunakan alat *moisture analyzer* pada suhu 105°C selama 30 menit atau hingga bobot tetap yang ditandai dengan bunyi pada alat.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Pembuatan ekstrak daun kelor dan daun kemangi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 g serbuk simplisia direndam dalam 5000 mL etanol. Maserasi dilakukan selama 24 jam sesekali diaduk. Hasil residu kemudian disaring untuk memisahkan cairan etanol dengan residu, residu hasil maserasi dilakukan remaserasi menggunakan 50 bagian pelarut pada maserasi pertama selama 24 jam kemudian disaring. Ekstrak cair lalu dimasukkan ke dalam

labu erlenmeyer bulat lalu diuapkan dengan *rotary evaporatory* dengan suhu 45°C dengan kecepatan 60 rpm untuk memperoleh ekstrak kental [18].

Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Penetapan kadar air serbuk menggunakan alat sterling-bidwell, sebanyak 10 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan toluen yang sudah dijenuhkan dengan air sebanyak 200 mL, proses pemanasan dihentikan apabila air sudah tidak menetes pada tabung berskala. Kadar air dapat dilihat dari volume air yang terukur pada alat dan ditetapkan dalam satuan persen sebagai kadar air sampel. Kadar air ekstrak ditetapkan dengan metode gravimetri. Ekstrak etanol daun kelor dan kemangi masing-masing sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam cawan *crusible*, kemudian dioven pada suhu 105°C selama 5 jam lalu ditimbang. Cawan di oven dan dikeringkan kembali pada selang waktu 1 jam hingga diperoleh bobot konstan kurang dari 0,25% [19].

Skrining Fitokimia

Skrining yang dilakukan menggunakan uji warna dengan cara :

a. Flavonoid

Sampel sejumlah 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan aquades panas 1 mL tambahkan 0,05 g serbuk Mg, 1 mL HCl 2N digojok serta didiamkan terurai/memisah. Reaksi positif flavonoid ditandai dengan warna merah kekuningan yang menunjukkan adanya senyawa flavonon, flavonol, dan hidroflavonol [8],[20].

b. Alkaloid

Sampel sejumlah 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan aquades panas 1 mL, lalu ditambahkan 0,5 mL HCl 2%. Larutan sampel dibagi menjadi 2 tabung sama banyak, Tabung reaksi ditambahkan 3 tetes reagen Dragendroff, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan berwarna jingga. Tabung kedua ditambahkan 3 tetes reagen mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih atau kuning [21],[22].

c. Saponin

Sampel sejumlah 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan aquades panas 1 mL, lalu ditambahkan lagi aquades lagi sebanyak 10 mL, didinginkan kemudian digojok kuat selama 10 detik hingga terbentuk buih yang mantap selama <10 menit. Reaksi positif saponin ditandai dengan penambahan 1 tetes HCl 2N (asam klorida) tidak menghilangkan buih [21],[23].

d. Tanin

Sampel sejumlah 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan aquades panas 1 mL, lalu ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1 %. Reaksi positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman [21].

Identifikasi Minyak Atsiri

Silika gel GF254 digunakan sebagai fase diam dan dielusi dengan fase gerak berupa n-heksan : p-etil asetat (9:1 v/v). Pertama oven plat silika gel GF254 selama kurang lebih 3 menit untuk menghilangkan kandungan air yang masih ada pada plat silika gel GF254. Setiap ekstrak kemudian ditotolkan pada garis batas bawah plat silika gel GF254 dengan 10 µL eugenol sebagai baku pembanding. Plat KLT yang telah ditotolkan dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak. Analisis dilakukan di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Penampak bercak menggunakan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat P^[19].

Uji Aktivitas bakteri

a. Identifikasi Pewarnaan Gram

Preparat yang telah difiksasi ditetesi dengan pewarna Gram A (warna kristal violet) selama 1 menit, bilas dengan air mengalir. Preparat ditetesi Gram B (lugol iodine sebagai mordan) dan didiamkan selama 1 menit, bilas dengan air mengalir. Pewarna gram B pada preparat dilunturkan dengan Gram C (alkohol 96%) dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir. Preparat ditetesi pewarna Gram D (cat safranin) ditunggu selama 2 menit setelah itu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan, selanjutnya preparat diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x. Hasil positif untuk bakteri Gram positif tampak koloni bulat bergerombol dan berwarna ungu seperti buah anggur dan Gram negatif berwarna merah^{[24],[25]}.

b. Identifikasi pada Media *Vogel Jhonson Agar (VJA)*

Media VJA steril yang telah ditambah 2 tetes kalium telurit 1% dimasukkan dalam cawan petri didiamkan pada suhu ruang hingga memadat. Bakteri uji diinokulasi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati pertumbuhan bakteri. Hasil positif yang dihasilkan berwarna hitam dan sekitar koloni menjadi warna kuning^[24].

c. Identifikasi Biokimia dengan Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan 0,05 mL hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* diatas *object glass* yang bersih. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara atau buih^[25].

d. Identifikasi Biokimia dengan Uji Koagulase

Pengujian dilakukan dengan cara sebanyak 1 ose biakan bakteri dimasukkan kedalam 5 ml plasma kelinci dan diinkubasi selama 4 jam atau lebih. Hasil uji menunjukkan positif adanya koagulase jika didalam tabung terdapat gumpalan seperti gel^{[24],[25]}.

e. Uji Antibakteri dengan Dilusi

Pembuatan larutan stok 80% kemudian dibuat seri konsentrasi pengenceran 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, dan 0,625% dari masing-masing ekstrak. Pelarut yang digunakan yakni DMSO 10%. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati penghambatan pertumbuhan bakteri dengan

membandingkan kekeruhan masing-masing tabung dengan kontrol positif. Konsentrasi yang ditetapkan sebagai KHM dilakukan penanaman bakteri di media MHA (Mueller-Hinton Agar), dari beberapa tabung dengan hasil jernih di goreskan pada media MHA. Diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Jika tidak ada koloni bakteri pada media MHA setelah diinkubasi, ditetapkan sebagai KBM.

f. Uji Difusi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi secara Tunggal dan Kombinasi

Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi padat dengan sumuran. Suspensi bakteri terstandar Mc Farland 0,5 diambil dengan kapas lidi sebanyak 1 ose dioleskan pada cawan petri yang berisi media MHA, didiamkan 5 menit pada suhu kamar. Setelah itu, dibuat lubang dengan boorprop, lalu masing-masing sumuran diisi dengan 50 µL kontrol negatif, kombinasi ekstrak 1:1, 1:2, 2:1^[13]. Ekstrak tunggal kelor 5%, dan ekstrak tunggal kemangi 5%, untuk kontrol positif digunakan metode kertas cakram dengan ukuran 6 mm, cakram diletakkan pada media MHA menggunakan pinset. Diinkubasi pada suhu 35 ± 2°C selama 24 jam, lalu diukur zona hambat yang terbentuk^[20].

g. Uji Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Pengujian sifat kombinasi dilakukan dengan metode pita kertas pada perbandingan konsentrasi kombinasi paling efektif dari ekstrak etanol daun kelor dan kemangi. Kombinasi ekstrak daun kelor dan kemangi dilakukan perendaman, ekstrak kelor dilakukan perendaman pada konsentrasi 5% sedangkan ekstrak kemangi dilakukan perendaman pada konsentrasi 10% selama 15 menit, pita kertas menggunakan kertas whatman nomor 1 yang telah dipotong menjadi ukuran 1 x 3 cm. Pita kertas yang telah kering diletakkan diatas MHA yang telah digoreskan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan mempertemukan salah satu sisi dengan membentuk sudut 90° (tegak lurus membentuk huruf "L"), salah satu ujungnya tumpang tindih dengan pita lainnya pada media. Cawan petri dilakukan inkubasi pada suhu 35 ± 2°C selama 18–24 jam. Pola daerah jernih yang terbentuk disekeliling pita kertas digunakan dalam menentukan sifat kombinasi.

Analisis Data

Data yang telah diperoleh kemudian dianalisa secara statistik dengan menggunakan aplikasi IBM SPSS (*Statistical Package For The Social Sciences*) versi 26, yang dilakukan uji normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak dan uji homogenitas *Levene* untuk mengetahui data homogen atau tidak. Jika data terdistribusi normal dan homogen nilai $p > 0,05$ dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way ANOVA*. Hasil ANOVA menunjukkan $p\text{-value} < 0,05$ (ada perbedaan), maka harus dilakukan uji lanjut (*Post Hoc Test*) dengan uji *tukey*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Rendemen Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kelor dan Kemangi

Daun kelor dan kemangi sebanyak 8 kg didapatkan bobot kering pada daun kelor 1013 g dengan nilai rendemen sebesar 12,67% dan pada daun kemangi didapatkan bobot kering pada 1236 g sehingga diperoleh rendemen sebesar 15,45%. Daun kelor kering sejumlah 1013 g diserbuk diperoleh bobot 896 g, sehingga didapatkan rendemen sebesar 88,45% dan daun kemangi kering sejumlah 1236 g diserbuk diperoleh bobot 1089 g, sehingga didapatkan rendemen sebesar 88,11%. Tujuan penyerbukan yakni untuk memperbesar luas permukaan serbuk simplisia maka proses penyarian akan semakin efektif.

Hasil Rendemen Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Pembuatan ekstrak etanol daun kelor dan kemangi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, diperoleh rendemen ekstrak etanol daun kelor dan daun kemangi masing-masing sebesar 21,54% dan 18,21%. Menurut FHI edisi II tahun 2017, hasil rendemen ekstrak kental daun kelor yang baik tidak kurang dari 9,2% sedangkan hasil rendemen dari ekstraksi serbuk daun kemangi didapatkan nilai sebesar 18,21%. Menurut FHI edisi II tahun 2017, hasil rendemen ekstrak kental daun kemangi yang baik tidak kurang dari 5,6%. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun kelor dan daun kemangi sudah memenuhi syarat rendemen ekstrak.

Hasil Penetapan Susut Pengerinan Serbuk Simplisia Daun Kelor dan Kemangi

Susut pengeringan serbuk daun kelor dan kemangi diukur menggunakan alat *moisture balance*, bertujuan untuk mengetahui batas maksimal besarnya kandungan kelembapan yang dimiliki serbuk. Hasil susut pengeringan serbuk daun kelor dan kemangi diperoleh rata-rata sebesar 7,77% dan 7,47% yang artinya memenuhi persyaratan penetapan kadar serbuk yaitu tidak lebih dari 10%^[19]. Kadar kelembapan pada serbuk disarankan tidak terlalu tinggi atau lebih dari ketetapan monografi karena kandungan kadar air pada simplisia akan menyebabkan kerusakan atau menyebabkan penurunan kualitas dari simplisia.

Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Hasil penetapan kadar air serbuk daun kelor dan kemangi sebesar 7,66% dan 8,5%. Kadar air pada serbuk daun kelor dan kemangi yang didapatkan memenuhi syarat karena menurut farmakope herbal Indonesia yaitu kadar air pada suatu serbuk tidak lebih dari 10%^[19]. Kadar air serbuk daun kelor dan kemangi diukur menggunakan alat Sterling-Bidwell, bertujuan untuk mengetahui hasil presentase kadar air yang dikandung oleh serbuk. Tingginya kandungan kadar air dapat menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme, sehingga bisa menurunkan dan merusak mutu pada serbuk.

Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kelor dan kemangi didapatkan sebesar 5,04% dan 6,71%. Kadar air ekstrak daun kelor dan kemangi telah memenuhi

persyaratan kadar air ekstrak daun kelor dan kemangi yaitu tidak lebih dari 10% dan 12% [19]. Metode yang digunakan dalam penetapan kadar air ekstrak yaitu gravimetri. Penetapan kadar air ekstrak bertujuan untuk mengetahui jumlah air yang terkandung dalam ekstrak. Kemurnian ekstrak berkaitan dengan kadar air didalamnya, ekstrak dengan kadar air tinggi berpotensi menjadi media bagi jamur dan kapang untuk tumbuh yang dapat menurunkan kualitas dan stabilitas ekstrak.

Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak

Identifikasi kandungan senyawa pada penelitian ini menggunakan uji warna, dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam kedua ekstrak. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kelor dan kemangi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor dan kemangi mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Uji Warna Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Kandungan Senyawa	Pustaka	Hasil		Keterangan
		Kelor	Kemangi	
Flavonoid	Terbentuk warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol [4]	+	+	Terbentuk warna merah kekuningan (dibagian atas)
Saponin	Terbentuk buih yang konsisten selama 30 detik [4]	+	+	Terbentuk buih
Alkaloid	a. Reagen dragendoff : endapan berwarna jingga [4] b. Reagen mayer : terbentuk gumpalan putih/kuning [4]	+	+	a. Reagen dragendoff: terbentuk endapan berwarna jingga b. Reagen mayer: terbentuk endapan berwarna kuning
Tanin	Terbentuk warna hijau aau biru kehitaman [4]	+	+	Terbentuk warna hijau kehitaman

Keterangan :

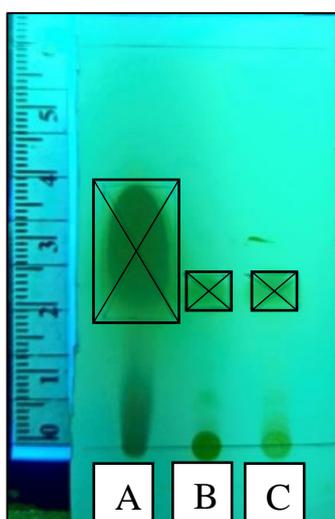
- (+) : Positif mengandung golongan senyawa kimia
- (-) : Negatif mengandung golongan senyawa kimia

Hasil identifikasi uji warna pada ekstrak etanol daun kelor dan kemangi sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak etanol daun kelor dan kemangi mengandung metabolit sekunder yang mampu membunuh bakteri seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin [20].

Hasil Identifikasi Minyak Atsiri

Identifikasi dilakukan dengan KLT karena adanya pemisahan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut atau eluen yang digunakan. Fase diam plat silika GF₂₅₄ karena memiliki sifat relatif polar sedangkan fase gerak yang digunakan eluen semi-polar n-heksan:p-etil asetat (9:1 v/v). Baku pembanding yang digunakan yakni eugenol. Plat silika GF₂₅₄ dipanaskan dengan oven ± 30 menit dengan suhu 110°C yang berfungsi untuk mengikatkan daya serap plat dengan menghilangkan kandungan air yang dimungkinkan masih ada di dalam plat. Penjenuhan dilakukan dengan tujuan untuk mengoptimalkan proses

pengembangan fase gerak, memperkecil penguapan pelarut dan menghasilkan bercak lebih bundar dan lebih baik. Hasil identifikasi diperoleh nilai Rf baku pembanding yaitu sebesar 0,46, Rf ekstrak etanol daun kelor 0,36 dan Rf ekstrak etanol daun kemangi 0,38. Hasil perbedaan nilai Rf ini dimungkinkan karena pada ekstrak etanol daun kelor dan kemangi tidak hanya mengandung senyawa minyak atsiri berupa eugenol. Berdasarkan penelitian diperoleh nilai Rf yang hampir mirip dengan baku pembanding eugenol. Hasil setelah dilakukan penyemprotan menggunakan anisaldehyd-asam sulfat untuk menampakkan noda atau bercaknya diperoleh warna bercak coklat keunguan, dimana hal tersebut sesuai dengan literatur bahwa coklat sampai ungu menunjukkan bahwa mengandung minyak atsiri^[27].



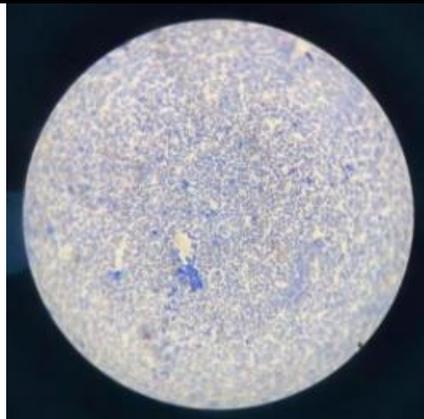
Gambar 1. Hasil uji KLT

Keterangan : A. Baku eugenol. B. Ekstrak etanol daun kelor. C. Ekstrak etanol daun kemangi

Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Hasil identifikasi pewarnaan Gram

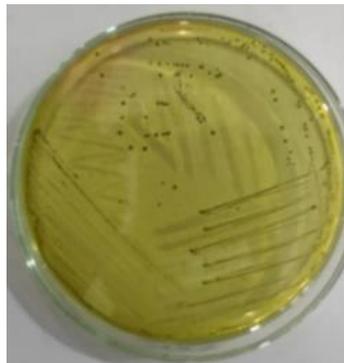
Hasil pewarnaan Gram diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x menunjukkan jenis bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan ciri morfologi koloni berbentuk *coccus*, berbentuk bulat, berwarna ungu, dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif menghasilkan warna ungu karena bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan 1 lapis membrane sel, sehingga mampu mengikat kristal violet sebagai pewarna primer selama proses pewarnaan Gram ^[28].



Gambar 2. Hasil uji pewarnaan Gram

b. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media Vogel Jhonson Agar (VJA)

Hasil pengujian yang didapatkan koloni berwarna hitam yang disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* mereduksi potassium telurit yang ditambahkan pada media menjadi logam telurit dan sekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* menfermentasi mannitol menjadi asam^[28].



Gambar 3. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media VJA

c. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan uji katalase

Staphylococcus aureus mampu menghasilkan enzim katalase dan koagulase yang berperan sebagai faktor virulensi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan gelembung-gelembung gas O_2 yang artinya menghasilkan reaksi katalase yang positif. Gelembung gas terbentuk karena adanya pemecahan hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim katalase^[28]. Reaksi penguraian H_2O_2 oleh enzim katalase sebagai berikut : $2H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$.



Gambar 3. Hasil uji katalase

d. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan uji koagulase

Uji koagulase dilakukan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Staphylococcus sp* untuk mengetahui enzim koagulase yang dihasilkan. Pengujian ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* yang bersifat koagulase positif dan *Staphylococcus epidemidis* yang bersifat koagulase negatif. Koagulase positif ditunjukkan dengan adanya penggumpalan, dimana penggumpalan tersebut terjadi karena adanya reaksi antara plasma kelinci yang ditambah sitrat atau oksalat dengan koagulase untuk membentuk esterase, aktivitas penggumpalan, dan mengaktivasi protombin menjadi trombin [29].



Gambar 5. Hasil uji koagulase

Hasil Uji Antibakteri dengan Dilusi

Uji dilusi cair untuk menentukan KHM dan KBM didasarkan pada prinsip pengenceran [3]. Seri pengenceran ekstrak dilusi dimulai dari konsentrasi 80%, 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, dan 0,625%. Suspensi bakteri digunakan sebagai kontrol positif untuk mengetahui apakah media yang digunakan cocok untuk menumbuhkan bakteri yang digunakan dan sebagai pembanding kekeruhan tabung uji yang tidak ditambahkan suspensi bakteri, sedangkan kontrol negatif menggunakan ekstrak untuk mengetahui apakah ekstrak steril atau tidak selama uji aktivitas antibakteri. Hasil uji KHM ekstrak etanol daun kelor dan kemangi tidak dapat ditentukan, hal ini dikarenakan seri konsentrasi terlalu keruh yaitu berwarna hijau tua. Warna larutan yang gelap mempersulit dalam pengamatan kejernihan tabung yang berisi campuran ekstrak, media BHI, dan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga dilakukan penentuan KBM. Penentuan nilai KBM didasarkan atas konsentrasi terendah dari ekstrak yang tidak ditumbuhi bakteri pada goresan media MHA. Nilai KBM ekstrak etanol daun kelor dan kemangi sebesar 5% yang artinya pada konsentrasi 5% kedua ekstrak baru memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Kemampuan bunuh kedua ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5% sangat dipengaruhi oleh senyawa aktif pada masing-masing ekstrak yang bertanggung jawab sebagai antibakteri seperti tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri [20],[30].

Tabel 2. Hasil uji KBM ekstrak etanol daun kelor dan kemangi

Konsentrasi	Ekstrak daun kelor			Konsentrasi	Ekstrak daun kemangi		
	I	II	III		I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-	Kontrol (-)	-	-	-
80%	-	-	-	80%	-	-	-
40%	-	-	-	40%	-	-	-
20%	-	-	-	20%	-	-	-
10%	-	-	-	10%	-	-	-
5%	-	-	-	5%	-	-	-
2,5%	+	+	+	2,5%	+	+	+
1,25%	+	+	+	1,25%	+	+	+
0,625%	+	+	+	0,625%	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak terdapat pertumbuhan bakteri (konsentrasi yang dapat membunuh bakteri)
(+) : Terdapat pertumbuhan bakteri (konsentrasi yang tidak dapat membunuh bakteri)

Hasil Uji Difusi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi secara Tunggal dan Kombinasi

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi

Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SD
	I	II	III	
EEDKr : EEDKi (1:1)	14,82	14,78	14,81	14,80 ± 0,006 ^a
EEDKr : EEDKi (1:2)	15,47	15,45	15,46	15,46 ± 0,003 ^a
EEDKr : EEDKi (2:1)	14,36	14,31	14,33	14,33 ± 0,008 ^a
Kelor 5%	8,87	8,83	8,85	8,85 ± 0,007 ^a
Kemangi 5%	11,76	11,77	11,73	11,75 ± 0,007 ^a
Kontrol (+)	31,33	31,88	31,37	31,53 ± 0,10
Kontrol (-)	0	0	0	0 ± 0

Keterangan :

- EEDKr : EEDKi (1:1) : Ekstrak etanol daun kelor 5% : Ekstrak etanol daun kemangi 5%
EEDKr : EEDKi (1:2) : Ekstrak etanol daun kelor 5% : Ekstrak etanol daun kemangi 10%
EEDKr : EEDKi (2:1) : Ekstrak etanol daun kelor 10% : Ekstrak etanol daun kemangi 5%
Kontrol (-) : DMSO 10%
Kontrol (+) : Klindamisin dengan dosis 2µg
^a : Berbeda secara sig dengan kontrol +

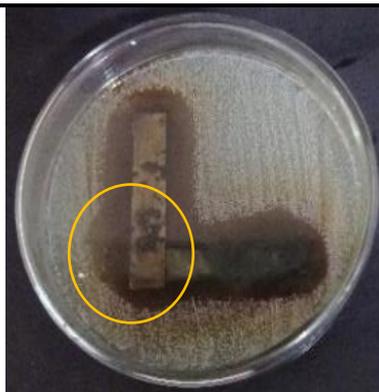
Prinsip kerja metode difusi yakni difusi senyawa antibakteri ke dalam media padat yang telah diinokulasi mikroba uji [12]. Metode difusi yang digunakan penelitian ini adalah difusi sumuran karena memudahkan penentuan aktivitas antibakteri dari sediaan dengan membuat zona penghambatan pertumbuhan bakteri adalah area jernih di sekitar sumuran. Pelarut yang digunakan yakni DMSO 10%, hal ini dikarenakan DMSO dapat melarutkan sebagian besar senyawa baik polar maupun non polar [31]. Penggunaan DMSO 10% karena pada konsentrasi tersebut tidak memberikan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. MHA digunakan sebagai media karena media ini memiliki kandungan nutrisi yang cukup untuk Sebagian besar kultur bakteri. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah klindamisin *disk*. Klindamisin digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan antara sampel dengan antibiotik yang diketahui potensinya

sebagai antibakteri serta memeriksa bakteri uji resisten atau tidak. Klindamisin termasuk dalam antibiotik spektrum sempit yang hanya bekerja pada bakteri Gram Positif termasuk *S. aureus* [25].

Hasil signifikansi masing-masing kombinasi $>0,05$ dan uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi $>0,05$ disimpulkan bahwa data terdistribusi secara normal dan homogen dilanjutkan analisis ANOVA *one way*. Data hasil uji ANOVA *one way* memiliki nilai signifikansi $0,000 (< 0,05)$ adanya perbedaan secara bermakna pada aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak. Pengujian dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey* diperoleh hasil bahwa diameter zona hambat pada kombinasi ekstrak 1:1, 1:2, dan 2:1 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif, ditandai nilai signifikansi $0,000 (<0,05)$. Dilakukan pembacaan *output Homogeneous Subsets* untuk mengetahui variabel yang mempunyai perbedaan yang tidak terlalu signifikan. Hasil dari semuapenelitian berbeda secara signifikan dengan kontrol positif dimana kontrol positif lebih baik daripada ekstrak tunggal kelor, kemangi, kombinasi 1:1; 1:2; dan 2:1, apabila dibandingkan dengan kontrol negatif semua berbeda secara nyata dengan kontrol negatif dimana ekstrak tunggal kelor, kemangi, kombinasi 1:1; 1:2; dan 2:1 memiliki aktivitas antibakteri akan tetapi tidak sebaik kontrol positif. Pemilihan kombinasi dilanjutkan ke uji efek kombinasi ekstrak, dibaca pada hasil *uji post hoc tukey* pada bagian *homogeneous subsets*. Kontrol negatif terletak pada subsets 1, ekstrak tunggal kelor 5% pada subset 2, ekstrak tunggal kemangi 5% pada subset 3, kombinasi 1:1 pada subset 5, kombinasi 1:2 pada subset 6, kombinasi 2:1 pada subset 4, dan kontrol positif terdapat pada subset 7. Kombinasi 1:2 dipilih sebagai kombinasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dikarenakan hasil analisis *post hoc tukey* paling mendekati dengan *subset* kontrol positif.

Hasil Uji Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kelor dan Kemangi

Metode pengujian pita kertas bertujuan untuk mengetahui sifat interaksi antara ekstrak etanol daun kelor dan kemangi. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi menggunakan perbandingan 1:2. Hasil pengujian kombinasi terlihat bahwa pada pita kertas yang diberikan larutan kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi terdapat adanya daya hambat secara melebar yang menghubungkan antara atau dekat pita kertas yang saling tumpang tindih atau pada sudut 90° . Interaksi antara ekstrak etanol daun kelor dan kemangi dapat disimpulkan bersifat sinergis.



Gambar 6. Hasil uji efek kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi

Kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi memberikan efek sinergis karena kedua ekstrak mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri yang memiliki mekanisme kerja berbeda-beda sebagai antibakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan ^[16] bahwa akan terjadi interaksi dari kandungan senyawa yang berbeda dalam masing-masing ekstrak sehingga efek antibakteri yang dihasilkan akan saling menguatkan dan dapat menghasilkan efek sinergis. Menurut senyawa flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Alkaloid mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dengan cara merusak komponen penyusun dinding sel (peptidoglikan) pada sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna dan menyebabkan sel bakteri mati ^[33].

Mekanisme senyawa saponin sebagai antibakteri yakni dengan menurunkan tegangan permukaan pada dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan peningkatan permeabilitas atau kebocoran sel dan menyebabkan bakteri pecah atau lisis ^{[13],[17]}. Mekanisme dari senyawa tanin yakni dengan cara merusak membran sel bakteri ^[34]. Minyak atsiri bekerja sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri oleh senyawa fenol yang ada didalamnya dan merusak membran sel bakteri dengan melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme dan kondisi ini pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri ^[35].

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

- a. Konsentrasi bunuh minimum ekstrak tunggal daun kelor dan kemangi dengan nilai yang sama yakni 5%.

- b. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi perbandingan 1:2 merupakan perbandingan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.
- c. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan kemangi bersifat sinergis terhadap *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹ WHO. 2012. *Infection Diseases are the Biggest Killer of the Young*
- ² Muhtadi, A. R. Y. 2012. Aktivitas antibakteri etanol dan fraksi kulit batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Kiebsiella pneumoneae* dan *Staphylococcus epidermidis*. SKRIPSI. Surakarta : Univ Muhammadiyah Surakarta.
- ³ Jawetz, E., Melnick G.E., dan Adelberg, C.A. 2017. *Medical Microbiology*, 27 ED. Jakarta: EGC.
- ⁴ Oktalia. 2009. *Kapita Selekta Dispensing I*. Yogyakarta : UGM Press.
- ⁵ Amin, L. Z. 2014. Pemilihan Antibiotik yang Rasional. *Medicinus*, 27 (3): 40-45.
- ⁶ Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun (*Eugenia Cumini* Merr). *Jurnal Sains Tek Far*. 11 (2) : 88-93
- ⁷ Humaida, R. 2014. Strategy to Handle Resistance of Antibiotiks. *Jurnal Majority*, 3 (7): 113-120.
- ⁸ Wijayakusuma, H., dan Dalimarta, S. 2006. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- ⁹ Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilani, A.H. 2007. Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21 (1) :17-25.
- ¹⁰ Toripah, S. S., Abidjulu, J., dan Wehantouw, F. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam). *Pharmacon : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3 (4) : 37 – 43.
- ¹¹ Kasolo J.M., Bimenya G.S., Ojok L., dan J Wogwal O. 2011. Phytochemicals and acute Toxicity of *Moringa Oleifera* roots in mice. *Journal of pharmacognosy and Phytotherapy* 3: 38-42.
- ¹² Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., dan Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri *starter yogurt* dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- ¹³ Maharani, M. D., Gama, S. I., dan Masruhim, M. A. 2017. Uji Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dan daun salam (*Syzygium polyanthum* Walp). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 6 : 48-53.

- ¹⁴ Hadipoentyanti, E., dan Wahyuni, S. 2008. Keragaman selasih (*Ocimum Spp.*) berdasarkan karakter morfologi, produksi mutu herba. *Jurnal Littri*, 14 (4) : 141–148.
- ¹⁵ Khashan, A. A., Chyad, A. H., dan Aref, M. A. 2015. Study of Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* Against *Staphylococcus aureus* in Vitro. *Journal of university of Anbar for Pure science*, 9(2) : 8- 12.
- ¹⁶ Otieno, J. N., Hosea, K. M.M., Lyaruu, H.V., and Mahunnah, R. L. A. 2008. MultiPlant or Single-Plant Extracts, Which is the Most Effective for Local Healing in Tanzania. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5 (2): 165- 172.
- ¹⁷ Robinson, T. 1995. *Kandungan senyawa organik tumbuhan tinggi. Diterjemahkan oleh kosasih padmawinata*. ITB: Bandung.
- ¹⁸ Dima, L. R. Fatimawali., dan Lolo, W.A. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 5 (2) : 282 – 289.
- ¹⁹ Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- ²⁰ Angelina, M., Turnip, M., dan Khotimah, S. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Protobiont*, 4 (1) : 184 – 189.
- ²¹ Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun (*Eugenia Cumini* Merr). *Jurnal Sains Tek Far.* 11 (2) : 88-93.
- ²² Izzah, N., Kadang, Y., dan Permatasari, A. 2019. Uji identifikasi senyawa alkaloid ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) dari Kab. Ende Nusa Tenggara Timur secara kromatografi lapis tipis. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 5 (1): 52-56.
- ²³ Wulandari, A., Farida, Y., dan Taurhesia, S. 2020. Perbandingan aktivitas ekstrak daun kelor dan teh hijau serta kombinasi sebagai antibakteri penyebab jerawat. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(2): 23-29.
- ²⁴ Agustie, A. W. D., dan Samsumaharto, R. A. 2013. Uji aktivitas antibakteri ekstrak maserasi daun kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 6 (2): 14-19.
- ²⁵ Dewi, A. K. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31 (2): 138-150.
- ²⁶ Erviana, L., Malik, A., dan Najib, A. 2016. Uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan menggunakan metode dpph. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2): 164-168.
- ²⁷ Permatasari, A., Kusmita, L., dan Franyoto, Y. D. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri

Kombinasi Minyak Atsiri Umbi Bawang merah (*Allium Cepa* L.) Dan Daun Kemangi (*Ocimum Americanum* L.) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* Atcc 25923 Secara in Vitro. *Media Farmasi Indonesia*, 10(2), 151355.

²⁸ Pulungan, A. S. dan Tumangger, D. E. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase dari Daun Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume). *BioLink* 5(1) : 72-80.

²⁹ Lestari, F. B., dan Salasia, S. I. O. 2015. Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Isolat Susu Sapi Perah Berdasar Keberadaan Protein-A pada Media Serum Soft Agar terhadap Aktivitas Fagositosis Secara In Vitro. *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2), 2- 3.

³⁰ Pandey, A., Pandey, R. D., Tripathi, P., Gupta, P. P., Haider, J., and Bhatt, S. 2012. Moringa oleifera lam.(sahijan)-a plant with a plethora of diverse therapeutic benefits: An updated retrospection. *Medicinal and Aromatic Plants*, 1 (1) : 2- 8.

³¹ Triatmoko, B., Syarifudin, A., dan Nuri. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Terhadap *Salmonella typhi*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 8(3): 177-182.

³² Agustin, B. A., N. Puspawty, R. M. Rukmana. 2018. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Pluchaea indica* Less.) dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika* 11(2): 79- 87.

³³ Kursia, S., Lebang, J. S., Taebe, B., Burhan, A., Rahim, W. O. R., dan Nursamsiar, N. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etilasetat daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 3(2): 72-77.

³⁴ Widowati, I., Efiyati, S., dan Wahyuningtyas, S. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri pembusuk ikan segar (*Pseudoonas aeruginosa*). *Pelita-Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*, 9 (2) : 146– 157.

³⁵ Maryati., Fauzia, R. S., dan Rahayu, T. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 8 (1) : 30- 38