

## KEMAMPUAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oliefera*) DALAM MENGHAMBAT PEMBENTUKAN BIOFILM *Escherichia coli*

### *The Inhibitory Activity of Kelor (Moringa oliefera) Leaves Ethanolic Extract on Escherichia Coli Biofilm Formation*

Suryani Hutomo<sup>1</sup>, Ni Wayan Rosa Anggreni<sup>2</sup>, Ceny Gloria Larope<sup>2</sup>, Ni Wayan Maitri Puspadi Trismalinda<sup>2</sup>, Ni Komang Ayulia Sari<sup>2</sup>, Christiane Marlene Sooi<sup>3</sup>

#### AFFILITIONS

1. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Duta Wacana
2. Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Duta Wacana
3. Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Duta Wacana

#### ABSTRACT

*Escherichia coli* is a Gram-negative bacterium which is the main etiologic of urinary tract infection. This species adheres on host tissue and forms biofilm as one of its virulence factors. The increasing cases of antibiotics resistance towards this bacterium causes to develop methods to control *E. coli* biofilm formation. Kelor (*Moringa oliefera*) leaves have known to be an antibiotic. The aim of this study is to analyze the ability of kelor leaves extract to inhibit *E. coli* adherence. Kelor leaves were extracted with the maceration method. The susceptibility of *E. coli* to this extract was examined by a minimum inhibitory concentration (MIC) test using the broth microdilution method. A bacterial adherence assay was performed by similar methods of the MIC assay. The MIC value for the kelor leaves extract was at a concentration of 5,000 µg/ml. Moreover, this extract inhibited *E. coli* adherence starting at a concentration of 125 µg/ml and reached a maximum at a concentration of 2,000 µg/ml. Statistical analysis using One-way Anova demonstrated a significant difference of *E. coli* adherence following stimulation with kelor leaves extract ( $p = 0.000$ ). In conclusion, kelor leaves extract can inhibit *E. coli* biofilm formation.

#### KEYWORDS:

*Escherichia coli*, Biofilm, Adherence, *Moringa oliefera*

#### ABSTRAK

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif penyebab utama infeksi saluran kemih. Kemampuan bakteri ini untuk melekat pada host dan membentuk biofilm merupakan salah satu faktor virulensinya. Adanya resistensi antibiotik pada bakteri ini menyebabkan perlunya dikembangkan metode untuk mengendalikan pembentukan biofilmnya. Daun kelor (*Moringa oliefera*) diketahui memiliki sifat antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa kemampuan ekstrak etanol daun kelor dalam menghambat perlekatan *E. coli*. Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi. Konsentrasi hambat minimal (MIC) ditentukan dengan metode broth microdilution. Uji anti perlekatan dilakukan dengan metode yang sama. MIC ekstrak daun kelor terdapat pada konsentrasi 5000 µg/ml. Penghambatan perlekatan dimulai pada konsentrasi 125 µg/ml dan mencapai maksimum pada konsentrasi 2000 µg/ml. Analisis statistik menggunakan One-way Anova menunjukkan perbedaan yang bermakna dari perlekatan *E. coli* setelah dipapar ekstrak daun kelor ( $p = 0,000$ ). Kesimpulan penelitian ini bahwa ekstrak etanol daun kelor dapat menghambat pembentukan biofilm *E. coli*.

#### KATA KUNCI:

*Escherichia coli*, Biofilm, Perlekatan, *Moringa oliefera*

#### CORRESPONDING AUTHOR:

Suryani Hutomo  
suryani\_hutomo@staff.ukdw.ac.id

## PENDAHULUAN

*Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* dan genus *Escherichia* (Sutiknowati, 2016). Bakteri ini berbentuk batang, memiliki flagela, dan bersifat motil. Rata-rata bakteri ini berukuran 1-1,5 µm x 2-6 µm, tidak membentuk spora, dan bersifat anaerob

fakultatif. *Escherichia coli* dapat berkembang di air tawar, air laut, atau air tanah yang umumnya dapat tumbuh pada suhu 20-40 °C dengan suhu optimum 37 °C (Rahayu dkk., 2018; Sutiknowati, 2016).

*Escherichia coli* dapat menjadi patogen apabila terdapat perubahan pada lingkungan sekitarnya. Perubahan lingkungan tersebut dapat

berupa ketersediaan nutrisi yang berkurang dan adanya temperatur yang merugikan bagi *E. Coli* yaitu pada suhu 20°C - 40°C. Pada kondisi tersebut, mekanisme yang dilakukan *E.coli* adalah dengan membentuk biofilm sebagai bentuk pertahanan (Mahon *et al.*, 2014). Biofilm merupakan kumpulan bakteri interaktif yang terbungkus dalam matriks eksopolisakarida (EPS), saling melekat kuat pada permukaan keras. Satu atau lebih spesies bakteri berkumpul dan membentuk biofilm (Andreas *et al.*, 2020). Pembentukan biofilm ini merupakan salah satu faktor virulensi serta berkontribusi dalam timbulnya infeksi (Homenta, 2016).

*E. coli* yang ditemukan di luar *intestinal tract* dapat menyebabkan terjadinya infeksi saluran kemih. Penyebab terjadinya infeksi saluran kemih umumnya karena infeksi nosokomial termasuk pemasangan kateter (Sharma *et al.*, 2016). Biofilm *E. coli* dapat terbentuk pada kateter (Homenta, 2016).

Penggunaan antibiotika secara terus menerus dapat menimbulkan adanya resistensi. Resistensi dapat terjadi apabila obat tidak dapat mencapai target dan terjadi perubahan pada target (Rante *et al.*, 2017). Menurut data *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) memperkirakan bahwa sekitar 65% dari semua bakteri infeksius pada manusia yang melibatkan biofilm berhubungan dengan kronisitas infeksi yang banyak terjadi di Amerika Serikat (Yolazenia dkk., 2018). *E. coli* ditemukan

resisten pada berbagai macam antibiotik (Al-Shabib *et al.*, 2017; Hilda, 2017; Jihan, 2019; Moradigaravand *et al.*, 2018; Sumampouw, 2018).

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang mudah tumbuh pada daerah tropis terutama di Indonesia (Karo dkk., 2021). Tanaman kelor memiliki batang getas yaitu mudah patah dengan daun berwarna hijau terang saat muda dan hijau tua saat dewasa. Daun kelor banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai bahan makanan (Widowati dkk., 2014). Penelitian terdahulu menyebutkan daun kelor memiliki kandungan senyawa bioaktif yaitu alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan triterpenoid yang memiliki sifat sebagai antibakteri (Karo dkk., 2021). Adanya resistensi antibiotik menyebabkan perlunya dikembangkan metode untuk menghambat pembentukan biofilm, salah satunya dengan memanfaatkan daun kelor yang sudah dikenal masyarakat.

## **METODE**

### ***Persiapan Ekstrak***

Daun kelor dalam bentuk simplisia didapatkan dari Merapi Herbal Farma Yogyakarta dan telah dikonfirmasi (ref. 53-2/SK-BKK/MFH/I/2022). Tanaman berasal dari daerah Sidorejo, Hargobinangun, Pakem, Sleman Yogyakarta. Usia tanaman 26 bulan. Daun yang digunakan dipilih yang berwarna hijau tua. Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi, merupakan

modifikasi penelitian terdahulu. Delapan ratus gram simplisia daun kelor direndam dalam etanol 96% selama 24 jam dalam wadah tertutup. Ampas daun kelor dalam rendaman kemudian diperas dan larutan rendaman disaring. Setelah disaring, ampas direndam kembali dalam etanol 96% selama 24 jam. Selanjutnya, larutan dievaporasi menggunakan *vacuum evaporator* dengan suhu 70 °C yang bertujuan untuk menguapkan etanol dalam larutan tersebut. Ekstrak berbentuk pasta disimpan dalam almari es suhu 4 °C sebelum digunakan. Ekstrak etanol daun kelor diencerkan menggunakan dimethyl sulfoxide 2% (DMSO, Merck, Germany) untuk mendapatkan konsentrasi awal ekstrak sebesar 10.000 µg/ml yang selanjutnya disaring menggunakan filter milipore (*Sartorius, Germany*) sebagai stok ekstrak (Brillianti dkk., 2022).

### **Persiapan *E. coli***

*E. coli* pada penelitian ini merupakan isolat standar yaitu *E. coli* ATCC 25922. *Escherichia coli* ATCC 25922 dari vial ditumbuhkan pada medium brain hearth infusion (BHI) agar (Oxoid, Hampshire, UK) dan diinkubasi pada 37 °C pada kondisi mikroaerobik. Dua koloni *E. coli* dari kultur BHI agar dikultur kembali pada media BHI cair (Oxoid, Hampshire, UK) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi, kultur disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm. Supernatan dibuang dan kultur diresuspensi menggunakan pepton (Oxoid, USA) hingga

kekeruhannya setara dengan kekeruhan larutan standar McFarland 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml).

Uji antibakteri dan penentuan konsentrasi hambat minimum (*minimum inhibitory concentration*, MIC). Uji antibakteri menggunakan metode *broth microdilution* dilakukan pada *96-well plate* (Iwaki, Japan). Masing-masing sumuran diisi dengan media BHI cair sebanyak 100 µl. Ekstrak daun kelor sebanyak 10 µl dengan berbagai seri konsentrasi (156,25, 312,5, 625, 1250, 2500, 5000 dan 10000 µg/ml) ditambahkan pada sumuran-sumuran dengan replikasi 3 kali. Tigapuluh menit kemudian pada tiap sumuran ditambahkan 10 µl suspensi *E. coli* ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml). Sebagai kontrol positif digunakan ciprofloxacin. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi, dilakukan pengamatan untuk menentukan MIC. Konsentrasi hambat minimal ditentukan dengan mengamati kultur dengan konsentrasi terkecil yang kejernihannya sama dengan atau mendekati kejernihan kultur kontrol positif (Hutomo dkk., 2021).

### **Uji anti perlekatan pada *96-well plate***

Uji antiperlekatan dilakukan dengan mengkultur bakteri bersama ekstrak pada *96-well plate flatt bottom* dalam 80 µl BHI cair. Sepuluh mikroliter ekstrak daun kelor dengan berbagai konsentrasi (*serial dilution*, 0, 125, 250, 500, 1000, 2000, dan 4000 µg/ml) ditambahkan pada media sebelum bakteri diinokulasikan. Sepuluh menit

kemudian 10  $\mu$ l bakteri ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml) ditambahkan ke dalam media yang berisi ekstrak. Kultur dibuat dengan replikasi 3 kali. *Plate* kultur kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam.

Setelah inkubasi, *plate* dikeluarkan dan media dibuang serta dicuci 1 kali menggunakan phosphate buffer saline (PBS) steril. Fiksasi dilakukan dengan menambahkan 100  $\mu$ l methanol absolut per *well*, didiamkan selama 15 menit. Methanol dibuang dan dicuci kembali menggunakan PBS. Dilakukan pengecatan dengan menggunakan 100  $\mu$ l/*well* kristal violet selama 10 menit. Cat dibuang, dicuci menggunakan PBS steril 2 kali untuk membersihkan sisa cat dan menghilangkan bakteri yang tidak melekat. Bakteri yang melekat pada bagian dinding *96-well plate* dilepaskan dengan menggunakan etanol 95%. Bakteri yang terlepas dan tercatat ditransfer ke dalam *flatt bottom 96-well plate* baru dan dibaca menggunakan *mikroplate reader* (Thermo scientific, Rockford, Illionis, USA) dengan panjang gelombang 595 nm (Hutomo *et al.*, 2022).

### **Analisis statistik**

Analisis statistik pada penelitian diawali dengan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* dan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Uji hipotesis menggunakan uji *One Way Anova*. Nilai signifikan ( $p$ ) secara statistik < 0,05.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK)

Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta dengan nomor 1360-a/C.16/FK-KEPK/2022.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Gambar 1 menunjukkan kultur *E.coli* pada *96-well plate* yang telah diinkubasi selama 24 jam. Kontrol positif berada pada kolom 1 (A1, B1, C1) terlihat jernih pada media. Kolom 2 sampai dengan 8 berisi kultur perlakuan dengan konsentrasi awal 10.000  $\mu$ g/ml dan dilakukan pengeceran serial ke arah kanan dengan urutan konsentrasi 5.000  $\mu$ g/ml, 2.500  $\mu$ g/ml, 1.250  $\mu$ g/ml, 625  $\mu$ g/ml, 312,5  $\mu$ g/ml dan 156,25  $\mu$ g/ml. Kultur jernih yang mendekati kontrol positif tampak pada kultur dengan paparan ekstrak konsentrasi 10.000  $\mu$ g/ml dan 5.000  $\mu$ g/ml. Dengan demikian konsentrasi hambat minimum pada penelitian ini adalah 5.000  $\mu$ g/ml. Pada konsentrasi tersebut ekstrak etanol daun kelor bersifat bakterisidal. Hasil representatif dari 3 kali eksperimen.



**Gambar 1. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelor.** Tanda panah menunjukkan kelompok konsentrasi terkecil (ABC3) dengan kejernihan sama dengan kelompok ciprofloxacin sebagai kontrol positif (ABC1)

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*.

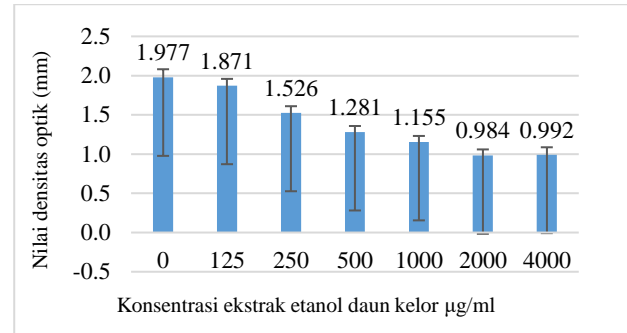
Pada penelitian tersebut, kadar hambat minimum sebesar 12 mm pada konsentrasi terkecil yaitu 5% dan 24 mm pada konsentrasi terbesar yaitu 80% (Dima, 2016). Perbedaan penelitian ini dengan penelitian terdahulu adalah pada metode penentuan konsentrasi hambat minimal.

Senyawa-senyawa yang terkandung pada daun kelor memiliki sifat antibakteri. Saponin menyebabkan protein dan enzim dari dalam sel mengalami kebocoran karena zat aktif yang dimiliki saponin mirip dengan detergen. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, kemudian berikatan dengan membran sitoplasma sehingga mengganggu dan menurunkan stabilitas membran sel (Rijayanti, 2014). Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan pada permeabilitas dinding sel pada bakteri karena adanya proses interaksi dengan DNA (Widowati dkk., 2014).

Alkaloid mengganggu komponen dari penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel. Triterpenoid memiliki peran dalam merusak membran sel yang disebabkan oleh senyawa lipofilik (Dima, 2016).

Penghambatan perlekatan *E. coli* dimulai pada konsentrasi 125  $\mu\text{g/ml}$  yang ditandai dengan penurunan nilai densitas optik. Penurunan nilai densitas optik terjadi sebanding dengan kenaikan konsentrasi ekstrak daun kelor sampai dengan

konsentrasi 2000  $\mu\text{g/ml}$ . Pada konsentrasi 4000  $\mu\text{g/ml}$  nilai densitas optik hampir sama dengan nilai densitas optik pada konsentrasi 2000  $\mu\text{g/ml}$  (Gambar 2).



**Gambar 2.** Grafik rerata dan standar deviasi nilai densitas optik biofilm *E. coli* setelah terpapar ekstrak etanol daun kelor.

Uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk test* didapatkan nilai signifikan ( $p$ ) > 0,05 yang berarti data terdistribusi normal. Uji homogenitas menggunakan *Levene test* didapatkan  $p = 0,981$  sehingga  $p > 0,05$  yang berarti data homogen. Uji hipotesis menggunakan *One Way Anova* didapatkan  $p = 0,000$ . Nilai  $p < 0,05$  menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari keseluruhan data. Dari analisa statistik yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang bermakna dalam peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor. Semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin besar pula daya hambat perlekatan yang terjadi.

*Post hoc multiple comparison* dilakukan untuk melihat perbedaan antar kelompok konsentrasi. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan 0 dan 125  $\mu\text{g/ml}$  ( $p = 0,918$ ) dan antara 2000 dan 4000  $\mu\text{g/ml}$  ( $p = 0,155$ ). Pada

konsentrasi 125 µg/ml diperkirakan belum cukup kuat untuk menghambat perlekatan *E. coli*. Tidak terdapatnya perbedaan yang bermakna pada konsentrasi 2000 dan 4000 µg/ml diperkirakan pada konsentrasi tersebut ekstrak sudah jenuh. Dengan demikian, konsentrasi terkecil ekstrak daun kelor yang dapat menghambat perlekatan *E. coli* adalah 250 µg/ml dan konsentrasi maksimum adalah 2000 µg/ml.

Kandungan ekstrak daun kelor yang diperkirakan dapat menghambat perlekatan bakteri adalah tanin. Tanin bekerja dengan cara mengganggu reseptor yang terdapat pada permukaan bakteri dengan cara mengikat protein adhesin bakteri yang akan mengakibatkan terjadinya proses penghambatan sintesis protein dalam membentuk dinding sel dan menurunkan daya perlekatan bakteri (Mastuti, 2016).

Kemampuan bakteri untuk melekat dan membentuk biofilm akan menyebabkan penetrasi antibiotik ke dalam selnya akan terhambat (Abdelhamid *et al.*, 2018). Pada biofilm yang terbentuk akan terjadi suatu proses rekombinasi DNA dan pertukaran suatu gen yang mengendalikan resistensi dengan antibiotik dapat terjadi (Surgers *et al.*, 2019; Wahyudi *et al.*, 2019). Terdapat faktor lain yang menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik, yaitu mutasi spontan yang dapat timbul karena konsumsi antibiotik tidak teratur (Fajrin, 2020). Beberapa penelitian lain juga melaporkan adanya

hubungan antara kemampuan bakteri dalam membentuk biofilm dengan terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Cepas *et al.*, 2019; Viana *et al.*, 2020; Wahyudi *et al.*, 2019). Kemampuan ekstrak daun kelor dalam menghambat perlekatan *E. Coli* dapat dikembangkan menjadi agen antibiofilm yang merupakan pengembangan metode untuk mengatasi resistensi antibiotika.

Beberapa jenis daun lain seperti daun murbei dan daun cem-cem juga mempunyai kemampuan menghambat pembentukan biofilm *E. coli*. Kedua jenis daun tersebut mempunyai kandungan yang mirip dengan daun kelor (Abidah, 2020; Wulansari dan Armayanti, 2018). Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk membandingkan efektifitas berbagai daun tersebut dalam menghambat pembentukan biofilm *E. coli*.

## **SIMPULAN**

Ekstrak etanol daun kelor mempunyai kemampuan menghambat perlekatan *E. coli*, dimulai pada konsentrasi 250 µg/ml dan terus meningkat seiring kenaikan konsentrasi. Penghambatan perlekatan mencapai maksimum pada konsentrasi 2000 µg/ml.

## **SARAN**

Keterbatasan penelitian ini adalah belum dilakukannya uji skrining fitokimia pada kandungan ekstrak daun kelor. Peneliti menyarankan untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji skrining fitokimia untuk dapat mengidentifikasi kandungan

senyawa efektif dalam menghambat perlekatan bakteri *E. coli*.

## PERSANTUNAN

Peneliti berterima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta, untuk dana penelitian dan fasilitas laboratorium dalam pengerjaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhamid, A.G., Esaam, A., and Hazaa, M.M., 2018. Cell free preparations of probiotics exerted antibacterial and antibiofilm activities against multidrug resistant *E. coli*. *Saudi Pharm. J.* 26. Pp: 603–7. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.03.004>
- Abidah, H., 2020. Uji aktivitas antibiofilm ekstrak daun murbei hitam (*Morus nigra L.*) terhadap biofilm *Escherichia coli*. *Doctoral dissertation*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Al-Shabib, N.A., Husain, F.M., Ahmad, I., Khan, M.S., Khan, R.A., and Khan, J.M., 2017. Rutin inhibits mono and multi-species biofilm formation by foodborne drug resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control* .79. Pp: 325–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.004>
- Andreas, S., Sitanggang, M., dan Utama, I., 2020. Resistensi Antimikrobia pada Infeksi Saluran Kemih Anak. *CDK*. 47. Pp: 256–60.
- Brilliant, V.G., Hutomo, S., Sooi, C.M., dan Merry, M.S., 2022. Aktivitas Penghambatan *Candida krusei* oleh Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora crispa L.*). *J. Kdkt Meditek*. 28. Pp: 120–5. <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v28i2.2221>
- Cepas, V., López, Y., Muñoz, E., Rolo, D., Ardanuy, C., Martí, S., Xercavins, M., Horcajada, J.P., Bosch, J., and Soto, S.M., 2019. Relationship between biofilm formation and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Microb. Drug Resist.* 25, 72–79. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0027>
- Dima, L., 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon* 5, 282–289.
- Fajrin, P., 2020. Uji Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Maman (*Cleome gynandra L.*) Terhadap bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* (Doctoral dissertation). Universitas Tadulako, Palu.
- Hilda, H., 2017. Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* Terhadap Berbagai Antibiotik. *Jurnal Kesehatan*. 4. Pp: 11–7.
- Homenta, H., 2016. Infeksi Biofilm Bakterial. *eBM* 4. <https://doi.org/10.35790/ebm.4.1.2016.11736>
- Hutomo, S., Putri, D., Welviyanda, B., dan Susilowati, H., 2021. Inhibition effect of garlic (*Allium sativum*) extract on *Streptococcus sanguinis* biofilm formation involving bacterial motility mechanism. *Malays. J. Med. Health Sci.* 17. Pp: 169–174.
- Hutomo, S., Sooi, C.M., Merry, M.S., Larope, C.G., and Kristiyanto, H.D., 2022. The effect of brotowali (*Tinospora crispa L.*) stem ethanolic extract on the inhibition of *Candida albicans* biofilm formation. *Dent. J.* 55. 21. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v55.i1.p21-25>
- Jihan, K., 2019. Resistensi Antimikroba Cefotaxime dan Ceftriaxone pada *Escherichia coli* yang dihasilkan oleh Pembentukan Biofilm. *Doctoral dissertation*. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Karo, M., Ferdinanda, F., Natali, O., dan Nasution, S., 2021. Uji Efektivitas Daun Kelor Terhadap *Shigella Dysenteriae*. *Biospecies*. 14. Pp: 32–5.
- Mahon, C.R., Lehman, D.C., and Manuseles, G., 2014. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5<sup>th</sup> ed. Saunders, Philadelphia, PA.
- Mastuti, R., 2016. *Metabolit Sekunder Dan Pertahanan Tumbuhan*, 3<sup>rd</sup> ed. Universitas Brawijaya, Malang.
- Moradigaravand, D., Palm, M., Farewell, A., Mustonen, V., Warringer, J., and Parts, L., 2018. Prediction of antibiotic resistance in *Escherichia coli* from large-scale pan-genome data. *PLoS Comput. Biol.* 14. e1006258. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006258>
- Rahayu WP, Nurjanah S, dan Komalasari E, 2018. *Escherichia coli: Patogenesis, Analisis, dan Kajian Risiko*. IPB Press.

- Rante, H., Taebe, B., Purnasari, C., dan Lethe, C., 2017. Aktivitas Antibakteri *Moringa oleifera* Lam Terhadap Bakteri Patogen Resisten Antibiotik. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 2. Pp: 5–8.
- Rijayanti, R., 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*. 1. Pp: 9–14.
- Sharma, G., Sharma, S., Sharma, P., Chandola, D., Dang, S., Gupta, S., and Gabrani, R., 2016. *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. *J. Appl. Microbiol.* 121. Pp: 309–19. <https://doi.org/10.1111/jam.13078>
- Sumampouw, O., 2018. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Balita Di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*. 2. Pp: 104–10.
- Surgers, L., Boyd, A., Girard, P.-M., Arlet, G., and Decré, D., 2019. Biofilm formation by ESBL-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Int. J. Med. Microbiol.* 309. Pp: 13–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2018.10.008>
- Sutiknowati, L., 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*. 4. Pp: 63–71.
- Viana, P.R.S., Leite, D.S., Filho, V.E.M., Sousa, D.A. de, Guaraldi, A.L.D.M., Alves, M.B., Cunha Firmo, W.A. da, and Sabbadini, P.S., 2020. Antimicrobial and anti-biofilm activities of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm. essential oil against *Corynebacterium ulcerans*. *Ciênc. Nat.* 42. e9. <https://doi.org/10.5902/2179460x41095>
- Wahyudi, D., Aman, A., Handayani, N., and Soetarto, E., 2019. Differences among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in their capability of forming biofilms and their susceptibility to antibiotics. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 20. Pp: 1–18.
- Widowati, I., Efiyati, S., dan Wahyuningtyas, S., 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri pembusuk ikan segar (*Pseudoonas aeruginosa*). *Pelita-Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*. 9. Pp: 146–57.
- Wulansari, N. dan Armayanti, L., 2018. Efektivitas Ekstrak Daun Cem-cem (*Spondias pinnata* (Lf) Kurz) dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Media Sains*. 2. Pp: 59–63.
- Yolazenia, Y., Budiman, B.J., dan Irfandy, D., 2018. Biofilm Bakteri pada Penderita Rinosinusitis Kronis. *J. kesehatan. Melayu*. 1. 106. <https://doi.org/10.26891/jkm.v1i2.2018.106-113>