

**KOMBINASI EKSTRAK METANOL DAUN KETEPENG CINA (*Cassia alata* Linn.) DENGAN ENAM EKSTRAK TUMBUHAN TERPILIH DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

**Lisna Hamni<sup>1</sup>, Avidlyandi Avidlyandi<sup>2</sup>, Charles Banon<sup>3</sup>, Khafit Wiradimafan<sup>4</sup>, Deni Agus Triawan<sup>5</sup>, Risky Hadi Wibowo<sup>6</sup>, Morina Adfa<sup>7</sup>**  
Universitas Bengkulu<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup>  
morina@unib.ac.id<sup>7</sup>

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri dan efek kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* Linn.) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan adalah difusi sumuran dan metode pita kertas. Konsentrasi ekstrak uji 100 mg/mL (1:1), DMSO 50% v/v digunakan sebagai kontrol negatif dan antibiotik clindamycin sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih menghasilkan rata-rata diameter zona hambat yang lebih besar daripada rata-rata diameter zona hambat masing-masing ekstrak tunggal. Namun, rata-rata diameter zona hambat kombinasi tersebut tidak lebih besar daripada penjumlahan rata-rata diameter zona hambat dari masing-masing ekstrak tunggalnya. Simpulan, kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih memiliki efek *additive/indifferent* dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

**Kata Kunci:** Antibakteri, *Cassia alata* Linn, Kombinasi, *Staphylococcus aureus*

**ABSTRACT**

*This study aimed to determine the antibacterial activity and the effect of the combination of methanol extract of the leaves of Chinese ketepeng (*Cassia alata* Linn.) with six selected plant extracts against *Staphylococcus aureus* bacteria. The method used is well diffusion and paper tape method. The concentration of the test extract was 100 mg/mL (1:1), DMSO 50% v/v was used as a negative control and the antibiotic clindamycin as a positive control. The results showed that most of the combinations of the methanol extract of the Chinese ketepeng leaf (*C. alata*) with the six selected plant extracts produced an average diameter of the inhibition zone, which was greater than the average diameter of the inhibition zone of every single extract. However, the average diameter of the combined inhibition zones was not more significant than the sum of the average diameters of the inhibition zones of every single extract. In conclusion, the combination of the methanol extract of the Chinese ketepeng leaf (*C. alata*) with six selected plant extracts had *additive/indifferent* effects in inhibiting the growth of *S. aureus*.*

**Keywords:** Antibacterial, *Cassia alata* Linn, Combination, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang dapat dijumpai pada selaput lendir dan kulit manusia, *S. aureus* termasuk dalam bakteri gram positif yang dapat menyebabkan penyakit klinis penyebab infeksi atau bersifat patogen (Husna, 2018; Taylor & Unakal, 2021). Bakteri *S aureus* dapat bersifat patogen karena mempunyai kemampuan untuk melakukan pembelahan dan menyebar ke dalam jaringan tubuh (Husna, 2018). Umumnya, *S aureus* tidak menyebabkan infeksi pada kulit yang sehat, tetapi jika dibiarkan memasuki jaringan dalam tubuh atau aliran darah maka *S aureus* akan menimbulkan berbagai infeksi yang berpotensi serius (Taylor & Unakal, 2021).

Penggunaan obat tradisional di Indonesia telah dilakukan secara turun-temurun karena dipercayai lebih aman dan memiliki efek samping yang relatif kecil. Pengetahuan mengenai khasiat obat tradisional tersebut kebanyakan berupa data empiris, oleh sebab itu perlu membuktikan khasiat obat tradisional secara ilmiah untuk mengetahui ketepatan penggunaan obat (Sumayyah & Salsabila, 2017). Bakteri *Staphylococcus aureus* dikenal memiliki kemampuan untuk kebal terhadap berbagai antibiotik. Istilah *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* atau MRSA merupakan mutasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* serta dapat menyebabkan infeksi serius yang membutuhkan perawatan intensif di rumah sakit. Maka dari itu, dibutuhkan eksplorasi antibiotik atau antibakteri terbaru untuk menangani penyakit akibat patogen tersebut. Salah satu sumber yang dapat dimanfaatkan untuk eksplorasi agen antibakteri yaitu berasal dari tumbuhan (Gnanamani et al., 2017).

Uji kandungan fitokimia pada ekstrak metanol daun ketepeng cina oleh Asmah et al., (2020) menunjukkan bahwa daun ketepeng cina mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder diantaranya, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, antrakuinon, terpenoid dan steroid. Senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki kemampuan bioaktivitas, salah satunya aktivitas antibakteri yaitu dengan cara menekan atau membasmi pertumbuhan bakteri patogen (Sadeek & Abdallah, 2019).

Pencampuran ekstrak bahan alam perlu diketahui mengenai keefektifannya untuk menghambat atau membunuh bakteri. Penentuan efek yang ditimbulkan dari kombinasi tersebut dapat ditentukan berdasarkan daya hambat dari kombinasi ekstrak tumbuhan terhadap bakteri uji. Ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* Linn.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumonia* pada konsentrasi uji 10%, 30%, 50%, 70% dan 90% (Lathifah et al., 2021). Adfa et al., (2021) telah melakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan ekstrak metanol biji alpukat terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Konsentrasi kombinasi ekstrak yang diuji adalah 4 mg/mL, 8 mg/mL dan 12 mg/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak metanol biji alpukat dan daun ketepeng cina terjadi efek *additive/indifferent*, dimana tidak terjadinya peningkatan aktivitas yang lebih besar dari penjumlahan kedua aktifitas secara tunggal, maupun tidak terjadinya penurunan aktivitas setelah dikombinasikan. Perlu dicari kombinasi ekstrak lainnya dengan ekstrak metanol ketepeng cina untuk mendapatkan efek kombinasi yang lebih baik.

Ekstrak tumbuhan terpilih yang akan dikombinasikan dengan ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) telah dilaporkan memiliki aktivitas

antibakteri dengan berbagai jenis bakteri. Ekstrak daun sambang darah (*Excoecaria cochinchinensis* L.) memiliki daya hambat terhadap patogen tumbuhan padi, *Xanthomonas oryzae* pv (Hai et al., 2018). Ekstrak daun ruku-ruku (*Ocimum tenuiflorum* L.) menghasilkan daya hambat terhadap bakteri *S. aureus*, *Proteus vulgaris*, dan *Escherichia coli* (Adhikari et al., 2020). Ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) menghasilkan daya hambat terhadap *S. epidermidis* (Adfa et al., 2021). Ekstrak metanol daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *S. epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* (Dermawan et al., 2015). Ekstrak daun bungli (*Oroxylum indicum* (L.) Benth. ex Kurz) memiliki daya hambat terhadap bakteri penyebab infeksi saluran kemih, salah satunya pada bakteri *S. aureus* (Dubey et al., 2021) dan ekstrak daun sungkai memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* (Pradito et al., 2022).

Berdasarkan penelitian terdahulu 6 ekstrak tumbuhan terpilih yaitu ekstrak daun sambang darah, daun ruku-ruku, biji alpukat, daun pacar air, daun bungli, dan daun sungkai memiliki aktivitas antibakteri yang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi, namun sejauh ini belum ada laporan aktivitas antibakteri kombinasi enam ekstrak tumbuhan terpilih dengan ekstrak metanol daun ketepeng cina dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Studi ini bertujuan untuk menentukan efek kombinasi yang ditimbulkan dari penggunaan ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan 6 ekstrak tumbuhan terpilih guna mengetahui keefektifannya dalam menghambat atau membunuh bakteri *S. aureus* jika digunakan bersama-sama (kombinasi) didalam penggunaan obat herbal.

## METODE PENELITIAN

Ekstrak tanaman yang akan diuji aktivitas antibakterinya diperoleh dari koleksi ekstrak herbal ibu Morina Adfa. Sampel-sampel tersebut disimpan dalam lemari pendingin di laboratorium organik, Kimia FMIPA UNIB. Ekstrak tersebut adalah ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*), ekstrak metanol biji alpukat (*P. americana*), ekstrak metanol daun sambang darah (*E. cochinchinensis*), ekstrak metanol daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*), ekstrak metanol daun pacar air (*I. balsamina*), ekstrak etanol daun sungkai tua (*P. canescens*) dan ekstrak metanol daun bungli (*O. indicum*).

Spesimen uji adalah bakteri *S. aureus*. Bahan-bahan pada penelitian ini adalah *Nutrient Broth* (NB) (Merck), *Nutrient Agar* (NA) (Merck), dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck), akuades, etanol 96% (Brataco), antibiotik clindamycin, *plastic wrap*, dan etanol 70%. Peralatan yang digunakan adalah spektronik 20D, inkubator (Froilabo), autoklaf (AIP), oven (Philips), *laminar air flow* (Telster AV-100), neraca analitik (aeADAM), *rotamixer* (Hati vortex), *hot plate* (Salton), cawan petri (Normax, diameter luar 100 mm x 20 mm), mikropipet, lampu spritus, jarum ose, spluit, dan peralatan gelas lainnya.

Sterilisasi basah dilakukan pada Media NB dan NA dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat gelas disterilkan di dalam oven pada suhu 160°C selama 2 jam. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran langsung di atas nyala api setiap kali pemakaian.

### **Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran**

Sebanyak 15 mL Media NA yang telah steril dituangkan ke dalam cawan petri, lalu dipipet 1 mL suspensi bakteri yang setara dengan kekeruhan Mc.Farlan 0,5 ke dalam cawan petri. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan sampai memadat. Setelah media memadat, dibuat 6 sumuran pada media menggunakan *cork borer* berdiameter 6 mm. Sumuran diisi dengan masing-masing 10  $\mu$ L larutan 6 ekstrak terpilih secara tunggal (100 mg/mL), 10  $\mu$ L masing-masing ekstrak (100 mg/mL) yang dikombinasi pada satu sumuran dengan perbandingan 1:1, 10  $\mu$ L larutan kontrol positif clindamycin (0,25 mg/mL), 10  $\mu$ L larutan kontrol negatif DMSO (50% v/v), lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, maka dilakukan pengukuran diameter zona bening disekeliling sumuran menggunakan jangka sorong (mm). Uji dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

### **Penentuan Pola Efek Kombinasi Menggunakan Metode Pita Kertas**

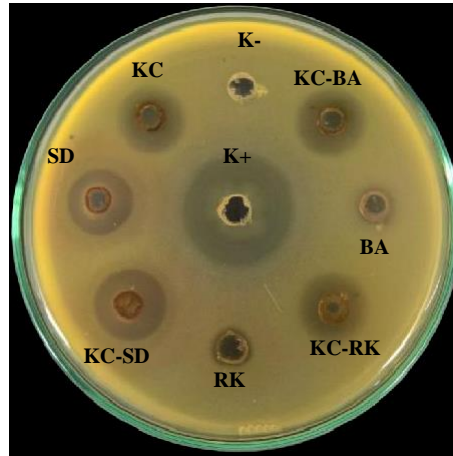
Penentuan pola efek kombinasi ekstrak dapat ditentukan dengan pengamatan secara visual pola zona hambat pada kertas Whatman (No.3) dengan ukuran 3 x 0,5 cm yang dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Penentuan efek kombinasi dilakukan dengan cara, kertas yang telah ditetesi ekstrak uji pada konsentrasi 100 mg/mL (30  $\mu$ L) masing-masing ditempatkan membentuk sudut 90° pada cawan petri yang telah berisi media uji. Efek kombinasi ekstrak uji diamati secara visual. Efek kombinasi dapat dikategorikan berdasarkan zona hambat yang terbentuk pada pertemuan kedua pita kertas pada sudut 90°. Efek kombinasi dikatakan bersifat sinergis jika adanya peningkatan zona hambat yang signifikan (lebih besar dari penjumlahan efek secara tunggal), efek antagonis jika terjadi pengecilan zona hambat pada sudut 90° pada pertemuan kedua pita kertas, sedangkan *additive/indifferent* ketika efek yang ditimbulkan saling tidak mempengaruhi satu sama lainnya.

### **Analisis Data**

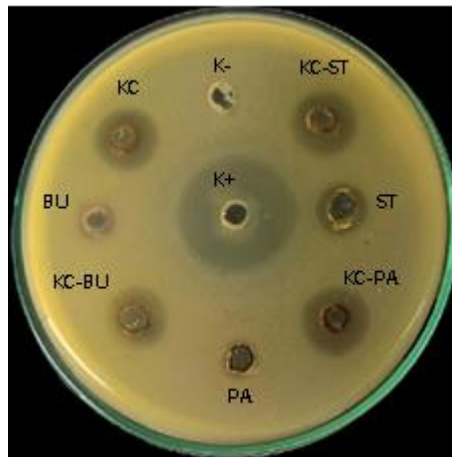
Analisis dilakukan dengan cara merata-ratakan hasil pengukuran diameter daya hambat pertumbuhan *S. aureus* pada metode sumuran yang dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Data penentuan efek kombinasi ekstrak sampel dengan metode pita kertas diamati secara visual dan dibandingkan dengan pola efek kombinasi laporan Laishram yang dapat berupa efek sinergis, *indifference/additive* atau antagonis.

### **HASIL PENELITIAN**

Zona bening/zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah penambahan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih pada konsentrasi 100 mg/mL dengan perbandingan 1:1 dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Terlihat penambahan ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dan enam ekstrak tumbuhan terpilih (daun sambang darah, daun ruku-ruku, biji alpukat, daun pacar air, daun bungli, dan daun sungkai) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* baik secara tunggal maupun setelah dikombinasi.



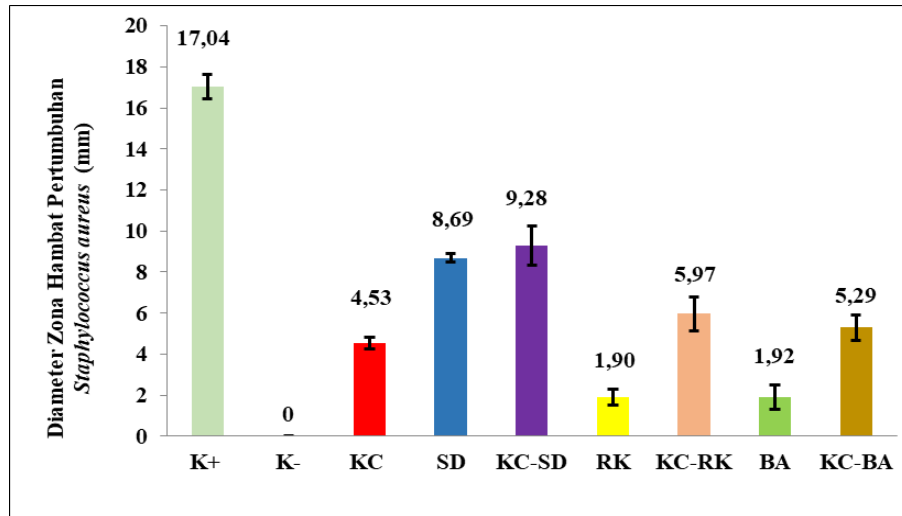
**Gambar 1.** Zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah diaplikasikan dengan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC) dengan SD= ekstrak metanol daun sambang darah (*E. cochinchinensis*), RK= ekstrak metanol daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*), BA= ekstrak metanol biji alpukat (*P. americana*). K+ = kontrol positif clindamycin 0,25 mg/mL, K- = kontrol negatif DMSO 50% (v/v)



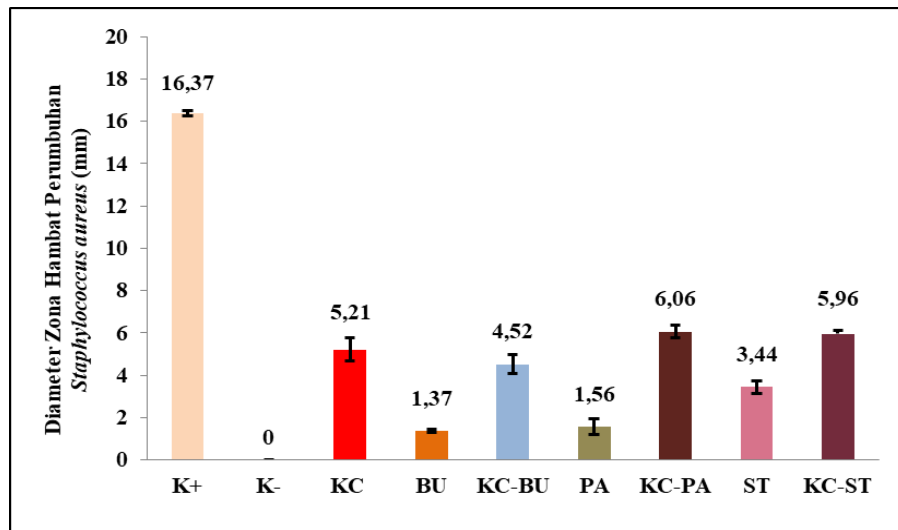
**Gambar 2.** Zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah diaplikasikan dengan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC) dengan BU= ekstrak metanol daun bungli (*O. indicum*), PA= ekstrak metanol daun pacar air (*I. balsamina*), ST = ekstrak etanol daun sungkai tua (*P. canescens*). K+ = kontrol positif clindamycin 0,25 mg/mL, K- = kontrol negatif DMSO 50% (v/v)

Diameter zona hambat rata-rata pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah penambahan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan SD= ekstrak metanol daun sambang darah (*E. cochinchinensis*), RK= ekstrak metanol daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*), dan BA= ekstrak metanol biji alpukat (*P. americana*) dapat dilihat pada Gambar 3. Sedangkan diameter zona hambat rata-rata pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah penambahan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan

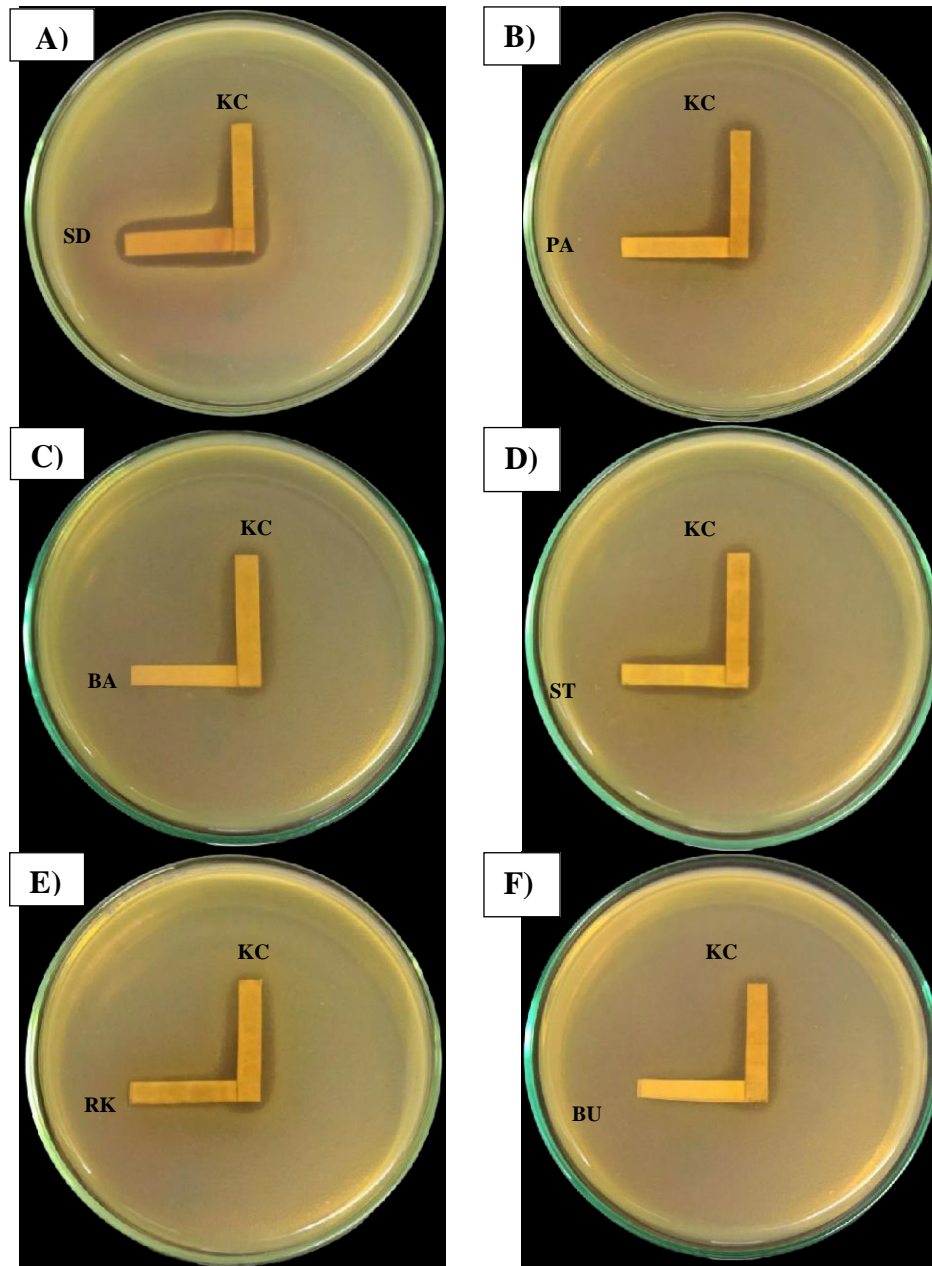
BU= ekstrak metanol daun bungli (*O. indicum*), PA= ekstrak metanol daun pacar air (*I. balsamina*), ST = ekstrak etanol daun sungkai tua (*P. canescens*) beserta kontrol positif dan kontrol negatif dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3. Grafik rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah diaplikasikan dengan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC) dengan SD= ekstrak metanol daun sambang darah (*E. cochinchinensis*), RK= ekstrak metanol daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*), BA= ekstrak metanol biji alpukat (*P. americana*). K+ = kontrol positif clindamycin 0,25 mg/mL, K- = kontrol negatif DMSO 50% (v/v)



Gambar 4. Grafik rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* setelah diaplikasikan dengan ekstrak tunggal dan kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) (KC) dengan BU= ekstrak metanol daun bungli (*O. indicum*), PA= ekstrak metanol daun pacar air (*I. balsamina*), ST = ekstrak etanol daun sungkai tua (*P. canescens*). K+ = kontrol positif clindamycin 0,25 mg/mL, K- = kontrol negatif DMSO 50% (v/v)



**Gambar 5.** Hasil penentuan efek kombinasi menggunakan metode pita kertas pada kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. A) KC-SD= kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan ekstrak metanol daun sambang darah; B) KC-PA= kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan ekstrak metanol daun pacar air; C) KC-BA= kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng dengan ekstrak metanol biji alpukat; D) KC-ST= kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan ekstrak etanol daun sungkai tua; E) KC-RK= kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan ekstrak metanol daun ruku-ruku; F) KC-BU= kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan ekstrak metanol daun bungli

Penentuan pola efek kombinasi menggunakan metode pita kertas yang diperoleh dari pengamatan secara visual dapat dilihat hasilnya pada Gambar 5. Pada Gambar 5 terlihat variasi kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina dengan enam ekstrak terpilih tidak menunjukkan peningkatan maupun penurunan zona hambat yang signifikan pada pertemuan pita kertas yang berhimpit membentuk sudut  $90^{\circ}$ .

## PEMBAHASAN

### Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, semua ekstrak kasar yang diuji pada konsentrasi 100 mg/mL menunjukkan adanya respon hambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Aktivitas antibakteri diperlihatkan dengan terbentuknya zona bening disekeliling sumuran (Gambar 1 dan 2). Sebagian besar dari kombinasi ekstrak menghasilkan rata-rata diameter zona hambat yang lebih besar daripada rata-rata diameter zona hambat masing-masing ekstrak tunggal.

Respon hambatan yang terjadi tergantung kepada kandungan kimia masing-masing ekstrak dan interaksi antara komponen kimia tersebut ketika pemberian ekstrak dikombinasi. Dari Gambar 3, terlihat diameter zona hambat KC =  $4,53 \pm 0,3$  mm; SD =  $8,69 \pm 0,21$  mm; KC-SD =  $9,28 \pm 0,96$  mm; RK =  $1,9 \pm 0,40$  mm; KC-RK =  $5,97 \pm 0,82$  mm; BA =  $1,92 \pm 0,58$  mm; KC-BA =  $5,29 \pm 0,64$  mm. Sedangkan Gambar 4 memperlihatkan diameter zona hambat KC =  $5,21 \pm 0,56$  mm; BU =  $1,37 \pm 0,08$  mm; KC-BU =  $4,52 \pm 0,44$  mm; PA =  $1,56 \pm 0,38$  mm; KC-PA =  $6,06 \pm 0,28$  mm; ST =  $3,44 \pm 0,29$  mm; KC-ST =  $5,96 \pm 0,16$  mm, berturut-turut. Diameter zona hambat ekstrak uji lebih kecil dari pada kontrol positif clindamycin 0,25 mg/mL (16,37-17,04 mm). Kontrol negatif (DMSO 50%) pada penelitian ini tidak memperlihatkan aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ( $0,0 \pm 0,00$  mm), sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas penghambatan tidak dipengaruhi oleh pelarut DMSO 50% yang dipakai untuk melarutkan ekstrak uji.

Kombinasi KC (ekstrak metanol daun ketepeng cina) dengan 5 jenis ekstrak yaitu SD (ekstrak metanol daun sambang darah (*E. cochinchinensis*)), RK (ekstrak metanol daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*)), BA (ekstrak metanol biji alpukat (*P. americana*)), PA (ekstrak metanol daun pacar air (*I. balsamina*)), dan ST (ekstrak etanol daun sungkai tua (*P. canescens*)) menghasilkan zona hambat yang lebih besar dari pada masing-masing ekstrak tunggalnya yang dikombinasikan, namun tidak lebih besar dari pada penjumlahan zona hambat dari kedua ekstrak secara tunggal, sedangkan kombinasi KC (ekstrak metanol daun ketepeng cina) dengan BU (ekstrak metanol daun bungli (*O. indicum*)) menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dari BU, namun lebih kecil dari KC secara tunggal. Dari data uji menggunakan metode sumuran dapat diketahui efek penghambatan ekstrak metanol daun ketepeng cina (*C. alata*) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih adalah efek *additive/indifferent* sejalan dengan laporan yang disampaikan oleh Yang (2017). Ketika kedua ekstrak dikombinasikan terjadi sedikit peningkatan zona hambat meskipun tidak sebesar efek sinergis. Efek kombinasi keenam ekstrak tidak dikatakan antagonis karena saat kedua ekstrak



dikombinasikan tidak menunjukkan penurunan zona hambat yang lebih rendah dari zona hambat kedua ekstrak secara individual (Cheesman et al., 2017).

Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan seperti senyawa fenolik, alkaloid, terpenoid, karotenoid dan lain-lain memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan maupun membunuh bakteri patogen (Sadeek & Abdallah, 2019). Efek kombinasi yang terjadi tidak lepas dari peranan metabolit sekunder dalam ekstrak tumbuhan yang dikombinasikan. Jenis metabolit sekunder pada ekstrak tumbuhan memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda. Antibakteri secara umum memiliki mekanisme kerja dengan cara mengganggu sintesis dinding sel, mengganggu sintesis DNA dan RNA, penghancuran (lisis) membran sel, menghambat sintesis protein, menghambat jalur metabolisme dan lain-lain (Chandra et al., 2017).

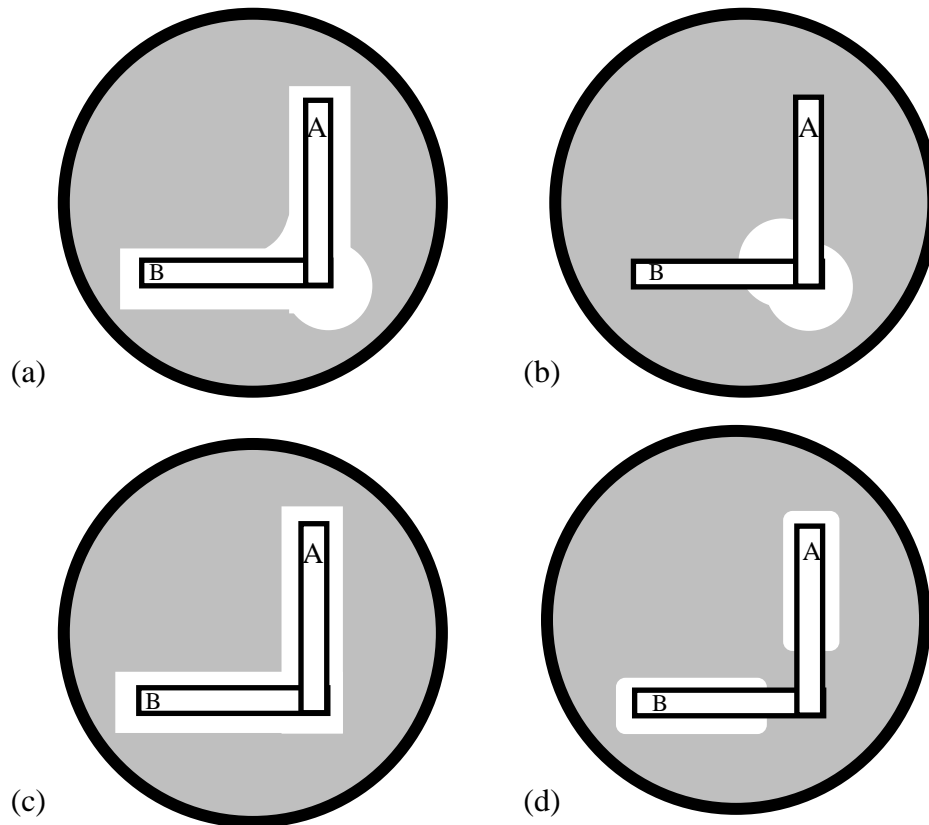
Metabolit sekunder yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri pada 7 jenis tumbuhan yang diuji adalah sebagai berikut, daun ketepeng cina (*C. alata*) dilaporkan kaya akan antrakuinon, fenolik, tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, steroid dan karbohidrat (Meenupriya et al., 2014). Hasil uji fitokimia biji alpukat (*P. americana*) menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tanin, alkaloid, antosianin, polifenol, triterpenoid, kuinon, saponin dan steroid (Ekonom et al., 2022; Leite et al., 2009). Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa 37 senyawa telah diisolasi dari daun sambang darah (*E. cochinchinensis*), sebagian besar adalah diterpenoid teroksigenasi, sementara yang lain adalah loliolide, glukosida megastigmane, flavonoid, triterpenoid, sterol, dan fenolat (Hieu et al., 2020).

Ekstrak daun sungkai (*P. canescens*) yang dikoleksi dari Bengkulu mengandung 7 senyawa diterpenoid baru tipe clerodane bernama *peronemin B2*, *peronemin A2*, *peronemin B1*, *peronemin C1*, *peronemin B3*, *peronemin A3*, dan *peronemin D1* dan tiga flavonoid glikosida yaitu *akteosida*, *isomer akteosida*, dan *3',4',5-trihidroksi-7-metoksi flavon-3-O-glukopiranosilara-binosida* (Kitagawa et al., 1994; Simanjuntak, 1996). Daun pacar air (*I. balsamina*) juga mengandung senyawa polifenol, flavonoid, kuinon dan steroid. Dilaporkan juga bahwa senyawa kuinon yang berperan dalam aktivitas antibakteri pada daun pacar air adalah naftakuinon, salah satunya 2-metoksi-1,4-naftakuinon (Ismarani et al., 2014). Serta, menurut Yamani et al., (2016) minyak atsiri daun ruku-ruku (*O. tenuiflorum*) mengandung senyawa volatil yang terdiri dari monoterpena dan seskuiterpena dengan kandungan utamanya adalah metil eugenol. Eswari et al., (2018) melakukan uji fitokimia pada daun bungli (*O. indicum*) dan menunjukkan bahwa ekstrak metanol bungli mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenol dan tanin. Keberadaan senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut diduga mempunyai peranan terhadap aktivitas antibakteri ke-7 ekstrak tanaman yang diuji, dimana interaksi senyawa-senyawa tersebut ketika dikombinasikan juga berbeda-beda.

### **Penentuan Pola Efek Kombinasi Menggunakan Metode Pita Kertas**

Pola efek kombinasi diamati secara visual menggunakan metode pita kertas dan pola hambat kombinasi ekstrak yang terbentuk dibandingkan dengan pola efek kombinasi oleh Laishram et al., (2017) (Gambar 6). Kombinasi ekstrak utama KC (ekstrak metanol daun ketepeng cina) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih dari pengamatan secara visual dapat dikategorikan *additive/indifferent*. Keenam variasi kombinasi KC (ekstrak metanol daun ketepeng cina) dengan SD

(ekstrak metanol daun sambang darah), RK (ekstrak metanol daun ruku-ruku), BA (ekstrak metanol biji alpukat), PA (ekstrak metanol daun pacar air), ST (ekstrak etanol daun sungkai tua), dan BU (ekstrak metanol daun bungli) tidak menunjukkan peningkatan maupun penurunan zona hambat yang signifikan pada bagian daerah pita kertas yang berhimpit membentuk sudut  $90^{\circ}$ , dimana pola yang terlihat hampir sama dengan pola yang dilaporkan oleh Laishram et al., (2017) pada Gambar 6c.



**Gambar 6. Pola Efek Kombinasi. (a) Sinergis; (b) Sinergis; (c) Additive/Indifferent; (D) Antagonis**

Secara kuantitatif efek kombinasi 2 ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat ditentukan dengan menghitung indeks *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) yang didapat dengan menentukan Minimum Inhibition Concentration (MIC) kombinasi ekstrak dan MIC ekstrak tunggal. Efek sinergis jika  $FIC \leq 0,5$ ; *additive* jika  $FIC > 0,5-1$ ; *Indifferent* jika  $FIC > 1$  atau  $< 2$ , dan antagonis jika  $FIC \geq 2$  (EUCAST of the ESCMID, 2000).

## SIMPULAN

Pengamatan efek kombinasi secara visual pada pita kertas memberikan indikasi bahwa kombinasi ekstrak metanol daun ketepeng china (*Cassia alata* L.) dengan enam ekstrak tumbuhan terpilih (daun sambang darah, biji alpukat, daun ruku-ruku, daun pacar air, daun bungli, dan daun sungkai tua) menghasilkan efek *additive/indifferent*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, M., Gusatyana, N. M. C., Mudyanto, A., Avidlyandi, A., Oktiarni, D., & Yudha S., S. (2021). Combined Effect of Methanol Extract of *Persea americana* Seeds and *Cassia alata* Leaves against *Staphylococcus epidermidis*. *Proceedings of the International Seminar on Promoting Local Resources for Sustainable Agriculture and Development (ISPLRSAD 2020)*, 13, 36–40. <https://doi.org/10.2991/absr.k.210609.006>
- Adhikari, N., Rana, A., Oli, S., Neupane, S., Bhandari, R., & Joshi, D. R. (2020). Study of In-vitro Antioxidant and Antibacterial Activity of Leaf Extract of *Azadirachta indica* and *Ocimum sanctum* in Different Organic Solvents and Cow Urine. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 10(1-S), 90–95. <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i1-s.3908>
- Asmah, N., Halimatussakdiah, H., & Amna, U. (2020). Analisa Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) dari Bireum Bayeun, Aceh Timur. *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 2(2), 7–10. <https://doi.org/10.33059/jq.v2i2.2646>
- Chandra, H., Bishnoi, P., Yadav, A., Patni, B., Mishra, A. P., & Nautiyal, A. R. (2017). Antimicrobial Resistance and the Alternative Resources with Special Emphasis on Plant-Based Antimicrobials - A Review. *Plants (Basel)*, 6(2), 457–462. <https://doi.org/10.3390/plants6020016>
- Cheesman, M. J., Ilanko, A., Blonk, B., & Cock, I. E. (2017). Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/Compounds with Conventional Antibiotics the Solution? *Pharmacognosy Reviews*, 11(22), 57–72. [https://doi.org/10.4103/phrev.phrev\\_21\\_17](https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_21_17)
- Dermawan, A. M., Pratiwi, L., & Kusharyanti, I. (2015). Efektivitas Krim Antijerawat Ekstrak Metanol Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.). *Traditional Medicine Journal*, 20(3), 127–133. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8851>
- Dubey, D., Sahu, M. C., & Naik, P. K. (2021). Evaluation of the Antibacterial Activity of the Leave Extract of *Oroxylum indicum* Against Multidrug Resistant Bacteria Causing Urinary Tract Infection. *International Journal of Current Research and Review*, 13(15), 133–138. <https://doi.org/10.31782/ijcrr.2021.131525>
- Ekom, S. E., Tamokou, J. D. D., & Kuete, V. (2022). Methanol Extract from the Seeds of *Persea americana* Displays Antibacterial and Wound Healing Activities in Rat Model. *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114573>
- EUCAST of the ESCMID. (2000). Terminology Relating to Methods for the Determination of Susceptibility of Bacteria to Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology and Infection*, 6(9), 503–508. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00149.x>
- Eswari, J. S., Dha-Gat, S., Naik, S., & Dibya, S. (2018). *Oroxylum indicum* Leaf Extracts for Screening of Antimicrobial Properties and Phytochemicals. *Pharmaceutical Bioprocessing*, 6(1), 7–14. <https://www.openaccessjournals.com/articles/phytochemical-and-antimicrobial-studies-of-oroxylum-indicum-extracts.pdf>
- Gnanamani, A., Hariharan, P., & Paul-Satyaseela, M. (2017). *Staphylococcus*

- aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. *Frontiers in Staphylococcus aureus. IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/67338>
- Hai, N. T., Trang, D. H., & Ha, N. T. T. (2018). Herbal Extracts in Combination with Nanosilver Inhibit Blight Disease Caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Rice. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 1(4), 270–280. <https://doi.org/10.31817/vjas.2018.1.4.03>
- Hieu, L. H., Thao, N. P., Anh, D. H., Hong Hanh, T. T., Cong, N. D., Cuong, N. T., Van Thanh, N., Cuong, N. X., Nam, N. H., Quang, N. D., & Van Minh, C. (2020). Metabolites from *Excoecaria cochinchinensis* Lour. *Phytochemistry Letters*, 37(8), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.08.003>
- Husna, C. A. (2018). Peranan Protein Adhesi Matriks Ekstraseluler dalam Patogenitas Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Averrous : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 4(2), 99–100 <https://doi.org/10.29103/averrous.v4i2.1041>
- Ismarani, D., Pratiwi, L., & Kusharyanti, I. (2014). Formulasi Gel Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 1(1), 30–45. <https://doi.org/10.7454/psr.v1i1.3504>
- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H., & Kobayashi, M. (1994). Indonesian Medicinal Plants. VII. Seven New Clerodane-Type Diterpenoids, Peronemins A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>, and D<sub>1</sub>, from the Leaves of *Peronema canescens* (Verbenaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 42(5), 1050–1055. <https://doi.org/10.1248/cpb.42.1050>
- Laishram, S., Pragasam, A. K., Bakthavatchalam, Y. D., & Veeraraghavan, B. (2017). An Update on Technical, Interpretative and Clinical Relevance of Antimicrobial Synergy Testing Methodologies. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 35(4), 445–468. [https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM\\_17\\_189](https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_17_189)
- Lathifah, Q. A., Turista, D. D. R., & Puspitasari, E. (2021). Daya Antibakteri Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumonia*. *Jurnal Analis Kesehatan*, 10(1), 29–34. <http://dx.doi.org/10.26630/jak.v10i1.2718>
- Leite, J. J. G., Brito, É. H. S., Cordeiro, R. A., Brilhante, R. S. N., Sidrim, J. J. C., Bertini, L. M., De Moraes, S. M., & Rocha, M. F. G. (2009). Chemical Composition, Toxicity and Larvicidal and Antifungal Activities of *Persea americana* (Avocado) Seed Extracts. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(2), 110–113. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200003>
- Meenupriya, J., Vinisha, A. S., & Priya, P. (2014). *Cassia alata* and *Cassia auriculata* – Review of Their Bioactive Potential. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(12), 1760–1769. <http://www.academia.edu/download/35883193/021226-PS0387.pdf>
- Pradito, S. A., Muthmainah, N., & Biworo, A. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Sediaan Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Homeostatis : Jurnal Mahasiswa Pendidikan Dokter*, 5(1), 135–144.

- <https://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/hms/article/view/5212/3568>
- Sadeek, A. M., & Abdallah, E. M. (2019). Phytochemical Compounds as Antibacterial Agents: A Mini Review. *Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 1–6. <https://doi.org/10.19080/GJPPS.2019.07.555720>
- Simanjuntak, P. (1996). Studi Kimia Senyawa Glikosida Tumbuhan Sungkei, *Peronema canescens* (Verbenaceae). *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (Indonesian Journal of Applied Chemistry)*, 6(1–2), 8–12. <https://doi.org/10.14203/jkti.v6i1-2.229>
- Sumayyah, S., & Salsabila, N. (2017). Obat Tradisional: Antara Khasiat dan Efek Sampingnya. *Majalah Farmasetika*, 2(5), 1–4. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v2i5.16780>
- Taylor, T., & Unakal, C.G. (2021). *StatPearls: Staphylococcus aureus*. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- Yamani, H. A., Pang, E. C., Mantri, N., & Deighton, M. A. (2016). Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) Essential Oil and Their Major Constituents against Three Species of Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00681>
- Yang, S.-K., Yusoff, K., Mai, C.-W., Lim, W.-M., Yap, W.-S., Lim, S.-H. E., & Lai, K.-S. (2017). Additivity vs. Synergism: Investigation of the Additive Interaction of Cinnamon Bark Oil and Meropenem in Combinatory Therapy. *Molecules*, 22(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22111733>