

Interaksi Antara Ekstrak *Clitoria ternatea L* Dan Antibiotik Pada Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*

Yumna Hanum Nabila Wanda^{a, 1}, Citra Destya Rahma Putri^{b, 2}, Rio Risandiansyah^{b, 3*}

^a Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia

^b Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia

¹ 22201101023@unisma.ac.id, ² citradestya@unisma.ac.id, ³ riorisandiansyah@unisma.ac.id*

*riorisandiansyah@unisma.ac.id

Kata kunci:

Clitoria ternatea L.,
Aktivitas Antibakteri;
Kombinasi Antibiotik;
Staphylococcus aureus;
Jenis Interaksi

ABSTRAK

Kombinasi antibiotik merupakan strategi untuk meningkatkan efektivitas antibakteri melalui kerja pada target yang berbeda. Pemanfaatan bahan alami sebagai adjuvan juga berpotensi meningkatkan respons antimikroba. Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) diketahui mengandung senyawa antibakteri yang dapat memperkuat aktivitas antibiotik. Penelitian mengenai interaksi ekstrak bunga telang dengan antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* masih terbatas, sehingga penelitian ini bertujuan mengevaluasi pola interaksi kombinasi tersebut.

Simplisia *Clitoria ternatea L.* dimaserasi menggunakan tiga pelarut (etanol, etil asetat, dan n-heksana). Uji antibakteri dilakukan berdasarkan ZOI dengan metode difusi cakram kombinasi berbasis Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST), yang sesuai digunakan sebagai metode skrining awal interaksi antimikroba. Ekstrak diuji pada konsentrasi 50% (500.000 ppm), dengan inokulum distandarisasi pada 0,5 McFarland dan masing-masing perlakuan direplikasi 3×2 ulangan. Data dianalisis menggunakan whelch's ANOVA atau uji non-parametrik (Kruskal-Wallis) sesuai distribusi data, dilanjutkan dengan uji post hoc yang sesuai (Tukey, Games-Howell, atau Mann-Whitney). Tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$, dan jenis interaksi ditentukan berdasarkan kriteria interpretasi AZDAST (sinergis, aditif, antagonis, atau not distinguishable).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol dengan amoksisilin menghasilkan efek aditif (55.06 ± 1.68 mm), kombinasi ekstrak etil asetat dengan amoksisilin (52.38 ± 2.60 mm), kombinasi ekstrak n-heksana dengan amoksisilin (52.60 ± 3.99 mm) serta seluruh kombinasi ekstrak dengan tetrasiklin ($37.76-42.70$ mm) menunjukkan hasil yang tidak dapat dibedakan (not distinguishable) dibandingkan antibiotik tunggal maupun dosis gandanya. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak etanol maupun etil asetat dengan amoksisilin mampu meningkatkan aktivitas antibakteri dibandingkan perlakuan tunggal, dengan memberikan efek aditif. Sementara itu, kombinasi ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat dengan tetrasiklin serta kombinasi ekstrak n-heksana dengan amoksisilin maupun tetrasiklin tidak menunjukkan perbedaan bermakna (not distinguishable).

Key word:

Clitoria ternatea L.,
Antibacterial Activity;
Antibiotic Combination;
Staphylococcus aureus;
Type of Interaction

ABSTRACT

Antibiotic combination is a strategy to enhance antibacterial effectiveness by acting on different cellular targets. The utilization of natural ingredients as adjuvants also has the potential to improve antimicrobial responses. Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) is known to contain antibacterial compounds that can potentiate antibiotic activity. Research regarding the interaction of *Clitoria ternatea* extracts with antibiotics against *Staphylococcus aureus* remains limited; therefore, this study aims to evaluate the interaction patterns of these combinations.

Clitoria ternatea L. simplicia was macerated using three solvents: ethanol, ethyl acetate, and n-hexane. Antibacterial testing was conducted based on the Zone of Inhibition (ZOI) using the Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST) method, which is suitable as an initial screening method for antimicrobial interactions. Extracts were tested at a concentration of 50% (500,000 ppm), with the inoculum standardized to 0.5 McFarland, and each treatment was replicated 3×2 times. Data were analyzed using One-way ANOVA or non-parametric tests (Kruskal-Wallis) depending on the data distribution, followed by appropriate post hoc tests (Tukey, Games-Howell, or Mann-Whitney). The significance level was set at $p < 0,05$, and the type of interaction was determined based on AZDAST interpretation criteria (synergistic, additive, antagonistic, or not distinguishable).

The results showed that the combination of ethanol extract and amoxicillin produced an additive effect (55.06 ± 1.68 mm), The combination of ethyl acetate extract with amoxicillin (52.38 ± 2.60 mm). n-hexane extract with amoxicillin (52.60 ± 3.99 mm), and all extract combinations with tetracycline ($37.76-42.70$ mm) yielded results that were not distinguishable compared to either single antibiotics or their double doses. It can be concluded that the combination of ethanol and ethyl acetate extracts with amoxicillin can enhance antibacterial activity compared to single treatments by providing an additive effect. Meanwhile, the combinations of ethanol and ethyl acetate extracts with tetracycline, as well as the combinations of n-hexane extract with both amoxicillin and tetracycline, showed no significant difference (not distinguishable).

Pendahuluan

Kombinasi terapi antara antibiotik dengan herbal merupakan alternatif yang dapat meningkatkan efektivitas antibiotik. Hal tersebut bisa didapat karena terapi kombinasi memungkinkan intervensi pada titik kerja yang berbeda. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam herbal masing-masing memiliki mekanisme kerja yang berbeda terhadap sel bakteri (Riki Ramdani *et al.*, 2021); (Nuryani *et al.*, 2023). Selain efek antibakterinya, flavonoid sebagai salah satu metabolit sekunder juga dikenal luas karena aktivitas antioksidan dan anti-inflamasinya, sehingga kombinasi keduanya dapat melawan bakteri penyebab penyakit dengan cara yang lebih kuat dan holistik.

Kombinasi antibiotik-herbal dapat meningkatkan kerja antibiotik, hal itu memungkinkan penurunan dosis efektif antibiotik sehingga memperkecil risiko efek samping atau toksisitas dari antibiotik tersebut, herbal dapat berinteraksi dengan obat kimia untuk mengurangi efek sampingnya. Karena itu, kombinasi ini perlu dilakukan terutama dalam konteks meningkatnya resistensi bakteri, keterbatasan efektivitas antibiotik tunggal, dan kebutuhan untuk strategi pengobatan yang lebih aman dan efisien.

Salah satu strategi yang banyak dikembangkan adalah kombinasi antibiotik dengan agen adjuvan dari bahan alam yang dapat memperkuat aktivitas antibakteri melalui peningkatan penetrasi obat, penghambatan pembentukan biofilm, serta aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi (Asti Rahayu *et al.*, 2022); (Aniba *et al.*, 2024). Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) merupakan tanaman dari famili *Fabaceae* yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Iga Mayola Pisacha *et al.*, 2023). Secara etnomedisinal, bunga telang kerap dijadikan bagian dari pengobatan untuk menangani iritasi mata, gangguan urinaria, keputihan, dan sebagai Penawar racun (Iga Mayola Pisacha *et al.*, 2023); (Rahmah *et al.*, 2023). Secara laboratoris, kandungan metabolit sekundernya, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan antrakuinon, berpotensi mendukung aktivitas antibiotik (Dyah Widhowati *et al.*, 2022); (Juwitaningrum *et al.*, 2018); (Annisa Tri Banoeari, 2023). Efektivitas antibakteri ekstrak bunga telang dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Pelarut nonpolar seperti n-heksana mengekstraksi terpenoid, pelarut semipolar seperti etil asetat melarutkan alkaloid, sedangkan pelarut polar seperti etanol mengekstraksi flavonoid dan fenol (Siti Muawanah *et al.*, 2023).

Peningkatan kerja obat dapat meningkat atau menurun dengan adanya interaksi dengan senyawa lain. Dalam terapi antibakteri, penggunaan kombinasi dua agen antimikroba dapat menghasilkan berbagai jenis interaksi, yaitu sinergis, antagonis, aditif atau *not distinguishable*. Interaksi ini dapat terjadi baik antara dua antibiotik maupun antara antibiotik dengan bahan alam seperti ekstrak herbal (Fima Perdani Rahayu, 2023). Interaksi tersebut memengaruhi efek farmakologis dari masing-masing senyawa, yang dalam beberapa kasus dapat memperkuat (sinergis), setara (aditif), saling menghambat (antagonis), atau bahkan tidak mempengaruhi (*not distinguishable*) efek satu sama lain (Fareza *et al.*, 2022).

Meskipun aktivitas antibakteri ekstrak tunggal bunga telang telah banyak dilaporkan, studi mengenai kombinasi ekstraknya dengan antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* masih terbatas. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu patogen utama penyebab infeksi pada manusia, baik di komunitas maupun di fasilitas pelayanan kesehatan. Bakteri ini dapat menimbulkan berbagai penyakit mulai dari infeksi kulit ringan hingga pneumonia, sepsis, dan infeksi pascaoperasi (Rahman *et al.*, 2023); (Asri Widyasanti, 2024). Secara global, prevalensi infeksi *Staphylococcus aureus* di rumah sakit mencapai 18–30%, sementara di Indonesia angka resistensi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dilaporkan berkisar antara 25–65% (Suryanditha *et al.*, 2018); (Kemenkes, 2017). Tingginya angka kejadian tersebut berkontribusi terhadap peningkatan morbiditas, mortalitas, serta beban biaya kesehatan (Fitrandi *et al.*, 2023). Terapi utama infeksi *Staphylococcus aureus* umumnya menggunakan antibiotik golongan β -laktam seperti amoksisilin yang bekerja dengan cara menghambat sintesis

protein pada bakteri dan tetrasiklin yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel serta protein bakteri (Simanjuntak *et al.*, 2022); (Anggita *et al.*, 2022).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi interaksi antara ekstrak bunga telang dari tiga jenis pelarut (n-heksana, etil asetat, dan etanol) dengan antibiotik amoksisilin dan tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST).

Metode

Pendekatan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dilakukan secara *in vitro* dan bersifat analitik laboratorik. Pada penelitian ini bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Universitas Islam Malang. Sedangkan serbuk *Clitoria ternatea L.*, berasal dari UPT Materia Medica Batu dengan nomor determinasi 250630.F.U.834. Penelitian dilakukan untuk mengetahui ZOI serta jenis interaksi kombinasi *Clitoria ternatea L.*, dengan *Amoxicillin* atau Tetrasiklin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Ekstraksi Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*)

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) segar disortasi, dibersihkan dengan air mengalir, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C hingga kering sempurna. Bahan kering digiling menjadi serbuk kasar dan disimpan dalam wadah kaca tertutup rapat. Sebanyak 100 g serbuk bunga telang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan 500 mL pelarut etanol 98%, etil asetat 100%, dan n-heksana 100% (rasio 1:5 w/v) dalam *water bath shaker* selama 24 jam. Proses remaserasi dilakukan dua kali dengan kondisi yang sama, kemudian setelah disaring, hasil ekstrak digabung dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C, kemudian masukkan ke oven hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan pada lemari pendingin hingga digunakan (Asri Widayanti, 2024); (Harefa *et al.*, 2024).

Preparasi Media dan Kultur Bakteri

Tahap peremajaan *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* WDCM 00032 dilakukan pada media Mueller Hinton Agar (MHA) buatan Oxoid dengan konsentrasi 38,8 g/L. Pembuatan media mengacu pada petunjuk pabrik dan disterilkan menggunakan autoklaf (121°C, 15 menit). Setelah proses sterilisasi, media steril dituangkan ke dalam cawan Petri dalam kondisi aseptis dan didiamkan pada suhu kamar sampai padat. Isolat bakteri dikultur ulang pada media MHA guna mendapatkan koloni yang baru. Sebanyak 4–5 koloni terpisah dipanen menggunakan ose steril, kemudian disuspensikan ke dalam tabung berisi 2 mL saline 0,9% steril. Suspensi tersebut divortex sampai homogen. Penyesuaian kekeruhan dilakukan hingga mencapai standar McFarland 0,5 (absorbansi 0,08–0,10 pada pembacaan panjang gelombang 625 nm). Tahap selanjutnya adalah inkubasi selama 18 hingga 24 jam pada rentang suhu 35–37°C. Koloni yang telah diremajakan kemudian digunakan untuk evaluasi aktivitas antibakteri.

Uji Zone Of Inhibition Tunggal dan Kombinasi Dengan Metode AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test*)

Sebelum penempelan cakram antibiotik atau ekstrak, cawan agar diinokulasi dengan bakteri yang telah distandarisasi untuk membentuk *lawn culture*. Blank disk disiapkan yang akan direndam selama 5 menit untuk memaksimalkan penyerapan ekstrak pada masing-masing ekstrak kental dari ekstrak etanol, etil asetat dan n-hexana dari bunga telang dengan konsentrasi 500.000 ppm atau 50% b/v,

kemudian dibiarkan kering selama 10 menit sebelum digunakan dalam uji AZDAST. Antibiotik amoxicillin dan tetrasiklin yang digunakan sebesar 30 µg/disk.

Antibiotik maupun ekstrak herbal dalam bentuk cakram (*paper disk*) di masukkan dalam media padat MHA yang telah di *autoclave* dan di tanam pada dasar dari cawan petri. Cawan petri dibuat dalam beberapa uji, cawan petri 6 uji yang berisi (ekstrak etanol, etil asetat dan n-hexana) tunggal dan ganda, cawan petri dengan tiga uji (kombinasi antibiotik-herbal), dan cawan petri dengan 2 uji (antibiotik) tunggal dan ganda. Setelah seluruh disk ditempelkan di atas media MHA yang sudah diinokulasi, kemudian cawan diisi kembali dengan agar *Mueller-Hinton* yang masih hangat, dengan kedalaman agar yang dijaga pada kisaran 3,5 mm. Uji tersebut dilakukan ulangan biologis sebanyak 3 kali, setiap dengan 2 kali pengulangan teknis.

Setelah cakram ditempel dan cawan petri diinkubasi pada suhu 35°C selama 16–18 jam, interpretasi dilakukan dengan mengamati zona bening di sekitar cakram, yang menunjukkan area tanpa pertumbuhan bakteri (Putri et al., 2024). Setelah inkubasi, diameter zona hambat pertumbuhan diukur menggunakan jangka sorong. Interpretasi hasil dilakukan dengan membandingkan diameter zona hambat antara disk tunggal dengan kombinasi disk.

Metode Penentuan Interaksi

Penentuan interaksi berdasarkan hasil ZOI tersebut diukur dengan metode AZDAST (Ameri Ziaei Double Antibiotik Synergism Test). Interpretasi hasil ZOI disesuaikan dengan interpretasi hasil metode AZDAST, pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Pedoman Interpretasi Metode AZDAST.

Keterangan: A= Antibiotik *Amoxicillin* atau *Tetracycline*; B= Ekstrak *Clitoria ternatea L.*; AB= Kombinasi Antibiotik dan Ekstrak *Clitoria ternatea L.*

Hasil Kombinasi	Interpretasi
Jika $AB > A \& B$ dan $<$ atau $>$ dari AA dan/atau BB	Sinergis
Jika salah satu dari $A/B = 0$ dan $AB > A \& B$ dan $<$ atau $>$ AA dan/atau BB	Potensiasi
Jika $AB < A/B$ (atau hanya lebih kecil dari yang lebih besar)	Antagonis
Jika $AB = AA$ dan/atau BB (Mana yang lebih besar dari A & B)	Aditif
Jika $AB =$ salah satu dari A/B (sama dengan yang lebih besar)	<i>Not distinguishable</i>

Analisa Data Statistik

Parameter ZOI dievaluasi tingkat hambatannya menggunakan jangka sorong (presisi mm). analisis data statistik dilakukan menggunakan SPSS. Guna memenuhi syarat uji parametrik, data yang telah terkumpul dievaluasi kelayakannya lewat pemeriksaan sebaran data beserta kesetaraan varians.

Uji *Welch's ANOVA* digunakan untuk kelompok data kombinasi ekstrak etanol-amoksisilin, etanol-tetrasiklin, dan etil asetat-tetrasiklin karena data terdistribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($P < 0,05$) sehingga uji lanjut dilakukan menggunakan uji *Post Hoc Games-Howell*, sedangkan untuk data yang normal dan homogen pada etil asetat-amoksisilin, digunakan uji *One-Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji post Hoc Tukey.

Uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* diterapkan pada kelompok data n-heksana dengan amoksisilin atau tetrasiklin karena data tidak memenuhi asumsi normalitas dan/atau homogenitas. Analisis perbedaan antar kelompok pada data tersebut kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* (Ulinuha Firdausyah Avisena et al., 2021); (Rizky Ardian et al., 2024); (Riki Ramdani et al., 2021).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Uji ZOI Kombinasi Amoxicillin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksana dari *Clitoria ternatea L.*, terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat menunjukkan bahwa *amoxicillin* dosis tunggal menghasilkan zona hambat sebesar $47,95 \pm 1,91$ mm, sedangkan pada dosis ganda sebesar $50,32 \pm 2,98$ mm. Ekstrak etanol *Clitoria ternatea L.* pada dosis tunggal mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter $8,70 \pm 0,51$ mm, dan meningkat menjadi $11,88 \pm 1,71$ mm pada dosis ganda. Kombinasi *amoxicillin* dengan ekstrak etanol menghasilkan zona hambat sebesar $55,06 \pm 1,68$ mm, yang menunjukkan bahwa interaksi AB sama dengan AA dan atau BB dan interaksi AB berbeda signifikan dengan B dan BB (aditif).

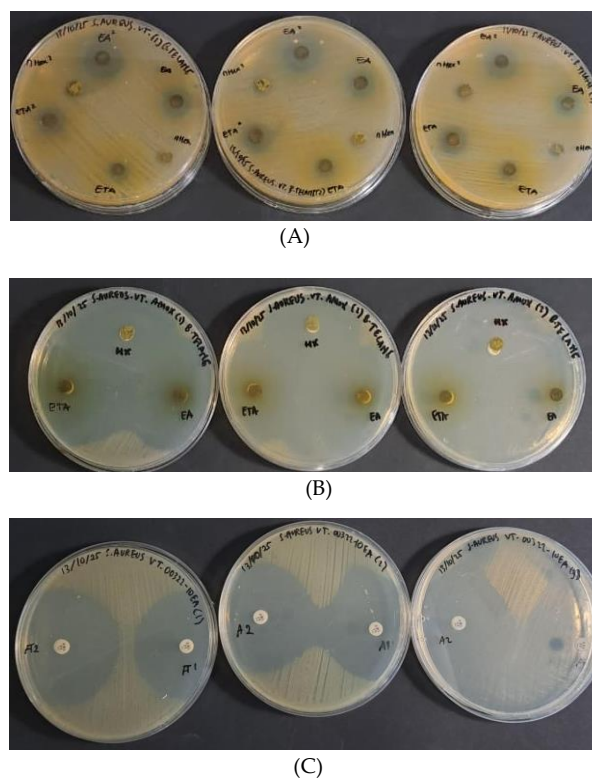
Pola yang serupa ditemukan pada perlakuan menggunakan ekstrak etil asetat. dosis tunggal memberikan zona hambat $8,70 \pm 0,51$ mm, sementara dosis gandanya $11,87 \pm 1,68$ mm. Kombinasi *amoxicillin* dengan ekstrak etil asetat menghasilkan zona hambat sebesar $52,38 \pm 2,60$ mm, Sejalan dengan hasil pada ekstrak etanol, interaksi kombinasi ini juga dikategorikan sebagai aditif, di mana diameter zona hambat kombinasi (AB) berbeda signifikan secara statistik dibandingkan dengan dosis tunggal (B) maupun dosis ganda ekstrak (BB).

Sementara itu, pada perlakuan dengan ekstrak n-heksana, baik dosis tunggal maupun ganda tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ($0,00 \pm 0,00$ mm). Namun, kombinasi *amoxicillin* dengan ekstrak n-heksana mampu menghasilkan zona hambat sebesar $52,60 \pm 3,99$ mm, dengan hasil interaksi yang serupa, yaitu tidak dapat dibedakan secara signifikan, yang menunjukkan bahwa interaksi AB sama dengan A dan AA dan interaksi AB berbeda signifikan dengan B dan BB (*not distinguishable*). Rerata hasil pengukuran zona hambat kombinasi tetrasiklin dengan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana dari *Clitoria ternatea L.* terhadap *Staphylococcus aureus* tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat dari Kombinasi Amoksisilin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksan dari *Clitoria ternatea L.* terhadap *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak	Sampel	Rata-rata ± SD (mm)	Jenis Interaksi
Etanol	AB	55.06 ± 1.68 ^a	Aditif: AB = AA dan/atau BB) (Mana yang lebih besar dari A dan B)
	AA	50.32 ± 2.98 ^{ab}	
	A	47.95 ± 1.91 ^b	
	BB	11.88 ± 1.71 ^c	
	B	8.70 ± 0,51 ^d	
Etil Asetat	AB	52.38 ± 2.60 ^a	Aditif: AB = AA dan/atau BB)
	AA	50.32 ± 2.98 ^{ab}	
	A	47.95 ± 1.91 ^b	
	BB	11.87 ± 1.68 ^c	
	B	8.70 ± 0.51 ^c	
N-hexana	AB	52.60 ± 3.99 ^a	Not Distinguishable: AB = salah satu dari A/B
	AA	50.32 ± 2.98 ^a	
	A	47.95 ± 1.91 ^a	
	BB	0.00 ± 0.00 ^b	
	B	0.00 ± 0.00 ^b	

Keterangan: A= Amoksisilin Tunggal; AA= Amoksisilin Ganda; H= Herbal (ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana *Clitoria ternatea L.*) tunggal; HH= Herbal (ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana *Clitoria ternatea L.*) ganda; AH= Kombinasi Amoksisilin dengan ekstrak etanol, etil asetat, n-heksana *Clitoria ternatea L.*



Gambar 1. Hasil Pengukuran Zona Inhibisi Kombinasi Amoksisilin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan dari *Clitoria ternatea L.* terhadap *Staphylococcus aureus*; A: Ekstrak Tunggal dan Ganda Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan; B: Kombinasi Antibiotik Amoksisilin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan dari *Clitoria ternatea L.*; C: Antibiotik Amoksisilin Tunggal dan Ganda.

Keterangan: ETA = Etanol Tunggal; EA: Etil Asetat Tunggal; N-HX = N-Heksan Tunggal; ETA2 = Etanol Ganda; EA2: Etil Asetat Ganda; N-HX2 = N-Heksan Ganda; A1 = Antibiotik Tunggal; A2 = Antibiotik Ganda.

Tabel 1. Formula sediaan masker clay stik Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) Dan Daun Sagu (*Metroxylon Sagu Rottb*)

Hasil Uji ZOI Kombinasi Tetrasiklin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksana dari *Clitoria ternatea L.*, terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat menunjukkan bahwa Tetrasiklin dosis tunggal menghasilkan zona hambat sebesar 37.59 ± 4.75 mm, pada dosis ganda sebesar 41.23 ± 3.62 mm. Ekstrak etanol *Clitoria ternatea L.* pada dosis tunggal mampu menekan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter 8.70 ± 0.51 mm, dan meningkat menjadi 11.87 ± 1.68 mm pada dosis ganda. Kombinasi tetrasiklin dengan ekstrak etanol menghasilkan zona hambat sebesar 37.76 ± 2.85 mm, yang menunjukkan bahwa interaksi AB sama dengan A dan AA dan interaksi AB berbeda signifikan dengan B dan BB (*not distinguishable*).

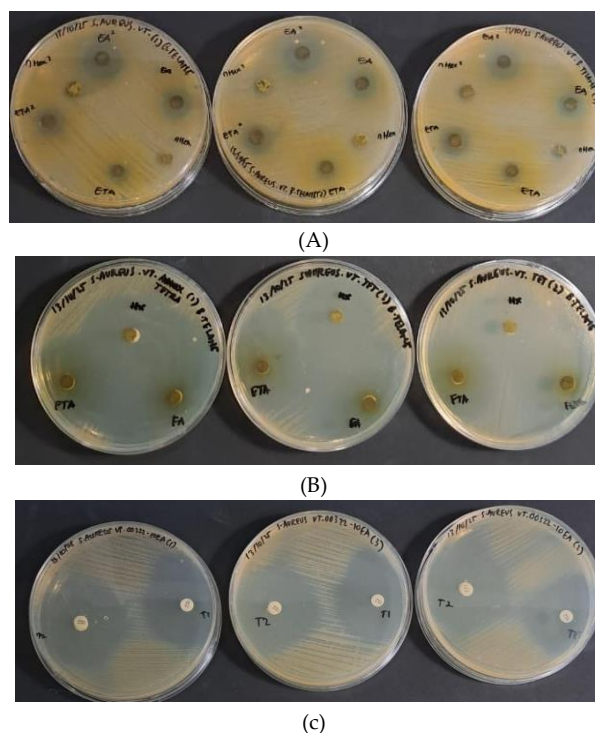
Pada perlakuan menggunakan ekstrak etil asetat, dosis tunggal memberikan zona hambat 11.96 ± 1.46 mm, sedangkan dosis gandanya 16.30 ± 2.28 mm. Kombinasi tetrasiklin dengan ekstrak etil asetat menghasilkan zona hambat sebesar 42.70 ± 2.94 mm. Jenis interaksi yang dihasilkan juga tidak menunjukkan perbedaan nyata, sehingga interaksi AB sama dengan A dan AA dan interaksi AB berbeda signifikan dengan B dan BB (*not distinguishable*).

Pada perlakuan dengan ekstrak n-heksana, baik dosis tunggal maupun ganda tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* ($0,00 \pm 0,00$ mm). Namun,

kombinasi tetrasiklin dengan ekstrak n-heksana mampu menghasilkan zona hambat sebesar $52,60 \pm 3,99$ mm, dengan hasil interaksi yang serupa, yaitu tidak dapat dibedakan secara signifikan, yang menunjukkan bahwa interaksi AB sama dengan A dan AA dan interaksi AB berbeda signifikan dengan B dan BB (*not distinguishable*). Rerata hasil pengukuran zona hambat kombinasi tetrasiklin dengan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana dari *Clitoria ternatea L.* terhadap *Staphylococcus aureus* tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Diameter Zona Hambat dari Kombinasi Tetrasiklin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksan dari *Clitoria ternatea L.* terhadap *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak	Sampel	Rata-rata \pm SD (mm)	Jenis Interaksi
Etanol	AB	37.76 ± 2.85^a	<i>Not Distinguishable</i> AB = salah satu dari A/B
	AA	41.23 ± 3.62^a	
	A	37.59 ± 4.75^a	
	BB	11.87 ± 1.68^b	
	B	8.70 ± 0.51^c	
Etil Asetat	AB	42.70 ± 2.94^a	<i>Not Distinguishable</i> AB = salah satu dari A/B
	AA	41.23 ± 3.62^a	
	A	37.59 ± 4.75^a	
	BB	16.30 ± 2.28^b	
	B	11.96 ± 1.46^c	
N-hexana	AB	38.11 ± 2.52^a	<i>Not Distinguishable</i> AB = salah satu dari A/B
	AA	41.23 ± 3.62^a	
	A	37.59 ± 4.75^a	
	BB	0.00 ± 0.00^b	
	B	0.00 ± 0.00^b	



Gambar 2. Hasil Pengukuran Zona Inhibisi Kombinasi Tetrasiklin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan dari *Clitoria ternatea L.* terhadap *Staphylococcus aureus*; A: Ekstrak Tunggal dan Ganda Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan; B: Kombinasi Antibiotik Tetrasiklin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksan dari *Clitoria ternatea L.*; C: Antibiotik Tetrasiklin Tunggal dan Ganda.

Keterangan: ETA = Etanol Tunggal; EA: Etil Asetat Tunggal; N-HX = N-Heksan Tunggal; ETA2 = Etanol Ganda; EA2: Etil Asetat Ganda; N-HX2 = N-Heksan Ganda; T1 = Antibiotik Tunggal; T2 = Antibiotik Ganda.

Jenis Interaksi Kombinasi Amoxicillin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksana dari *Clitoria ternatea L.*, terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Clitoria ternatea L.* secara tunggal mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar $8,70 \pm 0,51$ mm. Kombinasi amoksisilin–ekstrak etanol menghasilkan zona hambat sebesar $55,06 \pm 1,68$ mm, yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan amoksisilin tunggal ($47,95 \pm 1,91$ mm). Nilai AB (Antibiotik–Herbal) menunjukkan kesetaraan dengan nilai AA, namun berbeda signifikan dibandingkan kelompok A, B, maupun BB. Secara statistik, temuan ini mengindikasikan adanya pola interaksi yang bersifat aditif. Sementara itu, kombinasi ekstrak etil asetat maupun n-heksana dengan antibiotik tidak menunjukkan peningkatan zona hambat yang signifikan dibandingkan dosis tunggal maupun dosis gandanya. Dengan demikian, pola interaksi yang terbentuk dikategorikan sebagai non-distinguishable, sesuai definisi yang digunakan dalam penelitian (Ziaei-daroukalei *et al.*, 2016).

Efek aditif menunjukkan bahwa kombinasi dua agen menghasilkan efek yang setara dengan penjumlahan efek masing-masing senyawa ketika diberikan secara terpisah (Ziaei-daroukalei *et al.*, 2016). Dalam konteks penelitian ini, kandungan bahan aktif pada *Clitoria ternatea L.*, diduga meningkatkan daya hambat amoksisilin hingga mencapai nilai yang sebanding dengan pemberian amoksisilin dosis ganda.

Penelitian oleh (SASONGKO, 2023) melaporkan bahwa uji skrining fitokimia terhadap ekstrak bunga telang menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid pada ekstrak etanol 96% dan etil asetat. Sebaliknya, ekstrak n-heksana hanya mengandung alkaloid. Perbedaan komposisi ini dipengaruhi oleh sifat pelarut yang digunakan: etanol bersifat polar sehingga

mampu mengekstraksi senyawa polar dan semipolar; etil asetat bersifat semipolar sehingga menarik senyawa polar maupun semipolar; sedangkan n-heksana bersifat non-polar dan hanya melarutkan senyawa non-polar. Dengan demikian, variasi kepolaran pelarut menentukan jenis serta jumlah metabolit bioaktif yang dapat terekstraksi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak etanol *Clitoria ternatea L.* mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* baik pada pemberian tunggal maupun dalam kombinasi, dengan pola interaksi aditif ketika dikombinasikan dengan amoksisilin. Efek aditif tersebut mengindikasikan bahwa kedua agen memberikan kontribusi antibakteri tanpa saling memperkuat secara signifikan seperti pada interaksi sinergis, maupun saling menurunkan efektivitas seperti pada interaksi antagonis. Pola ini diperkirakan terjadi karena masing-masing bekerja melalui jalur aksi yang berbeda namun bersifat independen.

Senyawa fitokimia dalam ekstrak termasuk alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin memberikan aktivitas antibakteri melalui mekanisme seperti kerusakan membran sel, gangguan enzim metabolik, penghambatan sintesis protein, serta pelemahan struktur dinding sel (I Gusti Ayu Sinta Amara Yuda, 2024); (Dyah Widhowati *et al.*, 2022); (Febrianti Febriantia *et al.*, 2022); (Asri Widyasanti *et al.*, 2024); (Iga Mayola Pisacha *et al.*, 2023). Sementara itu, amoksisilin secara spesifik menargetkan enzim *Penicillin-Binding Proteins* (PBP) dan menghambat pembentukan ikatan silang peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Karena senyawa ekstrak tidak meningkatkan penetrasi amoksisilin, tidak menghambat β -laktamase, dan tidak berinteraksi langsung dengan target utama antibiotik, maka tidak terjadi peningkatan efek yang bersifat sinergis. Sebaliknya, masing-masing agen bekerja sesuai mekanismenya sendiri sehingga efek antibakteri yang dihasilkan merupakan penjumlahan dari keduanya, sesuai dengan karakter interaksi aditif.

Jenis Interaksi Kombinasi Tetrasiklin dengan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksana dari *Clitoria ternatea L.*, terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Clitoria ternatea L.* pada dosis tunggal mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar $8,70 \pm 0,51$ mm, sedangkan kombinasi amoksisilin–ekstrak etanol menghasilkan zona hambat $37,76 \pm 2,85$ mm. Pada ekstrak etil asetat, dosis tunggal menghasilkan zona hambat $11,96 \pm 1,46$ mm, sementara kombinasi dengan amoksisilin memberikan zona hambat $42,70 \pm 2,94$ mm. Adapun ekstrak n-heksana tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pada dosis tunggal ($0,00 \pm 0,00$ mm), tetapi kombinasi dengan amoksisilin menghasilkan zona hambat $52,60 \pm 3,99$ mm. Ketiga ekstrak tersebut menunjukkan pola interaksi yang sama, yaitu nilai zona hambat kombinasi (AB) tidak berbeda dibandingkan A maupun AA, tetapi berbeda signifikan dari B dan BB. Pola tersebut mengindikasikan bahwa interaksi yang terjadi termasuk kategori *not distinguishable*.

Jenis interaksi *not distinguishable* terjadi ketika zona hambat kombinasi (AB) memiliki nilai yang setara dengan salah satu agen tunggal (A atau B), biasanya yang memiliki efek lebih besar. Kondisi ini menunjukkan bahwa efek kombinasi tidak dapat dibedakan dari efek agen tunggal tersebut sehingga tidak tampak adanya kontribusi tambahan dari agen kedua.

Amoksisilin dan tetrasiklin memiliki mekanisme kerja yang berbeda dalam menghambat bakteri. Amoksisilin, antibiotik β -laktam, bersifat bakterisidal melalui penghambatan *Penicillin-Binding Proteins* (PBP) yang berperan dalam proses *cross-linking peptidoglikan* (Anggita *et al.*, 2022), sehingga melemahkan dinding sel bakteri hingga mengalami lisis. Sebaliknya, tetrasiklin bersifat bakteriostatik dengan cara berikatan pada subunit ribosom 30S dan menghambat masuknya tRNA pembawa asam amino, yang pada akhirnya menghentikan sintesis protein (Wari Pawestri *et al.*, 2019); (Adelia Agustanty, 2022).

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana semuanya menunjukkan pola interaksi *not distinguishable* ketika dikombinasikan dengan tetrasiklin. Hal ini ditunjukkan oleh nilai AB yang tidak berbeda signifikan dari A maupun AA, tetapi tetap berbeda signifikan dari B dan BB. Secara statistik, pola ini menunjukkan bahwa kombinasi tidak meningkatkan daya hambat dibandingkan antibiotik tunggal.

Secara teori, tetrasiklin bekerja secara intraseluler pada ribosom 30S, sedangkan *Clitoria ternatea* L. diketahui mengandung alkaloid dan senyawa aktif lain yang merusak dinding sel. Secara mekanistik kombinasi keduanya berpotensi bersifat sinergis karena kerusakan dinding sel dapat meningkatkan uptake tetrasiklin ke dalam sel bakteri. Namun, efek sinergis tersebut tidak tampak secara nyata pada hasil pengujian.

Keberhasilan ekstraksi senyawa aktif sangat dipengaruhi oleh proses pengolahan bahan. Pengeringan yang terlalu lama di bawah sinar matahari dapat menurunkan kadar senyawa aktif (Iga Mayola Pisacha *et al.*, 2023). Selain itu, lama waktu ekstraksi turut menentukan jumlah senyawa yang diperoleh. Ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan degradasi atau hidrolisis senyawa, sedangkan waktu yang terlalu singkat dapat membuat senyawa aktif belum sepenuhnya terekstraksi. Oleh karena itu, waktu ekstraksi yang optimal sangat penting untuk memaksimalkan proses transfer massa antara bahan dan pelarut (Lalu Mulyawan Mustika Candra *et al.*, 2021).

Kesimpulan dan Saran

Penelitian ini menyimpulkan bahwa kombinasi ekstrak etanol *Clitoria ternatea* L. dengan amoxicillin memberikan efek aditif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Sebaliknya, kombinasi ekstrak etanol dengan tetracycline, maupun pemanfaatan pelarut dengan polaritas yang lebih rendah (n-heksana dan etil asetat), tidak memberikan peningkatan daya hambat yang signifikan (*not distinguishable*). Hasil ini mengindikasikan bahwa pelarut polar seperti etanol lebih optimal dalam mengekstraksi senyawa bioaktif yang mampu berinteraksi positif dengan mekanisme kerja amoxicillin, namun senyawa tersebut tidak memiliki interaksi spesifik dengan antibiotik golongan tetracycline. Temuan ini memberikan dasar ilmiah mengenai potensi ekstrak etanol bunga telang sebagai agen adjuvan yang menjanjikan untuk meningkatkan efikasi antibiotik beta-laktam terhadap infeksi bakteri. Sebagai langkah pengembangan, penelitian mendatang perlu difokuskan pada pemisahan senyawa spesifik menggunakan maserasi bertingkat, identifikasi kromatografi, serta isolasi senyawa aktif dari ekstrak etanol. Pendekatan *in silico* (*molecular docking*) juga sangat direkomendasikan untuk memetakan mekanisme interaksi molekuler antara senyawa aktif target dengan protein *Staphylococcus aureus*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang mendanai penelitian ini dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas dukungan pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih juga diberikan kepada staf Laboratorium Pusat Riset Kedokteran atas bantuan teknis yang telah diberikani.

Daftar Pustaka

- Adelia Agustanty, A. B. (2022). Pola Resistensi Bakteri *Vibrio Cholerae* Terhadap Antibiotik Ciprofloxacin dan Tetracycline. *Journal Health and Science*, 6(1), 73–78.
- Anggita, D., Nuraisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46–58.
- Aniba, R., Dihmane, A., Raqraq, H., Ressmi, A., & Nayme, K. (2024). Characterization of biofilm formation in uropathogenic *Staphylococcus aureus* and their association with antibiotic resistance. *The Microbe*, 2(December 2023), 100029. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2023.100029>
- Annisa Tri Banoeari, T. J. (2023). Kajian Aktivitas Antibakteri dan Toksisitas Ekstrak Biji Telang. *CHEDS: Journal of Chemistry, Education, and Science*, 7(2), 254–261.
- Asri Widyasanti, F. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Science and Technology*, 17(2), 198–205.
- Asti Rahayu, Sukarjati, Pungky Slamet Wisnu Kusuma, N. A. (2022). *Sistem Penghantaran Obat*.
- Dyah Widhawati, Beti Gistawati Musayannah, O. R. P. A. N. (2022). Jurnal Vitek Bidang Kedokteran Hewan Vol . 12 No . 1 , Mei 2022 BAKTERI ALAMI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* Penelitian ini menggunakan metode eksperimental mengenai pengaruh ekstrak bunga telang sebagai antibakteri alami terhadap pert. *Jurnal Vitek Bidang Kedokteran Hewan*, 12(1), 17–21.
- Fareza, A., Pradista, F., Putra, I., Bintari, Y. R., Risandiansyah, R., Fareza, A., Pradista, F., Putra, I., Bintari, Y. R., & Risandiansyah, R. (2022). PENGARUH JAMU DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) PADA AZITROMISIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* THE EFFECT OF *Moringa oleifera* JAMU WITH AZITHROMYCIN ON *Staphylococcus aureus*. 1–10.
- Febrianti Febriantia, Asri Widyasantia, S. N. (2022). ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L .) terhadap. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 18(2), 234–241. <https://doi.org/10.20961/alchemy.18.2.52508.234-241>
- Fima Perdani Rahayu, Y. S. (2023). IDENTIFIKASI INTERAKSI OBAT PADA RESEP TENTANG GANGGUAN PERNAPASAN DI BULAN FEBRUARI 2023 DI APOTEK KOTA BANDUNG. *Farmaka Volume*, 21(February), 298–306.
- Fitrandi, M., Isrina, S., Salasia, O., Sianipar, O., Dewananda, D. A., & Arjana, A. Z. (2023). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates derived from humans and animals in Yogyakarta , Indonesia. *Veterinary World*, 16.
- Harefa, K., Ritonga, A. H., Safitri, R., & Aritonang, B. (2024). Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L .) dan Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L .) dalam Menurunkan Kadar VCAM-1 pada Aterosklerosis Anti-inflammatory Activity of the Combination of Butterfly Pea Flower (*Clitoria terna*. *JURNAL KEPERAWATAN DAN FISIOTERAPI (JKF)*, c, 128–136.
- I Gusti Ayu Sinta Amara Yuda, K. W. A. (2024). Review: Potensi Aktivitas Antibakteri Daun dan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Journal Scientific of Mandalika (JSM)*, 5(6), 228–235.

Iga Mayola Pisacha, Wina Safutri, K. W. R. (2023). REVIEW ARTIKEL : AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*. *JURNAL FARMASI*, 2(2), 68–74.

Juwitaningrum, Ruth Christiana Sasmita, I. S. (2018). Tatalaksana paripurna pulpitis ireversibel gigi sulung anak usia 11 tahun. *Journal of Indonesian Dental Association*, 1(1), 92–96.

Kemkes. (2017). *PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR 27 TAHUN 2017*.

Lalu Mulyawan Mustika Candra, Yayuk Andayani, D. G. W. (2021). EFFECT OF EXTRACTION METHOD ON TOTAL PHENOLIC CONTENT AND. *J. Pijar MIPA*, 16(3), 397–405. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>

Nuryani, I., Widiya, M., & Fitriani, L. (2023). Pengaruh Sari Pati Daun Telang (*Clitoria ternatea*) Terhadap Zona Hambat *Staphylococcus aureus* (The Effect Of Starch Extract Form Butterfly Pea Leaves (*Clitoria ternatea*) On The Inhibition Zone Of *Staphylococcus aureus*). *Jurnal Biologi Indonesia*, 19(2), 183–188. <https://doi.org/10.47349/jbi/19022023/183>

Rahmah, S., Ramdan, K., & Wulandari, R. (2023). Determination of Anthocyanin Levels in Telang Flower (*Clitoria Ternatae*) Using the Differential pH Method Based on Three Types of Solvents. *JURNAL KESEHATAN*, 10(01), 45–53.

Rahman, I. W., Arfani, N., & Tadoda, J. V. (2023). Deteksi Bakteri MRSA Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* pada. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 14(1), 48–54.

Riki Ramdani, Nurgustiyanti, Ermi Abriyani, D. F. (2021). SKRINING FITOKIMIA DAN UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BUNGA TELANG (*Clitoria*. *JURNAL BUANA FARMA*, 1(4), 1–7.

Rizky Ardian Hartanto Sawal, A. I. S., & Fatmaningrum, S. F. A. D. R. A. (2024). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) dan BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*.

SASONGKO, R. D. (2023). UJI SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) DENGAN METODE MASERASI DALAM PELARUT ETANOL, *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT.

Simanjuntak, H. A., Simanjuntak, H., & Maimunah, S. (2022). Diameter Zona Hambat Antibiotik Amoxicillin dan Tetracycline terhadap *Escherichia coli*. *Herbal Medicine Journal*, 5, 19–23.

Siti Muawanah, Dina Febrina, S. (2023). Pharmacy genius. *PHARMACY GENIUS*, 02(03), 189–197.

Suryanditha, P. A., Rasita, Y. D., Debora, K., & Kuntaman, K. (2018). *icaA* / *D* GENES AND BIOFILM FORMATION OF METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* IN DR . SOETOMO HOSPITAL , SURABAYA. *Fol Med Indones*, 54(4), 263–268.

Ulinuha Firdausyah Avisena, Arif Yahya, R. H. (2021). AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI TETRASIKLIN DENGAN FRAKSI - FRAKSI EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L .) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*. 1–7.

Wari Pawestri, Gagak Donny Satria , Nisa Hakimah, D. Y. (2019). Deteksi Kejadian Residu Tetrasiklin pada Daging Ikan Nila di Kota Yogyakarta dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Detection of Tetracycline Residue on Tilapia Meat in Kota Yogyakarta using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Jurnal Sain Veteriner*, 37(2), 185–192. <https://doi.org/10.22146/jsv>.

Ziaei-daroumkalaei, N., & Ameri, M. (2016). MethodsX AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection. *MethodsX*, 3(232), 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2016.01.002>