



EFEK EKTSTRAK ETANOL 96% AKAR KALEMBAK (*Rheum officinale*) TERHADAP ISOLAT BAKTERI DARI PASIEN ULKUS DIABETIKUM

EFFECT OF 96% ETHANOLIC EXTRACT OF REMBAK ROOT (*Rheum officinale*) ON BACTERI ISOLATES FROM DIABETIC FOOT ULCER PATIENTS

Fitra Adi Prayogo*, Isy Royhanaty, Poppy Fransisca Amelia
Universitas Karya Husada, Semarang, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Ulkus diabetikum (UD) merupakan penyakit yang berbahaya dengan prevalensi 6,3% diseluruh dunia. Salah satu komplikasi utama UD adalah infeksi bakteri. Kasus ini diperparah dengan adanya bakteri yang resistan terhadap obat/Multidrug-resistant (MDR). Penelitian melaporkan tingkat MDR mencapai 92,9% pada penderita UD, sehingga terapi antibiotik konvensional terkadang tidak efektif. Kondisi ini mendorong eksplorasi agen antibakteri alternatif dari tanaman. Salah satu tanaman yang berpotensi dijadikan agen antibakteri adalah akar kalembak (*Rheum officinale*). Akar kalembak diketahui memiliki sifat antibakteri, namun belum banyak penelitian tentang efek antibakteri dari tanaman ini, terutama pada isolat bakteri UD. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah melihat efek ekstrak akar kalembak terhadap bakteri yang diisolasi dari pasien UD. **Metode:** Skrining fitokimia pada ekstrak akar kalembak dilakukan terlebih dahulu untuk melihat adanya senyawa flavonoid, alkaloid, dan antrakuinon. Bakteri diisolasi dari pasien UD yang kemudian langsung dikulturkan di laboratorium. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram bakteri dan dilakukan uji antibakteri dari isolat UD terhadap ekstrak akar kalembak dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, dan 15%. Kontrol positif menggunakan klindamisin 150gram. **Hasil:** Akar kalembak yang dibuat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan antrakuinon. Tiga isolat berhasil dikulturkan dan semuanya merupakan bakteri Gram negatif. Uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak akar kalembak konsentrasi 10% dan 15% memiliki efek antibakteri ke semua isolat A, B, dan C. Klindamisin hanya memiliki efek pada isolat A dan B, serta memiliki zona hambat terluas beturut-turut, yaitu 14,85mm dan 13,65mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar kalembak terhadap isolat bakteri UD, maka semakin besar zona hambatnya. **Kesimpulan:** Akar kalembak (*Rheum officinale*) dapat memberikan afek antibakteri terhadap bakteri isolate UD dengan konsentrasi diatas 10%.

Kata Kunci: Ulkus diabetikum, antibakteri, *Rheum officinale*, fitokimia

ABSTRACT

Introduction: Diabetic ulcers (UD) are a prevalent and dangerous condition, affecting 6.3% of the global population, with bacterial infection being a major complication. The emergence of multidrug-resistant (MDR) bacteria exacerbates this issue, with studies reporting MDR rates as high as 92.9% in UD patients. Given the challenges posed by MDR, natural plant extracts are being explored as potential alternatives to conventional antibiotics. One such candidate is *Rheum officinale* (kalembak), a traditional Chinese medicinal plant with limited research on its antibacterial efficacy against UD-associated bacteria. **Objective:** This study aimed to evaluate the antibacterial activity of kalembak root extract on bacterial isolates from UD patients. **Methods:** Bacteria were isolated from UD samples, cultured, and subjected to Gram staining. Antibacterial testing was performed using kalembak root extract at 0%, 5%, 10%, and 15% concentrations, with clindamycin as the positive control. **Results:** Phytochemical screening identified the presence of flavonoids, alkaloids, and anthraquinones in the extract. Three Gram-negative bacterial isolates (A, B, and C) were successfully cultured. Antibacterial assays revealed that concentrations of 10% and 15% kalembak extract inhibited all isolates, with increasing concentrations correlating with larger inhibition zones. While clindamycin only inhibited isolates A and B (with inhibition zones of 14.85 mm and 13.65 mm, respectively), kalembak extract demonstrated broader activity, particularly at higher concentrations. **Conclusion:** These findings suggest that kalembak root extract exhibits antibacterial potential against UD bacterial isolates at concentrations $\geq 10\%$, offering a promising alternative to conventional therapies in managing MDR.

Keywords: Diabetic ulcer, antibacterial, *Rheum officinale*, phytochemistry

Alamat Korespondensi: Fitra Adi Prayogo. Universitas Karya Husada, Jl. R. Soekanto No.46, Sambiroto, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50276. 083838535153.

PENDAHULUAN

Ulkus diabetikum (UD) merupakan tantangan kesehatan global yang jumlahnya selalu naik tiap tahunnya. Sekitar 9,1 hingga 26,1 juta orang pasien diabetes mengalami UD setiap tahunnya diseluruh dunia (1). Ulkus diabetikum dapat meningkatkan risiko kematian hingga 2,5 kali lipat dibandingkan dengan pasien diabetes tanpa UD (2). Secara global, prevalensi UD diperkirakan sekitar 6,3%. Di Indonesia, prevalensi ulkus diabetikum bahkan mencapai 15% (3).

Salah satu komplikasi UD adalah infeksi bakteri yang dapat menyebabkan risiko seperti gangren, osteomielitis, dan amputasi (2). Infeksi ini biasanya bersifat polimikroba, yang melibatkan bakteri Gram positif dan negatif. Patogen umum UD meliputi *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*.

Sekitar 40% pengidap UD berisiko amputasi (4). Kasus ini diperparah dengan adanya bakteri yang resistan terhadap obat/Multidrug-resistant (MDR). Penelitian melaporkan tingkat MDR mencapai 92,9% pada isolat bakteri UD (1). Jurnal lain mengungkapkan bahwa prevalensi MDR dari bakteri UD adalah 50,86%, dengan bakteri gram-negatif lebih

banyak daripada bakteri gram-positif (5). Resistensi ini menimbulkan tantangan terhadap pengobatan.

Mengingat adanya urgensi kasus resistensi antibiotik, ada minat yang meningkat terhadap potensi ekstrak tanaman alami sebagai pengobatan alternatif. Berbagai ekstrak tanaman telah menunjukkan aktivitas antimikroba yang menjanjikan terhadap bakteri UD. Ekstrak metanol *Tragia involucrata* telah menunjukkan efektivitas terhadap patogen yang terkait dengan UD (6). Demikian pula, ekstrak *Moringa oleifera* telah menunjukkan efek penghambatan terhadap bakteri yang resistan terhadap banyak obat yang diisolasi dari UD (7).

Salah satu tanaman yang berpotensi dijadikan agen antibakteri adalah akar kalembak (*Rheum officinale*). Tanaman ini sangat penting dalam pengobatan tradisional Tiongkok, terutama karena sifat pencaharnya (8). *Rheum officinale* juga dikenal karena sifat antibakteri, antiradang, antifibrotik, dan antikankernya. Ini karena akar kalembak mengandung beberapa senyawa bioaktif, termasuk antrakuinon, tanin, alkaloid, dan flavonoid (9). Aktivitas farmakologis yang beragam ini menjadikannya

kandidat menjanjikan untuk aplikasi terapeutik modern, termasuk pengobatan UD. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti potensi ekstrak etanol 96% akar kalembak sebagai agen antibakteri guna menghambat pertumbuhan bakteri dari isolat pasien UD.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Molecular and Applied Microbiology Laboratoty, Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro.

Alat

Erlenmeyer, gelas beaker, tabung reaksi, rotary evaporator (Nanbei-China), penangas air, kapas swab steril, inkubator (Labtech-China), Laminar Air Flow (Thermo scientific-USA), mikroskop, cawan petri, pipet dan tips steril, spektrofotometer, autoklaf.

Bahan

Isolat bakteri dari ulkus dibaetikum, Akar tanaman kalembak (*Rheum officinale*), *Sterile water*, 96% etanol, Agar bubuk, Nutrient Broth, Gram staining kit, kertas cakram.

Sampel

Sampel berasal dari salah satu pasien yang menderita UD di Klinik

Anak Lanang-Semarang pada bulan Oktober 2024.

Tahapan/Jalannya Penelitian

a. Sampling

Sampel bakteri diambil dari satu pasien penderita UD di Klinik Anak Lanang, Kota Semarang, Indoensia. Selanjutnya, isolasi dilakukan dengan cara swab secara aseptis pada UD dan dimasukkan kedalam *icebox* yang selanjutnya dikultur di laboratorium dengan cara didilusi sebanyak 4x. Sebanyak 3 isolat yang berbeda bentuk koloninya diambil dan dikulturkan pada 3 cawan petri yang berbeda. Tiga isolat selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram untuk mengetahui karakteristik Gram negative atau positif (10).

b. Persiapan Ekstrak

Akar kalembak (*Rheum officinale*) diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Indonesia. Akar yang telah dikeringkan dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan etanol 96% selama 48 jam melalui metode maserasi. Setelah itu, ekstrak disaring menggunakan kertas saring dan filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan siap untuk digunakan pada uji

antibakteri dengan konsentrasi yang berbeda-beda (0%, 5%, 10%, 15%).

c. Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan metode disk difusi. Media NA digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Setiap isolat bakteri diinokulasi pada media agar. Cakram yang telah dicelupkan dalam ekstrak akar kalembak konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15% ditempatkan di permukaan agar yang berbeda-beda. Kontrol positif menggunakan antibiotik klindamisin.

d. Inkubasi

Setelah penempatan cakram, media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah periode inkubasi, diameter zona hambat diukur dalam milimeter menggunakan jangka sorong.

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik SPSS 27. Analisis varians (ANOVA) digunakan untuk menentukan perbedaan signifikan antara kelompok dengan $p < 0,05$ dianggap signifikan. Hasil diungkapkan sebagai mean $\pm$ standard deviation (SD) (11).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang diketahui memiliki sifat antibakteri dari ekstrak akar kalembak. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 1:

Tabel 1. Hasil uji flavonoid, alkaloid, dan antrakuinon ekstrak akar kalembak (*Rheum officinale*)

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Mg + HCl	+	Terbentuknya kuning atau jingga
Alkaloid	HCl 2N + Pereaksi Wagner	+	terbentuk endapan putih hingga warna jingga
Antrakuinon	KOH 10%	+	Muncul warna kuning kecoklatan

Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa akar kalembak memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, serta antrakuinon

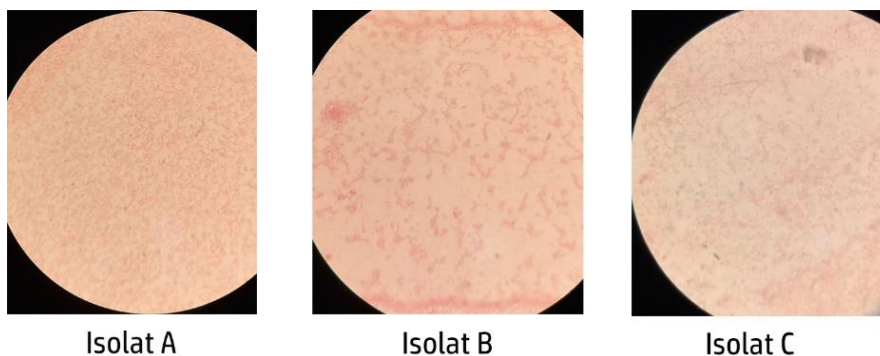
(9,12). Flavonoid dan alkaloid diketahui memiliki kemampuan sebagai antibakteri bagi pathogen diberbagai tanaman. Flavonoid menghambat

pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat fungsi enzim, adhesin, dan membran sel (13). Alkaloid menghentikan pertumbuhan bakteri dengan mengganggu bagian yang membentuk peptidoglikan. Akibatnya, lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, yang mengakibatkan kematian sel (14). Sementara itu, antrakuinon dapat menghambat sintesis asam nukleat dan protein bakteri. Ini terjadi karena antrakuinon berikatan dengan asam nukleat dan membentuk kompleks yang mengganggu fungsi cetakan DNA (15).

Pewarnaan Gram isolat bakteri ulkus diabetikum

Isolat bakteri diambil dari pasien UD menggunakan swab secara aseptis yang secara langsung dikulturkan di laboratorium menggunakan media NA. Tiga koloni yang memiliki bentuk berbeda diambil secara acak dan dikulturkan kembali pada media baru.

Hasil menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut merupakan kelompok bakteri Gram-Negatif. Hasil ini sejalan dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa isolat bakteri Gram Negatif mendominasi koloni bakteri yang diisolasi dari pasien UD (2). Gambar 1 merupakan hasil dari pewarnaan Gram bakteri.



Gambar 1. Hasil pewarnaan gram bakteri isolat ulkus diabetikum

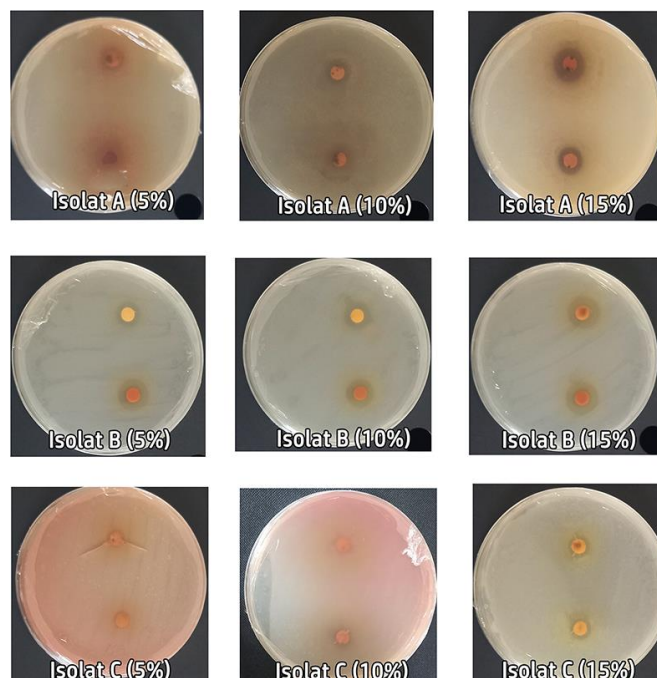
Uji antibakteri ekstrak akar kalembak (*Rheum officinale*) terhadap bakteri isolat UD

Ekstrak etanol 96% dari akar kalembak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap isolat bakteri dari

pasien UD (Tabel 1). Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah melaporkan sifat antibakteri akar kalembak (16). Konsentrasi 0% menunjukkan tidak adanya efek antibakteri terhadap semua isolat A, B,

dan C dan telah sesuai seperti yang diharapkan. Klindamisin 150mg (kontrol positif) memiliki rata-rata zona hambat terbesar pada isolat A dan B. Namun, klindamisin 150mg tidak memiliki efek antibakteri terhadap isolat C. Ini merupakan temuan menarik untuk dikaji. Apalagi, konsentrasi ekstrak akar kalembak 10% dan 15% memiliki efek antibakteri terhadap

semua isolat A, B, C. Ini mengindikasikan ekstrak akar kalembak memiliki spektrum lebih luas dibandingkan klindamisin 150mg pada penelitian ini, walaupun memiliki zona hambat lebih kecil jika dibandingkan klindamisin. Hasil zona hambat tersaji dalam Tabel 2 dan Gambar 2:



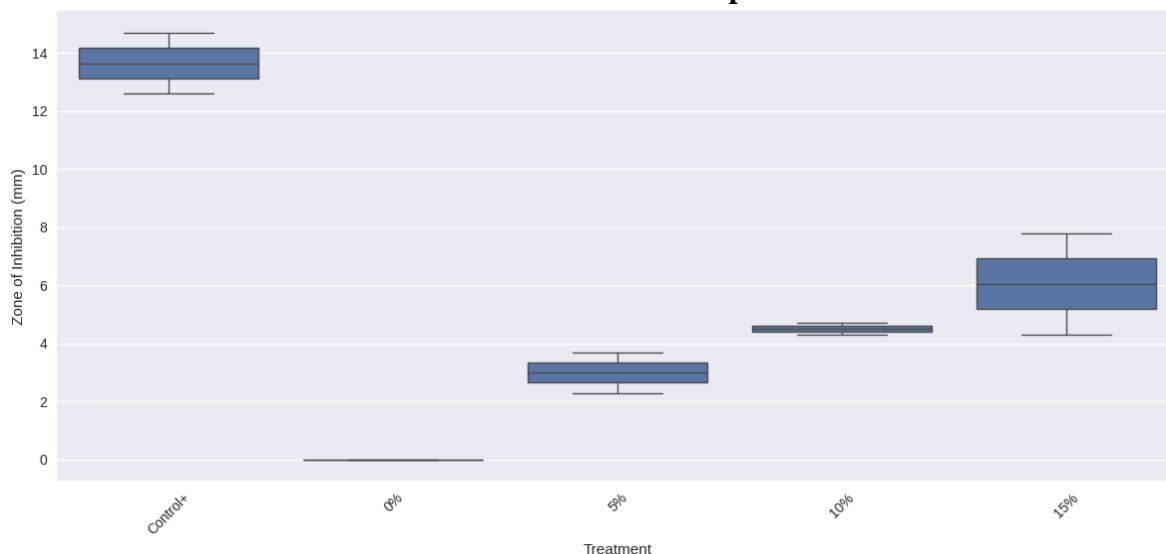
Gambar 2. Hasil uji antibakteri isolat bakteri A, B, dan C yang diambil dari ulkus diabetikum terhadap ekstrak akar kalembak

Tabel 2. Hasil uji antibakteri isolat bakteri A, B, dan C yang diambil dari ulkus diabetikum terhadap ekstrak akar kalembak

Perlakuan	Isolat bakteri A (mm)			Isolat bakteri B (mm)			Isolat bakteri C (mm)		
	1	2	Rerata	1	2	Rerata	1	2	Rerata
Klindamisin (Kontrol +)	12,6	14,7	13,65	15,5	14,2	14,85	0	0	0
Konsentrasi 0% (Kontrol -)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
konsentrasi 5%	3,7	2,3	3,0	3,0	3,1	3,05	0	0	0
konsentrasi 10%	4,3	4,7	4,5	3,2	3,7	3,45	1,0	1,1	1,05

konsentrasi 15%	4,3	7,8	6,05	5,4	5,0	5,2	3,1	2,4	2,75
-----------------	-----	-----	------	-----	-----	-----	-----	-----	------

Aktivitas antibakteri ekstrak akar kalembak terhadap isolat A

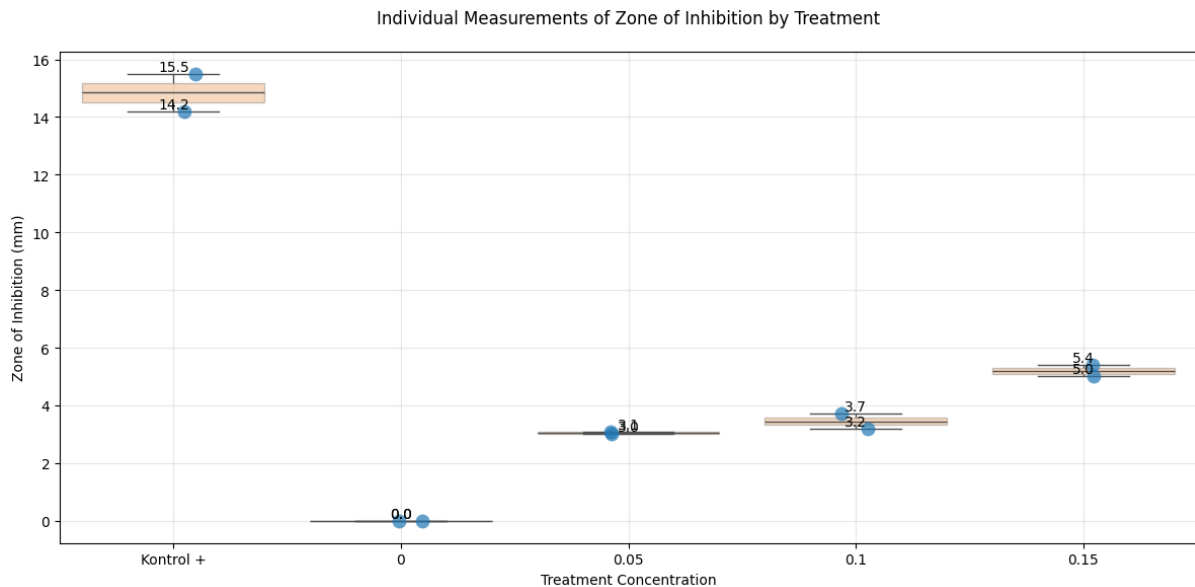


Gambar 3. Grafik distribusi data dan variasi zona hambat ekstrak akar kalembak terhadap isolat A

Studi menunjukkan bahwa kelompok kontrol (+) memiliki zona penghambatan rata-rata terbesar (13,65 mm), diikuti oleh konsentrasi 15% (6,05 mm). Konsentrasi 0% tidak menunjukkan penghambatan (0 mm), seperti yang diharapkan. Simpangan standar relatif kecil, kecuali untuk konsentrasi 15%, yang menunjukkan lebih banyak variabilitas. Uji Normalitas menunjukkan Nilai-p= 0,1472, yang artinya data normal. Hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok 0% dan 15%, serta 0% dan kontrol (+) (Nilai-p 0,0013). Namun, tidak ada

perbedaan signifikan antara perlakuan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Ini konsisten dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba, tetapi tidak selalu menjamin peningkatan signifikan di antara berbagai konsentrasi yang lebih tinggi (17). Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar kalembak maka semakin luas zona hambatnya, namun tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

Aktivitas antibakteri ekstrak akar kalembak terhadap isolat B

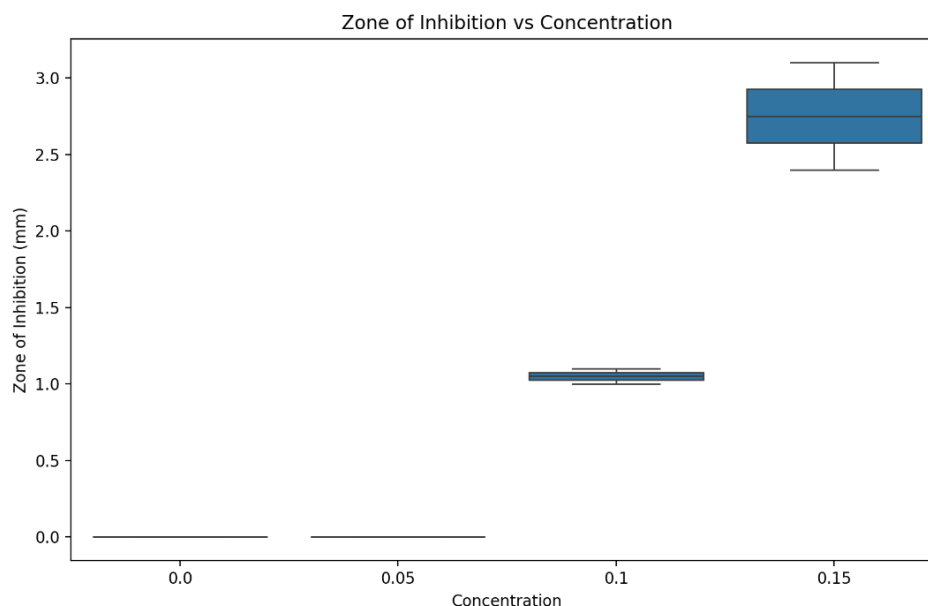


Gambar 4. Grafik distribusi data dan variasi zona hambat ekstrak akar kalembak terhadap isolat B

Uji normalitas menyatakan bahwa data terdistribusi normal ($p = 0,175$). Uji ANOVA mengungkapkan perbedaan signifikan zona penghambatan di antara kelompok perlakuan ($p < 0,001$). Berdasarkan Uji Post-HocTukey, kontrol positif (14,85 mm) berbeda secara signifikan dari semua konsentrasi lainnya ($p < 0,001$), yang menunjukkan penghambatan terkuat. Konsentrasi 0% (0,0 mm) berbeda secara signifikan dari semua konsentrasi lainnya ($p < 0,01$), yang mengonfirmasi tidak adanya penghambatan. Perbedaan signifikan terjadi antara konsentrasi 5% dan 15% ($p = 0,027$), yang mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi secara

proporsional memperluas zona hambat. Fenomena ini sesuai dengan prinsip dosis-respons, di mana efek biologis suatu zat bergantung pada jumlah molekul aktif yang tersedia. Konsentrasi tinggi mengandung lebih banyak zat antimikroba, sehingga saat berdifusi dalam medium agar, molekul tersebut mencapai area lebih luas sebelum konsentrasinya turun di bawah ambang penghambatan. Mekanisme ini menjelaskan mengapa zona hambat membesar seiring kenaikan konsentrasi. Namun, kontrol positif tetap unggul karena menggunakan zat dengan formulasi dan konsentrasi yang telah dioptimalkan untuk efek maksimal (18).

Aktivitas antibakteri ekstrak akar kalembak terhadap isolat C



Gambar 5. Grafik distribusi data dan variasi zona hambat ekstrak akar kalembak terhadap isolat C.

Berdasarkan uji normalitas, data tidak terdistribusi normal ($p < 0.05$), sehingga analisis statistik menggunakan Kruskal-Wallis. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Gambar 4 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi, dengan efektivitas tertinggi pada konsentrasi 15% (2.75 mm). Konsentrasi sama dengan dibawah 5% tidak menunjukkan aktivitas penghambatan (0 mm). Menariknya adalah kontrol positif (klindamisin) tidak memiliki efek antibakteri pada isolat C. Padahal klindamisin merupakan jenis antibiotik yang kuat dan efektif dalam membunuh bakteri

Gram positif dan Gram Negatif (19). Ini menandakan ekstrak akar kalembak memiliki spektrum cukup luas dan berpotensi dapat dijadikan salah satu jenis terapi dimasa mendatang.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% akar kalembak (*Rheum officinale*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap isolat bakteri Gram-negatif dari ulkus diabetikum (UD), dengan efektivitas signifikan pada konsentrasi $\geq 10\%$. Efek ini didukung oleh kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan antrakuinon, yang telah dilaporkan memiliki mekanisme kerja sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid diketahui dapat merusak integritas membran sel bakteri

dengan mengganggu fungsi enzim dan transporter ion, sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler (20).

Pada bakteri Gram-negatif, lapisan lipopolisakarida (LPS) yang tebal sering menjadi penghambat penetrasi senyawa antibakteri. Namun, senyawa antrakuinon dalam ekstrak kalembak berperan dalam mengatasi hambatan ini melalui interaksi dengan protein membran luar, seperti yang dilaporkan dalam studi terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (21). Kombinasi senyawa-senyawa ini dapat menjelaskan mengapa ekstrak kalembak menunjukkan spektrum aktivitas yang lebih luas dibandingkan klindamisin, yang hanya efektif pada isolat A dan B.

Temuan bahwa klindamisin tidak efektif terhadap isolat C sejalan dengan laporan meningkatnya resistensi bakteri Gram-negatif terhadap antibiotik lincosamide akibat mutasi pada target ribosom atau ekspresi pompa efluks (22). Hal ini memperkuat urgensi pencarian alternatif pengobatan berbasis tanaman, terutama untuk bakteri MDR.

Penelitian sebelumnya pada ekstrak *Curcuma longa* juga menunjukkan kemampuan kurkuminoid dalam menghambat *Acinetobacter baumannii* resisten karbapenem melalui

inhibisi enzim β -laktamase (23), mengindikasikan bahwa kombinasi senyawa fitokimia dapat menjadi strategi efektif melawan resistensi antibiotik. Mekanisme serupa mungkin terjadi pada ekstrak kalembak, di mana flavonoid dan antrakuinon bekerja secara sinergis untuk mengganggu multiple target sel bakteri, sehingga mengurangi risiko berkembangnya resistensi.

KESIMPULAN

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% akar kalembak (*Rheum officinale*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan antrakuinon. Ekstrak akar kalembak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap isolat bakteri dari UD dibandingkan dengan konsentrasi 0%. Tiga isolat bakteri UD (A, B, C) merupakan bakteri Gram negatif. Uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak akar kalembak konsentrasi 10% dan 15% memiliki efek antibakteri ke semua isolat A, B, dan C. Klindamisin hanya memiliki efek pada isolat A dan B, serta memiliki zona hambat terluas beturut-turut, yaitu 14,85mm dan 13,65mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak akar

kalembak terhadap 3 isolat bakteri UD, maka semakin besar zona hambatnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami berterima kasih kepada DRTPM KEMENRISTEK DIKTI yang telah mendukung proyek ini berdasarkan Hibah PDP nomor 056/LL6/PB/AL.04/2024.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wada FW, Mekonnen MF, Sawiso ED, Kolato S, Woldegiorgis L, Kera GK, et al. Bacterial profile and antimicrobial resistance patterns of infected diabetic foot ulcers in sub - Saharan Africa: a systematic review and meta - analysis. *Sci Rep [Internet]*. 2023;1–10. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41882-z>
2. Atlaw A, Kebede HB, Abdela AA, Woldeamanuel Y. Bacterial isolates from diabetic foot ulcers and their antimicrobial resistance profile from selected hospitals in Addis. 2022;(August):1–10.
3. Trisnawati. Factors Related To the Occurrence of Diabetic Ulcuses in Patients With Diabetes Melitus. *Indones J Nurs Heal Sci*. 2019;4(2):85–94.
4. Mohammad Zubair. Prevalence and interrelationships of foot ulcer, risk-factors and antibiotic resistance in foot ulcers in diabetic populations: A systematic review and meta-analysis. *World J Diabetes*. 2020;11(3):78–89.
5. Chai W, Wang Y, Zheng H, Yue S, Liu Y, Wu Y, et al. The Profile of Microbiological Pathogens in Diabetic Foot Ulcers. *Front Med*. 2021;8(656467):1–8.
6. Reddy BS, Rao NR, Vijeppallam K, Pandey V. Phytochemical, Pharmacological and Biological Profiles of *Tragia* Species (Family: Euphorbiaceae). Vol. 14, *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM*. 2017. p. 105–12.
7. Telrandhe UB, Pethe MM, Pimpalshende PM. Potential Benefits of *Moringa oleifera* for Diabetic Foot Ulcers – Future Research and Applications. *Int J Pharm Qual Assur*. 2024;15(3):1918–26.
8. Ramirez-acuña JM, Cardenas-cadena SA, Marquez-salas PA, Garza-veloz I, Perez-favila A, Cid-baez MA. Diabetic Foot Ulcers: Current Advances in Antimicrobial Therapies and Emerging Treatments. *Antibiotics*. 2019;8(193):1–32.
9. Gao L, Xu X, Yang J. Chemical Constituents Of The Roots of *Rheum officinale*. *Chem Nat Compd*. 2013;49(4):518–20.
10. Shahi SK, Kumar A. Isolation and Genetic Analysis of Multidrug Resistant Bacteria from Diabetic Foot Ulcers. *Front Microbiol*. 2016;6(1464):1–13.
11. Hezam F, Hussein Y, Jyothi M, Khanum SA. Statistical Analysis of Antimicrobial Data of 2-[2-(Aroyl)aroyloxy]methyl-1,3,4-Oxadiazoles analogues Using ANOVA. *Asian J Res Chem*. 2018;11(2):293–7.
12. Nurhasanah N, Iriani D. Histochemical Test of root,

- petiole and leaf of Kelembak (*Rheum officinale* Baill.). *J Biol Trop*. 2021;21(3):726–33.
13. Nugraha AC, Prasetya AT, Mursiti S. Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indones J Chem Sci*. 2017;6(2).
 14. Luh N, Rahayu M, Lestari W, Putu D, Vidika R, Putu N. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Air Kulit Batang Tanaman Turi (*Sesbania grandiflora* L .) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. 2024;7(1):35–43.
 15. Prabasari PI, Sumarya IM, Juliasih NKA. Daya Hambat Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Widya Biol*. 2019;01(6):23–32.
 16. Bai J, Xie Y, Li M, Huang X, Guo Y, Sun J, et al. Ultrasonics Sonochemistry Ultrasound-assisted extraction of emodin from *Rheum officinale* Baill and its antibacterial mechanism against *Streptococcus suis* based on CcpA. *Ultrason Sonochem* [Internet]. 2024;102(March 2023):106733. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106733>
 17. Prakoso B, Widodo E, Sudjarwo E. Antibacterial Activity of Some Herbs Water Extract against *Escherichia coli*. *J Exp Life Sci*. 2015;5(2):89–91.
 18. Yuan C, Hao X. Antibacterial mechanism of action and in silico molecular docking studies of *Cupressus funebris* essential oil against drug resistant bacterial strains. *Heliyon* [Internet]. 2023;9(8):e18742. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844023059509>
 19. Armillei MK, Lomakin IB, Rosso JQ Del, Grada A, Bunick CG. Scientific Rationale and Clinical Basis for Clindamycin Use in the Treatment of Dermatologic Disease. *Antibiotics*. 2024;13(270).
 20. Wang Y, Singh AP, Nelson HN, Vorsa N, Johnson-Cicalese J. Antimicrobial activity of flavonoid-enriched fractions from cranberry pomace against foodborne pathogens. *Food Chem*. 2018;264:164–71.
 21. Zhao F, Wang L, Liu K. In vitro antibacterial activity and mechanisms of action of anthraquinones against Gram-negative bacteria. *Phyther Res*. 2019;33(4):1181–9.
 22. Sun J, Deng Z, Yan A. Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology, and pharmacological exploitations. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;453(2):254–67.
 23. Rai PK, Usmani Z, Thakur VK, Gupta VK, Mishra YK. A critical review on the antimicrobial activity of curcumin: Current perspectives and future directions. *Life Sci*. 2022;309:121045.