

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI AIR HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica*) METODE SOXHLETASI TERHADAP ISOLAT KLINIS *Pseudomonas aeruginosa*

Nurmi Hasbi^{1*}, Metta Octora¹, Lina Permatasari², Rosyunita¹, Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlisah², Rima Cahyati Kusumadewi¹

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

²Pendidikan Studi farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram

*Corresponding Author Email: nurmihasbi@unram.ac.id

ABSTRAK

Pegagan (*Centella asiatica L.*) merupakan tanaman herba yang berpotensi sebagai antibakteri berbahan alami. Pemilihan pelarut yang tepat dapat memengaruhi kandungan fitokimia yang dapat diekstrak dari bahan uji. Penelitian terhadap aktivitas antibakteri dari pegagan telah banyak dilaporkan terutama menggunakan pelarut etanol, methanol dan kloroform, sedangkan pelarut air masih sedikit yang melaporkan. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang sering menginfeksi manusia. Bakteri ini dilaporkan menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk menemukan sumber antibakteri yang baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri fraksi air herba pegagan metode soxhletasi terhadap *P. aeruginosa*. Design yang digunakan adalah penelitian *experimental laboratorium* dengan rancangan *post test only control group design*. Pegagan diekstraksi dengan air menggunakan metode soxhletasi. Ekstrak pegagan kemudian diencerkan menggunakan DMSO 10% dengan konsentrasi 5.000, 7.500 dan 10.000 ppm. Kontrol positif menggunakan colistin dan negatif DMSO 10%. Uji antibakteri dilakukan lima replikasi. Hasil statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan zona hambat dari kelima perlakuan didapatkan nilai signifikansi 0.001 ($p < 0.005$). Diameter zona hambat paling efektif yaitu konsentrasi 10.000 ppm sebesar 2.9 mm. Konsentrasi 7.500 dan 5.000 ppm diameter zona hambatnya masing-masing 2.2 dan 1.1 mm. Uji *post-hoc Mann-Whitney* menunjukkan nilai signifikansi dari tiga konsentrasi jika dibandingkan kontrol positif. Kontrol positif memiliki diameter zona hambat tertinggi yaitu 7.5 mm dikategorikan sedang. Fraksi air herba pegagan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* dalam kategori lemah bersifat bakteriostatik dengan diameter zona hambat ≤ 5 mm. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi fraksi air herba pegagan, maka akan semakin tinggi diameter zona hambatnya.

Keyword: antibakteri, fraksi air, pegagan, *Pseudomonas aeruginosa*, soxhletasi

1. PENDAHULUAN

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri gram negatif yang bersifat aerob, dan bergerak dengan menggunakan flagel (Yosias Beslar *et al.*, 2022). Bakteri ini bersifat patogen oportunistik dimana dapat menyebabkan infeksi pada mata, telinga (otitis eksternal), kulit, tulang, sistem saraf pusat, saluran pencernaan, jantung (endocarditis), saluran kemih, sistem pernafasan dan sistem peredaran pada darah (bakterimia dan septikemia) (Mielko *et al.*, 2019). *P. aeruginosa* juga merupakan bakteri penyebab infeksi nosokomial yang paling sering diisolasi dari pasien yang dirawat di rumah sakit. *P.aeruginosa* dapat menjadi penyebab infeksi yang penting terutama pada pasien dengan imunitas yang menurun. Bakteri ini dapat hidup pada peralatan-peralatan medis dan bagian bagian lain di rumah sakit, sehingga mudah menginfeksi pasien dengan penurunan imunitas. Kasus infeksi bakteri *P. aeruginosa* yang terjadi di rumah sakit biasanya menyerang pasien luka bakar, sistik fibrosis, sepsis, ventilator-asosiasi

pneumonia dan meningococcal meningitis (Reynolds and Kollef, 2021). Terapi pada penyakit infeksi akibat *P. aeruginosa* menjadi sulit karena adanya resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik (Anggraini, Yulindra and Savira, 2018). Kemampuan resistensi antibiotik dari *P. aeruginosa* disebabkan oleh kemampuannya dalam membentuk *biofilm* (Wahyudi and Soetarto, 2021).

Saat ini, pengobatan dengan bahan alami semakin menjadi pilihan masyarakat, karena diyakini memiliki efek samping yang ringan dibandingkan obat sintetik atau kimia. Pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional telah dilakukan oleh nenek moyang kita selama berabad-abad yang lalu (Sari, 2006). WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional untuk menjaga kesehatan masyarakat seperti mencegah dan mengobati penyakit akibat infeksi (WHO, 2013). Hal ini mendorong eksplorasi dan penelitian lebih lanjut terhadap bahan-bahan alami tersebut, salah satunya *Centella asiatica* [L.] Urban yang juga dikenal dengan pegagan (Fatimah, Prasetyaningsih and Astuti Carmanyta, 2022). Herba pegagan dilaporkan memiliki banyak senyawa fitokimia diantaranya tanin, saponin, steroid dan flavonoid (Hapsari *et al.*, (2017)

Dalam penggunaannya herba pegagan terlebih dahulu diolah dalam bentuk ekstrak. Ekstrak merupakan zat yang dihasilkan dari ekstraksi bahan mentah secara kimiawi. Harapannya senyawa antibakteri yang terdapat dalam herba pegagan dapat keluar melalui proses ekstraksi ini. Pembuatan ekstrak antara lain dapat dilakukan secara infudasi, soxhletasi maserasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan. Dalam proses pelarutan ditetapkan bahwa sebagai cairan penyari yang umum digunakan adalah air, etanol, campuran air-etanol, atau eter (Dianasari and Nadjib, 2022). Ekstrak etanol 96% pegagan berpotensi sebagai antibakteri terhadap *P. aeruginosa* (Octora *et al.*, 2022). Ekstrak kloroform pegagan berpotensi sebagai antibakteri terhadap *P. aeruginosa* (Rachmawati *et al.*, 2023) Penelitian terhadap aktivitas antibakteri dari pegagan telah banyak dilaporkan terutama menggunakan pelarut etanol dan metanol, sedangkan pelarut air masih sedikit yang melaporkan. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk menemukan sumber antibakteri yang baru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri fraksi air herba pegagan metode soxhletasi terhadap *P. aeruginosa*.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain alat gelas laboratorium (Iwaki® dan Pyrex®), *rubber bulb*, timbangan analitik (Pioneer™), cawan porselen, ayakan mesh 40, *magnetic stirrer*, pinset, cawan petri (Iwaki® dan Pyrex®), ose, bunsen, rak tabung reaksi, mikropipet (Labnet), autoklaf (Tomy SX-500), pinset, *spreader*, *Bio Safety Cabinet* (Jisico), *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Labnet), vortex (Labnet), *hotplate* (Labnet), dan inkubator (Labnet), blender, pipet tetes, penangas air 6 L (Labnet), mistar, sendok tanduk, kaca preparat, batang pengaduk, dan spuit injeksi.

Bahan yang digunakan antara lain simplisia pegagan (*C. asiatica*), isolat klinis *P. aeruginosa* MDR, NaCl 0,9% (Widatra), HCl 2N, aquadest, n-heksana (Brataco), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), tip kuning, tip biru, cakram antibiotik colistin 10 µg, kertas cakram (Macherey-Nagel), spiritus, larutan *Mc Farland*, media *Mac Conkey Agar*, larutan salin NaCl kristal violet, lugol, alkohol 70% (Medika), safranin, sarung tangan (Sensi), dan standar 0,5 Mc Farland.

Perolehan Sampel Uji

C. asiatica diperoleh dan diterminasi dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Kementerian Kesehatan Republik Indonesia dalam bentuk simplisia. Hasil determinasi menunjukkan bahwa yang digunakan merupakan tanaman *C. asiatica* (L.) Urb. dari famili *Apiaceae* dengan nomor surat: KM.04.01/H.IX/596/2023.

Pembuatan Ekstrak

Sampel diekstraksi menggunakan metode soxhletasi. Simplisia kering dihaluskan kemudian diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 40. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 300 gram dan dimasukkan ke dalam wadah kaca dengan menambahkan 500 ml pelarut air kemudian di soxhletasi menggunakan *apparatus soklet*. Hasil soxhletasi disaring untuk memisahkan filtrat dengan ampas menggunakan kain mori dan kertas saring. Ampas dari penyaringan tersebut disonikasi kembali dengan cara yang sama sebanyak 2 kali. Semua filtrat dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 50 rpm pada suhu 40°C dan dilanjutkan dengan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk menghitung persen rendemen dan dimasukkan ke dalam wadah tertutup.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disterilisasi menggunakan alat autoklaf yang diatur pada suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan lainnya seperti jarum ose dan pinset disterilisasi dengan alkohol 70% dan dilakukan pemijaran menggunakan api Bunsen (Armaleni, Nasir and Agustien, 2019).

Pembuatan Larutan Uji Antibakteri

Ekstrak air *C. asiatica* ditimbang 0.001 gram; 0.003 gram; dan 0.005 gram kemudian masing-masing dilarutkan dengan 1 mL DMSO. Didapatkan konsentrasi larutan uji masing-masing yaitu 5.000 ppm, 7.500 ppm, dan 10.000 ppm.

Pengecatan Gram

Prosedur kerja dari pengecatan Gram ini yaitu bersihkan preparat glass dengan alkohol 70% kemudian di fiksasi di atas bunsen, beri label pada bagian bawah preparat glass, pijarkan jarum ose kemudian dicelupkan ke aquades dan teteskan 1 ose aquades pada preparat glass menggunakan jarum ose, pijarkan lagi jarum ose dan diambil isolate *P. aeruginosa* dari media dengan cara aseptik lalu diratakan di atas preparat glass, keringkan teteskan larutan zat warna methylen blue sebanyak 1 atau 2 tetes keringkan selama 30 detik, cuci dengan aquades, keringkan preparat dengan dianginkan, kemudian teteskan 1 atau 2 tetes larutan iodine selama 1 menit kemudian bilas dengan alkohol 70% dan di cuci dengan aquades, terakhir tetes larutan Safranin sebanyak 1-2 tetes selama 30 detik kemudian bilas dengan aquades kembali dikeringkan dan diamkan terakhir amati dibawah mikroskop.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Bakteri *P. aeruginosa* hasil peremajaan diambil sebanyak 1 ose dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCl fisiologi 0,9%. Suspensi bakteri *P. aeruginosa* dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian kekeruhan suspensi disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0.5 (Misna and Diana, 2016). Uji kepekaan bakteri *P. aeruginosa* MDR terhadap antibakteri dari ekstrak n-heksan *C. asiatica* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Cakram antibiotik colistin 10 µg digunakan sebagai kontrol positif dan larutan n-heksan sebagai kontrol negatif. Cakram

kosong diteteskan dengan larutan uji sebanyak 20 μ L sampai merata ke seluruh permukaan cakram dengan berbagai konsentrasi yang telah disiapkan. Cakram kemudian diletakkan di atas media uji yang telah ditambahkan bakteri, selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri dilihat dari terbentuknya zona bening pada cawan petri. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan.

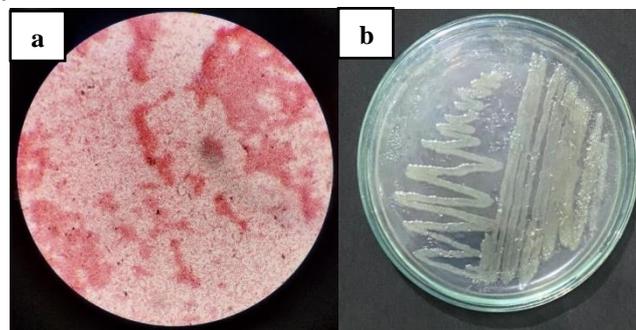
Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan SPSS. Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan konsentrasi fraksi air herba pegagan (*C. asiatica*) terhadap pertumbuhan isolat klinis *P. aeruginosa* dilakukan uji *One Way* ANOVA. Jika data yang dihasilkan tidak terdistribusi normal atau varians data tidak sama maka dilakukan uji Kruskal-Wallis. Jika pada uji *One Way* ANOVA dan uji Kruskal-Wallis dihasilkan nilai $p < 0,05$ maka dapat dilanjutkan dengan analisis Post Hoc menggunakan metode Mann-Whitney.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik isolat klinis *P. aeruginosa*

Pengamatan bakteri isolat klinis *P. aeruginosa* dengan pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat keseragaman bakteri dan menghindari kontaminasi. Pewarnaan Gram menggunakan empat jenis reagen diantaranya kristal violet (pewarna utama), iodine atau lugol (pengikat zat warna utama), alkohol (sebagai pembilas zat warna) dan safranin atau fuchsin (zat warna sekunder atau tandingan. Pewarnaan Gram terhadap bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan bahwa sel bakteri berbentuk basil dan berwarna merah muda (Gambar 1a dan 1b).



Gambar 1. Isolat klinis *P. aeruginosa*; (a) Pengamatan mikroskopis pada pengecatan gram dengan perbesaran 1000 X; (b) Pengamatan mikroskopis pigmentasi bakteri pada media *Mueller Hinton* (sumber: dokumentasi pribadi)

Sel berwarna merah menandakan bakteri *P. aeruginosa* termasuk dalam kelompok bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis karena lapisan peptidoglikannya memiliki ketebalan 10% dari total susunan yang ada pada dinding selnya. Akibatnya bakteri Gram negatif mudah melepas zat pewarna utama kristal. Pewarnaan terakhir dengan safranin menyebabkan sel bakteri Gram negatif menyerap warna tersebut dan menghasilkan warna merah muda. Berbeda dengan bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal, sehingga dapat mempertahankan warna ungu dari pewarna primer kristal violet.

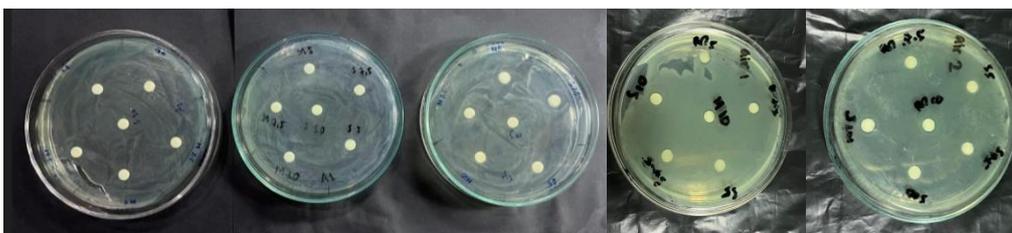
Aktivitas Antibakteri Ekstrak *C. asiatica*

Hasil pengamatan uji antibakteri ekstrak air *C. asiatica* menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada semua konsentrasi termasuk dalam kategori yang lemah disajikan (Tabel 1 dan Gambar 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa semua ekstrak n-heksan *C. asiatica* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* MDR dalam kategori lemah. Kontrol positif colistin termasuk dalam kategori, sedangkan kontrol negatif tidak ada aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa*.

Tabel 1. Uji aktivitas antibakteri ekstrak air pegangan terhadap *P. aeruginosa*

Pengujian	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Kategori kekuatan antibakteri
Konsentrasi ekstrak air	5.000 ppm	lemah
	7.500 ppm	lemah
	10.000 ppm	lemah
Kontrol positif (colistin)	7.5	sedang
Kontrol negatif	0	Tidak ada aktivitas

Hasil penelitian menyajikan bahwasanya ekstrak air pegangan pada konsentrasi 10.000 ppm memiliki zona hambat yang paling tinggi dibandingkan dua konsentrasi lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, maka akan semakin besar zona hambat yang terbentuk. Hal ini karena senyawa aktif yang terdapat pada setiap konsentrasi semakin besar sehingga daya kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri (antibakteri) semakin baik pula. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2005) bahwa semakin tinggi konsentrasi zat anti mikroba maka semakin besar pula kemampuannya untuk mengendalikan dan membunuh mikroorganisme tertentu.



Gambar 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak N-Heksan *C. asiatica* Terhadap isolat klinis *P. aeruginosa* sebanyak lima kali pengulangan (sumber: dokumentasi pribadi)

Hasil penelitian juga menyajikan bahwasanya pada semua konsentrasi ekstrak air pegangan termasuk dalam kategori lemah. Hal ini dikarenakan diameter zona hambatnya sebesar < 5 mm. Jika dibandingkan penelitian sebelumnya oleh Octora *et al.*, (2022) menyatakan hasil uji antibakteri dari ekstraksi *C. asiatica* dengan pelarut etanol 96% pada 1.000 ppm, 3.000 ppm dan 5.000 ppm juga dikategorikan aktivitasnya lemah. Berdasarkan perbandingan dua penelitian ini, penulis dapat menyatakan bahwasanya perbandingan jenis pelarut antara etanol dan air tidak terdapat perbedaan dalam menghasilkan zona hambat terhadap isolat klinis *P. aeruginosa*.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah colistin. Aktivitas zona hambat yang dihasilkan oleh kontrol positif ini yaitu sebesar 7.5 mm atau dikategorikan sedang. Hasil yang sama juga didapatkan oleh Octora *et al.* (2022) dengan menggunakan isolat klinis *P. aeruginosa* yang sama termasuk dalam kategori yang sedang yaitu sebesar 8 mm. Namun hasil berbeda diperoleh (Uwizeyimana *et al.*, 2020) yaitu sebesar 13 mm dan termasuk dalam kategori kuat. Namun jika dibandingkan dengan tiga konsentrasi ekstrak air pegagan pada penelitian ini, kontrol positif colistin masih menjadi pilihan antibiotik terbaik untuk *P. aeruginosa* (Venkateswarulu, Peele and Bobby, 2019). Farajzadeh Sheikh *et al.*, (2019) juga menggunakan colistin sebagai kontrol positifnya terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Colistin termasuk dalam antibiotik golongan famili polimiksin. Anggota kelas antibiotik polimiksin B menjadi pilihan terakhir untuk pengobatan antibiotik bakteri resisten karbapenem seperti isolat *P. aeruginosa* dan *Enterobacteriaceae*. Mekanisme kerja colistin yaitu menghancurkan membran sel dari bakteri target. Colistin akan mensubstitusi magnesium (Mg^{+2}) dan kalsium (Ca^{+2}) dari bakteri target. Senyawa Mg^{+2} dan Ca^{+2} ini bergungsi untuk menstabilkan molekul lipopolisakarida (LPS). Kondisi ini mengakibatkan terganggu aktivitas transportasi pada membran sel bakteri target, sehingga sel menjadi bocor dan akan terjadi kematian sel.

4. KESIMPULAN

Fraksi air herba pegagan metode soxhletasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa*. Semakin tinggi konsentrasi herba pegagan maka akan semakin besar kemampuannya dalam menghambat bakteri *P.aeruginosa*. Fraksi air herba pegagan pada konsentrasi 10.000 ppm memiliki aktivitas zona hambat terbaik dibandingkan 2 kosentrasi lainnya yaitu sebesar 2.9 mm. Fraksi air herba pegagan pada konsentrasi 7.500 ppm dan 5.000 ppm memiliki aktivitas zona hambat masing-masing sebesar 2.1 mm dan 1.1 mm. Fraksi air herba pegagan pada semua konsentrasi yang diuji yaitu 10.000 ppm, 7.500 ppm dan 5.000 ppm memiliki aktivitas zona hambat terhadap *P. aeruginosa* pada kategori lemah karena diameternya < 5 mm.

5. DAFTAR REFERENSI

- Anggraini, D., Yulindra, U.G. and Savira, M., (2018). Prevalensi dan Pola Sensitivitas Antimikroba Multidrug Resistant Pseudomonas aeruginosa di RSUD Arifin Achmad. *Majalah Kedokteran Bandung*, 50(1), pp.6–12.
- Armaleni, N.N., Nasir, N. and Agustien, A., (2019). Antagonis Pseudomonas fluorescens indogenous terhadap Ralstonia solanacearum pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum*). *Journal of Biological Sciences*, 6(1), p.119.
- Dianasari, W. and Nadjib, M., (2022). Supervision of Traditional Medicines Containing Undeclared Substance: Analysis of Indonesian Fda Monitoring Data for 2012 - 2021. *Journal of Indonesian Health Policy and Administration*, 7(1), p.196.
- Farajzadeh Sheikh, A., Shahin, M., Shokoohizadeh, L., Halaji, M., Shahcheraghi, F. and Ghanbari, F., (2019). Molecular epidemiology of colistin-resistant Pseudomonas aeruginosa producing NDM-1 from hospitalized patients in Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(1), pp.38–42.
- Fatimah, S., Prasetyaningsih, Y. and Astuti Carmanyta, S., (2022). UJI EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Pseudomonas aeruginosa. *JFL : Jurnal Farmasi Lampung*, 10(2), pp.92–99.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S., (2005), Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid I Penerjemah

- Hadiotomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., UI-Press, Jakarta.
- Mielko, K.A., Jabłoński, S.J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M. and Młynarz, P., (2019). Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, [online] 35(11), pp.1–11. Available at: <<https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>>.
- Misna, M. and Diana, K., (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 2(2), pp.138–144.
- Octora, M., Permatasari, L., Hasbi, N., Sunarwidhi, A.L. and Dirja, B.T.,(2022). Centella asiatica Extract as Antibacterial Agent against Multidrug Resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa*. *Azerbaijan Medical Journal*, 62(9), pp.5007–5015.
- Rachmawati, F., Nuria, M.C., Farmasi, F., Wahid, U., Semarang, H., Farmasi, F., Gadjah, U. and Yogyakarta, M., 2023. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI KLOOROFORM EKSTRAK ETANOL PEGAGAN (Centella asiatica (L) Urb) SERTA IDENTIFIKASI. *Jurnal Sains*, (L), pp.7–13.
- Reynolds, D. and Kollef, M., (2021). The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs*, [online] 81(18), pp.2117–2131. Available at: <<https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6>>.
- Santi Hapsari, W., Rohmayanti, Yuliasuti, F. and Putri Kurnia Pradani, M., (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Pegagan dan Analisa Rendemen. *The 6th University Research Colloquium*, pp.471–476.
- Sari, L.O.R.K., (2006). Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat Dan Keamanannya. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1), pp.1–7.
- Uwizeyimana, J.D., Kim, D., Lee, H., Byun, J.H. and Yong, D., (2020). Determination of colistin resistance by simple disk diffusion test using modified Mueller-Hinton agar. *Annals of Laboratory Medicine*, 40(4), pp.306–312.
- Venkateswarulu, M.I.T.C., Peele, K.A. and Bobby, N., (2019). Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action : a review. *3 Biotech*, [online] 9(8), pp.1–11. Available at: <<https://doi.org/10.1007/s13205-019-1841-2>>.
- Wahyudi, D. and Soetarto, S., (2021). Pembentukan Biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada Beberapa Media Cair Formation of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm on Some Liquid Media. *Journal of Pharmacy*, 10(2), pp.35–40.
- WHO, (2013). *Traditional medicine. The Ecology of Health and Disease In Ethiopia*, .
- Yosias Beslar, S., Norma Ethica, S., Srikandi Fitria, M. and Rahman Ernanto, A., (2022). Deteksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Isolat Pus Luka Berbasis Polymerase Chain Reaction dengan Target Gen Penkode Flagelin fliC. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, [online] 5, pp.1–13. Available at: <<https://prosiding.unimus.ac.id>>.