

**EFIKASI EKSTRAK DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) SEBAGAI KANDIDAT
AGEN ANTIMIKROBIA TERHADAP INFEKSI SISTEMIK METHICILLIN –
RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Bagus Uda Palgunadi, Asih Rahayu, Yos Adi Prakoso

Tingginya kasus COVID-19 di seluruh dunia berdampak pada *chaos*-nya sistem pelayanan kesehatan. Hal ini menimbulkan tingginya penyakit non-infeksius dan infeksius yang masuk kategori *neglected diseases*. *Neglected diseases* merupakan semua jenis penyakit yang terabaikan, salah satunya adalah staphylococcosis. Staphylococcosis merupakan penyakit infeksius yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* terutama dari golongan resisten, khususnya *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Infeksi MRSA pada manusia dan hewan dapat terjadi secara sistemik dan memicu kerusakan organ *visceral* yang masif. Indonesia merupakan negara yang kaya akan biodeiversitas baik hewan dan tumbuhan. Banyak jenis tumbuhan kaya antioksidan yang berpotensi juga sebagai kandidat agen antimikrobia. Salah satu tanaman tersebut adalah daun katuk (*Sauropus androgynus*). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efikasi dari ekstrak daun katuk sebagai kandidat agen antimikrobia yang disebabkan oleh infeksi sistemik MRSA secara *in vivo*. Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* terhadap isolat MRSA. Sebanyak 25 ekor tikus *Sprague Dawley* dibagi ke dalam 5 kelompok. Kelompok tersebut adalah K = diinfeksi MRSA tanpa terapi, K+ = diinfeksi MRSA + vancomycin 2µg/mL, P1 = diinfeksi MRSA + 1µg/mL ekstrak daun katuk, P2 = diinfeksi MRSA + 2µg/mL ekstrak daun katuk, dan P4 = diinfeksi MRSA + 4µg/mL ekstrak daun katuk. Tikus diinfeksi dengan suspensi MRSA sebanyak 5×10^6 CFU yang diinjeksikan secara intravena. Tikus diadaptasikan kembali selama 24 jam dan diterapi sebanyak 2 kali per hari selama 5 hari. Tikus dietanasia pada hari ke 5 dan beberapa organ *visceral* dikoleksi di antaranya yaitu darah, dan otak. Sampel darah dilakukan pemeriksaan darah rutin dan kultur bakteri. Sampel organ dilakukan uji histopatologi dengan pengecatan hematoksilin dan eosin. Seluruh hasil pemeriksaan ditabulasikan dan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS versi 16. Taraf signifikansi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 95%.

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pandemi oleh *coronavirus disease-19* (COVID-19) telah menimbulkan banyaknya permasalahan dalam berbagai aspek, baik secara ekonomi maupun kesehatan. Tingginya kasus COVID-19 di seluruh dunia berdampak pada *chaos*-nya sistem pelayanan kesehatan (Barach *et al.*, 2020). Lemahnya sistem manajemen rumah sakit dalam menghadapi pandemi memaksa banyak rumah sakit yang menghentikan pelayanan pada penyakit dengan urgensi rendah. Beberapa jenis pelayanan yang terpaksa dibatasi dan bahkan dihentikan selama masa pandemi COVID-19 adalah golongan penyakit metabolik dan infeksi bakterial resiko rendah. Hal ini menimbulkan tingginya penyakit non-infeksius dan infeksius yang masuk kategori *neglected diseases* (Garoy *et al.*, 2019).

Neglected diseases merupakan semua jenis penyakit yang terabaikan, salah satunya adalah staphylococcosis (Engels and Zhou, 2020). Staphylococcosis merupakan penyakit infeksius yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* terutama dari golongan resisten, khususnya *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Infeksi MRSA pada manusia dan hewan dapat terjadi secara sistemik dan memicu kerusakan organ *visceral* yang masif. Kejadian infeksi sistemik yang terjadi akibat MRSA dilaporkan mencapai 30 laporan kasus berat per 100.000 kasus dengan fatalitas tinggi. Dampak infeksi MRSA yang timbul pada organ *visceral* di antaranya adalah meningitis, encephalitis, pneumonia, hepatitis, dan inflamasi sistemik yang disertai sepsis (Hassoun *et al.*, 2017). Berbagai inflamasi berat pada organ dan sepsis tersebut meningkatkan resiko kematian yang disebabkan oleh infeksi MRSA. Penanganan kasus infeksi MRSA menjadi semakin sulit dikarenakan pembatasan terapi menggunakan antibiotika. Hingga saat ini, hanya beberapa jenis antibiotika yang dianggap mampu mengatasi kejadian infeksi MRSA salah satunya adalah vancomycin. Penggunaan vancomycin yang menerus pada kasus infeksi MRSA juga dikhawatirkan akan menimbulkan *end point* resistensi di masa mendatang (Choo and Chambers, 2016).

Sebagai bentuk pembatasan penggunaan antibiotika pada penanganan kasus infeksi MRSA, maka penggunaan bahan derivat tanaman herbal perlu dikembangkan. Mengingat Indonesia merupakan negara yang kaya akan biodiversitas baik hewan dan tumbuhan (Arozal *et al.*, 2020). Banyak jenis tumbuhan kaya antioksidan yang berpotensi juga sebagai kandidat agen antimikrobia. Salah satu tanaman tersebut adalah daun katuk (*Sauropus androgynus*). Daun katuk mengandung berbagai senyawa kimia alami seperti terpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan lain sebagainya (Prakoso *et al.*, 2020). Beberapa senyawa tersebut telah

dikembangkan sebagai bahan antimikrobia karena beberapa mekanisme khusus yang terlibat. Mekanisme hambatan antioksidan dalam menghambat perkembangan mikrobia adalah dengan merusak osmolaritas membrane dan menghambat sintesis enzim bakteri (Bruno-Barcena *et al.*, 2010).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dikaji secara *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian *in vitro* dipakai untuk menentukan dosis awal minimum efektif yang mampu menghambat pertumbuhan MRSA. Penelitian *in vivo* adalah penelitian yang menggunakan hewan model (Claes *et al.*, 2015). Penelitian ini digunakan untuk melihat respon individu dalam menerima infeksi akibat MRSA serta respon individu dan kelompok dalam menerima terapi herbal. Pengamatan respon individu dan kelompok dalam merespon infeksi dan terapi dapat digunakan acuan yang mendalam untuk pengembangan obat herbal terstandar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah dilakukan, maka dibuat beberapa rumusan masalah sebagai berikut: Bagaimanakah efikasi ekstrak daun katuk sebagai kandidat agen antimikrobia terhadap methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* secara *in vivo*?

1.3 Tujuan Riset

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis beberapa hal terkait di antaranya yaitu: menganalisis efikasi ekstrak daun katuk sebagai kandidat agen antimikrobia terhadap methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* secara *in vivo*

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam berbagai aspek khususnya aspek kesehatan dan agroteknologi. Pada aspek kesehatan, penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan efikasi dan profil layanan kesehatan dengan pengembangan obat herbal terstandar yang dapat dimanfaatkan pada terapi kasus infeksi sistemik akibat MRSA. Pada aspek agroteknologi diharapkan dapat bermanfaat sebagai peningkatan nilai guna dan ekonomi daun katuk sebagai bahan obat herbal terstandar, serta meningkatkan kesejahteraan petani daun katuk.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus*

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan terminologi untuk *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap derivat antibiotika (Green *et al.*, 2012). MRSA sulit untuk dieradikasi dan menimbulkan infeksi secara simultan. Penggunaan antibiotika sebagai terapi dikhawatirkan memicu resistensi yang lebih tinggi pada MRSA, karena pada mulanya MRSA terbentuk akibat terapi dengan antibiotika β -lactamase dan produk sintetisnya (Ray, 2017). Contohnya adalah methicillin yang banyak digunakan pada tahun 1959 dan dua tahun selanjutnya dilaporkan timbul kejadian resistensi (Jevons, 1961). Pada studi molekular, MRSA dikode oleh gen *mecA*. Gen *mecA* membawa *mobile elements* yang dikenal sebagai *staphylococcal cassette chromosome mecA* (SCC*mecA*) (Tsubakishita *et al.*, 2010).

MRSA membentuk *biofilm* pada pintu masuk tubuh hospes. Kolonisasi tersebut berkembang secara cepat untuk mencegah fagositosis oleh neutrofil dan berbagai respon seluler lainnya (Cihalova *et al.*, 2015). Kolonisasi yang tinggi pada lokasi infeksi membuat MRSA mampu menghindari respon imunologi tubuh. Kolonisasi yang tinggi membuat respon imun tidak mampu menfagosit bakteri (Ding *et al.*, 2014). Ketika MRSA tidak mampu membentuk kolonisasi dalam jumlah yang besar, MRSA akan membentuk *small-colony variants* (SCVs) yang digunakan untuk dapat bersembunyi dari sistem imun sehingga tidak terjadi respon berlebih pada tubuh hospes (Seaman *et al.*, 2007). Sebagai bakteri "*up to date*", MRSA memiliki berbagai mekanisme lain untuk menghindari respon imun di antaranya menginvasi sel endotelial maupun sel – sel lainnya untuk bersembunyi dari sistem pertahanan tubuh hospes (Viegas *et al.*, 2011).

Bakteri yang sukses membentuk *biofilm* dan menginvasi tubuh hospes mengindikasikan bahwa bakteri tersebut dapat membentuk infeksi lanjut dengan kerusakan yang lebih berat dan periode yang lama (Rollin *et al.*, 2017). *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* memproduksi berbagai jenis enzim yang digunakan untuk mendestruksi integritas jaringan dan memicu kematian sel. Hal tersebut memfasilitasi MRSA untuk berpenetrasi ke area yang lebih dalam. Beberapa di antaranya adalah protease dan lipase. Kedua enzim tersebut juga didukung oleh toksin yang dihasilkan oleh MRSA (Watkins *et al.*, 2012).

Kemampuan MRSA untuk menyebar secara sistemik melalui pembuluh darah menimbulkan berbagai kerusakan pada jaringan dan organ. Kejadian infeksi secara sistemik ini menimbulkan fatalitas yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh adanya disfungsi secara sistemik pada berbagai organ. Respon imun yang berlebih pada kejadian infeksi sistemik MRSA juga

menyebabkan terbentuknya sepsis. Gejala klinis yang umumnya terjadi pada kasus infeksi MRSA sistemik adalah diare, anoreksia, kekurusan, imobilisasi anggota gerak, dehidrasi, dan kesulitan bernafas. Hasil penelitian lain juga menyebutkan bahwa infeksi sistemik yang diakibatkan oleh MRSA menimbulkan aglutinasi atau koagulasi intravascular dan thrombus. Hal ini memicu timbulnya berbagai gangguan syaraf disertai inflamasi sistemik dan kematian.

2.2 Daun katuk (*Sauropus androgynus*)

Sauropus androgynus termasuk ke dalam Kingdom: *Plantae*; subkingdom: *Viridiplantae*; super divisi: *Embryophyta*; kelas: *Magnoliopsida*; ordo: *Malphigiales*; famili: *Euphorbiae*; genus: *Sauropus*; spesies: *Sauropus androgynus* (L) Merr. *Sauropus androgynus* dikenal sebagai *green leaf* yang dapat tumbuh dan berkembang di area tropis. *Sauropus androgynus* banyak ditemukan di Asia Tenggara termasuk Indonesia, dan dikenal dengan sebutan daun katuk. *Sauropus androgynus* merupakan jenis tanaman semak, yang dapat tumbuh mencapai 2 sampai 3 meter, dengan daun kecil berwarna hijau gelap (Gambar 5). Di Indonesia, *S. androgynus* dimanfaatkan untuk meningkatkan produksi air susu (Soka *et al.*, 2010).

Penelitian sebelumnya melaporkan bawah daun *S. androgynus* segar mengandung protein, serat, lemak, moisture, karoten, riboflavin, thiamin, potassium, kobalt, mangan, tembaga, sodium, zink, besi, magnesium, kalsium, vitamin, dan phosphorus. Penelitian fitokimia dari ekstrak ethanol *S. androgynus* mengandung saponin, flavonoid, terpenoid, fenolik, steroids, dan alkaloid. Selanjutnya beberapa studi lain menjelaskan bahwa *S. androgynus* mengandung polifenol, anthosianin, karotenoid, asam asorbat dan tanin. Ekestrak methanol memperlihatkan komponen yang berbeda seperti lignan dan glikosida megastigmane, asam klorogenat, asam kafeik dan asam ferulik (Kanchanapoom *et al.*, 2003).

Sauropus androgynus memiliki berbagai manfaat medis yang dapat digunakan untuk kesehatan manusia karena senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. *Sauropus androgynus* memiliki aktifitas antidiabetik, antiobesitas, anti-inflamasi, antioksidan, meningkatkan laktasi, mendukung kesembuhan luka dan anti-mikrobia. Sebagai metode pengobatan terhadap DM, flavonoid yang diisolasi dari *S. androgynus* berperan sebagai resptor dalam mengikat hidrogen yang menghambat α -glikosidase dari usus (Sujila *et al.*, 2016). Alfa-glikosidase merupakan enzim yang potensial di usus untuk mencerna glukosa. Penelitian lain menyebutkan bahwa *S. androgynus* menurunkan glukosa pada pasien *postprandial* (Sai and Srividya, 2002).

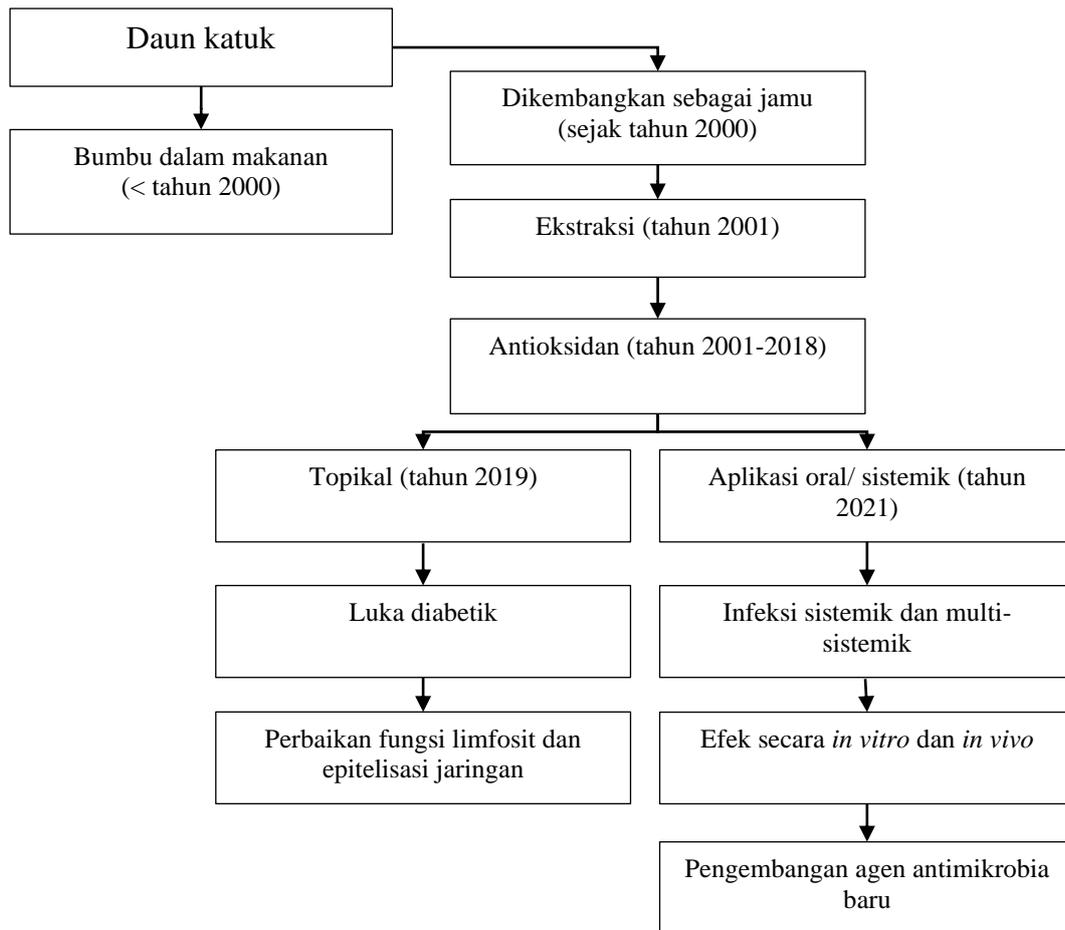
Selama sakit dan penyembuhan, inflamasi merupakan proses yang penting, namun inflamasi yang berkepanjangan dapat menimbulkan hambatan terhadap kesembuhan itu

sendiri. *Sauropus androgynus* memiliki aktifitas untuk menekan inflamasi yang ditunjukkan dengan minimalisasi edema pada telapak kaki hewan coba. Papaverin dari *S. androgynus* mampu menghambat aktifitas fosfolirasi melalui *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) secara intraseluler. *Sauropus androgynus* mendukung dekomposisi dari hidrogen peroksida untuk menurunkan reaksi inflamasi dengan aktifitas antioksidannya (Selvi and Bhaskar, 2014).

Sauropus androgynus telah dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai anti-mikrobia terhadap beberapa patogen seperti *Salmonella typhimurium* dan *Klebsiella pneumoniae*. Ekstrak air dari *S. androgynus* berpotensi menghambat kolonisasi bakteri pada agar (Ariharan *et al.*, 2013). Aktifitas anti-mikrobia *S. androgynus* dipercaya didukung oleh metabolit sekundernya (Gothandam *et al.*, 2010). Ekstrak ethanol dari *S. androgynus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk seperti *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* (Paul and Anto, 2011).

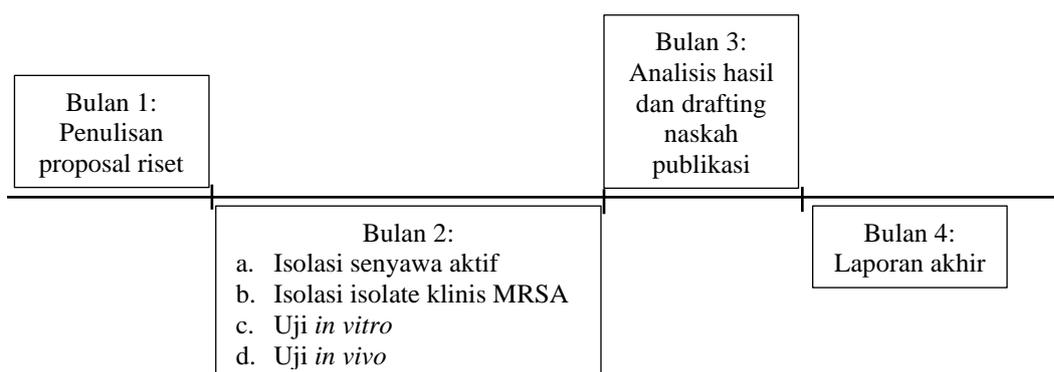
2.3 State of the Art Riset

Pada perkembangannya hingga tahun 2020, ekstrak daun katuk telah dimanfaatkan sebagai agen antimikrobia terhadap infeksi MRSA pada luka, baik pada hewan model dengan dan tanpa induksi diabetic mellitus. Pengembangan lebih lanjut mengenai efikasi dan kemanfaatan dari ekstrak selederi terhadap kejadian infeksi sistemik yang disebabkan oleh MRSA belum diobservasi secara mendalam. Sehingga penekanan nilai manfaat dan kebaruan yang diharapkan dalam penelitian ini adalah penggunaannya yang lebih jauh bukan hanya sebagai agen antimikrobia local melainkan juga sistemik. Terlebih lagi ekstrak daun katuk diharapkan mampu menembus ke dalam *blood brain barrier* yang nantinya dapat dipakai dalam penanganan kasus lain dan terapi pada gangguan otak dan neurologi lain.



Gambar 1. *State of the art* dari riset ekstrak daun katuk terhadap infeksi sistemik akibat MRSA.

2.4 Roadmap Penelitian Efikasi Ekstrak Daun katuk terhadap Infeksi Sistemik MRSA



Gambar 2. Road map penelitian dari riset ekstrak daun katuk terhadap infeksi sistemik akibat MRSA.

Penelitian ini dimulai dengan penulisan dan *drafting* proposal penelitian yang dilakukan di bulan 1. Pada bulan 2 dilakukan isolasi senyawa aktif dengan prosedur ekstraksi dan koleksi isolat klinis. Pasca diperoleh isolat klinis maka dilakukan uji *in vitro* terhadap isolat yang telah dikoleksi. Hasil uji *in vitro* dipakai sebagai dasar penentuan dosis yang dipakai dalam penelitian *in vivo*. Hasil uji *in vitro* dan *in vivo* dianalisis pada bulan ke – 3, sekaligus dipersiapkan untuk dipublikasikan dalam jurnal internasional. Pelaporan akhir dilaporkan pada bulan ke – 4.

BAB 3. METODE Riset

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2021 sampai dengan Agustus 2022. Penelitian dilakukan di beberapa tempat yaitu ekstraksi dan uji *in vitro* di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya; uji kandungan zat aktif ekstrak daun katuk di Angler Biochem Lab, Surabaya; dan uji *in vivo* di Laboratorium Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, *soxlet extractor*, *water bath*, *light chromatography mass spectrometry* (LC-MS), inkubator, cawan petri, spektrofotometri, mikropipet, *scanning electron microscope* (SEM), mikroskop cahaya, lemari asam. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate klinis MRSA, media agar, media cair, ethanol absolut, akuades, set pewarnaan jaringan rutin dan imunohistokimia terhadap CD8+.

3.3 Metodologi Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan *complete randomized design* (CRD) yang menggunakan isolat MRSA dan hewan coba sebagai model penelitian. Pengamatan dilakukan hanya pada akhir penelitian (*post test only*).

3.3.1 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini dikelompokkan menjadi 3 variabel yaitu terikat, bebas, kendali. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah zona hambat, *minimum inhibitory concentration* (MIC), ultrastruktur bakteri, isolasi MRSA, C-reactive protein (CRP), gambaran darah, histopatologi, dan imunohistokimia. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun katuk dan dosis daun katuk, sedangkan variabel kendalinya yaitu jenis tikus, asal isolat MRSA, dan lama terapi.

3.3.2 Parameter Penelitian

Parameter dalam penelitian ini dibagi ke dalam 3 tahap penelitian yaitu tahap I, II, dan III. Pada tahap I parameter yang diamati adalah kandungan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun katuk. Pada tahap II (*in vitro*) parameternya adalah zona hambat, MIC, dan

ultrastruktur MRSA. Parameter pada tahap III (*in vivo*) adalah isolasi MRSA dari sampel darah, CRP, gambaran darah tikus, histopatologi dan imunohistokimia CD8+.

3.3.3 Prosedur Penelitian

Ekstraksi. Daun katuk dipanaskan pada suhu 80° C dan dikeringkan selama 1 jam, kemudian direndam dalam alkohol 70% menggunakan *Soxhlet extractor* dengan perbandingan herbal: alkohol 70% (1: 4). Ekstrak selanjutnya disaring dengan menggunakan Whatman filter dengan mengurangi tekanan atmosfer. Prosedur pengujian yang dilakukan pada senyawa antioksidan menggunakan prosedur yang digunakan oleh Ajuru *et al.*, (2017).

Isolat klinis MRSA. Isolat MRSA diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Stabilitas biokimiawi dari MRSA direkonfirmasi ulang dengan prosedur standar.

Uji *in vivo*. Hasil uji MIC digunakan sebagai dosis dalam uji *in vivo* pada model tikus. Tikus diinfeksi dengan MRSA secara intraperitoneal dan dibiarkan selama 24 jam agar terbentuk fase septicemia. Pasca infeksi tikus dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu P0 = kontrol, P+ = vancomycin, P1 = 1 mg/ml ekstrak daun katuk, P2 = 2 mg/ml ekstrak daun katuk, P4 = 4 mg/ml ekstrak daun katuk. Terapi diberikan dengan cara sonde lambung selama 5 hari. Pada hari ke – 5 semua tikus dieuthanasia dan organ darah diambil dan disimpan dalam EDTA, sedangkan otak, limpa, jantung, hati, ginjal, paru, dan timus diambil dan disimpan dalam formalin 10%.

Hematologi. Uji hematologi dilakukan dengan mengukur kadar CRP dan darah lengkap dengan hemoanalyzer.

Kultur mikrobiologi. Darah yang telah dikoleksi selanjutnya dikultur di media agar. Hasil bakteri yang tumbuh dilakukan identifikasi dengan uji biokimia yang diarahkan ke MRSA.

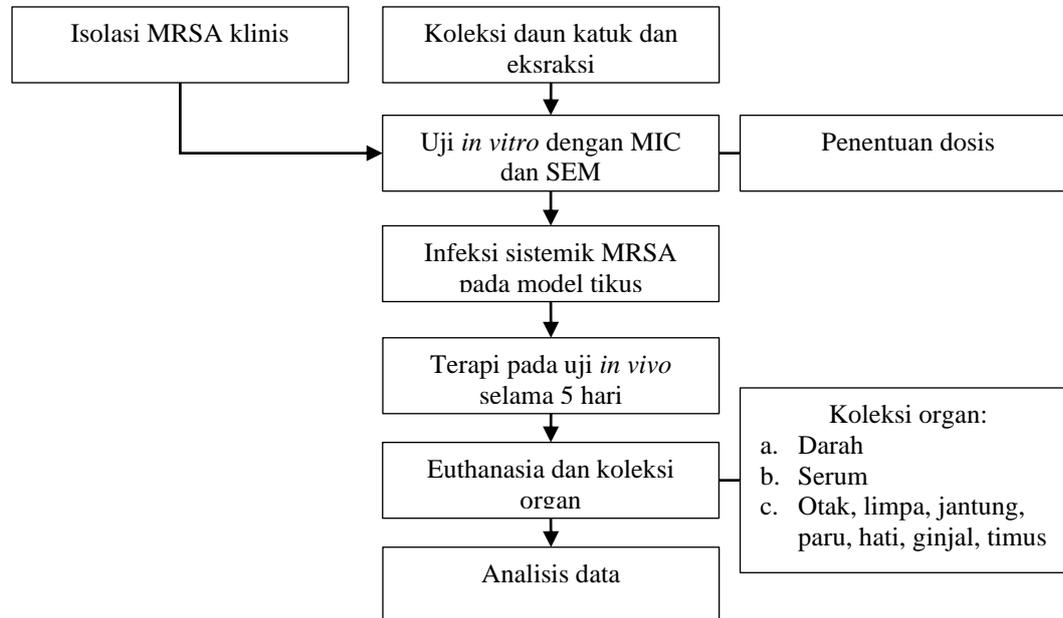
Histopatologi. Uji histopatologi dilakukan dengan menggunakan pengecatan H&E sebagai pengecatan rutin. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji imunohistokimia memakai antibody CD+ untuk melihat kemampuan tubuh dalam merespon infeksi.

3.4 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan beberapa jenis analisis statistik yang berbeda. Data numeric (zona hambat, hematologi dan CRP) dianalisis dengan uji parametric yaitu uji *one-way ANOVA*, sedangkan data kategorik (pertumbuhan MRSA, histopatologi dan IHK)

dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan Man Whitney – U. taraf signifikansi yang digunakan adalah 95%.

3.5 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. Diagram alir penelitian

BAB 4. BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN

4.1. Rencana Biaya Penelitian

No	Nama barang dan jasa	Jenis	Satuan	Harga	Jumlah barang/jasa	Total
1	Tikus penelitian	B	Kali	75.000	25	1.875.000
2	Penggantian isolat	B	Kali	500.000	1	500.000
3	Pemeliharaan hewan model	J	Kali	1.000.000	1	1.000.000
4	Uji hematologi	J	Kali	75.000	25	1.875.000
5	Pembelian ATK	B	Kali	250.000	1	250.000
6	Publikasi jurnal	J	Kali	5.000.000	1	4.500.000
Jumlah						10.000.000

4.2. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan	Bulan					
	Desember 2021	Januari 2022	Februari 2022	Maret 2022	April 2022	Mei 2022
Pengajuan proposal						
Penelitian						
Pengujian sampel						
Analisis data						
Penulisan draft laporan						
Penulisan draft publikasi						
Proses submit jurnal						
Penulisan draft laporan final						
Pelaporan						

DAFTAR PUSTAKA

- Ariharan, V.N., Devi, V.N.M. and Prasad, P.N. 2013. Antibacterial activity of *Sauropus* and *Rogynous* leaf extracts against some pathogenic bacteria. *Rasayan Journal of Chemistry*, 6; 2: 134-137.
- Arozal, W., Louisa, M., & Soetikno, V. (2020). Selected Indonesian Medicinal Plants for the Management of Metabolic Syndrome: Molecular Basis and Recent Studies. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 7, 82. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00082>.
- Barach, P., Fisher, S. D., Adams, M. J., Burstein, G. R., Brophy, P. D., Kuo, D. Z., & Lipshultz, S. E. (2020). Disruption of healthcare: Will the COVID pandemic worsen non-COVID outcomes and disease outbreaks?. *Progress in pediatric cardiology*, 59, 101254. <https://doi.org/10.1016/j.ppedcard.2020.101254>.
- Bruno-Bárcena, J. M., Azcárate-Peril, M. A., & Hassan, H. M. (2010). Role of antioxidant enzymes in bacterial resistance to organic acids. *Applied and environmental microbiology*, 76(9), 2747–2753. <https://doi.org/10.1128/AEM.02718-09>.
- Choo, E. J., & Chambers, H. F. (2016). Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Infection & chemotherapy*, 48(4), 267–273. <https://doi.org/10.3947/ic.2016.48.4.267>.
- Cihalova, K., Chudobova, D., Michalek, P., Moulick, A., Guran, R., Kopel, P., Adam, V. and Kizek, R. 2015. *Staphylococcus aureus* and MRSA growth and biofilm formation after treatment with antibiotics and SeNPs. *International Journal of Molecular Sciences*, 16; 10: 24656-24672.
- Claes, J., Liesenborghs, L., Lox, M., Verhamme, P., Vanassche, T., & Peetermans, M. (2015). In Vitro and In Vivo Model to Study Bacterial Adhesion to the Vessel Wall Under Flow Conditions. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (100), e52862. <https://doi.org/10.3791/52862>.
- Ding, Y., Wang, W., Fan, M., Tong, Z., Kuang, R., Jiang, W. and Ni, L. 2014. Antimicrobial and anti-biofilm effect of Bac8c on major bacteria associated with dental caries and *Streptococcus mutants* biofilms. *Peptides*, 52: 61-67.
- Engels, D., & Zhou, X. N. (2020). Neglected tropical diseases: an effective global response to local poverty-related disease priorities. *Infectious diseases of poverty*, 9(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40249-020-0630-9>.
- Garoy, E. Y., Gebreab, Y. B., Achila, O. O., Tekeste, D. G., Kesete, R., Ghirmay, R., Kiflay, R., & Tesfu, T. (2019). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Prevalence and Antimicrobial Sensitivity Pattern among Patients-A Multicenter Study in Asmara, Eritrea. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2019, 8321834. <https://doi.org/10.1155/2019/8321834>.

- Gothandam, K.M., Aishwarya, R. and Karthikeyan, S. 2010. Preliminary screening of antimicrobial properties of few medicinal plants. *Journal of Phytology*, 2; 4: 1-6.
- Green, B.N., Johnson, C.D., Egan, J.T., Rosenthal, M., Griffith, E.A. and Evans, M.W. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview for manual therapists. *Journal of Chiropractic Medicine*, 11; 1: 64-76.
- Hassoun, A., Linden, P. K., & Friedman, B. (2017). Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Critical care (London, England)*, 21(1), 211. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1801-3>.
- Kanchanapoom, T., Chumsri, P., Kasai, R., Otsuka, H. and Yamasaki, K. 2003. Lignan and megastigmane glycosides from *Sauropus androgynus*. *Phytochemistry*, 63; 8: 985–988.
- Paul, M. and Anto, K.B. 2011. Antibacterial activity of *Sauropus androgynus* (L.) Merr. *International Journal of Plant Sciences*, 6; 1: 189-192.
- Prakoso, Y. A., Rini, C. S., Rahayu, A., Sigit, M., & Widhowati, D. (2020). Celery (*Apium graveolens*) as a potential antibacterial agent and its effect on cytokeratin-17 and other healing promoters in skin wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Veterinary world*, 13(5), 865–871. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.865-871>.
- Ray, S.M. 2017. Preventing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) disease in urban us hospitals—now for the hard part: more evidence pointing to the community as the source of MRSA acquisition. *The Journal of Infectious Diseases*, 215; 11: 1631-1633.
- Rollin, G., Tan, X., Tros, F., Dupuis, M., Nassif, X., Charbit, A. and Coureuil, M. 2017. Intracellular survival of *Staphylococcus aureus* in endothelial cells; a matter of growth or persistence. *Frontiers in Microbiology*, 8; 1354: 1-10 pages.
- Sai, K.S. and Srividya, N. 2002. Blood glucose lowering effect of the leaves of *Tinospora cordifolia* and *Sauropus androgynus* in diabetic subjects. *Journal of Natural Remedies*, 2; 1: 28–32.
- Seaman, P.F., Ochs, D. and Day, M.J. 2007. Small-colony variants: a novel mechanism of triclosan resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59; 1: 43-50.
- Selvi, V.S. and Bhaskar, A. 2014. Attenuation of cyclooxygenase and induced nitric oxide synthase and antioxidant properties by *Sauropus androgynus* (L.) Merr plant leaves. *World Journal of Medical Sciences*, 11; 3: 334-341.
- Soka, S., Alam, H., Boenjamin, N., Agustina, T.W. and Suhartono, M.T. 2010. Effects of *Sauropus androgynus* leaf extracts on the expression of prolactin and oxytocin gene in lactating BALB/C mice. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, 3; 1: 31-36.
- Sujila, V., Biju, C.R. and Babu, G. 2016. Evaluation of antidiabetic activity of bioactive constituent of *Sauropus androgynus* in alloxan induced diabetic rats and effects

inhibition of α -glycosidase enzyme. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5; 6: 80-84.

Tsubakishita, S., Kuwahara-Aarai, K., Sasaki, T. and Hiramatsu, K. 2010. Origin and molecular evaluation of the determinant of methicillin resistance in Staphylococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54; 10: 4352-4359.

Viegas, K.D., Dol, S.S., Salek, M.M., Shepherd, R.D., Martinuzzi, R.M. and Rinker, K.D. 2011. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* adhesion to human umbilical vein endothelial cells demonstrates wall shear stress dependent behavior. *Biomedical Engineering Online*, 10; 20: 1-18.

Watkins, R.R., David, M.Z. and Salata, R.A. 2012. Current concepts of the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology*, 61; Pt9: 1179-1193.