

**EFEK KOMBINASI EKSTRAK *Zingiber zerumbet* L. DENGAN AMOKSISILIN,
KLORAMFENIKOL DAN KOTRIMOKSAZOL TERHADAP ZONA INHIBISI, KADAR
HAMBAT MINIMUM DAN KADAR BUNUH MINIMUM *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

Aprilia Dian Anggraeni*, Rio Risandiansyah**, Arif Yahya**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staff Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email: aprildiana25@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: The herbs which have synergistic effect to antibiotics can be used to tack antibiotic-resistant bacterial infection. Shampoo ginger (*Zingiber zerumbet* L.) is considered having antibacterial effectiveness against *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. This study aims to determine the inhibitory power of combination of herbal extracts of shampoo ginger with amoxicillin, chloramphenicol and cotrimoxazole against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Method: Combination Zona of Inhibition (ZOI) test is using Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST) on Nutrient Agar. Measuring of single or combination Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is determined by the observe bacterial deposits at the bottom of the test tube. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is determined by the presence of the clear areas in petri dishes. The natural interaction based on The Checkerboard assay.

Result: An extract of Shampoo ginger is more sensitive to inhibit *Staphylococcus aureus* than *Escherichia coli* with a larger mean diameter of ZOI characterized, which is $16,67 \pm 0,57$ mm than $10,33 \pm 1,15$. When it is combined with amoxicillin, chloramphenicol and cotrimoxazole, there were no a signifikan result in two groups of combination HB+, AB+ and HB-, AB+. The results of the Minimum Inhibitory Concentration are additive to all bacteria. While the Minimum Bactericidal Concentration required is synergistic if Shampoo ginger is compared with chloramphenicol against *S. aureus*.

Conclusion: This study concluded that the use of herbal combinations of shampoo ginger with amoxicillin, chloramphenicol and cotrimoxazole has no effect. However, using of combination of shampoo ginger with chloramphenicol is more sensitive than the other antibiotic combination.

Keywords: Shampoo ginger, Amoxicillin, Chloramphenicol, Cotrimoxazole, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, AZDAST

PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* termasuk bakteri yang paling sering menyebabkan penyakit pada manusia¹. Infeksi *S.aureus* cukup tinggi di Asia, yaitu mencapai 70% pada tahun 2007 dan di Indonesia mencapai 23,5% pada tahun 2006². Adapun bakteri *Escherichia coli* adalah agen penyebab diare dengan kasus terbanyak³. Dari hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 di Jawa Timur prevalensi diare sebesar 4,9% dan prevalensi di Kabupaten Malang sebesar 4,0%⁴.

Salah satu cara untuk mengobati kasus infeksi bakteri adalah dengan pemberian obat antibiotik. Namun, pemberian tidak tepat dosis menyebabkan peningkatan insiden bakteri resisten terhadap antibiotik. Kasus yang terjadi misalnya resistensi terhadap kloramfenikol (CHL) dan kotrimoksazol

(CTX) akibat mutasi plasmid sehingga menghasilkan suatu enzim perusak antibiotik⁵. Kasus lainnya, terjadi pada antibiotik amoksisilin (AMX) dengan munculnya bakteri penghasil betalaktamase yang bekerja memotong cincin β -laktam sehingga aktivitas antibakterinya hilang⁶.

Penggunaan obat herbal yang mengandung aktivitas antibakteri menjadi salah satu solusi untuk mengatasi resistensi antibiotik, hal ini diungkapkan peneliti sebelumnya bahwa efek farmakoterapi akan bertambah dimana keduanya memiliki jalur yang berbeda dalam mengobati suatu infeksi⁷. Pada percobaan yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya, ditemukan adanya zona hambat pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli* saat diberikan ekstrak etanol maupun kloroform Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*)⁸. Namun, hingga saat ini belum ditemukan adanya

penelitian yang mengombinasikan antibiotik dengan ekstrak lempuyang gajah.

Dengan demikian, peneliti ingin menguji aktivitas antibakteri tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) apabila dikombinasikan dengan penggunaan tiga antibiotik yang memiliki catatan resistensi yaitu amoksisilin, kloramfenikol dan kotrimoksazol. Kombinasi tersebut diharapkan mampu meningkatkan khasiat tanaman lempuyang gajah dan menjadikan alternatif pemecahan masalah resistensi bakteri di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimen ini bersifat analitik laboratorik secara *in vitro*. Rancangan penelitian bertujuan untuk menguji efek kombinasi ekstrak herbal Lempuyang Gajah dengan antibiotik yaitu Amoksisilin, Kloramfenikol, dan Kotrimoksazol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* Linn.) di dapatkan dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Tawangmangu Jawa Tengah.

Pembuatan Ekstraksi Herbal Lempuyang Gajah

Proses ekstraksi dimulai dari penggilingan simplisia kasar, setelah menjadi serbuk ditimbang sebanyak 20 gram kemudian ditambahkan 200ml metanol 96% yang selanjutnya di maserasi menggunakan alat shaker selama 24 jam. Hasil maserasi yang diperoleh disaring dengan bantuan pompa vakum. Selanjutnya, herbal yang masih mengandung metanol diuapkan ke dalam oven hingga ekstrak mengental.

Kultur Bakteri

Bakteri yang digunakan peneliti yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Malang yang diambil dari isolat klinis. Pembiakan bakteri diinokulasikan ke dalam media *Nutrient* agar. Selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 37°C selama ±18-24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri Standar McFarland

Larutan standar McFarland yang telah tersedia dikocok sampai homogen untuk membandingkan suspensi bakteri. Lalu, NaCl 0,9% steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10ml. Campur NaCl 0,9% dengan bakteri yang diambil dari biakannya menggunakan ose steril. Bandingkan hingga kekeruhan larutan setara dengan standar kekeruhan McFarland 0,5.

Tahapan Penelitian

Zona Inhibisi

Media *Nutrient* agar yang masih dalam bentuk cair dituangkan dalam cawan petri lalu diinokulasikan dengan suspensi bakteri uji. Dengan menggunakan pelubang sumuran nomor 2, media yang telah memadat tersebut dibuat lubang-lubang sumuran, cara ini disebut metode difusi sumuran. Lubang-lubang sumuran ditetesi 15µL/ml stok herbal lempuyang gajah dan 15µL/ml larutan antibiotik dengan metode kombinasi sesuai AZDAST⁹ yaitu menyampurkan konsentrasi terakhir sebelum zona inhibisi menghilang (HB-atau AB-) dan dua konsentrasi terakhir sebelum zona inhibisi menghilang (HB+ atau AB+). Adapun nilai konsentrasi tersebut, sebagai berikut: Terhadap *E.coli*, HB- = ½, HB+ = 1, AB- AMX = 1/32, AB+ AMX = 1/16, AB- CHL = 1/32, AB+ CHL = 1/16, AB- CTX = 1/16, AB+ CTX = 1/8; Terhadap *S.aureus* HB- = 1/16, HB+ = 1/8, AB- AMX = 1/64, AB+ AMX = 1/32, AB- CHL = 1/64, AB+ CHL = 1/32, AB- CTX = 1/16, AB+ CTX = 1/8. Kemudian dilakukan inkubasi selama ±18-24 jam pada suhu 37°C, setelah diinkubasi diamati hasilnya dengan cara mengukur zona hambat yang terbentuk menggunakan penggaris satuan milimeter (mm). Semakin lebar diameter inhibisi, semakin sensitif dalam menghambat bakteri.

Kadar Hambat Minimum

Uji KHM terdiri dari kelompok uji, kelompok kontrol negatif dan kontrol positif secara makrodilusi. Kelompok uji KHM tunggal herbal dilakukan dengan pemberian konsentrasi 1, ½, ¼, 1/8, 1/16, 1/32 sedangkan konsentrasi antibiotik dilarutkan menjadi ½, ¼, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024, 1/2048, 1/4096, 1/8192. Kombinasi KHM herbal dan tiga antibiotik dilakukan dengan metode *El-Azizi*¹⁰ yaitu menambahkan konsentrasi 2,5 mg/ml dari nilai KHM antibiotik dan herbal tunggal, masing-masing sebesar 500uL. Kemudian ditambahkan 500uL *Nutrient broth* dan 500uL suspensi bakteri sehingga total volume menjadi 2000uL. Sebagai kontrol positif, penelitian ini menggunakan Aquadest 1000 uL, bakteri 500uL, ditambahkan 500 uL NB. Hal yang membedakan dengan kontrol negatif adalah penggantian bakteri dengan larutan NaCl 0,9% 500uL. Kemudian tabung reaksi diinkubasi selama ± 18-20 jam.

Penetapan hasil KHM tunggal antibiotik dilakukan menggunakan Spektrofotometer EPOCH dengan program GEN5(TM) sedangkan pengukuran KHM herbal tunggal dan kombinasi dilakukan secara visual dengan melihat ada tidaknya endapan bakteri yang terbentuk di dasar tabung reaksi. Metode interpretasi hasil KHM menggunakan *Checkerboard Assay* untuk menetapkan FIC. Rumus *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) indeks = (KHM ekstrak dalam kombinasi/KHM ekstrak tunggal) + (KHM Antibiotik dalam kombinasi/KHM ekstrak tunggal). Hasil yang diperoleh apabila, sinergis = FIC indeks ≤

0,5; Aditif = 0,5-4, Antagonis = >4. Adapun analisa KBM dilakukan dengan ada tidaknya bakteri secara visual pada media agar.

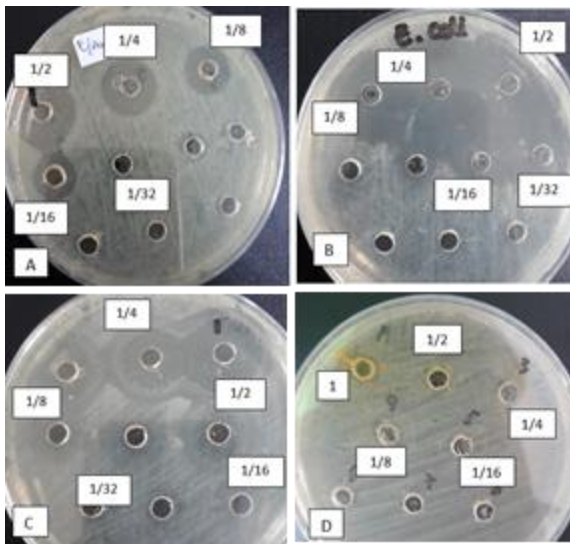
Kadar Bunuh Minimum

Uji KBM dilakukan dengan menumbuhkan bakteri dari tabung KHM pada media Nutrient agar steril. Setiap tabung diambil $\pm 10 \mu\text{L}$ lalu memasukkan media agar kedalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk melihat ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh pada media. KBM ditandai dengan kadar terendah dimana bakteri tidak tumbuh pada media.

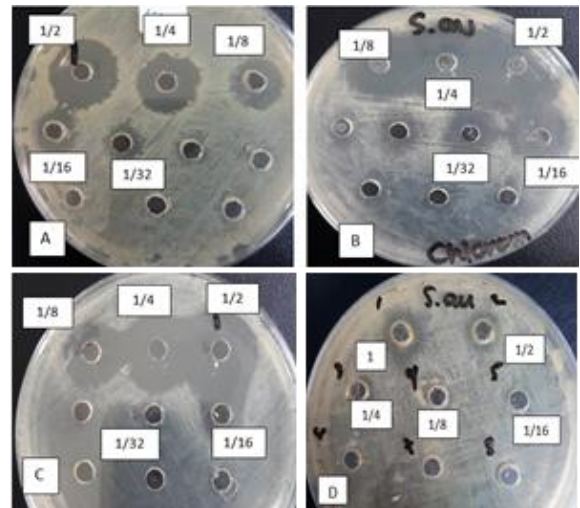
Penetapan Hasil KBM kombinasi menggunakan rumus *Fractional Bactericidal Concetration* (FBC). FBC Indeks = (KBM ekstrak dalam kombinasi/KBM ekstrak tunggal) + (KBM Antibiotik dalam kombinasi/KBM ekstrak tunggal). Hasil yang diperoleh apabila, sinergis = FBC indeks $\leq 0,5$; Aditif = 0,5-4, Antagonis = >4.

HASIL PENELITIAN

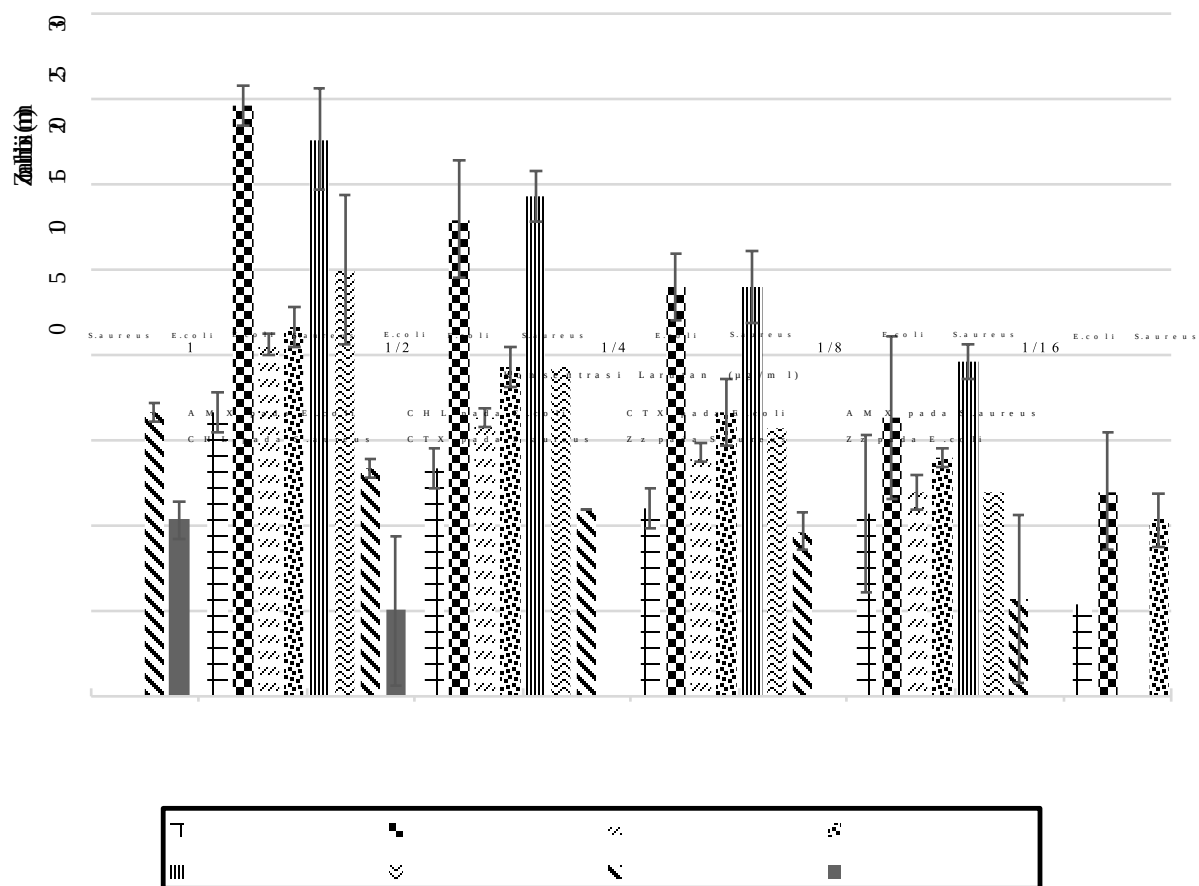
Hasil Zona Inhibisi *Zingiber zerumbet* dan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol, Kotrimoksazol Tunggal



Gambar 1 A. ZOI AMX; B. ZOI CHL; C. ZOI CTX; D. ZOI *Z. zerumbet* Terhadap *E.coli*



Gambar 2. A. ZOI AMX; B. ZOI CHL; C. ZOI CTX; D. ZOI *Z. zerumbet* Terhadap *S.aureus*



Gambar 3. Rerata Hasil Zona Inhibisi Ekstrak *Zingiber zerumbet* dan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol, Kotrimoksazol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan satuan mm $\pm$ SD; AMX, Amoksisilin; CHL, Kloramfenikol; CTX, Kotrimoksazol; Zz, *Zingiber zerumbet*

Hasil penelitian ZOI *Z. zerumbet* dan antibiotik pada **gambar 1, 2** dan **3** berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi, dimana semakin besar konsentrasi, semakin lebar pula diameter ZOI yang dihasilkan. Menurut **gambar 1, 2** dan **3**, apabila semua antibiotik dengan tiga kali pengulangan dibandingkan, maka antibiotik paling kuat dan lebih sensitif terhadap *E. coli* dan *S. aureus* adalah CHL. Hal ini diketahui dari diameter zona bening yang dihasilkan CHL pada konsentrasi 1/2 terlihat paling

besar, yaitu $34,67 \pm 1,15$ mm terhadap *E. coli* dan $32,67 \pm 1,15$ mm terhadap *S. aureus*.

Adapun, penambahan ekstrak lempuyang gajah pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* juga menghasilkan zona bening terbesar pada konsentrasi 1 dengan diameter masing-masing $10,33 \pm 1,15$ mm pada *E. coli* dan $16,67 \pm 0,57$ mm pada *S. aureus*. Bila dibandingkan, ekstrak lempuyang gajah bekerja lebih kuat terhadap *S. aureus*.

Tabel 1. Rerata Hasil ZOI Kombinasi Ekstrak *Zingiber zerumbet* Dengan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol, Kotrimoksazol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri	Model Kombinasi	Dosis	Rerata	Dosis	Rerata	Dosis	Rerata
		Konsentrasi [Zz], [AMX]	AMX (mm) ± SD	Konsentrasi [Zz], [CHL]	CHL (mm) ± SD	Konsentrasi [Zz], [CTX]	CTX (mm) ± SD
<i>E.coli</i>	HB+, AB-	[1], [1/32]	9,33±1,15	[1], [1/32]	15,00±1,00 ^b	[1], [1/16]	12,33±3,21
	HB-, AB+	[1/2], [1/16]	9,67±1,50	[1/2], [1/16]	20,00±1,00 ^a	[1/2], [1/8]	11,33±9,81
	HB+, AB+	[1], [1/16]	9,67±0,57	[1], [1/16]	20,00±1,00 ^a	[1], [1/8]	15,67±4,04
<i>S.aureus</i>	HB-, AB-	[1/2], [1/32]	8,00±1,00	[1/2], [1/32]	15,33±1,15	[1/2], [1/16]	10,00±8,66
	HB+, AB-	[1/8], [1/16]	11,67±1,15 ^d	[1/8], [1/16]	11,00±1,00	[1/8], [1/16]	9,00±1,00 ^g
	HB-, AB+	[1/16], [1/16]	13,33±1,15 ^c	[1/16], [1/16]	11,33±0,57 ^e	[1/16], [1/8]	11,33±0,57 ^f
	HB+, AB+	[1/16], [1/32]	14,00±0,00 ^c	[1/16], [1/32]	13,33±1,15 ^e	[1/8], [1/8]	11,67±0,57 ^f
	HB-, AB-	[1/8], [1/32]	10,33±1,15	[1/8], [1/32]	10,00±0,00	[1/16], [1/16]	8,33±0,57

Keterangan:

Data dalam rerata tiga kali pengulangan standar deviasi (SD) dengan uji T *Independent Test* ($p < 0,05$). AMX, Amoksisilin; CHL, Kloramfenikol; CTX, Kotrimoksazol; Zz, *Zingiber zerumbet*; ^a, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB-, AB- dosis [1/2], [1/32] pada [Zz] [CHL] *E.coli*; ^b, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB+, AB+ dosis [1] [1/16] pada [Zz] [CHL] *E.coli*; ^c, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB-, AB- dosis [1/8] [1/32] pada [Zz] [AMX] *S.aureus*; Kloramfenikol pada *E.coli*; ^d, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB+, AB+ dosis [1/16] [1/32] pada [Zz] [AMX] *S.aureus*; ^e, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB-, AB- dosis [1/8] [1/32] pada [Zz] [CHL] *S.aureus*; ^f, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB-, AB- dosis [1/16] [1/16] pada [Zz] [CTX] *S.aureus*; ^g, berbeda signifikan dibandingkan dengan kombinasi HB-, AB- dosis [1/18] [1/8] pada [Zz] [CTX] *S.aureus*; HB+, Konsentrasi Herbal dua terakhir sebelum ZOI menghilang; HB-, Konsentrasi Herbal terakhir sebelum ZOI menghilang; AB+, Konsentrasi Antibiotik dua terakhir sebelum ZOI menghilang; AB-, Konsentrasi Antibiotik terakhir sebelum ZOI menghilang.

Hasil dan Analisa Data Zona Inhibisi Kombinasi *Zingiber Zerumbet* dengan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol, Kotrimoksazol

Setelah dilakukan uji kombinasi (Tabel 1) didapatkan pengombinasian antara *Zingiber zerumbet* dengan antibiotik CHL lebih kuat dalam menghambat bakteri *E.coli* dibandingkan terhadap *S.aureus*. Hal ini dilihat dari adanya perbedaan signifikan pada kombinasi HB+, AB- dibandingkan HB+, AB+ dengan rerata zona inhibisi yang lebih besar yaitu 20,00±1,00mm pada kombinasi HB+, AB+ *E.coli* dan 13,33±1,15mm terhadap *S.aureus*.

Hasil dan Analisa Data Kadar Hambat Minimum Antibiotik dan Herbal Tunggal

Hasil data KHM tunggal maupun kombinasi terdapat pada Tabel 2. Parameter yang digunakan berdasarkan ada atau tidaknya endapan bakteri di dasar tabung reaksi. Hasil + menunjukkan bahwa terdapat endapan yang terlihat secara visual. Semakin kecil konsentrasi KHM, maka semakin baik pula larutan tersebut menghambat bakteri. Nilai KHM Zz terhadap *S.aureus* lebih kecil dibandingkan *E.coli* yaitu 1/16. Nilai KHM antibiotik terkecil jika diberikan pada *E.coli* dan *S.aureus* terdapat pada antibiotik CTX, yaitu 1/512.

Hasil dan Analisa Data Kadar Hambat Minimum Kombinasi

Hasil data KHM kombinasi (Tabel 2) pada Zz dengan AMX dan Zz dengan CHL terhadap *E.coli* memperbesar nilai KHM menjadi 1/32, jika dibandingkan dengan hasil KHM antibiotik tunggalnya. Hal serupa terjadi pada kombinasi Zz dengan CTX terhadap *S.aureus*. Sedangkan kombinasi Zz dengan CHL memperkecil nilai KHM menjadi 1/128.

Setelah didapatkan nilai KHM tunggal maupun kombinasi, maka dilakukan perhitungan nilai FIC dengan metode *Checkerboard assay*. Dari keseluruhan kombinasi Zz dan antibiotik didapatkan FIC indeks bernilai 0,5-4. Hal ini menunjukkan apabila Zz dikombinasikan dengan AMX, CHL dan CTX akan bersifat aditif. Namun, pada kombinasi ekstrak dan kloramfenikol terhadap *S.aureus* menghasilkan nilai FIC total mendekati interaksi sinergis, yaitu 1,0. (Tabel 3).

Hasil dan Analisa Data Kadar Bunuh Minimum Antibiotik dan Herbal Tunggal

Pengukuran hasil KBM berdasarkan ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh pada media agar. Semakin kecil konsentrasi KBM yang dihasilkan, maka semakin besar antibiotik tersebut memiliki daya

bunuh bakteri. Nilai KBM (Tabel 2) Zz terhadap *E.coli* dan *S.aureus* sama besar, yaitu $\frac{1}{2}$. Sedangkan nilai KBM terkecil pada pemberian antibiotik tunggal terhadap *E.coli* terjadi pada antibiotik CHL, yaitu $\frac{1}{32}$ dan nilai terkecil terhadap *S.aureus* terjadi pada antibiotik AMX, yaitu $\frac{1}{32}$.

Hasil dan Analisa Data Kadar Bunuh Minimum Kombinasi

Berdasarkan data Tabel 2, kombinasi Zz dengan antibiotik AMX, CHL dan CTX terhadap *E.coli* tidak memiliki nilai KBM. Sedangkan kombinasi Zz dengan CHL terhadap *S.aureus* memperkecil nilai KBM dibandingkan tunggalnya, yaitu $\frac{1}{32}$.

Setelah didapatkan nilai KBM tunggal maupun kombinasi, dilakukan perhitungan nilai FBC dengan metode *Checkerboard assay* (Tabel 4). FBC indeks bernilai $\leq 0,5$ pada kombinasi Zz dengan CHL terhadap *S.aureus* sehingga kombinasi ini bersifat sinergis. Artinya, kombinasi *Zingiber zerumbet* dengan CHL dapat bekerja membunuh bakteri *S.aureus* namun tidak terjadi pada bakteri *E.coli*.

PEMBAHASAN

Daya Hambat Tunggal Ekstrak Lempuyang Gajah dengan Amoksisilin, Kloramfenikol dan Kotrimoksazol terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Dari hasil penelitian ini menunjukkan daya hambat lempuyang gajah maupun antibiotik yang diberikan secara tunggal bekerja lebih kuat terhadap bakteri *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Hal ini didukung oleh semua pengukuran zona inhibisi, kadar hambat dan kadar bunuh minimum. Hasil lain menunjukkan jika semakin tinggi konsentrasi, semakin besar pula zona bening (*Clear zone*) yang terbentuk disekitar sumuran, maka sesuai teori bahwa semakin tinggi konsentrasi, jumlah senyawa antibakteri pada ekstrak yang dilepaskan semakin besar sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel bakteri⁵.

Data penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak *Z. zerumbet* dan larutan antibiotik lebih kuat menghambat bakteri gram positif yaitu *S.aureus* dibanding dengan gram negatif, *E.coli*. kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan komposisi dan struktur pada dinding sel bakteri. Struktur dinding sel bakteri gram negatif tersusun lebih kompleks, yaitu berlapis tiga yang terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan menghalangi masuknya bahan bioaktif antibakteri dan lapisan dalam

berupa peptidoglikan yang berkisar 5-10% dengan kandungan lipid tinggi^{11,12}.

Ketebalan inokulasi bakteri pada media agar juga mempengaruhi diameter inhibisi. Semakin tipis bakteri yang diinokulasi, semakin sedikit bakteri pada media, semakin mudah suatu zat antibakteri membentuk zona inhibisi¹³. Namun, pada penelitian ini faktor inokulasi telah diminimalisir dengan pemberian 10^7 CFU pada tiga replikat.

Kandungan senyawa kimia didalam *Z. zerumbet* yang diduga berfungsi sebagai antibakteri antara lain, minyak atsiri, polifenol dan alkaloid¹⁴. Mekanisme kerja minyak atsiri yaitu dapat menembus fosfolipid bilayer pada dinding bakteri. Sifat hidrofobik yang khas dari senyawa ini dapat meningkatkan permeabilitas sehingga terjadi perubahan struktur dinding sel. Senyawa polifenol sendiri banyak diteliti aktivitasnya terhadap bakteri, salah satunya jenis tanin yang bekerja dengan merusak stabilisasi membran sitoplasma dan memakan mineral penting bagi bakteri. Adapun senyawa alkaloid mengganggu sintesis asam nukleat bakteri sehingga pertumbuhan terhambat¹⁵.

Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Lempuyang Gajah dengan Amoksisilin, Kloramfenikol dan Kotrimoksazol terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Uji kombinasi ekstrak lempuyang gajah dengan antibiotik bersifat aditif atau tidak mempengaruhi terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *E.coli* maupun *S.aureus*. Hasil ini ditunjukkan dengan tidak adanya perbedaan yang signifikan jika kelompok kombinasi saling dibandingkan dengan kelompok herbal dosis tinggi dan antibiotik dosis tinggi (HB+AB+) begitu pula hasil yang didapatkan dari pengujian kadar hambat minimum.

Berbeda halnya dengan pengujian kadar bunuh minimum, interaksi lempuyang gajah yang dikombinasikan dengan kloramfenikol menunjukkan sifat sinergis dengan nilai *fractional bactericidal concentration* dibawah 0,5. Diduga, kandungan senyawa dari *Z. zerumbet* yang salah satunya bekerja pada dinding sel dapat membantu antibiotik kloramfenikol menjadi lebih efektif. Studi yang mendukung alasan ini berasal dari pernyataan jika kloramfenikol dikombinasikan bersama dengan antibiotik yang kerjanya pada dinding sel, maka antibiotik tersebut dapat membantu penetrasi dengan cara merusak sintesis dinding sel sehingga kloramfenikol lebih mudah mengenai target sel dalam menghambat pertumbuhan sel¹⁶. Namun, mekanisme bakterisidalnya masih belum diketahui

Tabel 2 Kadar Hambat dan Kadar Bunuh Minimum Tunggal maupun Kombinasi Lempu yang gajah dengan Antibiotik

Bakteri	Dosis	KFM Tunggal				KBM Kombinasi			KFM Tunggal				KBM Kombinasi		
		[Zz]	[AMK]	[CH]	[CIX]	[Zz & AMK]	[Zz & CH]	[Zz & CIX]	[Zz]	[AMK]	[CH]	[CIX]	[Zz & AMK]	[Zz & CH]	[Zz & CIX]
<i>E. coli</i>	1	-							1	-					
	1/2	-	-	-	-				1/2	-■	-	-			
	1/4	-	-	-	-				1/4	+	-■	-			
	1/8	-●	-	-	-				1/8	+	+	-			
	1/16	+	-	-	-	-1/2	-1/2		1/16	+	+	-	-■	+1/2	+1/2
	1/32	+	-	-	-	-●	-●		1/32	+	+	-■	+	+	+
	1/64		-●	-●	-	+	+		1/64		+	+	+	+	+
	1/128		+	+	-	+	+		1/128		+	+	+	+	+
	1/256		+	+	-	+	+	-1/2	1/256		+	+	+	+	+
	1/512		+	+	-●	+	+	-●	1/512		+	+	+	+	+
	1/1024		+	+	+				1/1024		+	+	+		
	1/2048		+	+	+				1/2048		+	+	+		
	1/4096		+	+	+				1/4096		+	+	+		
<i>S. aureus</i>	1	-							1	-					
	1/2	-	-	-	-				1/2	-■	-	-			
	1/4	-	-	-	-				1/4	+	-	-■	-		
	1/8	-	-	-	-				1/8	+	-	+	-■		
	1/16	-●	-	-	-	-1/4	-1/4	-1/4	1/16	+	-	+	+	-1/4	-1/4
	1/32	+	-	-	-	-	-	-●	1/32	+	-■	+	+	-■	+
	1/64		-●	-●	-●	-●	-	+	1/64		+	+	+	+	+
	1/128		+	+	+	+	-●	+	1/128		+	+	+	+	+
	1/256		+	+	+	+	+	+	1/256		+	+	+	+	+
	1/512		+	+	+	+	+	+	1/512		+	+	+	+	+
	1/1024		+	+	+				1/1024		+	+	+		
	1/2048		+	+	+				1/2048		+	+	+		
	1/4096		+	+	+				1/4096		+	+	+		

Keterangan

KFM, Kadar Hambat Minimum; KBM, Kadar Bunuh Minimum; [Zz], Konsentrasi *Zingher zenubet*; [AMK], Amoksisilin; [CH], Kloamfenikol; [CIX], Klorindoksol; [Zz&AMK], *Z. zenubet* kombinasi Amoksisilin; [Zz&CH], *Z. zenubet* kombinasi Kloamfenikol; [Zz&CIX], *Z. zenubet* kombinasi Klorindoksol; 1/2, Konsentrasi hebal awal dalam kombinasi terhadap *E. coli*; 1/4, Konsentrasi hebal awal dalam kombinasi terhadap *S. aureus*; ●, Kadar Hambat Minimum yang dihasilkan; ■, Kadar Bunuh Minimum yang dihasilkan

Tabel 3. Hasil FIC Indeks Kadar Hambat Minimum Kombinasi Herbal dengan Antibiotik

Bakteri	<i>Fractional Inhibitory Concentration</i>			Sifat	<i>Fractional Inhibitory Concentration</i>			Sifat	<i>Fractional Inhibitory Concentration</i>			Sifat
	FIC I	FIC I	Σ FIC		FIC I	FIC I	Σ FIC		FIC I	FIC I	Σ FIC	
	(Zz)	(AMX)			(Zz)	(CHL)			(Zz)	(CTX)		
<i>E.coli</i>	2,0	2,0	4,0	A ditif	2,0	2,0	4,0	A ditif	2,0	2,0	4,0	A ditif
<i>S.aureus</i>	1,0	1,0	2,0	A ditif	0,5	0,5	1,0	A ditif	2,0	2,0	2,0	A ditif

Keterangan :

FIC I, *Fractional Inhibitory Concentration Index*; Σ FIC, *Fractional Inhibitory Concentration Total*; Zz, *Zingiber zerumbet*; AMX, Amoksisilin; CHL, Kloramfenikol; CTX, Kotrimoksazol; A ditif, Nilai FIC indeks 0,5-4.

Tabel 4. Hasil FBC Indeks Kadar Bunuh Minimum Kombinasi Herbal dengan Antibiotik

Bakteri	<i>Fractional Bactericidal Concentration</i>			Sifat	<i>Fractional Bactericidal Concentration</i>			Sifat	<i>Fractional Bactericidal Concentration</i>			Sifat
	FBC I	FBC I	Σ FBC		FBC I	FBC I	Σ FBC		FBC I	FBC I	Σ FBC	
	(Zz)	(AMX)			(Zz)	(CHL)			(Zz)	(CTX)		
<i>E.coli</i>	-	-	-	TD	-	-	-	TD	-	-	-	TD
<i>S.aureus</i>	0,25	1,0	1,25	A ditif	0,25	0,125	0,375	Sinergis	-	-	-	-

Keterangan :

FBC I, *Fractional Bactericidal Concentration Index*; Σ FBC, *Fractional Bactericidal Concentration Total*; Zz, *Zingiber zerumbet*; AMX, Amoksisilin; CHL, Kloramfenikol; CTX, Kotrimoksazol; -, Tidak dapat diukur, A ditif, Nilai FIC indeks 0,5-4; Sinergis, Nilai FIC indeks ≤0

KESIMPULAN

Efek ekstrak lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) tidak berpengaruh dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* bila dikombinasikan bersama antibiotik Amoksisilin dan Kotrimoksazol. Hal ini ditunjukkan oleh hasil pengukuran Zona inhibisi dan perhitungan total *Fractional Inhibitory Concentration* pada Kadar Hambat Minimum bersifat aditif. Sementara itu, sifat sinergis dapat muncul apabila dikombinasikan bersama antibiotik kloramfenikol pada daya bunuhnya terhadap *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Untuk penelitian selanjutnya disarankan melakukan penelitian tentang kandungan senyawa kimia lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) yang dapat berinteraksi sinergis secara spesifik dengan antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

REFERENSI

1. Soedarto, *Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit*. Jakarta. Sagung Seto. 2016.
2. Diyantika, D., Diana, C. M., Misnawi. *Perubahan Morfologi Staphylococcus aureus Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (Theobroma cacao) secara In Vitro*. e-Jurnal Pustaka Kesehatan. 2(2): 338-339. 2014.
3. Denis, R. *Identifikasi Bakteri Escherichia coli (E.coli) Pada Air Galon Reverse Osmosis (RO) dan Non Reverse Osmosis (Non RO)*. Jurnal Gradien Analis Kesehatan Harapan Bangsa Bengkulu 10(1): 967-971. 2014
4. Riskesdas, *Profil Kesehatan Kabupaten Malang Tahun 2015*. Malang: Dinkes Kabupaten Malang. 2015.
5. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 25th Edition. LANGE Medical Book. 2012.
6. Katzung, B. G., Susan, B.M., Anthony, J.T., *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 12. Jakarta. Pustaka Media. 2013.
7. Aiyegoro, O. A., A. I. Okoh., *Use of bioactive plant products in combination with standar antibiotics: Implications in antimicrobial chemotherapy*. Journal of Medicinal Plants. Research 3(13), pp. 1147-1152. South Africa: Department of Biochemistry and Microbiology, University of Fort Hare. 2009.
8. Kader, G., Farjana, N., Mohammad, A et al. *Antimicrobial Activities of the Rhizome Extract of Zingiber zerumbet L*. Bangladesh. Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Elsevier. 2011.
9. Daroukalei, Z., Ameri, M., Zahraei, S, et al. *AZDAST the New Horizon in Antimicrobial Synergism Detection*. Vol. 3. p. 43-52. Elsevier. 2016.
10. El-Azizi, M. *Novel Microdilution Method to Assess Double and Triple Antibiotic Combination Therapy In Vitro*. International Journal of Microbiology. 2016.
11. Kapitan, O.B., Laksmi, A., dan Syamsul, F. *In vitro Antibakteri Ekstrak Etanol Puni (Zingiber zerumbet) Asal Pulau Timor*. Kefamenanu. Universitas Timor. 2017
12. Vollmer W, et al. *Architecture of Peptidoglycan: More Data And More Models*. Trend in Microbiol. Vol 18, No.2. 2010
13. Ningsih, A. *Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Pegagan (Centella asiatica L) Terhadap Staphylococcus aureus*. Malang. Analis Farmasi dan Makanan. 2015.
14. Koga, Y. A., Flavio, L. B., Airton, V. P., *Several Aspects of Zingiber zerumbet: a Review*. Brazil. Elsevier. <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v26n3/0102-695X-rbfar-26-03-0385.pdf>. 2016.
15. Daglia, M. 2012. *Polyphenols as Antimicrobial Agents*. Vol. 23. p. 174-181. Italy. Elsevier
16. Omoya, F. O., Kehinde, O.A. *Synergistic Effect of Combined Antibiotics against Some Selected Multidrug Resistant Human Pathogenic Bacteria Isolated from Poultry Droppings in Akure*. Nigeria. Scientific Research Publishing Inc. 2016.