

**EFEK PENAMBAHAN FRAKSI POLAR F29-F32 EKSTAK METANOLIK MENIRAN  
(*Phyllanthus niruri* L.) TERHADAP DAYA HAMBAT *Chloramphenicol* DAN *Amoxicillin* PADA  
*Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*  
Farah Yasmin, Rio Risandiansyah, Noer Aini  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang**

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Salah satu solusi mengatasi resistensi antibiotik dengan penambahan adjuvan yang dapat berasal dari herbal. Penelitian sebelumnya menemukan bahwa ekstrak kasar meniran (*Phyllanthus niruri*) dapat bekerja sinergis dengan *Amoxicillin* terhadap daya hambat pertumbuhan *E.coli*. Namun, senyawa aktif dengan fraksinasi polar yang berinteraksi dengan antibiotik tersebut belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif dengan fraksinasi polar dan menguji kombinasi meniran dengan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

**Metode:** Fraksinasi dilakukan pada ekstrak metanolik simplisia *Phyllanthun niruri* menggunakan resin silica dengan eluen metanol 100%. Hasil fraksinasi diuji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan reagen *Deagendroff*, *FeCl<sub>3</sub>*, dan *Formaldehyde*. Daya hambat tunggal (fraksi) dan kombinasi (fraksi dan antibiotik) dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer*, sedangkan analisa interaksi daya hambat dilakukan berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST). Uji statistik dilakukan dengan *Mann-Whitney* dengan signifikansi  $p < 0,05$ .

**Hasil:** Fraksinasi menghasilkan 4 fraksi (F29-F32). Hasil fraksi 29-32 ditemukan senyawa fenol, namun pada reagen lainnya tidak ditemukan senyawa aktif yang diuji. Fraksi 29, 31 dan 32 pada uji ZOI meniran memiliki aktivitas daya hambat terhadap *S. aureus*. Fraksi 30 dan 32 pada uji ZOI meniran memiliki aktivitas daya hambat terhadap *E. coli*. Kombinasi fraksi 29 dan *Amoxicillin* ( $10,6 \pm 1,1$  mm) memiliki ZOI lebih kecil dibanding ZOI fraksi tunggal ( $13,6 \pm 1,5$  mm). Kombinasi fraksi 30 dan *Chloramphenicol* ( $17,3 \pm 0,57$  mm) memiliki ZOI lebih kecil dibanding ZOI *Chloramphenicol* tunggal ( $19,6 \pm 0,57$  mm).

**Kesimpulan:** Fraksi 32 ekstrak metanolik meniran memiliki daya hambat terbesar terhadap *S. aureus*. Kombinasi Fraksi 29 dan *Amoxicillin* bersifat antagonis terhadap *S. aureus* dan kombinasi fraksi 30 dan *Chloramphenicol* bersifat antagonis terhadap *E.coli*. ( $p < 0,05$ ).

**Kata Kunci:** *Phyllanthus niruri*, L., Fraksi polar, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Korresponden: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Fakultas Kedokteran Universitas islam Malang

**THE EFFECT OF POLAR FRACTION F29-F32 METANOLIC STONEBREAKER (*Phyllanthus niruri*  
L.) EXTRACT ON THE OBSTACLES OF CHLORAMPHENICOLAND AMOXICILLIN ON  
*Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*  
Farah Yasmin, Rio Risandiansyah, Noer Aini  
Faculty of Medicine, University of Islam Malang**

**ABSTRACT**

**Introduction:** One solution to overcome antibiotic resistance is addition of adjuvants from herbs. Previous study found the extract of stonebreaker (*Phyllanthus niruri*, L.) works synergistically with Amoxicillin against *E.coli*. However, the active compound that interacts with these antibiotics are not yet known. This study separates active compounds with polar fraction and examines the combination of stonebreaker with antibiotics in inhibiting the development of *S. aureus* and *E. coli*.

**Method:** Fractionation was carried out on methanolic simplisia extract of *Phyllanthun niruri* L. using silica resin with an eluent of 100% methanol. The fractionation results were tested by Thin Layer Chromatography (TLC) using *Dragendroff*, *FeCl<sub>3</sub>*, and *Formaldehyde* reagents. Single (fraction) and combination (fraction and antibiotic) inhibition was measured using *Kirby-Bauer* method, and the interaction analysis based on AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test*). Statistical tests were used *Mann-Whitney* with was significance of  $P < 0.05$ .

**Result** Fractination produced 4 fractions (F29-F32). The results of fractions 29-32 were found to contain phenol compounds, but other staining reagents did not found positive result. Fractions 29, 31 and 32 in stonebreaker had a single inhibitory activity against *S. aureus*. Fractions 30 and 32 in stonebreaker had a single inhibitory activity against *E. coli*. The combination of fraction 29 and Amoxicillin ( $10.6 \pm 1.1$  mm) had a smaller ZOI than a single fraction ZOI ( $13.6 \pm 1.5$  mm). The combination of fraction 30 and Choramphenicol ( $17.3 \pm 0.57$  mm) had a smaller ZOI than a single ZOI *Chloramphenicol* ( $19.6 \pm 0.57$  mm).

**Conclusion** fractions 29-32 were found to contain phenol compounds. Combination of fraction 29 and Amoxicillin are antagonistic to *S. aureus* and combination of fraction 30 and *Chloramphenicol* are antagonistic to *E.coli*. ( $p < 0.05$ )

**Keywords:** *Phyllanthus niruri*, L., Polar Fraction, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Corresponding author: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi oleh mikroorganisme merupakan jenis penyakit yang paling banyak prevalensinya di negara berkembang, dimana lebih dari 4,5% kematian di negara ASEAN disebabkan oleh penyakit infeksi. Indonesia berada pada posisi sepuluh besar penyakit infeksi terbanyak<sup>1</sup>. Penyebab tersering dari infeksi bakteri adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Escherichia coli* (*E. coli*). *S. aureus* dan *E. coli* memiliki kemampuan adaptasi yang baik sehingga banyak antibiotik yang resisten<sup>2</sup>. Penelitian dari *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-study)* pada 781 pasien infeksi akibat *E.coli* resisten terhadap antibiotik beta-laktam (73%) dan chloramphenicol (43%). Sedangkan *S.aureus* resisten terhadap antibiotik golongan beta-laktam<sup>3</sup>. Strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik ditemukan akibat penggunaan yang tidak sesuai dosis dan indikasi<sup>1</sup>.

Salah satu solusi untuk mengatasi resistensi bakteri terhadap antibiotik adalah pencarian obat baru dengan mekanisme kerja yang baru, meningkatkan kerja antibiotik dengan penambahan adjuvan. Salah satu adjuvan yang diteliti berasal dari tanaman herbal. Pada penelitian sebelumnya diketahui herbal meniran (*Phyllanthus niruri* L) memiliki efek antibakteri yang bersifat sebagai adjuvan antibiotik<sup>3,4</sup>.

Penelitian menunjukkan bahwa meniran memiliki kandungan senyawa aktif dari golongan *alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, kumarin* dan *lignin* yang dapat bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat dinding sel dan protein transmembran bakteri<sup>5</sup>. Senyawa aktif tersebut dapat diisolasi dan diidentifikasi dengan cara fraksinasi, dan senyawa aktif yang diperoleh tergantung pada jenis pelarut yang digunakan pada proses fraksinasi<sup>6</sup>.

Penelitian sebelumnya di laboratorium ini mengenai interaksi herbal meniran, menemukan bahwa kombinasi ekstrak kasar meniran dengan *Amoxicillin* bersifat sinergis pada bakteri *S. aureus*, namun dengan antibiotik yang sama bersifat antagonistik pada *E.coli*. Kombinasi herbal meniran dengan *Chloramphenicol* bersifat adiptif baik pada bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Perbedaan sifat interaksi ini diduga dipengaruhi jumlah jenis senyawa aktif yang dapat saling berinteraksi dengan dirinya sendiri ataupun dengan antibiotik yang digunakan<sup>7</sup>.

Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan jenis golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak meniran yang dapat berinteraksi dengan antibiotik *Chloramphenicol* dan *Amoxicillin*. Identifikasi senyawa aktif tersebut dilakukan dengan fraksinasi kolom menggunakan pelarut polar yaitu metanol, yang diharapkan dapat memberikan variabilitas jenis golongan senyawa yang tinggi. Fraksi-fraksi tersebut akan diukur pengaruhnya terhadap ZOI antibiotik.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik secara *in vitro*. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan April 2019 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

### Pembuatan Ekstrak Metanolik Meniran

Penelitian ini menggunakan herbal meniran (*Phyllanthus niruri*, L.) yang diekstraksi dengan cara maserasi. Tanaman ini didapatkan dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Simplisia ditimbang menggunakan neraca digital sebanyak 200 gram dan dicampurkan dengan pelarut metanol (Pro Anolitic) PA 96% sebanyak 2000 ml, dan ditutup menggunakan aluminium foil, kemudian didiamkan pada *shaker water bath* selama 24 jam. Setelah itu, hasil ekstrak disaring dalam kondisi *vacuum* untuk memperoleh filtrat, dan dilakukan proses evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55 °C hingga menjadi kental. Hasil evaporasi dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40°C selama 3 hari hingga ekstrak menjadi kering<sup>8</sup>.

### Pembuatan Fraksinasi Meniran

Fraksinasi merupakan proses pemisahan berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non-polar, semi-polar, dan polar<sup>9</sup>. Pada tahapan ini, ekstrak pekat metanol tanaman herbal meniran difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam yang digunakan resin silica dan fasa gerak yang digunakan adalah 100% metanol. Hasil fraksi yang didapat ditampung ke dalam tabung vial dengan perubahan fraksi pada perbedaan warna yang keluar. Setiap fraksi dilakukan uji Kromatografi lapis tipis (KLT), pada lembar *Analytical Chromatography* (F254) berukuran 5x5 cm. Dengan eluen etil asetat : metanol (7:3)<sup>9</sup>.

### Uji Fitokimia

Uji fitokimia digunakan dengan proses *screening* untuk mengetahui kandungan suatu senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman tersebut. Uji fitokimia yang pertama dilakukan adalah untuk menentukan kandungan alkaloid, dengan menyemprotkan larutan *dragendrof* pada KLT yang sudah ditotol fraksi 29-32 ekstrak metanolik meniran. Perubahan warna orange menandakan adanya kandungan alkaloid di dalamnya<sup>10</sup>. Uji fitokimia yang kedua dengan menggunakan reagen *FeCl<sub>3</sub>*, jika terdapat perubahan warna menjadi warna biru yang menunjukkan adanya kandungan fenol didalamnya. Reagen yang selanjutnya digunakan adalah *formaldehyde* Hasil dikatakan mengandung senyawa aktif jika terjadi perubahan warna menjadi warna kecoklatan<sup>11</sup>.

### Pembuatan Stock Larutan Antibiotik

Pembuatan larutan antibiotik dimulai dengan mempersiapkan kapsul antibiotik yang digunakan yaitu *Chloramphenicol* dan *Amoxicillin* sebanyak 1000 mg kemudian dilarutkan kedalam 10 ml *aquadest* steril secara terpisah sesuai dengan antibiotik yang diperlukan<sup>12</sup>. Konsentrasi antibiotik yang digunakan untuk uji kombinasi *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) adalah 50 mg/ml *Chloramphenicol* dan 0,19 mg/ml *Amoxicillin* pada bakteri *S. aureus*, sedangkan pada bakteri *E. coli* konsentrasi yang digunakan 5 mg/ml *Chloramphenicol* dan 2,5 mg/ml pada *Amoxicillin*<sup>13</sup>.

### Metode Pour Plate untuk Pembuatan Media Uji

Bakteri diperoleh dari Laboratorium mikrobiologi UNISMA. Koloni isolat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dari media padat yang telah diinkubasi pada suhu 37° C setelah 24 jam dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% steril 10 ml secara terpisah, hingga warna menjadi keruh. Kemudian dilakukan homogenisasi bakteri dengan *vortex*. Sampel bakteri dimasukkan kedalam kuvet sebanyak 1ml untuk dinilai absorbansi sampel bakteri pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Pengenceran dilakukan dengan rumus. Target OD600nm adalah 0,2 : Faktor dilusi = (abs. sampel/ abs. target) x volume sampel. Bakteri yang diencerkan tersebut setara dengan 10<sup>8</sup> dilarutkan dalam media agar yang belum mengeras, dengan suhu ±50° C sebanyak 1% (10ml/ 1L media). Media yang berisi inokulum mikobakteri dituang kedalam cawan petri<sup>14</sup>.

### Uji Zone of Inhibition (ZOI) Tunggal dan Kombinasi

Uji *Zone of Inhibition* (ZOI) dilakukan menggunakan metode sumuran dengan media agar yang telah disiapkan pada metode sebelumnya, yang dilubangi menggunakan *cork borer* sebanyak 10 lubang, masing-masing lubang diisi dengan fraksi herbal dan antibiotik yang sesuai sebanyak 30 ul. Kemudian agar dimasukkan kedalam inkubator selama 18 – 24 jam dengan suhu 37°C, dan dilihat ada tidaknya zona hambat yang berwarna bening (*clear zone*) yang terbentuk pada sekitar lubang. Kombinasi fraksi dan antibiotik dilakukan sesuai metode AZDAST, dimana terdapat fraksi secara tunggal (Fx), fraksi secara ganda (FxFx), antibiotik tunggal (Ax), antibiotik ganda (AxAx), dan kombinasi fraksi dan antibiotik (FxAx)<sup>15</sup>.

### Penentuan Jenis Interaksi

Interpretasi hasil ZOI kombinasi herbal dan antibiotik diukur berdasarkan metode (AZDAST) untuk menilai efek kombinasi keduanya dengan mengisi sumuran dengan dosis yang sudah ditentukan. Jika A adalah antibiotik dan F adalah fraksi herbal, sesuai dengan metode azdast maka: dikatakan sinergis apabila A+F lebih besar daripada A dan F, lebih kecil atau lebih besar daripada A+A

atau F+F. Dikatakan aditif apabila A+F sama dengan A+A atau F+F dan dikatakan antagonis jika A+F lebih kecil dari A+A atau F+F<sup>15</sup>.

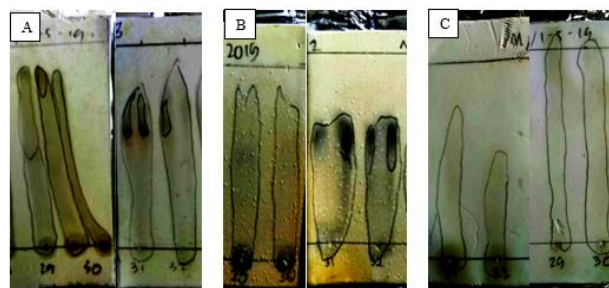
### Analisis Data Statistik

Analisa hasil ZOI kombinasi diukur menggunakan penggaris dengan satuan milimeter dan dibuat menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapatkan rata-rata dan standar deviasi. Uji Statistik menggunakan *Mann-Whitney Test* untuk mengetahui perbandingan antara ZOI tunggal dan ZOI kombinasi pada tiap fraksi aktif herbal<sup>16</sup>.

## HASIL PENELITIAN

### Uji Fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk proses *screening* kandungan senyawa aktif pada fraksi polar (F29-32) ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri, L.* dengan menyemprotkan reagen *dragendorff*, *FeCl<sub>3</sub>*, dan *formaldehyde* pada plat KLT seperti yang terlihat pada Gambar 5.1. Keterangan kandungan senyawa kimia pada F29-32 tercantum pada Tabel 5.1 yang ditandai dengan adanya perubahan warna setelah disemprotkan dengan masing-masing reagen.



**Gambar 5.1** Hasil KLT F29-32 yang sudah disemprotkan reagen; A *dragendorff*; B. *FeCl<sub>3</sub>*; C. *formaldehyde* (Gambar disertai dengan perubahan kontras)

**Tabel 5.1** Hasil Perhitungan Rf dan KLT spray

No.fraksi	Reagent (senyawa aktif)		
	<i>dragendorff</i> (Rf)	<i>FeCl<sub>3</sub></i> (Rf)	<i>formaldehyde</i> (Rf)
F29	Alkaloid (-)	Fenol (+ 0,43)	Saponin (-)
F30	Alkaloid (-)	Fenol (+ 0,45)	Saponin (-)
F31	Alkaloid (-)	Fenol (+ 0,47)	Saponin (-)
F30	Alkaloid (-)	Fenol (+ 0,47)	Saponin (-)

**Keterangan:** *dragendorff* (+) = berwarna coklat-jingga/orange-merah/coklat; *FeCl<sub>3</sub>*(+) = berwarna hijau, merah, ungu, biru dan hitam pekat; *Formaldehyd* (+) = cokelat; (-) = tidak terjadi perubahan warna; *Retention factor* (Rf) = Jarak tempuh substansi / Jarak tempuh pelarut (3,8)

Gambar 5.1 dan Tabel 5.1 menunjukkan KLT dengan penyemprotan reagen *dragendorff* didapatkan hasil yang negatif yaitu tidak didapatkan spot berwarna orange, atau warna kecoklatan pada semua fraksi (F29-F30). Pada KLT dengan

penyemprotan reagen  $FeCl_3$  menunjukkan hasil yang positif pada semua fraksi (F29-F32) dengan perubahan warna biru kehitaman dan nilai *Retention factor* (Rf) yang relatif sama. Sedangkan pada KLT dengan penyemprotan reagen *formaldehid* menunjukkan hasil yang negatif pada semua fraksi (F29-F32), dan tidak didapatkan perubahan warna pada fraksi tersebut.

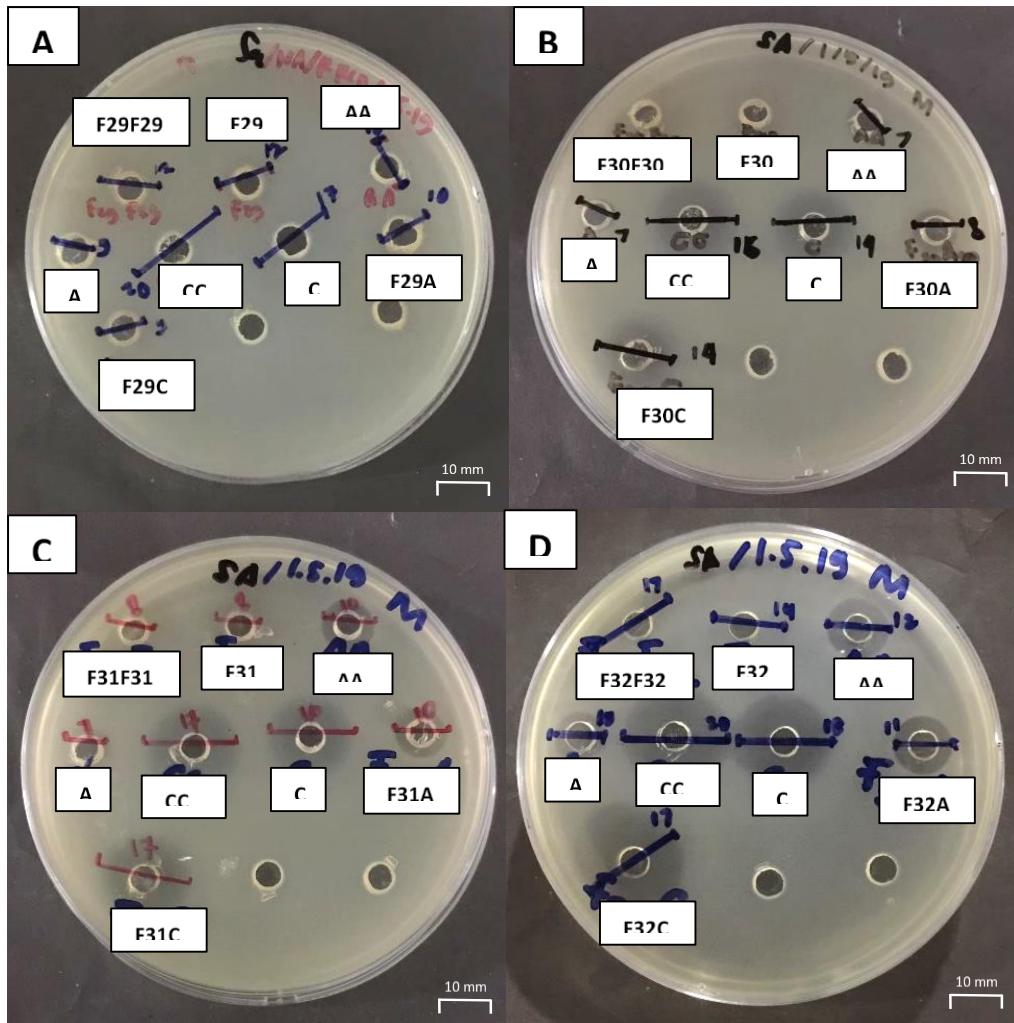
**Hasil Pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) Tunggal dan Kombinasi *Phyllanthus niruri*, L. dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus***

Pengukuran ZOI tunggal dan kombinasi herbal dan antibiotik terhadap bakteri *S. aureus* diukur dengan memperhatikan diameter pada zona bening (*clear zone*) yang terbentuk disekitar sumuran dalam satuan milimeter. Hasil ZOI pada meniran (*Phyllanthus niruri*, L.) secara tunggal dan

kombinasi dengan antibiotik (*Chloramphenicol* dan *Amoxicillin*) terhadap bakteri *S. aureus* yang dapat dilihat pada Gambar 5.2 dan Tabel 5.2

Gambar dan Tabel 5.2 diatas hasil uji ZOI tunggal fraksi meniran (*Phyllanthus niruri*, L.) terhadap bakteri *S. aureus* pada fraksi 29, 31, dan 32 dengan dosis 15 µl (Fx) dan 30 µl (FxFx) didapatkan zona hambat (*Clear zone*). Sedangkan pada fraksi 30 tidak memiliki zona hambat baik dengan dosis 15 µl (Fx) maupun dengan dosis 30 µl (FxFx).

Gambar dan Tabel 5.2 diatas menunjukkan ZOI kombinasi antara meniran dengan *Amoxicillin* terhadap bakteri *S. aureus* pada fraksi 30, 31, 32 didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) pada uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* sehingga memiliki jenis interaksi *not distinguishable*. Pada F29A didapatkan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap fraksi 29 tunggal namun tidak signifikan terhadap *Amoxicillin* tunggal, dan rerata kombinasi



**Gambar 5.2** Hasil Uji ZOI kombinasi fraksi polar (F29-F32) *Phyllanthus niruri*, L. dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus*; A. Fraksi 29 ekstrak metanolik *P. niruri*; B. Fraksi 30 ekstrak metanolik *P. niruri*; C. Fraksi 31 ekstrak metanolik *P. niruri*; D. Fraksi 32 ekstrak metanolik *P. niruri*.

**Keterangan :** FxFx= uji ZOI tunggal fraksi *Phyllanthus niruri*, L dosis 30µl; Fx= uji ZOI tunggal fraksi *P. niruri*.dosis 15µl; AA= uji ZOI tunggal *amoxicillin* dosis 30µl; A= uji ZOI tunggal *amoxicillin* dosis 15µl; FxA= uji ZOI kombinasi fraksi *P. niruri*.dan *amoxicillin*; CC= uji ZOI tunggal *chloramphenicol* dosis 30µl; C= uji ZOI tunggal *chloramphenicol* dosis 15µl; FxC= uji ZOI kombinasi fraksi *P. niruri* dan *chloramphenicol*.

fraksi dan antibiotik lebih kecil dibanding dengan rata-rata pada fraksi tunggal. Sehingga didapatkan hasil yang antagonis terhadap fraksi 29 tunggal.

Gambar dan Tabel 5.2 menunjukkan ZOI kombinasi antara meniran dengan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus* pada fraksi 29, 30, 31, dan 32 didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kombinasi fraksi herbal dan *Chloramphenicol* pada uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* sehingga memiliki jenis interaksi *not distinguishable*

**Tabel 5.2** Rerata Tiga Kali Pengulangan Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi *Phyllanthus niruri*, *L.* dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus*

Fraksi	Sampel	Rerata (mm) ± SD	Jenis Interaksi
29	F29	13,6 ± 1,5	<i>Antagonis</i>
	A	8,3 ± 0,57	
	F29A	10,6 ± 1,1 <sup>a</sup>	
	C	19 ± 6,6	
	F29C	11 ± 2,6	
30	F30	0 ± 0	<i>ND</i>
	A	8 ± 1	
	F30A	7,6 ± 0,57	
	C	13,6 ± 0,57	
	F30C	12 ± 2	
31	F31	5,6 ± 4,9	<i>ND</i>
	A	8,3 ± 1,5	
	F31A	9,6 ± 0,57	
	C	16 ± 1	
	F31C	16,6 ± 2,5	
32	F32	14 ± 2	<i>ND</i>
	A	12,3 ± 6,1	
	F32A	10,3 ± 1,1	
	C	17 ± 1	
	F32C	15,6 ± 1,1	

**Keterangan:** F29, F30, F31, F32= Fraksi dosis 15µl; A= *Amoxicillin* dosis 15µl; F29A, F30A, F31A, F32A= Kombinasi fraksi dosis 15µl dan *Amoxicillin* dosis 15µl; C= *Chloramphenicol* dosis 15µl, F29C, F30C, F31C, F32C= Kombinasi fraksi dosis 15µl dan *Chloramphenicol* dosis 15µl; <sup>a</sup> signifikan terhadap (F29) ( $p < 0,05$ ); *Antagonis*= Hasil rerata kombinasi lebih kecil dari Antibiotik atau Fraksi; *not distinguishable (ND)*= Hasil rerata kombinasi sama dengan salah satu antibiotik atau fraksi; Nilai AA, CC, FxFx dan jenis interaksi dengan interpretasi AZDAST disertakan secara lengkap di lampiran.

**Hasil Pengukuran Zone of Inhibition (ZOI) Tunggal dan Kombinasi *Phyllanthus niruri*, *L.* dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *E. coli***

Pengukuran ZOI tunggal dan kombinasi herbal dan antibiotik terhadap bakteri *E. coli* diukur dengan memperhatikan panjang diameter pada zona bening (*clear zone*) yang terbentuk disekitar sumuran dalam satuan milimeter. Hasil ZOI pada meniran

(*Phyllanthus niruri*, *L.*) secara tunggal dan kombinasi dengan antibiotik (*Chloramphenicol* dan *Amoxicillin*) terhadap bakteri *E. coli* yang dapat dilihat pada Gambar 5.3 dan Tabel 5.3

**Tabel 5.3** Rerata Tiga Kali Pengulangan Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi *Phyllanthus niruri*, *L.* dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *E. coli*

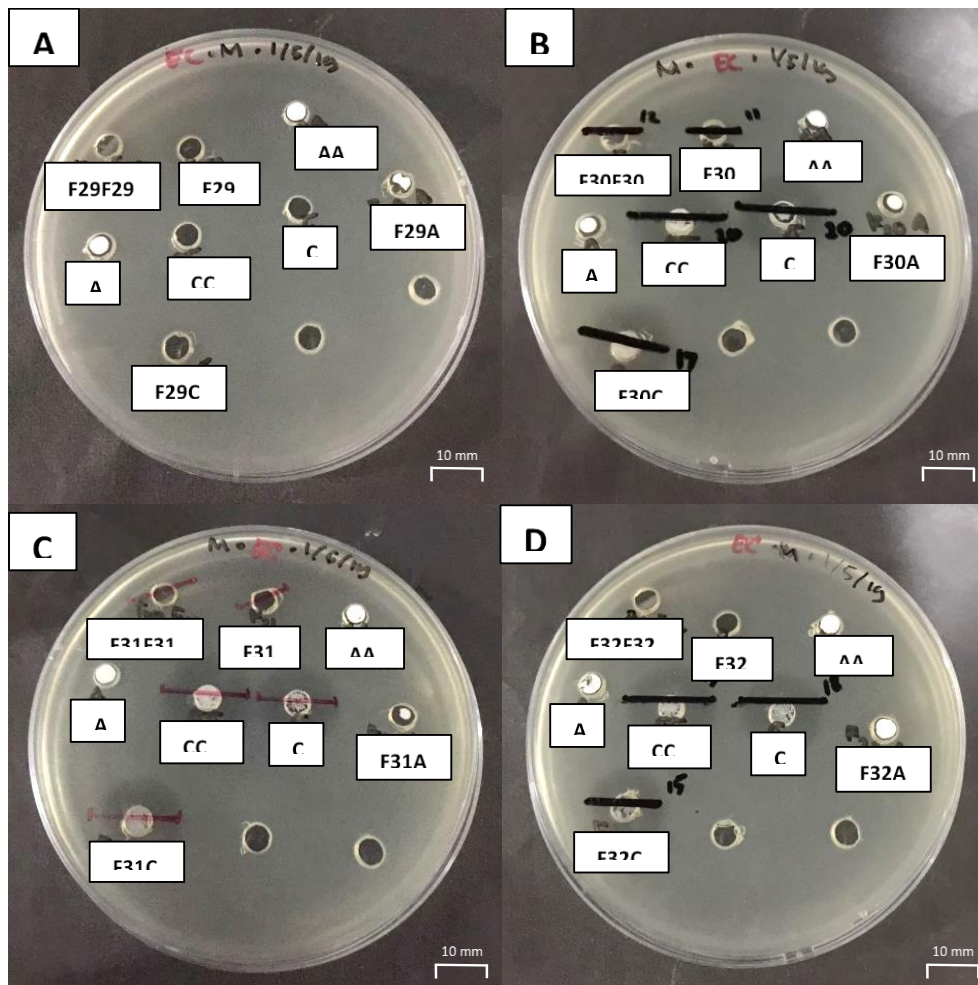
Fraksi	Sampel	Rerata (mm) ± SD	Jenis Interaksi
29	F29	0 ± 0	<i>ND</i>
	A	0 ± 0	
	F29A	0 ± 0	
	C	0 ± 0	
	F29C	0 ± 0	
30	F30	11 ± 1	<i>Antagonis</i>
	A	0 ± 0	
	F30A	0 ± 0	
	C	19,6 ± 0,57	
	F30C	17,3 ± 0,57 <sup>b</sup>	
31	F31	7,6 ± 6,6	<i>ND</i>
	A	0 ± 0	
	F31A	0 ± 0	
	C	12 ± 10,3	
	F31C	16,3 ± 5,5	
32	F32	0 ± 0	<i>ND</i>
	A	0 ± 0	
	F32A	0 ± 0	
	C	17,3 ± 0,57	
	F32C	16,3 ± 1,5	

**Keterangan:** F29, F30, F31, F32= Fraksi dosis 15µl; A= *Amoxicillin* dosis 15µl; F29A, F30A, F31A, F32A= Kombinasi fraksi dosis 15µl dan *Amoxicillin* dosis 15µl; C= *Chloramphenicol* dosis 15µl, F29C, F30C, F31C, F32C= Kombinasi fraksi dosis 15µl dan *Chloramphenicol* dosis 15µl; <sup>b</sup> signifikan terhadap *Chloramphenicol* ( $p < 0,05$ ); *Antagonis*= Hasil rerata kombinasi lebih kecil dari Antibiotik atau Fraksi; *not distinguishable (ND)*= Hasil rerata kombinasi sama dengan salah satu antibiotik atau fraksi; Nilai AA, CC, FxFx dan jenis interaksi dengan interpretasi AZDAST disertakan secara lengkap di lampiran.

Gambar dan Tabel 5.3 hasil uji ZOI tunggal fraksi meniran (*Phyllanthus niruri*, *L.*) terhadap bakteri *E. coli* pada fraksi 30 dan 31 dengan dosis 15 µl (Fx) dan 30 µl (FxFx) didapatkan zona hambat (*Clear zone*). Sedangkan pada fraksi 29 dan 32 tidak memiliki zona hambat baik dengan dosis 15 µl (Fx) maupun dengan dosis 30 µl (FxFx).

Gambar dan Tabel 5.3 menunjukkan ZOI kombinasi antara meniran dengan *Amoxicillin* terhadap bakteri *E. coli* pada fraksi 29, 30, 31, dan 32 didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) pada uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* sehingga memiliki jenis interaksi *not distinguishable*.

Gambar dan Tabel 5.3 menunjukkan ZOI kombinasi antara meniran dengan *Chloramphenicol*



**Gambar 5.3** Hasil Uji ZOI kombinasi fraksi polar (F29-F32) *Phyllanthus niruri*, L. dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *E. coli*; A. Fraksi 29 ekstrak metanolik *P. niruri*; B. Fraksi 30 ekstrak metanolik *P. niruri*; C. Fraksi 31 ekstrak metanolik *P. niruri*; D. Fraksi 32 ekstrak metanolik *P. niruri*.

**Keterangan :** FxFx= uji ZOI tunggal fraksi *Phyllanthus niruri*, L dosis 30µl; Fx= uji ZOI tunggal fraksi *P. niruri*.dosis 15µl; AA= uji ZOI tunggal *amoxicillin* dosis 30µl; A= uji ZOI tunggal *amoxicillin* dosis 15µl; FxA= uji ZOI kombinasi fraksi *P. niruri*.dan *amoxicillin*; CC= uji ZOI tunggal *chloramphenicol* dosis 30µl; C= uji ZOI tunggal *chloramphenicol* dosis 15µl; FxC= uji ZOI kombinasi fraksi *P. niruri* dan *chloramphenicol*.

terhadap baktri *E. coli* pada fraksi 29, 31, dan 32 didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) pada uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* sehingga memiliki jenis interaksi *not distinguishable*. . Pada F30C didapatkan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap *Chloramphenicol* tunggal namun tidak signifikan terhadap F29 tunggal, sehingga memiliki jenis interaksi *Antagonis*.

## PEMBAHASAN

### Analisa Kandungan Senyawa Aktif yang Terdapat pada Fraksi Polar (29-32) Meniran (*Phyllanthus niruri*, L.)

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada pengujian fitokimia fraksi 29-32 dengan eluen 100% metanol yang umumnya digunakan untuk pemisahan senyawa-senyawa polar. Pada pengujian yang telah dilakukan didapatkan hasil dari uji fitokimia dengan

penyemprotan reagen  $FeCl_3$  pada fraksi 29, 30, 31 dan 32 didapatkan perubahan warna biru, sehingga pada fraksi tersebut diduga terdapat kandungan senyawa aktif *fenol* dan derivatnya diantaranya yaitu: *simple phenol, phenolic acid, quinone, flavonoid, flavone, flavonol, tannin dan coumarin*<sup>17</sup>. Senyawa aktif tersebut memiliki sifat sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara merusak membran plasma pada bakteri<sup>10</sup>.

Nilai *Retention factor* (Rf) pada plat KLT dapat digunakan dalam mengidentifikasi distribusi dan pergerakan suatu senyawa terhadap pelarut. Jika nilai Rf memiliki nilai yang sama, maka senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Jika semakin kecil nilai Rf dan semakin pelan senyawa tersebut bergerak naik, maka kepolaran senyawa semakin bertambah<sup>18</sup>. Fraksi 29-32 memiliki Rf yang hampir sama (Tabel 5.1), sehingga

fraksi 29-32 memiliki senyawa fenol dengan karakteristik yang mirip dan bersifat polar.

Hasil uji fitokimia dengan penyemprotan reagen *dragendorff* dan *formaldehyde* pada fraksi 29–32 tidak didapatkan perubahan warna *orange* ataupun coklat sehingga dapat dikatakan bahwa pada herbal meniran pada fraksi 29-32 tidak memiliki senyawa aktif alkaloid ataupun saponin dan derivatnya dari reagen tersebut. Pada fraksi tersebut tidak terjadi perubahan warna dikarenakan eluen yang digunakan adalah metanol 100%, sehingga senyawa aktif yang didapatkan pada fraksinasi hanya yang bersifat polar<sup>17</sup>.

#### **Daya Hambat Tunggal Fraksi Polar 29-32 Meniran (*Phyllanthus niruri*, L.) terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E.coli***

Hasil penelitian uji zona inhibisi (ZOI) tunggal pada fraksi polar (F29-32) ekstrak metanolik meniran terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan *clear zone* pada fraksi 29, 31, dan 32. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi tunggal tersebut mampu menghambat bakteri *S. aureus*. Hal ini bisa terjadi karena pada fraksi 29, 31 dan 32 diduga mengandung senyawa fenol yang sesuai dengan hasil uji fitokimia diatas. Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri pada *S. aureus* adalah merusak membran sitoplasma dan dinding sel juga dapat mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Protein yang didenaturasi menyebabkan terjadinya penurunan permeabilitas, sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat<sup>19</sup>.

Hasil penelitian ZOI tunggal pada fraksi polar meniran (F29-32) terhadap bakteri *E. coli* didapatkan *clear zone* pada fraksi 30 dan 31. Pada fraksi 30 dan 31 dapat menghambat pertumbuhan bakteri diduga karena memiliki senyawa fenol yang dapat bekerja sebagai antibakteri. Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri pada *E. coli* yaitu mendenaturasi protein sel bakteri, menghambat fungsi selaput sel, dan menghambat sintesis asam nukleat sehingga pertumbuhan bakteri dapat terhambat<sup>27</sup>.

Fraksi 31 diduga senyawa tersebut bersifat *broad spectrum* antibiotik karena secara tunggal mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*S. aureus*) maupun bakteri gram negatif (*E. coli*). Hal ini dapat diindikasikan bahwa senyawa tersebut merupakan antibakteri spektrum luas<sup>21</sup>. Sedangkan herbal tunggal pada fraksi polar 29, 30, dan 32 hanya menghambat pada salah satu bakteri saja, hal ini menunjukkan bahwa fraksi tersebut berkerja sebagai antibiotik yang bersprektum sempit sehingga hanya memberikan *clear zone* pada golongan bakteri tertentu<sup>22</sup>.

#### **Daya Hambat Kombinasi Antara Fraksi Polar 29-32 Meniran (*Phyllanthus niruri*, L.) dengan Antibiotik *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus* dan *E.coli***

Hasil fraksi 29 yang dikombinasikan dengan *Amoxicillin* pada bakteri *S. aureus*, didapatkan hasil antagonis dan memiliki hasil yang signifikan pada

uji statistik Mann-Whitney Test. Sifat antagonis dari kombinasi meniran dan *Amoxicillin* terjadi karena kombinasi tersebut memiliki ZOI yang lebih rendah dari pada fraksi 29. Interaksi antagonis yang terjadi diduga menghambat kerja fraksi 29. Berdasarkan hasil fitokimia, fraksi 29 memiliki senyawa aktif golongan fenol<sup>22</sup>. Hal ini didukung oleh Penelitian yang dilakukan Eze (2013), dimana ekstrak *P. Nitida* dengan *tetracyclin* menunjukkan interaksi yang antagonis pada bakteri *S. aureus*. Hal ini terjadi karena bila dua atau lebih obat diberikan secara bersamaan, maka salah satu dapat menjadi interaktan dari antibiotik lainnya, sehingga dapat menyebabkan daya kerja obat berubah<sup>23</sup>. Sifat antagonis juga dapat disebabkan karena adanya sifat zat yang dapat menghambat kerja zat yang lainnya, sehingga efek farmakologisnya menjadi berkurang bahkan tidak muncul dengan baik karena adanya sifat zat aktif yang berbeda<sup>24</sup>.

Pada kombinasi antara fraksi 30 meniran dengan antibiotik *Chloramphenicol* terhadap bakteri *E.coli* didapatkan hasil antagonis yang berarti jenis interaksi dari rerata kombinasi tersebut lebih rendah dibandingkan antibiotik *Chloramphenicol* tunggal ( $p<0,05$ ). Salah satu dugaan terjadinya efek antagonis ini adalah karena adanya senyawa yang dapat mengganggu dan menghambat kerja dari antibiotik tersebut melalui penghambatan reseptor-reseptor atau protein transport *Chloramphenicol* untuk dapat menembus dinding sel bakteri *E. coli*. Hasil yang serupa didapatkan pada senyawa *epigallocatechin gallat* (EGCG) bakteri<sup>25</sup>. Hu et al. (2002) menyebutkan EGCG dapat terikat secara langsung pada struktur peptida antibiotik sehingga dapat menunjukkan efek yang bersifat antagonis<sup>25</sup>.

Beberapa fraksi kombinasi meniran dengan antibiotik didapatkan hasil *not distinguishable* seperti pada kombinasi antara fraksi 29, 30, 31, dan 32 dengan antibiotik *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus*, fraksi 30, 31, dan 32 dengan antibiotik *Amoxicillin* terhadap bakteri *S. aureus*, fraksi 29, 31, dan 32 dengan antibiotik *Chloramphenicol* terhadap bakteri *E. coli* dan fraksi 29, 30, 31, dan 32 dengan antibiotik *Amoxicillin* terhadap bakteri *E. coli*. Hasil *not distinguishable* menunjukkan bahwa jenis interkasinya tidak dapat dibedakan dan memiliki hasil yang tidak signifikan pada uji statistik.

Hasil *not distinguishable* pada penelitian ini diduga karena beberapa hal, yaitu antibiotik *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* yang digunakan tidak stabil karena menggunakan pelarut air. *Amoxicillin* dapat dilarutkan menggunakan pelarut dapar sedangkan *Chloramphenicol* dapat dilarutkan dengan pelarut etanol. Penggunaan antibiotik tablet juga dapat berpengaruh pada hasil *not distinguishable* karena pada antibiotik tablet terdapat beberapa komposisi seperti asam sitrat, laktosa, *Carboxymethylcellulosum Natrium*, sorbitol, dll yang dapat mengganggu kestabilan antibiotik<sup>26</sup>.

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Fraksi 29, 30, 31 dan 32 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. diduga memiliki senyawa fenol dan atau derivatnya.
2. Fraksi Polar 29, 31, dan 32 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus*.
3. Fraksi Polar 31, dan 32 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. memiliki daya hambat terhadap bakteri *E. coli*.
4. Kombinasi fraksi 29 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *amoxicillin* memiliki daya hambat dan bersifat Antagonis terhadap bakteri *S. aureus*.
5. Kombinasi fraksi 30 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *chloramphenicol* memiliki daya hambat dan bersifat Antagonis terhadap bakteri *E. coli*.

## SARAN

Adapun saran untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini lebih lanjut adalah:

1. Melarutkan antibiotik dengan pelarut yang sesuai, yang memiliki solubilitas dan stabilitas tinggi.
2. Menggunakan antibiotik murni (*Pro Analytic*)
3. Melakukan penelitian lanjutan uji *Zone of Inhibition* (ZOI) pada fraksi polar (F29-32) Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri*, L. menggunakan konsentrasi yang lebih besar untuk mempengaruhi daya hambat pada kombinasi *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *Amoxicillin*, dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
4. Melakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif pada fraksi 29 dan 30

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku yang memberikan dana penelitian, kelompok penelitian yang telah membantu dalam berjalannya penelitian dan laboratotium FK UNISMA

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kementrian Kesehatan RI. Pedoman penggunaan antibiotik. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.2011.
2. Raho, G. B. dan Abouni, B. "Escherichia coli and Staphylococcus aureus most common source of infection," *Formatex*, 1(1).2015.hal. 637-648.

3. Pradipta I.S, Febrina E, Ridwan M.H, Ratnawati R. Identifikasi Pola Penggunaan Antibiotik sebagai Upaya Pengendalian Resistensi Antibiotik. Sumedang. Indonesia. 2014.
4. Hertiani T., palupi I.S, Sanliferianti, dan Nurwindasari, H.D. Uji potensi Anti mikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Shigella dysentri* dan *Candida albican* dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Infeksi. *Pharmacon* 2003.vol.4 No. 2.
5. Taylor L. Technical data report for chanca pedra "stone breaker" (*Phyllanthus niruri* L).2003.
6. Handa, Sukhdev Swami., et al. Teknologi Ekstraksi Tanaman Obat Dan Aromatik. Pusat Internasional Untuk Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi Tinggi. 2008.
7. Adelia, Ira, Rio Risandiansyah. Efek Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) dengan Antibiotik Amoxicillin, Chloramphenicol dan Cotrimoxazole terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Malang: UNISMA.2018.
8. Irwanto. Ekstraksi Menggunakan Proses Infudasi, Maserasi dan Perkolasi. Jakarta. 2010.
9. Soebagio, B., Rusdiana, T., & Khairudin. Pembuatan Gel Dengan Aqupec HV-505 dari Ekstrak Umbi Bawang Merah (*Allium cepa*, L.) sebagai Antioksidan. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran. Bandung. 2007.
10. Harborne, J.B. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB. Bandung. 2006.
11. Autherhoff, HH., dan Kovar, K.A. (1987). Identifikasi Obat. (edisi 4). Penerjemah: N.C. Sudiarmo, Bandung ; Penerbit ITB. Andrews, J.M. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(Supplement S1), pp.5-6. 2001.
12. Pratiwi, ST. Mikrobiologi farmasi. Jakarta: Penerbit Airlangga. 2008.
13. Wardati, Firsania Bunga, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah. Efek Daya Hambat Kombinasi Fraksi F33-F37 *E.scabr* (Tapak Liman) dengan Antibiotik Amoksisilin dan Kloramfenikol terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Malang: UNISMA. 2019.
14. Risandiansyah, R. 2016. Induction of Secondary Metabolism Across Actinobacterial Genera [Tesis]. Departement of Medical Biotechnology Faculty of Medicine, Nursing and Health Sciences Flinders University. South Australia.
15. Ziaei-Darounkalaei, N., Ameri M., Zhraei-Salehi T., et al. AZDAST The New



- Horizon In Antimicrobial Synergism Detection. National Center for Biotechnology Information.2016.
16. Basuki, A.T. Analisa Statistik Dengan SPSS. Danisa Media. Yogyakarta.2015.
  17. Alfian, B., & Susanti R., Analisis Senyawa Fenolik, Universitas Diponegoro Press, Semarang. 2012. 43-65.
  18. Lipsy, P. Thin Layer Chromatography Characterization of the Active Ingredients in Excedrin and Anacin. USA: Department of Chemistry and Chemical Biology. Stevens Institute of Technology. 2010.
  19. Damayanti, E., dan T. B. Suparjana. Efek penghambatan beberapa fraksi ekstrak buah mengkudu terhadap *Shigella dysenteriae*. Purwokerto: Universitas Jenderal Soedirman Press. 2007.
  20. Lai C. Shih HF, Yerra KR, Madamanchi G, Chih HT, Ying JL, Chien HH, Wen CW, Yew MT. Inhibition of *Helicobacter pylori* induced xvii inflammation in human gastric epithelial AGS cells by *Phyllanthus urinaria* extracts. *J Ethnopharmacol* (August): 2008.522-526.
  21. Darsana, I. Besung, I. Mahatmi, H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*.2012.
  22. Hadi, Usman, Erni, P. Kolopaking, Widjoseno, Gardjito, Inge, C. Gyssens, P.J., Van Den. Broek Antimicrobial Resistance and Antibiotic Use In Low-income and Developing Countries. *Folia Medica Indonesiana* 4: 2006.183 – 195.
  23. Eze EA, Oruche NE, Onuora VC, Eze CN. Antibacterial Screening of Crude Ethanolic leaf Extracts of Four Medicinal Plants. *J. Asian Sci. Res.* 3(5):431-439. 2013.
  24. Kohanski MA, Dwyer DJ, Wierzbowski J, Cottarel G, Collins JJ. Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. 135:679–90. 2008. .
  25. Hu, Z.Q., Zhao,W.H., Yoda, Y., Nozomi, A., Yukihiro, H., Tadakatsu, S., Additive, indifferent, and antagonistic effect in combination of epigallocatechin gallate with non  $\beta$ -lactam antibiotic against methicillin-resistant *S.aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Tokyo. 2002.
  26. Wiryanti, N.M., Khatija T.A., Suartini, enny L.A., Formulasi sediaan non steril sediaan sirup kering Amoksisilin, Fakultas Matematika dan Ilmu Pegetahuan Alam. Jurusan Farmasi, Universitas Udayana. Bali. 2010.
  27. Purwanti, E. Senyawa Bioaktif Tanaman Sereh (*Cymbopogon nardus*) Ekstrak Kloroform dan Etanol serta Pengaruhnya Terhadap Mikroorganisme Penyebab Diare. Jurusan Pendidikan Biologi. Fakultas Pendidikan Biologi dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Malang. 2007.