

EFEK PENAMBAHAN FRAKSI POLAR (F33-F36) EKSTRAK METANOLIK MENIRAN (*Phyllanthus niruri L.*) PADA LARUTAN AMOKSISILIN ATAU KLORAMFENIKOL TERHADAP DAYA HAMBAT PADA *Staphylococcus aureus* ATAU *Escherichia coli*.

Mahbub El Hakeem, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email: risandiansyah@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Penyakit infeksi masih merupakan salah satu permasalahan kesehatan terbanyak di Indonesia. Penggunaan antibiotik meningkatkan risiko resistensi pada bakteri. Salah satu yang dianggap baik untuk mengurangi resistensi obat adalah mengombinasikan tanaman herbal dengan antibiotik. Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) merupakan tanaman obat yang berpotensi menjadi adjuvan antibiotik dalam membunuh *S.aureus* dan *E.coli* karena memiliki berbagai senyawa, sehingga memiliki hasil berbeda ketika dikombinasikan dengan antibiotik. Diperlukan penelitian lanjutan tentang kombinasi fraksi *P.niruri linn* dengan antibiotik Amoxicillin dan Chloramphenicol dalam membunuh *S.aureus* dan *E.coli*

Metode: Penelitian eksperimental in vitro menggunakan larutan antibiotik *amoxicillin* dan *cloramphenicol*. Uji Zona Inhibisi (ZOI) menggunakan metode Kirby-Bauer. Efek interaksinya dihitung berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST). Uji fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan reagen *FeCl₃*, *dragendorff*, dan *formaldehyde*.

Hasil:Fraksi 36 meniran kombinasi dengan *amoxicillin* terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki efek sinergis dimana didapatkan hasil 12.33 ± 1.15 , sedangkan fraksi 33 memiliki interaksi potensiasi. Fraksi 35 dan 36 herbal dikombinasikan dengan *chloramphenicol* terhadap *S.aureus* memiliki interaksi sinergis dengan hasil penghitungan yaitu 17 ± 2.64 dan 18 ± 0 .

Kesimpulan: Herbal meniran berpotensi digunakan sebagai adjuvan antibiotik *amoxicillin* dan *cloramphenicol* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan ditemukan hasil sinergis pada beberapa fraksi yang diujikan.

Kata Kunci: *Phyllanthus niruri L.*, *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, Uji Fitokimia, ZOI, Kombinasi Antibiotik dan Herbal

EFFECT OF POLAR METHANOLIC FRACTION (F33-F36) *P.niruri linn* EXTRACT ON AMOXICILLIN OR CHLORAMPHENICOL AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*

Mahbub El Hakeem, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah
Faculty of Medicine of the Islamic University of Malang,
Email: risandiansyah@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Infectious disease is still one of the most common health problems in Indonesia. The use of antibiotics increases the risk of resistance in bacteria. One that is considered good for reducing drug resistance is to combine herbal plants with antibiotics. Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) is a medicinal plant that has the potential to be an adjuvant to antibiotics in killing *S. aureus* and *E.coli* because it has a variety of compounds, so it has different results when combined with antibiotics. Further research is needed on the combination of *P. niruri linn* fraction with the antibiotics *Amoxicillin* and *Chloramphenicol* in killing *S. aureus* and *E.coli*.

Methods: In vitro experimental studies using antibiotic solutions of *amoxicillin* and *cloramphenicol*. Inhibition Zone Test (ZOI) uses the Kirby-Bauer method. The interaction effect is calculated based on the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method. Phytochemical test using Thin Layer Chromatography (TLC) with *FeCl₃* reagent, *dragendorff*, and *formaldehyde*.

Results: Fraction 36 meniran combination with amoxicillin against *Staphylococcus aureus* has a synergistic effect in which 12.33 ± 1.15 results are obtained, while fraction 33 has a potentiation interaction. The fractions of 35 and 36 herbs combined with chloramphenicol against *S. aureus* had a synergistic interaction with the calculation results of 17 ± 2.64 and 18 ± 0 .

Conclusion: Meniran has potential to be used as an adjuvant antibiotic against *Staphylococcus aureus* bacteria because of the synergistic results found in several fractions tested

Keywords: *Phyllanthus niruri L.*, *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, Phytochemical Test, ZOI, Combination of Antibiotics and Herb

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan salah satu permasalahan kesehatan terbanyak di Indonesia¹. Menurut data dari Centers for Disease Control and Prevention, Di Amerika Serikat terdapat setidaknya 23.000 orang meninggal setiap tahun sebagai akibat dari resistensi antibiotik ini (CDC, Kemenkes RI, 2016). Beberapa cara dilakukan untuk mengurangi angka kejadian resistensi antibiotik salah satunya oleh WHO yaitu *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance* ini bertujuan untuk meningkatkan kewaspadaan dan pemahaman tentang resistensi antibiotik⁵.

Salah satu cara yang dianggap baik untuk mengurangi kejadian resistensi obat adalah dengan mengkombinasikan tanaman herbal dengan antibiotik⁶. Herbal juga memiliki banyak senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antimikroba. Beberapa penelitian telah dilakukan sebagai bukti adanya peningkatan kerja antibiotik berinteraksi dengan senyawa dari tanaman⁶. Kombinasi β -laktam dengan α -mangostin yang diisolasi dari buah manggis dapat mengaktifkan kembali antibiotik, yang dimana kemungkinan komponen turunan dari buah manggis dapat menghambat enzim β -laktamase bakteri⁶.

Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) merupakan tanaman obat yang terdistribusi luas, tanaman ini memiliki khasiat seperti imunomodulator, anti virus, anti bakteri, diuretic, anti hiperglikemia dan hepatoprotektor (Tjandrawinata R.R *et al.*, 2016). Meniran diidentifikasi memiliki berbagai senyawa aktif yang berperan dan mempunyai efek terapeutik seperti alkaloid, terpenoid, dan saponin (Tjandrawinata R.R *et al.*, 2016).

Dari hasil yang didapatkan pada penelitian sebelumnya mengatakan bahwa interaksi antara ekstrak kasar meniran dengan kombinasi *cholamphenicol* pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus* tidak terdapat interaksi atau aditif (Adelia, 2018). Namun hasil yang didapatkan dari secara tunggal dan kombinasi dengan ekstrak kasar meniran dengan amoxicillin pada bakteri *E.coli* adalah antagonis atau terjadi peningkatan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum dan pada bakteri *S.aureus* didapat hasil sinergis yaitu penurunan kadar hambat minimum.

Hasil berbeda tersebut diduga karena masih banyak senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut dan belum diketahui (Fitri dan Widiyawati, 2017).

Pada Penelitian ini akan dilakukan fraksinasi untuk memisahkan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak meniran. Fraksi yang ditargetkan adalah fraksi polar (metanol-air), diharapkan mendapatkan zona hambat pada uji ZOI (*Zone Of Inhibition*) dengan metode ini interpretasi hasilnya yaitu sinergis, antagonis, aditif, potensiasi, dan tidak dapat dibedakan². Sehingga penelitian ini akan dilakukan pemberian fraksi metanolik (MeOH) meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan antibiotik *amoxicillin* atau *chloramphenicol* dan melihat efek

hambatnya terhadap bakteri *E. coli* atau *S. Aureus*. Pemilihan bakteri pada penelitian ini dilakukan karena pada bakteri *S.aureus* adalah bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi di dunia (Afifurrahman *et al.*, 2014). Sedangkan pada *E.coli* sendiri merupakan bakteri yang paling sering ditemukan pada manusia (WHO,2018), bakteri *E.coli* juga merupakan penyebab tersering penyakit diare pada negara berkembang (Pratiwi, 2014). Pemilihan antibiotik amoksisilin dan kloramfenikol ini juga didasari pada kasus resisten obat yang sering terjadi.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian yang ini menggunakan desain eksperimental laboratorium *in vitro* yang dilakukan untuk mengetahui efek dari ekstrak metanol *Phyllanthus niruri Linn* yang dikombinasi dengan antibiotik amoksisilin dan kloramfenikol terhadap perubahan dari ZOI kombinasi dari *S.aureus* dan *E coli*.

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari hingga Mei 2019 di Mikrobiologi dan Laboratorium Herbal Medik Fakultas Kedokteran UNISMA.

Pembuatan Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri linn*

Pembuatan ekstraksi meniran (*Phyllanthus niruri Linn*) dilakukan dengan metode maserasi yang dimulai dengan mempersiapkan simplisia dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Setiap metode ekstraksi, simplisia ditimbang dan ditambahkan dengan pelarut dalam rasio 1:10 (Elyani dan Risandiansyah, 2017). Simplisia ditimbang dengan neraca digital sebanyak 200 gr dan direndam dengan 2000 ml metanol 96% di dalam Erlenmeyer. Rendaman dibagi kedalam 5 Erlenmeyer berukuran 500 ml dengan setiap Erlenmeyer menggunakan 40 gr simplisia dan 400 ml methanol 96%. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 1 hari dalam shaker water bath. Hasil ekstraksi difiltrasi dengan filter yang dibantu dengan vacuum. Filtrat yang dihasilkan kemudian dievaporasi dengan *Rotary vacuum evaporator* sampai terpisah dengan pelarutnya. Ekstrak ditampung dalam gelas beker 250 ml yang telah ditimbang dan di masukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama 3 hari.

Metode Fraksinasi Polar Ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri Linn*

Pada metode ini ekstrak Meniran difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam resin silica gel dan fasa gerak yaitu pelarut etil asetat dan metanol, urutan susunan fraksi dari bawah ke atas yaitu kertas saring, glass wool, silika mengisi +2/3 kolom, campuran herbal 2 gram dengan silika 3 gram dan silika 1,5 gram. Setelah disusun, pelarut dimasukkan dalam kolom dengan urutan: 1) 50 ml ethyl , 2) 45 ml etil asetat : 5 ml metanol, 3) 37, 5 ml etil asetat : 12,5 ml metanol, 4)

25 ml etil asetat : 25 metanol, 5) 12,5 ml etil asetat : 37, 5 ml metanol dan 6) 50 ml metanol, ditampung di dalam vial yang berbeda untuk setiap warna yang berbeda.

Setelah didapatkan hasil fraksi dilakukan Uji Kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengkonfirmasi hasil dari kromatografi kolom secara kualitatif, dimana fraksi-fraksi yang memiliki senyawa yang sama dijadikan satu fraksi. KLT dilakukan dengan menggunakan F254 Silica plate berukuran 5cm x 5cm dengan eluen metanol-ethyl acetate. Plat KLT yang telah diaktivasi ditotoli dengan hasil fraksi menggunakan yellow tip sebanyak 50µL-100µL. Penotolan harus dilakukan secara bertahap dengan dilakukan pengeringan antar totolan. Kemudian setelah kering plat KLT dimasukkan dalam chamber berisi eluen dan didiamkan hingga pelarut naik sampai batas garis atas plat.

Metode Persiapan Bakteri dengan Metode Pour Plate

Isolat bakteri dari media padat yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% steril 10 ml hingga menjadi keruh yang selanjutnya dihomogenisasi menggunakan vortex. Selanjutnya ambil sampel bakteri dengan mikropipet sebanyak 3 ml dan diletakkan dalam kuvet untuk dinilai menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Catat nilai absorbansi kemudian encerkan bakteri dengan NaCl 0,9% steril sesuai dengan rumus berikut, dengan target OD 600 nm adalah 0,2:

$$\text{Faktor dilusi} = \frac{\text{abs. sampel}}{\text{abs. target (0,2)}} \times \text{vol. sampel}$$

Selanjutnya buat media padat berisi perbandingan natrium agar dan aquades 20g/L kemudian di autoklaf. Setelah steril ukur suhu media menggunakan termometer cahaya, Saat suhu media telah kurang dari 50°C masukkan inokulum sebanyak 1% dari media hingga jumlahnya 10⁸ (10 ml inokulum: 1 liter media) dan digoyangkan secara perlahan untuk mencampur rata inokulum dan media. Selanjutnya media dituang kedalam cawan petri sampai kira kira 20 - 25 ml pada cawan 90 mm dan biarkan dengan kondisi setengah terbuka di dalam LAF/ BSC. Setelah mengeras, media kemudian di pindahkan kedalam kulkas sebagai stok bahan penelitian.

Pembuatan Larutan Antibiotik

Larutan antibiotik yang digunakan yaitu amoxicillin sebanyak 1000 mg dilarutkan sampai 10 ml dengan aquadest steril. Antibiotik yang digunakan yaitu chloramphenicol sebanyak 1000 mg, yang dilarutkan sampai 10 ml aquadest steril. Antibiotik yang telah dilarutkan dijadikan sebagai stok bahan penelitian dengan konsentrasi 100 mg/ml.

Penghitungan *Zone of Inhibition* (ZOI) dengan metode AZDAST

Media agar yang telah berisi bakteri dilubangi menggunakan *cork borer* sebanyak 10 lubang. Sampel yang diujikan dimasukkan sebanyak 30 - 50 µl menggunakan mikropipet dan ditunggu dalam LAF/ BSC selama 30 menit sampai 1 jam. Media selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam. Jika sampel yang diujikan tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri maka akan terbentuk sebuah zona bening (*clear zone*) disekeliling sumuran. Zona bening diukur dengan penggaris dengan satuan mm. Efek interaksi antara herbal dan antibiotik dievaluasi menggunakan metode AZDAST. Hasil dikatakan sinergis apabila A+B lebih besar dari A dan B dan lebih kecil atau lebih besar dari A+A atau B+B. Hasil dikatakan aditif apabila A+B sama dengan A+A atau B+B. Hasil dikatakan antagonis jika A+B lebih kecil dari A atau B ².

Uji Fitokimia

Pada uji fitokimia yang pertama kali dilakukan adalah menentukan kandungan alkaloid. KLT yang sudah ditotoli fraksi ekstrak metanolik meniran (F33-F36) disemprot dengan larutan dragendroff dan secepatnya diamati perubahan warnanya. Terbentuknya bercak berwarna coklat-jingga/orange-merah/coklat berlatar belakang kuning menandakan adanya kandungan alkaloid di dalamnya (Harborne, 1987).

Uji fitokimia selanjutnya yaitu menggunakan reagen FeCl₃ yang digunakan untuk mendeteksi adanya kandungan fenol, alkaloid, terpenoid. KLT yang sudah disemprot dipanaskan 10 menit, kemudian dapat diamati dan dicatat perubahan warnanya. Jika terjadi perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru dan hitam pekat menunjukkan adanya senyawa fenol (Harborne, 1987).

Reagen yang selanjutnya digunakan adalah formaldehyde yang dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan steroid dan terpenoid. KLT yang telah disemprot dengan reagen tersebut didiamkan di suhu ruang sampai mengering.

Analisa Data Statistik

Hasil ZOI dianalisa menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapatkan rerata dan standar deviasi. ZOI kombinasi diuji menggunakan Mann-Whitney Test untuk mengetahui perbandingan ZOI kombinasi dengan hasil ZOI tunggalnya.

Efek interaksi antara herbal dan antibiotik dievaluasi menggunakan metode AZDAST. Hasil dikatakan sinergis apabila A+B lebih besar dari A dan B dan lebih kecil atau lebih besar dari A+A atau B+B. Hasil dikatakan aditif apabila A+B sama dengan A+A atau B+B. Hasil dikatakan antagonis jika A+B lebih kecil dari A atau B ².

HASIL

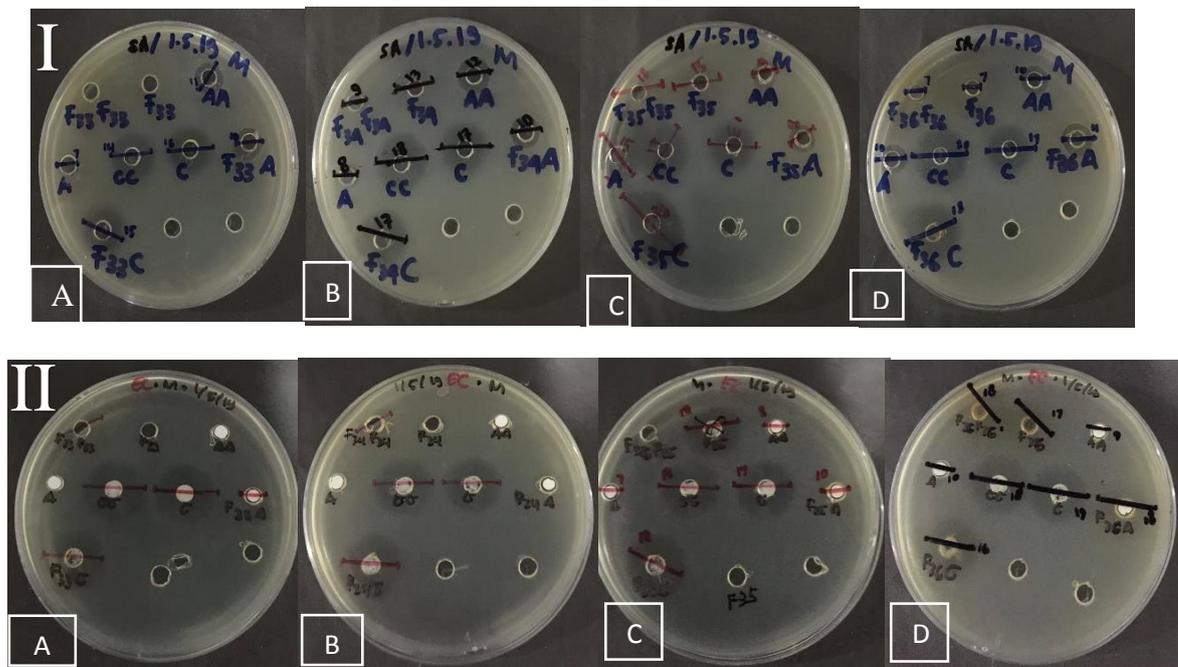
Hasil Uji ZOI Kombinasi antara *Phyllanthus niruri linn* dengan Amoxicilin dan Chloramphenicol pada *S.aureus* dan *E.coli*

Uji ZOI kombinasi antara *Phyllanthus niruri L.* dengan antibiotik *Chloramphenicol* dan *Amoxicilin* pada *S.aureus*. terlihat pada gambar 1.

Pada gambar 1A terlihat bahwa kombinasi fraksi 33 *P.niruri linn* dengan antibiotik Chloramphenicol menghasilkan *clear zone*. Pada gambar 1B terlihat fraksi 34 yang dikombinasikan dengan antibiotik chloramphenicol dan amoxicillin menghasilkan *clear zone*. Pada gambar 1C dan 1D terlihat bahwa masing masing kombinasi fraksi 35 dan 36 dengan antibiotik *chloramphenicol* dan *amoxicillin* menghasilkan *clear zone*. Adanya *clear zone* menunjukkan bahwa kombinasi tersebut mengandung efek antibakteri. Uji ZOI kombinasi antara fraksi-fraksi ekstrak metanol *P.niruri linn* dengan antibiotik Chloramphenicol dan Amoxicilin pada *E.coli*. terlihat pada **gambar 2** dan **Tabel 1**.

Berdasarkan gambar 2B terlihat tidak terdapat gambaran *clear zone* ketika fraksi *P.niruri linn* dikombinasikan dengan Amoxicillin. Pada gambar 2A, 2C dan 2D terlihat bahwa terdapat *clear zone* yang terbentuk dari kombinasi Fraksi 33,35,36 dengan *amoxicillin*. Adanya *clear zone* pada media agar menunjukkan bahwa fraksi kombinasi ataupun tunggalnya memiliki efek antibakteri terhadap *E.coli*

Pada **Tabel 1** menunjukkan uji kombinasi antara fraksi 36 *P.niruri linn* dan *Amoxicillin* terhadap *S.aureus* menghasilkan interaksi sinergis. Sedangkan, kombinasi fraksi 34 dan fraksi 35 dengan *amoxicillin* terhadap *S.aureus* menghasilkan interaksi *not distinguishable*. Kombinasinya fraksi 33 dengan amoxicillin terhadap *S.aureus* menghasilkan interaksi potensiasi. Kombinasi fraksi 35-36 ekstrak *P.niruri linn* memiliki interaksi sinergis dengan *Chloramphenicol* dalam membunuh *S.aureus*. Sedangkan fraksi 33-34 yang di kombinasikan dengan antibiotik *chloramphenicol* menunjukkan hasil interaksi *not distinguishable* terhadap *S.aureus*



Gambar 1. Sumuran uji ZOI kombinasi meniran (*Phyllanthus niruri linn*) dengan antibiotik Chloramphenicol dan Amoxicilin pada bakteri *S.aureus* (I) dan *E.coli* (II)

Keterangan A. Fraksi 33 ekstrak metanolik meniran (*P.niruri linn*) kombinasi dengan antibiotik. B. Fraksi 34 ekstrak metanolik meniran (*P.niruri linn*) kombinasi dengan antibiotik. C. Fraksi 35 ekstrak metanolik meniran (*P.niruri linn*) kombinasi dengan antibiotik. D. Fraksi 36 ekstrak metanolik meniran (*P.niruri linn*) kombinasi dengan antibiotik.,

Tabel 1. Rerata dalam Tiga Kali Pengulangan Hasil Pengukuran Zona Inhibisi pada Pengujian Bersama antara Kombinasi Fraksi *P.niruri linn* dengan Amoxicilin dan Chloramphenicol terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E.coli*

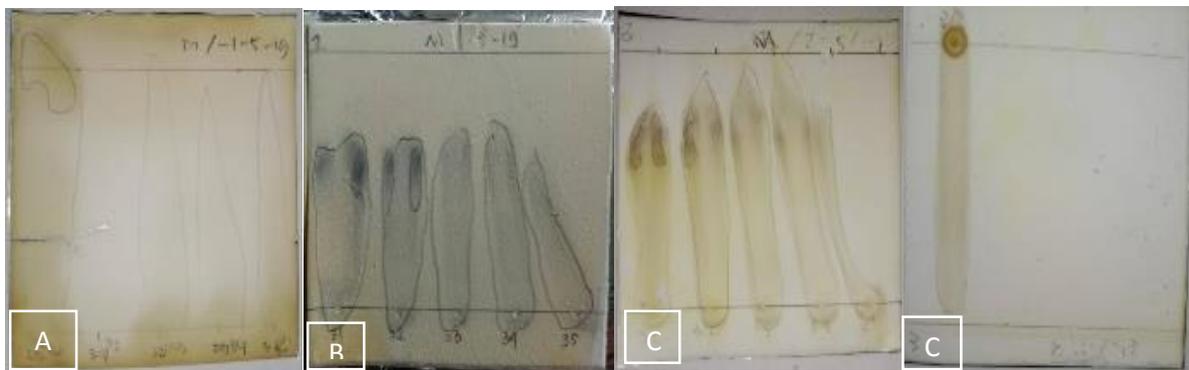
No. Fraksi	Sampel	<i>S.aureus</i>				<i>E.coli</i>			
		AMX		CHL		AMX		CHL	
		Rerata± SD (mm)	JI	Rerata± SD (mm)	JI	Rerata± SD (mm)	JI	Rerata± SD (mm)	JI
33	F33	0 ± 0		0,00 ± 0,00		0±0		0,00 ±0,00	
	A	7.66±0.57		16 ± 0,00		0±0		17±1	
	F33A	10±0	PTN	16±2.51	ND	9±0	PTN	15 ± 0,00*c	ND
	F33F33	0 ± 0		0,00 ± 0,00		12±0		0,00 ± 0,00	
	AA	9.66±1.52		16.33±2.51		0±0		18.33±1.52	
34	F33	11±2		11±2		3±4.24		0,00 ± 0,00	
	A	10.66±2.30		15.67±1.15		0±0		18±2.64	
	F33A	10.66±0.57	ND	17.67±4.04	ND	0±0	ND	13.66±3.05	ND
	F33F33	11.66±2.51		11.66±2.51		11.66±0.47		0,00 ± 0,00	
	AA	10.33±1.52		17.66±1.52		0±0		18.66±2.08	
35	F33	12.66±2.08		12.66±2.08		12±3.42		0 ± 0	
	A	10.66±3.78		14 ± 0		8.33±0.47		14±1.73	
	F33A	8.66±2.08	ND	17±2.64	SNG	9.66±0.47	ND	13.33±2.08	ND
	F33F33	15±2.64		15±2.64		6±4.32		0 ± 0	
	AA	8.33±1.15		16.66±0.57		8.33±0.47		14.33±1.15	
36	F33	7 ± 0		5.66±2.30		8.33±0.81		0 ± 0	
	A	9.33±1.15		15.33±1.52		9.33±0.47		15±2	
	F33A	12.33±1.15	SNG	18 ± 0	SNG	14.33±4.49	ND	12.66±2.30	ND
	F33F33	6±1.73		6±1.73		17.66±0.47		0,00 ±0,00	
	AA	10.33±0.57		18.33±1.52		8.33±0.47		16.33±1.15	

Keterangan: JI= Jenis interaksi; FxFx= uji ZOI tunggal fraksi meniran (*P.niruri linn*) dosis 30µl; Fx= uji ZOI tunggal fraksi *P.niruri linn* dosis 15µl; AA= uji ZOI tunggal Antibiotik dosis 30µl; A= uji ZOI tunggal Antibiotik dosis 15µl; FxA= uji ZOI kombinasi fraksi *P.niruri linn* dan Antibiotik; ND, *Not Distinguishable*; ANT, Antagonis; SNG, Sinergis; PTN, Potensiasi; a, berbeda signifikan dengan antibiotik

Hasil Uji Fitokimia Fraksi 33-36 Ekstrak Metanolik Meniran (*P.niruri linn*)

Hasil dan analisa *screening* fitokimia
Screening fitokimia ekstrak metanolik meniran

P.niruri linn terdapat pada gambar 3 dan tabel 2. Pada penelitian ini pengujian dilakukan menggunakan metode KLT spray pada fraksi 33-36.



Gambar 3. Hasil KLT Spray pada Fraksi 33-36 Ekstrak Metanolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*)

Keterangan: Dilihat dengan memperhatikan warna bercak yang terbentuk pada plat KLT setelah di semprotkan reagen *FeCl₃*, *Formaldehyde* atau *dragendorff*. **A.** Hasil Uji KLT yang diberi reagen *formaldehyde*. **B.** Hasil Uji KLT yang diberi reagen *FeCl₃*. **C.** Hasil Uji KLT yang diberi reagen *dragendorff*

Tabel 2. Hasil Identifikasi Fitokimia

No. Fraksi	Kandungan Zat Aktif	Spray reagen	Warna	Rf
	Fenol (-)	FeCl ₃	Biru Kehitaman (-)	0,37
F33	Alkaloid (-)	Dragendorff	Orange (-) Hijau (-)	0,51
	Steroid dan turunannya / Terpenoid (-)	Formaldehyde	Kecoklatan (-)	0,52
	Fenol (-)	FeCl ₃	Biru Kehitaman (-)	0,34
F34	Alkaloid (-)	Dragendorff	Orange (-) Hijau (-)	0,52
	Steroid dan turunannya / Terpenoid (-)	Formaldehyde	Kecoklatan (-)	0,46
	Fenol (-)	FeCl ₃	Biru Kehitaman (-)	0,29
F35	Alkaloid (-)	Dragendorff	Orange (-) Hijau (-)	0,42
	Steroid dan turunannya / Terpenoid (-)	Formaldehyde	Kecoklatan (-)	0,52
	Fenol (-)	FeCl ₃	Biru Kehitaman (-)	-
F36	Alkaloid (+)	Dragendorff	Orange (+) Hijau (-)	0,47
	Steroid dan turunannya / Terpenoid (-)	Formaldehyde	Kecoklatan (-)	-

Keterangan: RF = *Retention Factor*. Tanda (+) berarti terdapat senyawa yang terlihat setelah diberi reagen. Tanda (-) berarti tidak terdapat senyawa yang terlihat setelah pemberian reagen

Pada tabel .2 menunjukkan hasil kandungan senyawa tidak terdapat kandungan senyawa fenol pada fraksi 33, 34, 35, 36 dengan nilai Rf berturut-turut adalah 0,37;0,34;0,29 Kandungan senyawa alkaloid hanya terdapat pada fraksi ke 36 dengan nilai Rf 0,47. Kandungan senyawa steroid tidak didapatkan pada semua fraksi dengan nilai Rf secara berurutan adalah 0,52; 0,46; 0,52;. Kandungan terpenoid juga tidak terdapat pada ekstrak *P.niruri linn* yaitu fraksi 33-36. Kandungan fenol, alkaloid, steroid, dan terpenoid yang dominan memiliki Rf sepanjang 0,57.

PEMBAHASAN

Pengaruh Kombinasi Fraksi Polar (F33-F36) Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri L.* dengan *Amoxicillin* terhadap *E. coli* dan *S. aureus*.

Secara tunggal berdasarkan hasil penelitian ini dapat dikatakan bahwa fraksi polar (F33-F36) ekstrak metanolik *meniran* memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus*, dan *E. coli*. Hal ini dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening (*clear zone*) pada saat uji *Zone of Inhibition* (ZOI) terhadap kedua bakteri. Diameter zona bening yang terbentuk mempunyai beberapa ukuran yang menunjukkan jika semakin besar diameter yang terbentuk, maka semakin besar zona inhibisi yang dihasilkan. Namun pada uji fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak metanolik fraksi ke 33 sampai 36 hanya fraksi nomor 36 saja yang memperlihatkan hasil positif terdapat senyawa anti bakteri yang diduga adalah alkaloid. Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu pembentukan peptidoglikan dinding sel bakteri dari sel bakteri sehingga menyebabkan bakteri tersebut lisis (Maryani *et al*, 2018)

Dapat dikatakan bahwa hasil ekstrak metanolik fraksi meniran yang diujikan adalah bersifat *broad spectrum antibiotic* karena secara tunggal dapat menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Sedangkan uji pengaruh kombinasi meniran dengan *amoxicillin*, pada lima fraksi yang diujikan hanya fraksi 36 yang memiliki jenis interaksi sinergis saat dikombinasikan dengan *amoxicillin* terhadap bakteri *S. aureus* karena efek penggunaan kombinasi antibiotik dan herbal dibandingkan dengan herbal tunggal dan antibiotik tunggal memiliki rerata yang lebih tinggi serta memiliki hasil yang signifikan ($P < 0,05$) pada uji statistik *Mann-Whitney Test*. Hal ini dapat dikarenakan pada tiga kali pengulangan uji ZOI didapatkan nilai yang lebih rendah pada ulangan kedua dan ketiga, hal ini dapat disebabkan oleh ketebalan media agar yang berbeda, yang terjadi karena kemiringan *Brosafety Cabinet* (BSC). Pada Fraksi 34 dan 35 memiliki jenis interaksi *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan karena efek penggunaan kombinasi antibiotik dan herbal dibandingkan dengan antibiotik tunggal memiliki rerata yang sama, dan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) pada uji statistik *Mann-Whitney Test*. Sedangkan pada fraksi ke 33 yang dikombinasikan dengan antibiotik amoxicillin terhadap bakteri *S.aureus* didapat hasil potensiasi atau memiliki potensi untuk digunakan. Sedangkan kombinasi *amoxicillin* terhadap bakteri *E. coli* hanya fraksi 33 yang menunjukkan hasil potensiasi dimana hasil fraksi lainnya yaitu fraksi 34,35 dan 36 menunjukkan hasil *not distinguishable*. *Amoxicillin* merupakan antibiotik yang bekerja lebih efektif pada gram positif daripada bakteri gram negatif berdasarkan mekanisme kerjanya.

Kombinasi *Phyllanthus niruri L.* dengan antibiotik *amoxicillin* terhadap bakteri *S. aureus* bersifat sinergis karena amoxicillin adalah antibiotik golongan β -lactam yang bekerja pada dinding sel bakteri. Alkaloid dari meniran diketahui bekerja pada tempat yang sama dengan. Diduga mekanisme kerja senyawa aktif *Phyllanthus niruri L.* yaitu alkaloid bekerja dengan cara mengganggu pembentukan peptidoglikan dinding sel bakteri dari sel bakteri sehingga menyebabkan bakteri tersebut lisis (Maryani *et al.*, 2018), dan secara bersamaan antibiotik *amoxicillin* akan bekerja pada dinding sel bakteri dengan cara berikatan dengan *Penicillin Binding Protein* (PBP) pada dinding sel bakteri, lalu akan membentuk ikatan cincin beta laktam yang akan mengaktivasi PBP pada sel bakteri sehingga menghambat biosintesis dinding sel bakteri sehingga menyebabkan bakteri lisis dan mati²⁷. Kombinasi antibiotik yang bekerja pada dinding sel bakteri kemungkinan akan diantagonis oleh antibiotik yang bekerja pada intrasel bakteri (Kemenkes, 2011). Sedangkan kombinasi *amoxicillin* terhadap bakteri *E. coli* tidak dilakukan uji statistik karena tidak

didapatkan adanya zona inhibisi pada saat uji ZOI. Hal tersebut dikarenakan bakteri *E. coli* memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks sehingga sulit untuk di hambat oleh antibiotik²⁹.

Pengaruh Kombinasi Fraksi Polar (F33-F36) dari Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri L.* dengan *Chloramphenicol* terhadap *E. coli* dan *S. Aureus*

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dikatakan bahwa fraksi 33 dan 34 yang dikombinasikan dengan antibiotik *chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus* bersifat *not distinguishable*. Dikatakan demikian karena efek penggunaan kombinasi antibiotik dan herbal dibandingkan dengan antibiotik tunggal memiliki hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$) atau memiliki rerata yang sama. Sedangkan hasil sinergis didapatkan pada fraksi 35 dan 36 yang dikombinasikan dengan *chloramphenicol* terhadap bakteri *S.aureus*. Sedangkan kombinasi *chloramphenicol* terhadap bakteri *E.coli* semua fraksi menunjukkan hasil *not distinguishable*. Antibiotik *chloramphenicol* ini berikatan dengan subunit 50S dari ribosom dan akan mempengaruhi pengikatan asam amino yang baru pada rantai peptida karena kloramfenikol menghambat peptidil transferase. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan pertumbuhan mikroorganisme akan berlangsung lagi apabila antibiotik ini menurun. Resistensi bakteri terhadap kloramfenikol disebabkan bakteri menghasilkan enzim kloramfenikol asetiltransferase yang dapat merusak aktivitas obat (Neu H.C & Gootz T.D, 1996).

. Hal ini juga diduga terjadi karena zona yang terbentuk pada sumuran berasal dari aktivitas antibiotik kloramfenikol karena di pengujian tunggal kloramfenikol terbentuk zona (Iswary, 2019). Kemungkinan lainnya adalah pengaruh antibiotik yang terlalu lama mendapat perlakuan atau suhu ruangan yang terpapar pada antibiotik mempengaruhi efektivitas dari antibiotik itu sendiri (Waney *et al.*, 2012)

Analisa Uji Screening Fitokimia

Hasil dari uji fitokimia pada fraksi 33, 34, 35, 36 ditemukan berbagai gambaran hasil senyawa aktif yang terkandung pada herbal meniran. Reagen $FeCl_3$ digunakan untuk mendeteksi senyawa fenol dengan perubahan warna biru kehitaman pada KLT, sedangkan reagen dragendroff digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid yang ditandai dengan perubahan warna orange pada KLT dan reagen formalehid ditandai dengan adanya perubahan warna kuning kecoklatan digunakan untuk mendeteksi senyawa steroid (H.Jork, 1990)

Pada uji fitokimia dengan reagen formaldehid tidak didapatkan senyawa saponin pada fraksi ke 33 sampai 36 karena tidak terlihat adanya perubahan warna kuning kecoklatan.

Pada uji fitokimia dengan reagen Dragendorff didapatkan adanya kandungan senyawa alkaloid karena ditemukan perubahan warna orange pada fraksi ke 36, sedangkan pada fraksi ke 33 sampai 35 tidak ditemukan perubahan warna tersebut

Pada uji fitokimia dengan reagen FeCl₃ dari fraksi yang diuji tidak didapatkan adanya kandungan senyawa fenol karena tidak ditemukan perubahan warna biru tua pada hasil uji.

Pada hasil uji fitokimia menggunakan reagen Dragendorf, diduga bahwa ion logam K⁺ membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap³²

Pada uji fitokimia KLT terdapat spot mengalami tailing sehingga dapat menyebabkan kesulitan dalam proses identifikasi. Salah satu penyebabnya adalah kurang tepatnya pemilihan fasa gerak sehingga chamber menjadi kurang jenuh. Selain itu, dosis fraksi yang ditotolkan terlalu pekat sehingga menyebabkan tailing, dan juga panjang jarak elusi yang kurang akurat atau terlalu pendek sehingga proses elusi kurang sempurna.

KESIMPULAN

1. Alkaloid ditemukan hanya pada fraksi ke 36, sedangkan pada fraksi lainnya tidak ditemukan kandungan senyawa.
2. Secara tunggal F36 memiliki aktivitas antibiotik terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*
3. Interaksi kombinasi fraksi 35 dan 36 akan meningkatkan kerja dari *cloramphenicol* pada *S.aureus*
3. Kombinasi fraksi F36 meningkatkan kerja *amoxicillin* pada *S.aureus*
4. Interaksi kombinasi fraksi lainnya menghasilkan interaksi *not distinguishable*

SARAN

Adapun saran yang dapat diberikan penulis terhadap penelitian ini adalah:

1. Melakukan Identifikasi dan isolasi senyawa aktif pada fraksi 36 dengan metode LC-MS atau semacamnya
2. Melakukan pengulangan menggunakan pelarut dapar pada pembuatan larutan *amoxicillin* pada pengenceran akhir.
3. Menggunakan pelarut dapar pada pembuatan larutan *cloramphenicol* pada pengenceran akhir.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada ikatan orangtua mahasiswa (IOM) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementrian Kesehatan. Pedoman pelayanan kefarmasian untuk terapi antibiotik. (2011).
2. Ziaei-daroukalei, N. & Ameri, M. AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection. *MethodsX* **3**, 43–52 (2016).
3. Katzung, B. G., Masters, S. B. & Trevor, A. B. *Katzung - Basic and Clinical Pharmacology 12th Edition* (2012). (Mc Graw Hill LANGE, 2012).
4. Kumar, S. S., Perumal, P. & Suresh, B. Antibacterial Studies on Leaf Extract of *Elephantopus scaber* Linn. *Anc. Sci. life* vol **23**, 6–8 (2004).
5. WHO. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. World Health Organization. (2015)
6. Cheesman, M. J., Ilanko, A., Blonk, B., & Cock, I. Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/Compounds with Conventional Antibiotics the Solution?. *Pharmacognosy reviews*, *11*(22), 57–72. doi:10.4103/phrev.phrev_21_17. (2017)
7. Tjandrawinata, R.R., Susanto L.W., Nofiarny D. The use of *phyllanthus niruri L.* as an immunomodulator for the treatment of infectious diseases in clinical settings. *Asian Pac J Trop Dis*; *7*(3): 132-140. (2016)
8. Fitri, Inayah. Efektivitas antibakteri ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri. *Salmonella sp.* dan *Propionibacterium acnes*. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*. *6*. 300. 10.23887/jst-undiksha.v6i2.11815. (2017)
9. Dalimartha, S. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid II, PT. Trubus Agriwidya. (2000)
10. Dalimartha, S. Tumbuhan Obat Indonesia jilid 2, cet 5, Trubus agriwidya, hal 171-177. (2003)
11. Sahulika H., Wardhani J.P., Utami I.R., Hanani Y. Mie sehat meniran sebagai upaya mempercepat pengobatan penyakit tuberculosis. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa*, Vol. 2 No.2. (2012)
12. Nugrahani S.S. Analisis perbandingan efektifitas ekstrak akar, batang dan daun herba meniran (*phyllanthus niruri*) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit. Skripsi. Universitas Negeri Semarang. (2012)
13. Hani R.C., Milanda T. Review: manfaat antioksidan pada tanaman buah di Indonesia. *Farmaka. Suplemen* vol. 14 no.1. (2016)
14. Safitri I.R. Analisis penggunaan antibiotic pada pasien demam tifoid di instalasi rawat inap rumah sakit pku muhammadiyah Surakarta tahun 2009. Skripsi Universitas muhammadiyah Surakarta. (2010)
15. Sholikhah E.H. Efektivitas campuran meniran *phyllanthus niruri* dan bawang putih *allium sativum* dalam pakan untuk pengendalian infeksi bakteri *aeromonas hydrophillia* pada ikan lele dumbo. Skripsi. (2009)
16. Indijah S.W., Fajri P. Farmakologi. *Modul cetak bahan ajar farmasi kemenkes*. hh. 40-43. (2016)
17. Tursinawati Y., Dharmana E. Efektivitas pemberian kombinasi produk herbal dan antibiotic terhadap infeksi salmonella typhimurium pada mencit balb/c. *The 2nd University Research Coloquium*. hh. 231-237. (2015)
18. Kemenkes. Pedoman umum penggunaan antibiotik. Peraturan menteri kesehatan republik Indonesia. No.2406/menkes/per/xii/2011. (2011)

19. Putri H.S. Sensitivitas bakteri staphylococcus aureus isolate dari susu mastitis terhadap beberapa antibiotika. Skripsi Universitas airangga. (2017)
20. Putri S.U. Efek ekstrak makroalga terhadap bakteri staphylococcus aureus dan methicillin resisten staphylococcus aureus. Skripsi universitas islam negeri alauddin. (2016)
21. Anggreini R. Analisis pencemaran bakteri Escherichia coli o:157:h7 pada daging sapi di kota makassar. Skripsi universitas hasanuddin. (2017)
22. Budiarti R.S. Efektivitas konsentrasi ekstrak patikan kerbau euporbhia hirta L terhadap pertumbuhan bakteri staphylococcus aureus. **Biospecies**. Vol.5, No.5, hh. 29-32. (2012)
23. Taylor T.A., Unakal C.G. Staphylococcus aureus. **StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls**. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>. (2019).
24. WHO. E.coli. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/e-coli>. (2018).
25. Akhavan B.J., Vijhani P. Amoxicillin. StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482250/>. (2019)
26. Sunarno. Pengaruh meniran phyllanthus niruri L terhadap pathogenesis infeksi salmonella. **Jurnal Kefarmasian Indo**. Vol. 1.2. hh. 71-76. (2009).
27. Harborne, J.B. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung: ITB. P.147. (2006)
28. Jawetz, Melnick, J. L., Adelberg, E. A. Mikrobiologi Kedokteran, Edisi XXII. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika. P. 205-209. (2001).
29. Purwoko. T. Fisiologi Mikroba. Jakarta : Bumi Aksara. P. 19-21. (2007).
30. Iswary, Daan, Rio R, Faisal. Efek penambahan fraksi polar 24-28 ekstrak metanol meniran (phyllanthus niruri) terhadap daya hambat amoksisilin dan kloramfenikol pada staphylococcus aureus dan escherichia coli. Malang: UNISMA. 2019
31. Waney, et al. 2012. Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Serta Penetapan Kadar Tablet Furosemida Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Jurnal KESMAS. Vol.1(2):504-995
32. Masruroh, E *et al*. Analisis Awal Fitokimia Pada Tanaman meniran. **Prosiding Seminar Nasional Kimia**. (2014).