

**EFEK PENAMBAHAN FRAKSI SEMI-POLAR (F9-F14) EKSTRAK METANOLIK
Elephantopus scaber L. TERHADAP DAYA HAMBAT AMOKSISILIN ATAU
KLORAMFENIKOL PADA *Staphylococcus aureus* ATAU *Escherichia coli***

M.Haekal Arfan Boesary, Faisal, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Kejadian infeksi dan resistensi terhadap antibiotik masih menjadi masalah di dunia, termasuk di Indonesia. Terapi adjuvan menjadi salah satu pilihan terapi untuk meningkatkan efektivitas antibiotik. Salah satu herbal yang diketahui memiliki senyawa antimikroba adalah *Elephantopus scaber*, namun golongan senyawa aktif yang berinteraksi dengan antibiotik belum diketahui. Penelitian ini menguji kombinasi fraksi semipolar (F9-F14) *Elephantopus scaber* dengan amoksisilin atau kloramfenikol pada bakteri *S.aureus* atau *E.coli*.

Metode: Ekstrak Metanol menggunakan metode maserasi yang dimodifikasi. Fraksinasi Ekstrak metanol dengan fase diam silika dan fase gerak campuran 45 ml etil asetat dan 5 ml metanol. Uji fitokimia dilakukan spray pada Kromatografi Lapis Tipis. Pengujian daya hambat dilakukan secara tunggal dan kombinasi dengan metode Kirby-Bauer. Penilaian interaksi dari kombinasi *Elephantopus scaber* dengan amoksisilin atau kloramfenikol menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST).

Hasil: Fraksi dengan rasio eluen 90% etil asetat dan 10% methanol menghasilkan 6 fraksi yaitu F9-F14, Semua fraksi mengandung alkaloid dan fenol. Secara tunggal, fraksi 9-13 memiliki zona bening terhadap *S. aureus* dengan nilai tertinggi $8,7 \pm 0,6$ mm dari fraksi 9. Sedangkan pada *E. coli* semua fraksi tidak memiliki zona bening termasuk fraksi 14. Pada uji kombinasi, fraksi 14 menurunkan aktifitas amoksisilin terhadap *S. aureus* dan pada semua fraksi menurunkan aktivitas kloramfenikol pada *S. aureus*.

Kesimpulan: Fraksi 9-14 *Elephantopus scaber* mengandung senyawa aktif alkaloid dan fenol yang memiliki aktivitas antimikroba. Semua fraksi bersifat antagonis terhadap aktifitas kloramfenikol pada *S. aureus*, sedangkan aktifitas amoksisilin dengan fraksi 14 bersifat antagonis pada *E. coli*.

Kata Kunci: *Elephantopus scaber*, amoksisilin, kloramfenikol, adjuvan, kombinasi herbal dan antibiotik.

**THE EFFECT OF ADDITION SEMI-POLAR FRACTION (F9-F14) METHANOLIC
EXTRACT OF *Elephantopus scaber* L. ON INHIBITION POWER OF AMOXICILLIN
OR CHLORAMPHENICOL IN *Staphylococcus aureus* OR *Escherichia coli***

M.Haekal Arfan Boesary, Faisal, Rio Risandiansyah*
Faculty of Medicine, University of Islamic Malang

ABSTRACT

Introduction: The incidence of infection and resistance against antibiotics is still a problem in the world, including in Indonesia. Adjuvant therapy is one of the therapeutic choice to increase effectiveness of antibiotic. One of the herbs that is known to have antimicrobial compounds is *Elephantopus Scaber*, but the group of active compounds that interact with antibiotics is not yet known. This study examined the combination of fraction semi-polar (F9-F14) *Elephantopus Scaber* with amoxicillin or chloramphenicol against *S. aureus* or *E. coli*.

Method: Methanolic extraction using modified maceration method. Fractionated methanolic extract with silica as stationary phase and mobile phase 45 ml of ethyl acetate and 5 ml of methanol. Phytochemical tests are carried out spray on Thin Layer Chromatography. The inhibitory assessment test by single and combination with the Kirby-Bauer method. Interaction types of *Elephantopus scaber* combination with amoxicillin or chloramphenicol was assessed based on the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method.

Results: The fraction with ratio 90% ethyl acetate eluent and 10% methanol obtained 6 fractions, F9-F14. All of the fractions were contain alkaloids and phenols. Singular test, fractions 9 until 13 had clear zones against *S. aureus* with the highest value $8,7 \pm 0,6$ mm from fraction 9. However, fractions 14 did not have clear zones. While, against *E. coli* all of fraction did not have a clear zones. In the combination test, fraction 14 decreased the amoxicillin activity against *S. aureus* and all of fraction also decreased the chloramphenicol activity against *S. aureus*.

Conclusion: The fraction 9-14 of *Elephantopus Scaber* contain active compounds of alkaloids and phenols which have antibacterial activity. All of Fraction semi-polar (F9-F14) was antagonistic with chloramphenicol against *S. aureus*, however amoxicillin activity with fraction 14 also antagonistic against *E. coli*.

Keywords: *Elephantopus scaber*, amoxicillin, chloramphenicol, adjuvant, combination of herbs and antibiotics.

*Correspondences author: Rio Risandiansyah. Faculty of Medicine, Islamic University of Malang. MT Haryono St. 193, Malang, East Java. E-mail : risandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Kejadian infeksi dan resistensi terhadap antimikroba masih menjadi masalah sampai saat ini bagi negara-negara berkembang di dunia, salah satunya di Indonesia¹. Data Riset kesehatan dasar tahun 2018, menunjukkan pada tahun 2013-2018 secara keseluruhan penyakit infeksi seperti pneumonia mengalami peningkatan dari 1,6% menjadi 2%, untuk infeksi diare dari 4,5% menjadi 6,8%². Sedangkan angka kematian akibat resistensi antimikroba (AMR) mencapai 700.000 jiwa dan diperkirakan tahun 2050 angka kematian akibat AMR mencapai 10 juta jiwa per tahun³.

Terapi adjuvan dengan menggunakan herbal menjadi salah satu pilihan terapi dalam meningkatkan efektivitas antibiotik⁴. Salah satu herbal yang diketahui memiliki senyawa antimikroba yaitu Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.)⁵, namun masih belum diketahui jenis senyawa aktif yang berinteraksi dengan antibiotik. Berdasarkan penelitian pada tanaman ini dengan metode KLT Bioautografi didapatkan hasil ekstrak etanol daun tapak liman memiliki aktivitas antibakteri dan dengan hasil identifikasi komponen menunjukkan adanya kandungan steroid, alkaloid, dan flavonoid⁶.

Pada penelitian sebelumnya dengan ekstrak herbal ini yang dikombinasi dengan amoksisilin atau kloramfenikol, didapatkan hasil antagonis untuk kombinasi dengan kloramfenikol, sedangkan aditif untuk kombinasi amoksisilin⁷. Namun, penelitian tersebut masih menggunakan ekstrak kasar sehingga belum diketahui kandungan spesifik yang berinteraksi dengan antibiotik. Dengan demikian, peneliti ingin melakukan pengembangan terhadap uji kombinasi antibiotik dengan herbal yang pernah dilakukan dengan melakukan fraksinasi.

Fraksinasi yang dilakukan bertujuan untuk memisahkan ekstrak kasar tapak liman dalam beberapa senyawa metabolit yang kemudian akan diuji daya hambatnya dengan kombinasi antibiotik. Salah satu penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik tapak liman, menemukan bahwa fraksinasi memiliki potensi antimikroba yang berbeda-beda sesuai dengan senyawa yang terkandung didalamnya yang juga dapat berbeda⁸. Sehingga fraksinasi tapak liman dapat memiliki jenis interaksi yang berbeda hasilnya dengan temuan sebelumnya.

Selain itu, penulis ingin menilai fraksi yang diteliti pada penelitian ini dengan menggunakan fraksi semi-polar dari pelarut etil asetat. Hal ini didasarkan dari penelitian tentang aktivitas antimikroba pada fraksi etil asetat yang menemukan hasil dari fraksi dengan pelarut tersebut terdapat beberapa senyawa antimikroba seperti fenol, terpenoid, dan flavonoid yang merupakan golongan senyawa kimia dalam suatu herbal dengan aktivitas antimikroba⁹. Sehingga, diharapkan hasil fraksinasi

dengan pelarut tersebut mampu berinteraksi dengan antibiotik.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimental laboratorium, *in vitro* yang dilakukan untuk mengetahui efek kombinasi fraksi semipolar ekstrak metanol tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) yang dikombinasikan dengan antibiotik amoksisilin atau kloramfenikol terhadap perubahan ZOI kombinasi pada bakteri *S.aureus* atau *E.coli*. Penelitian ini mulai dilakukan pada bulan Januari hingga Mei 2019, bertempat di Laboratorium Herbal Biomedik dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Pembuatan Ekstrak Metanol Tapak Liman

Pembuatan ekstraksi metanol tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dilakukan dengan metode maserasi yang dimodifikasi, 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 1:10¹⁰. Simplisia ditimbang dengan timbangan digital merek OHAUS sebanyak 200 gr dan direndam dengan 2000 ml metanol 96% di dalam Erlenmeyer, yang dibagi kedalam 5 Erlenmeyer berukuran 500 ml dengan setiap Erlenmeyer menggunakan 40 gr simplisia dan 400 ml methanol 96%.

Erlenmeyer selanjutnya ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama 1 hari didalam *shaker water bath* dengan kecepatan 4,5 rpm. Setelah itu hasil ekstraksi difiltrasi dengan filter yang dibantu dengan vakum dan filtrat yang dihasilkan kemudian dievaporasi dengan *Rotary vacuum evaporator* kecepatan 4 rpm dan suhu 55°C sampai terpisah dengan pelarutnya. Ekstrak tersebut selanjutnya ditampung dalam gelas beker 250 ml (telah ditimbang) dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama ±3-4 hari. Diamkan sampai menjadi ekstrak kental atau pasta, kemudian ditimbang.

Metode Fraksinasi Tapak Liman

Pada metode ini ekstrak Tapak Liman difraksinasi menggunakan kolom kromatograf dengan fasa diam silica gel dan fasa gerak yaitu pelarut ethyl acetate dan methanol (3:1). Urutan susunan dalam kolom kromatograf dari bawah ke atas yaitu kertas saring, glass wool, silika 16 gram mengisi $\pm 2/3$ 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 acetate* (100%), 2) **45 ml ethyl acetate: 5 ml methanol (90:10%)**, 3) 37,5 ml *ethyl acetate*: 12,5 ml *methanol* (75:25%), 4) 25 ml

ethylacetate: 25 ml methanol (50:50%), 5) 12,5 ml ethylacetate: 37,5 ml methanol (25:75%), dan 6) 50 ml methanol (100%). Hasil fraksi yang keluar dari mulut kolom kromatograf ditampung di dalam vial yang berbeda untuk setiap warna yang berbeda.

Kromatografi Lapis Tipis

Uji Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan setelah didapatkan hasil fraksi untuk mengkonfirmasi hasil dari kromatografi kolom secara kualitatif, dimana fraksi-fraksi yang memiliki senyawa yang sama dijadikan satu fraksi. KLT dilakukan dengan F254 Silica plate yang sudah diaktifasi dengan ukuran 5cm x 5cm dengan tanda batas atas 0,5 cm dan bawah 0,7 cm serta tanda jarak antara fraksi 1 cm, eluen yang digunakan metanol-ethyl acetate (7:3). 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 yang sudah diaktifasi dan didiamkan hingga pelarut naik sampai batas atas plat. Hasil KLT diamati di bawah sinar UV.

Metode Pembuatan Larutan Antibiotik

Larutan antibiotik dibuat dengan mempersiapkan antibiotik yang digunakan yaitu amoksisilin atau kloramfenikol sebanyak 1000 mg, setelah itu dilarutkan dengan 100 ml aquadest steril secara terpisah sehingga didapatkan dosis 10mg/ml, kemudian lakukan pengenceran untuk antibiotik sampai 10 dilusi, diantaranya $1, \frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}, \frac{1}{16}, \frac{1}{32}, \frac{1}{64}, \frac{1}{128}, \frac{1}{256},$ dan $\frac{1}{512}$. Pengenceran yang dilakukan tiap dilusi yaitu dengan cara mengambil setengah volume dari dilusi sebelumnya dan diencerkan dengan aquadest steril volume yang sama pada tabung reaksi steril yang baru sampai pada dilusi ke-10. Antibiotik yang telah diencerkan dijadikan sebagai stok bahan penelitian.

Metode Pour Plate untuk Pembuatan Metode Uji

Metode ini dimulai dengan melakukan preparasi inokulum dengan menggunakan spektrofotometer. Oshe steril digunakan untuk mentransfer beberapa koloni isolat bakteri dari media padat dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% steril 10 ml hingga menjadi keruh. Kemudian dilakukan vorteks untuk homogenisasi bakteri. Dengan mikropipet sampel bakteri diambil sebanyak 1 ml dan ditaruh di dalam kuvet untuk dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai absorbansi dicatat dan diencerkan dengan NaCl 0,9% steril sesuai dengan rumus berikut, dengan target OD600nm adalah 0,2¹¹:

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

Kemudian media uji aktivitas antimikroba disiapkan dengan membuat media padat dengan

perbandingan *Nutrient Agar* dan aquades 20g/L, lalu disterilkan menggunakan autoklaf. Setelah steril, suhu media diukur menggunakan termometer cahaya. Jika suhu media kurang dari 50°C, masukkan inokulum sebanyak 1% dari media (10 ml/ 1 liter media). Botol media digerakkan agar inokulum tercampur dengan rata. Media dituang ke dalam cawan petri sehingga mengisi setengah ketinggian cawan (kira kira 20 - 25 ml pada cawan 90 mm)¹¹.

Zone of Inhibition (ZOI) Tunggal dan Kombinasi

Uji Zona Hambat dilakukan untuk menilai efek ZOI tunggal dan kombinasi dengan menggunakan metode sumuran. Tahap yang dilakukan untuk melakukan uji ZOI yaitu dengan mempersiapkan biakan agar yang telah diinokulasi bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, fraksi tapak liman (*Elephantopus scaber*) dan antibiotik amoksisilin serta kloramfenikol yang telah diencerkan sesuai dosis yang ditentukan. Plate NA yang telah berisi bakteri dilubangi dengan *cork borer* sebanyak 10 lubang dan ditandai.

Sampel yang diujikan selanjutnya dimasukkan sebanyak 15 - 30 µl menggunakan mikropipet, biarkan dengan kondisi setengah terbuka di dalam LAF/ BSC selama 30 menit sampai 1 jam. Kemudian 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 dalam satuan mm.

Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia digunakan untuk mencari senyawa aktif yang terkandung dalam herbal dengan menggunakan proses screening terhadap tanaman yang memiliki potensi sebagai obat herbal. Pengujian fitokimia yang pertama kali dilakukan adalah menentukan kandungan alkaloid. KLT yang sudah ditotoli fraksi tapak liman (F9-F14) disemprot dengan larutan dragendorff dan secepatnya diamati kemudian dicatat perubahan warnanya. Terbentuknya bercak berwarna coklat-jingga/orange-merah/coklat berlatar belakang kuning menandakan adanya kandungan alkaloid di dalamnya¹².

Uji fitokimia selanjutnya yaitu menggunakan reagen FeCl₃ yang digunakan untuk mendeteksi adanya kandungan fenol. KLT yang sudah disemprot, kemudian dapat diamati dan dicatat perubahan warnanya. Jika terjadi perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru dan hitam pekat menunjukkan adanya senyawa fenol¹².

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, kemudian diamati dan dicatat perubahan warnanya

dibawah sinar UV. Hasil positif jika terjadi perubahan warna menjadi kecokelatan¹³.

Analisa Data Statistik

Analisa hasil ZOI tunggal dan kombinasi diukur menggunakan penggaris dengan satuan mm dan untuk mendapat nilai rata-rata dan standar deviasi dibuat menggunakan Microsoft Excel 2016 dan uji statistik dengan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Uji statistik yang digunakan adalah uji *Mann-Whitney Test* pada data yang tidak terdistribusi normal dan dengan *One-Way ANOVA* pada data yang terdistribusi normal untuk mengetahui perbandingan ZOI kombinasi dengan hasil ZOI tunggalnya.

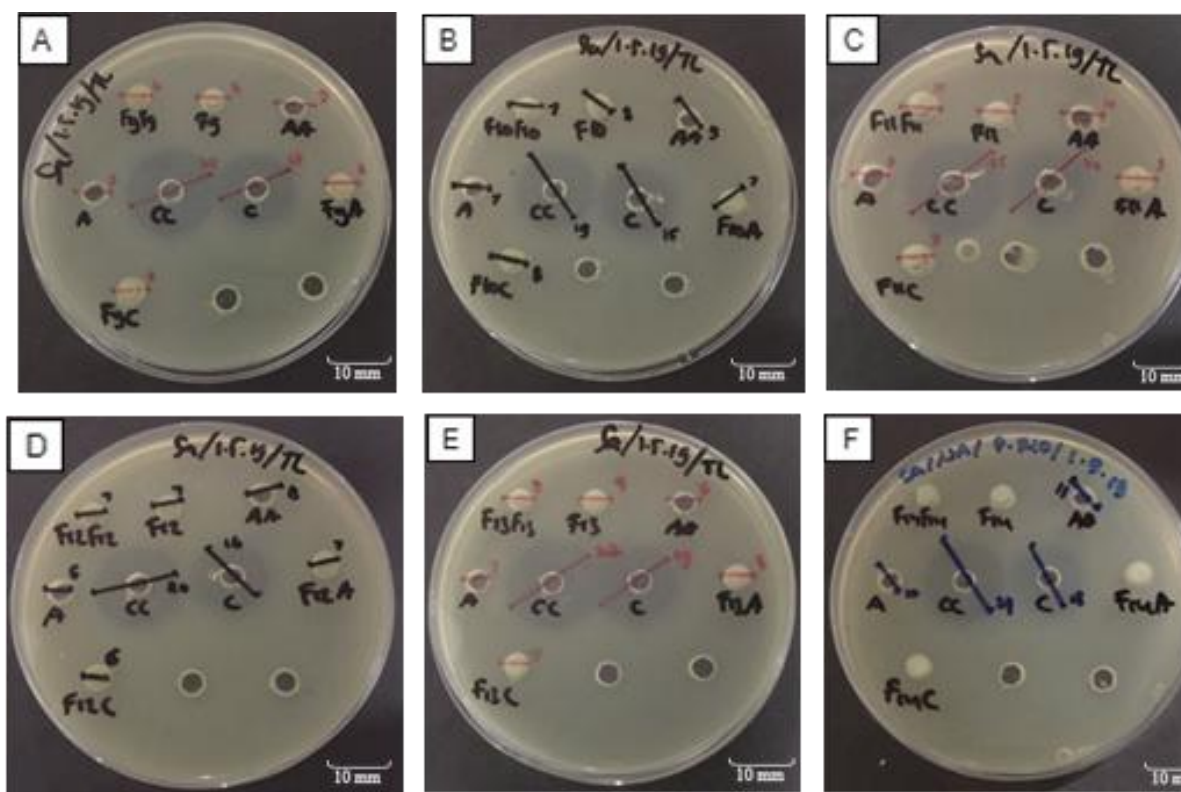
Interpretasi hasil menurut metode AZDAST (*Ameri-Ziaei double antibiotic synergism test*) yaitu, sinergis jika diameter zona bening yang terbentuk pada kombinasi herbal dan antibiotik (AB) lebih besar dari herbal tunggal (A) dan antibiotik tunggal (B), dan lebih kecil atau lebih besar dari herbal kombinasi (AA) dan / atau antibiotik kombinasi (BB). Aditif jika AB sama dengan AA atau BB. Antagonis jika AB lebih kecil dari A atau B. Potensiasi jika salah satu dari A atau B sama dengan

nol dan AB lebih besar dari A & B dan lebih kecil atau lebih besar dari AA dan / atau BB. Tidak bisa dibedakan (*Not distinguishable*) jika AB sama dengan salah satu dari A atau B¹⁴.

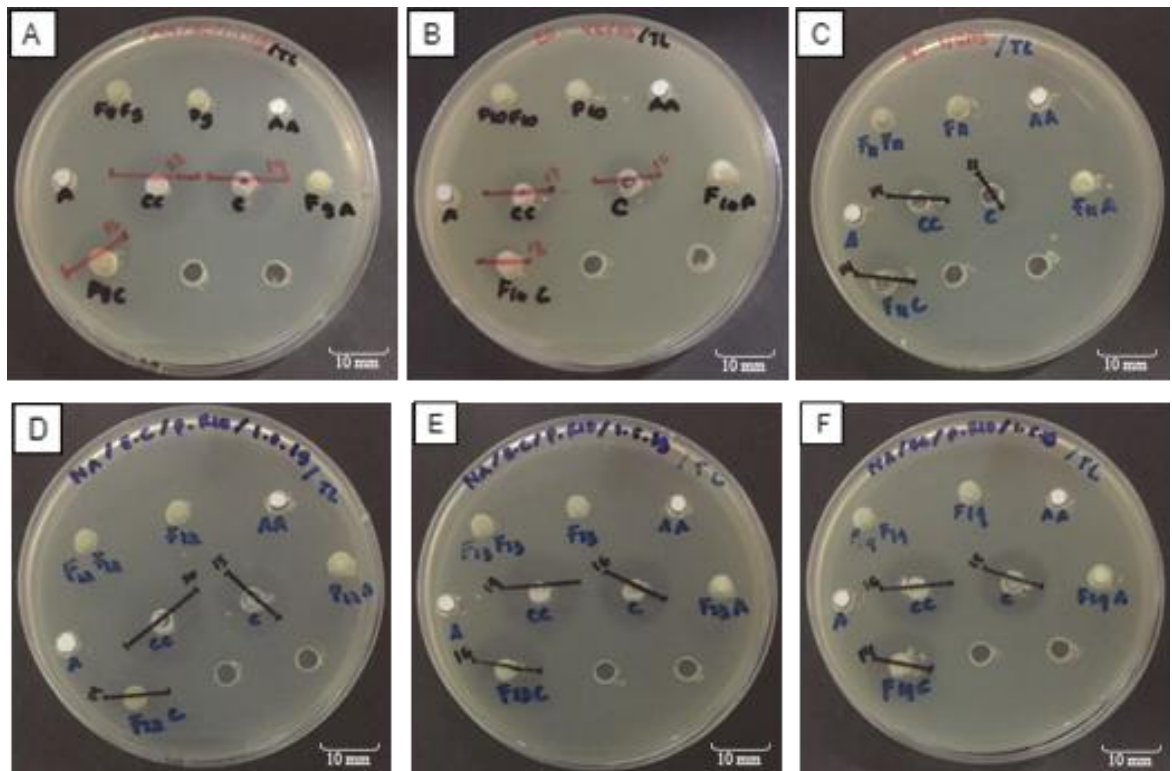
HASIL

Hasil Uji Zona Inhibisi pada Pengujian Fraksi 9-14 Tapak Liman Secara Tunggal dan Kombinasi dengan Antibiotik Terhadap Bakteri *S.aureus* atau *E. coli*

Hasil uji zona inhibisi pada pengujian fraksi tapak liman secara tunggal dan kombinasi dengan antibiotik terhadap bakteri *S.aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada **Gambar 1** dan **2** serta **Tabel 1**.



ta 1 Hasil Pengujian ZOI Fraksi Tapak Liman secara tunggal dan kombinasi dengan Antibiotik pada Bakteri *S. aureus*; **A.** Fraksi 9 ekstrak metanolik Tapak Liman, FxFx= Fraksi 9 dosis 30µl, Fx= Fraksi 9 dosis 15µl, AA= Amoksisilin dosis 30µl, A= Amoksisilin dosis 15µl, CC= Kloramfenikol dosis 30µl, C= Kloramfenikol dosis 15µl, FxA= Kombinasi fraksi 9 dan amoksisilin, FxC= Kombinasi fraksi 9 dan kloramfenikol; **B.** Fraksi 10 ekstrak metanolik Tapak Liman; **C.** Fraksi 11 ekstrak metanolik Tapak Liman; **D.** Fraksi 12 ekstrak metanolik Tapak Liman **E.** Fraksi 13 ekstrak metanolik Tapak Liman; **F.** Fraksi 14 ekstrak metanolik Tapak Liman



Gambar 2 Hasil Pengujian ZOI Fraksi Tapak Liman secara tunggal dan kombinasi dengan Antibiotik pada Bakteri *E.coli*; **A.** Fraksi 9 ekstrak metanolik Tapak Liman, FxFx= Fraksi 9 dosis 30 μ l, Fx= Fraksi 9 dosis 15 μ l, AA= Amoksisilin dosis 30 μ l, A= Amoksisilin dosis 15 μ l, CC= Kloramfenikol dosis 30 μ l, C= Kloramfenikol dosis 15 μ l, FxA= Kombinasi fraksi 9 dan amoksisilin, FxC= Kombinasi fraksi 9 dan kloramfenikol; **B.** Fraksi 10 ekstrak metanolik Tapak Liman; **C.** Fraksi 11 ekstrak metanolik Tapak Liman; **D.** Fraksi 12 ekstrak metanolik Tapak Liman **E.** Fraksi 13 ekstrak metanolik Tapak Liman; **F.** Fraksi 14 ekstrak metanolik Tapak Liman

Tabel 1 Rerata Dalam Tiga Kali Pengulangan Hasil Pengukuran Zona Inhibisi Pengujian Fraksi Tapak liman secara tunggal dan kombinasi dengan Antibiotik terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E. coli*

No fraksi	Sampel	<i>S.aureus</i>		Sampel	<i>E. coli</i>	
		Rerata (mm) $\pm$ SD	Jenis Interaksi		Rerata (mm) $\pm$ SD	Jenis Interaksi
9	F9	8,7 $\pm$ 0,6	<i>Antagonist</i> pada CHL dan <i>Not Distinguishable</i> pada AMX	F9	0,0 $\pm$ 0,0	<i>Not Distinguishable</i> pada CHL dan AMX
	C	18,3 $\pm$ 0,6		C	18,0 $\pm$ 1,7	
	A	9,0 $\pm$ 0,0		A	0,0 $\pm$ 0,0	
	F9C	8,3 $\pm$ 0,6 ^a		F9C	14,6 $\pm$ 2,3	
	F9A	8,3 $\pm$ 0,6		F9A	0,0 $\pm$ 0,0	
10	F10	8,3 $\pm$ 0,6	<i>Antagonist</i> pada CHL dan <i>Not Distinguishable</i> pada AMX	F10	0,0 $\pm$ 0,0	<i>Not Distinguishable</i> pada CHL dan AMX
	C	16,7 $\pm$ 2,1		C	18,3 $\pm$ 2,1	
	A	8,0 $\pm$ 1,0		A	0,0 $\pm$ 0,0	
	F10C	8,3 $\pm$ 0,6 ^a		F10C	16,7 $\pm$ 4,2	
	F10A	8,0 $\pm$ 1,0		F10A	0,0 $\pm$ 0,0	
11	F11	8,3 $\pm$ 1,1	<i>Antagonist</i> pada CHL dan <i>Not Distinguishable</i> pada AMX	F11	0,0 $\pm$ 0,0	<i>Not Distinguishable</i> pada CHL dan AMX
	C	21,0 $\pm$ 2,6		C	10,3 $\pm$ 0,6	
	A	7,3 $\pm$ 0,6		A	0,0 $\pm$ 0,0	
	F11C	7,7 $\pm$ 0,6 ^a		F11C	12,3 $\pm$ 1,5	
	F11A	8,0 $\pm$ 1,0		F11A	0,0 $\pm$ 0,0	

12	F12	7,3±0,6	<i>Antagonist pada CHL dan Not Distinguishablepada AMX</i>	F12	0,0±0,0	<i>Not Distinguishablepada CHL dan AMX</i>
	C	17,3±2,3		C	13,7±2,3	
	A	6,7±0,6		A	0,0±0,0	
	F12C	7,3±1,5 ^a		F12C	14,7±0,6	
	F12A	7,0±0,0		F12A	0,0±0,0	
13	F13	7,3±0,6	<i>Antagonist pada CHL dan Not Distinguishablepada AMX</i>	F13	0,0±0,0	<i>Not Distinguishablepada CHL dan AMX</i>
	C	19,6±2,1		C	15±1,7	
	A	7,3±0,6		A	0,0±0,0	
	F13C	7,0±0,0 ^a		F13C	15,0±1,0	
	F13A	7,0±1,0		F13A	0,0±0,0	
14	F14	0,0±0,0	<i>Antagonist pada CHL dan AMX</i>	F14	0,0±0,0	<i>Not Distinguishablepada CHL dan AMX</i>
	C	21,0±3,0		C	14,7±0,6	
	A	10,7±2,1		A	0,0±0,0	
	F14C	0,0±0,0 ^a		F14C	14,3±1,5	
	F14A	0,0±0,0 ^a		F14A	0,0±0,0	

Keterangan Tabel 1: Fx= uji ZOI tunggal fraksi Tapak Liman dosis 15µl; A= uji ZOI tunggal amoksisilin dosis 15µl; FxA= uji ZOI kombinasi fraksi tapakliman dan amoksisilin; C= uji ZOI tunggal kloramfenikol dosis 15µl; FxC= uji ZOI kombinasi fraksitapak liman dan kloramfenikol.

^a berbeda signifikan terhadap amoksisilin atau kloramfenikol ($P < 0,05$).

Hasil Uji Zona Inhibisi Tunggal Fraksi 9-14 Tapak Liman Terhadap Bakteri *S.aureus*

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan pada **Gambar** serta **Tabel 1**, hasil uji ZOI tunggal fraksi tapak liman terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan adanya ZOI pada fraksi 9-13 dengan dosis 15 µl (Fx) yang menandakan adanya aktifitas antimikroba. Sedangkan pada fraksi 14 tidak didapatkan adanya ZOI dengan dosis 15 µl (Fx).

Hasil Uji Zona Inhibisi Kombinasi Antara Fraksi 9-14 Tapak Liman dengan Amoksisilin atau Kloramfenikol Terhadap Bakteri *S.aureus*

Pada **Gambar** dan **Tabel 1**, uji zona inhibisi kombinasi antara tapak liman dengan amoksisilin terhadap bakteri *S.aureus* setelah dilakukan uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* didapatkan hasil tidak signifikan yaitu $p > 0,05$ pada fraksi 9-13, sehingga interpretasi dengan metode AZDAST memiliki sifat interaksi *not distinguishable*. Akan tetapi pada fraksi 14 didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) dengan hasil kombinasi lebih kecil dibandingkan dengan herbal tunggal dan antibiotik tunggal sehingga memiliki interaksi antagonis.

Aktifitas kombinasi kloramfenikol dengan fraksi semipolar tapak liman (F9-F14) terhadap *S. aureus* pada **Gambar** dan **Tabel 1**, uji zona inhibisi yang dilakukan memiliki hasil signifikan pada semua fraksi (F9-F14) sehingga interpretasi dengan metode AZDAST memiliki sifat interaksi antagonis.

Hasil Uji Zona Inhibisi Tunggal Fraksi 9-14 Tapak Liman Terhadap Bakteri *E.coli*

Pengamatan **Gambar 2** dan interpretasi dari **Tabel 1** menunjukkan hasil uji ZOI tunggal tidak didapatkan adanya ZOI dengan dosis 15 µl (Fx) pada semua fraksi tapak liman (F9-F14) terhadap bakteri *E. coli*.

Hasil Uji Zona Inhibisi Kombinasi Antara Fraksi 9-14 Tapak Liman dengan Amoksisilin atau Kloramfenikol Terhadap Bakteri *E.coli*

Berdasarkan **Gambar 2** dan **Tabel 1**, uji zona inhibisi kombinasi antara fraksi semipolar tapak liman dengan amoksisilin terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* setelah dilakukan uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* didapatkan hasil tidak signifikan yaitu $p > 0,05$ pada kedua bakteri dengan masing masing pemberian kombinasi kloramfenikol atau amoksisilin dengan fraksi semi polar (9-14) sehingga memiliki interaksi *not distinguishable*.

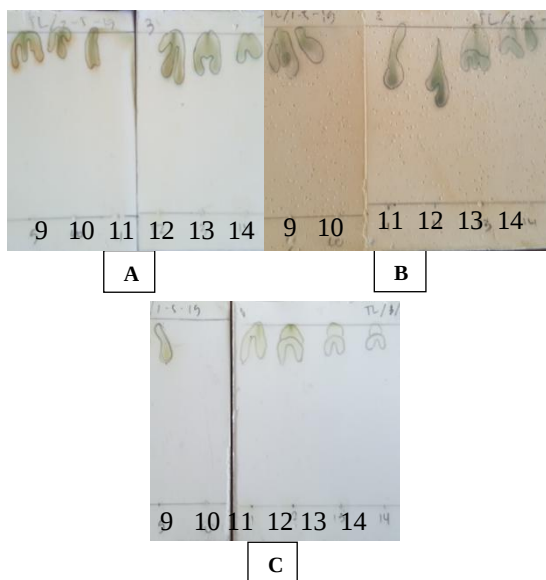
Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji senyawa kimia yang digunakan untuk *screening* suatu senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi semipolar (F9-14) ekstrak metanolik tapak liman. Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) *spray* dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 3**.

Tabel 2 Hasil Perhitungan Rf dan KLT *spray*

No.fraksi	Reagent (senyawa aktif)		
	Alkaloid (Rf)	Fenol (Rf)	Steroid dan terpenoid (Rf)
F9	+ (0,91)	+ (0,88)	-
F10	+ (0,94)	+ (0,91)	-
F11	+ (0,91)	+ (0,82)	-
F12	+ (0,86)	+ (0,7)	-
F13	+ (0,91)	+ (0,88)	-
F14	+ (0,94)	+ (0,94)	-

Ket : Rf = Jarak tempuh substansi/Jarak tempuh pelarut



Gambar 3 Hasil KLT *Spray* pada Fraksi 9 sampai 14 tapak liman; **A.** KLT *spray* dengan *reagent* dragendroff; **B.** KLT *spray* dengan *reagent* FeCl₃; **C.** KLT *spray* dengan *reagent* formaldehyde.

Berdasarkan gambar dan tabel diatas, didapatkan hasil uji fitokimia dengan reagen dragendorf yaitu pada fraksi 9, 10 dan 11 memiliki kepekatan warna yang paling pekat dibandingkan fraksi lainnya. Sedangkan fraksi 14 memiliki warna yang kurang pekat dibandingkan fraksi lainnya. Untuk *spray* dengan reagen FeCl₃ didapatkan hasil fraksi yang memiliki kepekatan perubahan warna menjadi hitam yaitu fraksi 11 dan 12. Namun pada fraksi 14 terdapat kepekatan yang terendah dibandingkan fraksi lainnya. Pada *spray* dengan reagen Formaldehyde tidak didapatkan perubahan warna pada plat KLT yang berisi fraksi, sehingga untuk faraksi 9-14 tidak memiliki kandungan steroid dan terpenoid.

PEMBAHASAN

Analisa Kandungan Senyawa Aktif Fraksi Semi-Polar (F9-F14) Tapak Liman.

Pada hasil penelitian telah ditunjukkan daya hambat tunggal fraksi semi polar (F9-F14) Tapak Liman terhadap *S. aureus* dan *E. coli*, yang didapatkan adanya ZOI pada beberapa fraksi dengan dosis 15 µl terhadap bakteri *S. aureus* sedangkan untuk bakteri *E. coli* tidak terdapat daya hambat (ZOI) dengan dosis 15 µl. Hal ini mendukung penelitian yang dilakukan Verryana (2018) dengan menilai efek pemberian tunggal ekstrak tapak liman terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang didapatkan hasil pada pemberian ekstrak tapak liman terhadap *S. aureus* terdapat ZOI sedangkan pada bakteri *E. coli* tidak memiliki ZOI⁷.

Pada penelitian ini, untuk pemberian fraksi semi polar (F9-14) terhadap bakteri *S. aureus* dengan dosis 15 µl didapatkan hasil ZOI tertinggi (Rerata±SD mm) ada pada fraksi ke 9 sebesar 9±1 mm sedangkan ZOI terendah pada fraksi 14 yang

tidak memiliki ZOI. Berdasarkan klasifikasi daya hambat bakteri pada **Tabel 3** maka fraksi ke 9 termasuk dalam daya hambat yang sedang, untuk fraksi ke 14 termasuk dalam daya hambat yang rendah, sedangkan untuk fraksi lainnya seperti fraksi 10 dan 11 dengan nilai ZOI 8±1 mm termasuk daya hambat sedang sama halnya dengan fraksi 12 dan 13 yang memiliki ZOI sebesar 7±1 mm.

Tabel 3 Klasifikasi daya hambat bakteri¹⁵.

Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Hambat
>20	Sangat Kuat
11-20	Kuat
6-10	Sedang
<5	Lemah

Pada pengujian ini didapatkan beberapa perbedaan diantaranya pada pemberian fraksi semipolar (F9-F14) tapak liman terhadap bakteri *E. coli* tidak didapatkan ZOI sedangkan untuk pemberian pada bakteri *S. aureus* terdapat ZOI namun dengan daya hambat yang berbeda-beda dalam dosis tertentu. Perbedaan daya hambat diatas dapat disebabkan oleh perbedaan aktifitas antimikroba yang dipengaruhi beberapa faktor Seperti, konsentrasi antimikroba, kandungan senyawa metabolit, daya difusi antimikroba, dan jenis bakteri yang menjadi target¹⁶.

Faktor konsentrasi antimikroba mempengaruhi hasil dari penelitian ini, disebabkan adanya perbedaan konsentrasi senyawa aktif dalam fraksi semipolar (F9-14), sehingga dapat mengakibatkan perbedaan daya hambat. Hal ini dikarenakan daya hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh tingginya kandungan senyawa aktif pada suatu konsentrasi, semakin besar konsentrasinya maka jumlah kandungan senyawa aktif yang dikeluarkan akan semakin tinggi dan mampu memberikan aktifitas antimikroba yang lebih maksimal¹⁷.

Faktor berikut yang memengaruhi hasil pada penelitian ini yaitu kandungan senyawa metabolit yang berbeda pada fraksi semipolar (F9-F14) sebagai senyawa aktif antimikroba. Dalam hal ini berdasarkan analisa hasil fitokimia, fraksi semipolar (F9-F14) tapak liman terdapat beberapa senyawa alkaloid dan fenol dengan turunanya, senyawa-senyawa tersebut merupakan kelompok utama senyawa antimikroba¹⁸. Mekanisme kerja dari kedua senyawa aktif tersebut yaitu dengan cara menghambat komponen penyusun peptidoglikan bakteri menjadi tidak terbentuk utuh dan lapisan dinding sel menjadi tidak sempurna sehingga menyebabkan kematian pada bakteri¹⁹.

Senyawa alkaloid juga mampu menghambat pembentukan sintesis protein yang menyebabkan terganggunya metabolisme pada bakteri dan memiliki kemampuan dalam berinterkalasi dengan DNA. Sedangkan senyawa fenol memiliki kemampuan lain seperti membentuk kompleks dengan protein dan polisakarida dalam

menghambat kerja berbagai enzim yang berperan dalam reaksi enzimatik sel, sehingga proses fisiologis sel tidak berjalan dengan baik dan dapat berakibat pada kematian bakteri^{18 19}. Perbedaan pada setiap senyawa metabolit antimikroba inilah yang kemudian dapat mengakibatkan adanya perbedaan daya hambat pada masing-masing fraksi dan juga kedua bakteri yang diteliti.

Faktor lain yang berperan yaitu adanya pengaruh dari perbedaan bakteri yang digunakan pada penelitian ini menggunakan dua jenis model bakteri berbeda yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kedua jenis bakteri tersebut memiliki struktur bakteri yang berbeda, struktur yang paling terlihat perbedaannya yaitu bagian eksternal pada bakteri, *E. coli* yang merupakan bakteri gram negatif terdapat struktur dinding yang kompleks dengan lapisan utama membran *outer*, lalu lapisan peptidoglikan tipis, lipopolisakarida dan membran *inner*. Sedangkan pada *S. aureus* yang merupakan bakteri gram positif, terdapat lapisan peptidoglikan yang tebal, asam tekoat, dan membran sitoplasma²⁰.

Perbedaan lapisan eksternal dari bakteri mampu memengaruhi aktifitas antimikroba dari senyawa kimia dalam fraksi serta daya difusi dari fraksi yang mengandung senyawa metabolit antibakteri. Sebagaimana penjelasan lapisan dinding bakteri diatas, bakteri gram positif tidak terdapat lapisan lipopolisakarida yang menghambat senyawa antibakteri sehingga molekul senyawa antimikroba mampu melewati lapisan eksternal bakteri gram positif dengan cara difusi pasif dan kemudian berinteraksi dengan sel target seperti lapisan peptidoglikan yang menyebabkan kerusakan dinding sel²¹. Kerusakan tersebut kemudian menyebabkan bakteri lisis akibat adanya ketidakseimbangan tekanan osmotik pada bakteri. Berbeda dengan bakteri gram negatif yang memiliki lapisan lipopolisakarida, hal inilah yang kemudian diduga menjadi penyebab senyawa metabolit antimikroba sulit masuk untuk menuju sel target.

Hal lain yang menyebabkan perbedaan dinding bakteri mampu memengaruhi aktifitas antimikroba dikarenakan dinding bakteri yang lebih kompleks menyebabkan senyawa aktif antimikroba akan sukar masuk sel target didalam sel untuk bekerja²². Sehingga pada bakteri gram positif dalam hal ini *S. aureus* mengalami aktifitas antimikroba lebih maksimal dikarenakan senyawa aktif mampu menembus sel target dengan lebih mudah, dibandingkan dengan bakteri *E. coli* yang tergolong gram negatif dengan struktur dinding lebih kompleks membuat senyawa aktif lebih sulit untuk berdifusi menuju sel target.

Perbedaan daya hambat bakteri pada penelitian ini dapat juga disebabkan oleh faktor bias yang terjadi pada saat penelitian seperti tidak dilakukannya proses evaporasi pada fraksi yang diperoleh, sehingga senyawa yang terkandung dalam fraksi kurang pekat dan diduga menjadi pengaruh konsentrasi pada fraksi dan

mempengaruhi aktifitas daya hambat fraksi semipolar (F9-F14) terhadap bakteri *S. aureus* dan juga bakteri *E. coli*²³.

Daya Hambat Kombinasi Antara Antibiotik Amoksisilin atau Kloramfenikol dengan Fraksi Semi Polar (F9-F14) Tapak Liman terhadap *S.aureus* atau *E.coli*

Berdasarkan hasil penelitian mengenai daya hambat kombinasi, pada bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil tidak signifikan untuk pemberian amoksisilin dengan penambahan fraksi semipolar (F9-F13), hanya pada penambahan fraksi 14 saja yang memiliki nilai signifikan. Sedangkan untuk pemberian kloramfenikol yang dikombinasikan dengan fraksi semipolar (F9-F14) didapatkan hasil yang signifikan terhadap bakteri *S. aureus*. Pada bakteri *E. coli*, untuk pemberian kombinasi amoksisilin ditambahkan fraksi semipolar tapak liman tidak didapatkan hasil signifikan pada semua fraksi, namun, pada kombinasi pemberian kloramfenikol dengan semua fraksi semipolar (F9-F14) didapatkan hasil signifikan terhadap bakteri *E. coli*.

Jenis interaksi kombinasi berdasarkan metode AZDAST, pada bakteri *S. aureus* menunjukan efek penambahan fraksi 14 terhadap daya hambat amoksisilin bersifat antagonis, efek interaksi yang sama juga didapatkan pada daya hambat kloramfenikol yang ditambahkan fraksi 9 sampai 14 terhadap bakteri *S.aureus* dan pada bakteri *E. coli* efek yang didapatkan dari penambahan fraksi semipolar (F9-14) terhadap daya hambat kloramfenikol juga bersifat antagonis. Efek interaksi yang terjadi menunjukan adanya efek atau perubahan pada penambahan fraksi ke 14 terhadap daya hambat kloramfenikol yang berkurang atau lebih kecil dibandingkan pemberian secara tunggal antibiotik atau fraksi secara tunggal.

Hasil tidak signifikan yang didapatkan pada daya hambat amoksisilin dengan penambahan fraksi ke 9 sampai fraksi 13 terhadap bakteri *S. aureus* ataupun penambahan fraksi semipolar (F9-F14) terhadap bakteri *E. coli*, sama-sama memiliki jenis interaksi kombinasi yang bersifat tidak dapat dibedakan (*Notdistinguishable*). Sifat ini, berarti pada efek daya hambat amoksisilin yang ditambahkan fraksi semipolar F9 sampai 13 terhadap bakteri *S. aureus* dan penambahan fraksi semipolar (F9-F14) tapak liman terhadap bakteri *E. coli* memiliki nilai yang sama dengan salah satu pemberian secara tunggal baik amoksisilin tunggal ataupun masing-masing fraksi semipolar (F9-14) tapak liman secara tunggal pada kedua bakteri tersebut.

Hasil antagonis pada daya hambat amoksisilin yang dikombinasikan dengan fraksi ke 14 tapak liman terhadap bakteri *S. aureus* dapat disebabkan beberapa faktor seperti salah satunya yaitu mekanisme kerja dari amoksisilin yang dihambat oleh senyawa pada fraksi ke 14. Salah satu mekanisme kerja dari amoksisilin sebagai golongan dari beta laktam dan termasuk antibiotik bakterisidal

yaitu meningkatkan *Reactive oxygen species* dengan cara menghambat kompleks *electron transport chain* (ETC)²⁴. Sedangkan pada fraksi 14 mengandung senyawa yaitu fenol dan alkaloid yang memiliki aktivitas lain sebagai antioksidan dengan cara kerja menghambat ROS^{25 26}. Sehingga induksi dari amoksisilin terhadap ROS dihambat oleh aktivitas dari senyawa kimia dalam fraksi 14 yang kemudian menghasilkan interaksi antagonis.

Pada daya hambat kombinasi kloramfenikol dengan fraksi semipolar (F9-F14) tapak liman dihasilkan interaksi yang antagonis untuk semua kombinasi. Hal ini, diduga karena kloramfenikol merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dengan cara kerja pengikatan pada ribosom subunit besar 50S sehingga aktifitas proliferasi sel bakteri terhambat dan pertumbuhan bakteri terhenti²⁷. Sedangkan salah satu senyawa turunan dari fenol yaitu *Epigallocatekin gallat* (EGCG) memiliki aktifitas pada dinding sel dengan mengikat protein transporter²⁸. Sehingga dari mekanisme tersebut diduga senyawa pada fraksi menghambat masuknya kloramfenikol kedalam sel bakteri untuk menuju sel target.

Pada bagian hasil pemberian kombinasi amoksisilin dengan fraksi semipolar (F9-F13) tapak liman pada bakteri *S. aureus* dan kombinasi amoksisilin atau kloramfenikol dengan fraksi semipolar (F9-F14) tapak liman pada bakteri *E. coli* diperoleh hasil tidak signifikan, *Sehingga*, interpretasi jenis interaksinya tidak dapat dibedakan (*Notdistinguishable*). Sifat ini dikarenakan hasil dari penambahan fraksi dengan amoksisilin memiliki daya hambat yang sama dengan salah satu daya hambat pada pemberian tunggal amoksisilin. Hal ini diduga karena faktor bias pada penelitian ini, yaitu proses pelarutan dari amoksisilin tidak dilakukan dengan menggunakan dapar dan pelarutan kloramfenikol yang tidak menggunakan ethanol, sehingga kestabilan kedua antibiotik ini, menjadi terganggu, stabilitas antibiotik juga dapat dipengaruhi lingkungan luar seperti udara, kelembapan, suhu, dan cahaya²⁹.

Analisa Kandungan Senyawa Aktif Fraksi Semi polar (F9-F14) Tapak Liman

Identifikasi kandungan senyawa aktif pada plat KLT didasarkan pada perbandingan nilai *Rf*, nilai ini merupakan nilai faktor retardasi yang digunakan sebagai parameter dalam menggambarkan migrasi senyawa pada plat KLT dengan menyatakan posisi noda pada fase diam setelah dielusi³⁰. Nilai *Rf* yang sama antara dua senyawa menandakan adanya kemungkinan terdapat senyawa aktif yang hampir sama juga, sedangkan bila nilai *Rf* berbeda maka kemungkinan kandungan senyawa aktif didalamnya juga berbeda³¹.

Hasil analisa dengan plat KLT menunjukkan hasil, pada plat KLT *spray* dengan menggunakan reagen dragendroff mengandung senyawa alkaloid didalam fraksi 9-14, hal ini berdasarkan perubahan warna noda yang terjadi yaitu warna hijau menjadi

orange. Sedangkan untuk plat KLT *spray* dengan reagen FeCl_3 didapatkan perubahan warna noda pada semua fraksi (F9-14) dari warna hijau menjadi warna hitam kebiruan sehingga positif mengandung senyawa fenol. Namun, untuk hasil noda pada fraksi 14 menunjukan sedikit kurang pekat dibanding lainnya, hal ini diduga konsentrasi senyawa metabolit di dalamnya lebih sedikit dibanding fraksi lainnya. Hasil berbeda didapatkan pada plat KLT *spray* dengan reagen *formaldehyde* yang tidak mengalami perubahan warna noda pada semua noda fraksi 9 sampai 14 dan tetap berwarna hijau.

Berdasarkan Hasil penelitian pada fraksi 9, 11, dan 13 memiliki kandungan senyawa alkaloid dengan jenis yang hampir sama, sama halnya dengan fraksi 10 dan 14 yang memiliki kesamaan nilai *Rf* dan memiliki kandungan senyawa alkaloid dengan jenis yang hampir sama. Namun, berbeda dengan fraksi ke 12 yang nilai *Rf* nya berbeda dengan fraksi lainnya sehingga fraksi ini memiliki kandungan senyawa alkaloid yang berbeda jenis dengan fraksi-fraksi lainnya. Kandungan senyawa aktif lain seperti fenol diduga terdapat jenis yang hampir sama pada fraksi 9 dan 13 sedangkan untuk fraksi 10,11,12, dan 14 memiliki kandungan jenis senyawa fenol yang berbeda dengan kedua fraksi tersebut.

Hasil dari identifikasi kandungan beberapa senyawa dalam fraksi tapak liman yang ditemukan mendukung hasil penelitian yang pernah dilakukan dengan tanaman ini yang menemukan adanya kandungan kedua senyawa kimia seperti alkaloid dan fenol dalam tapak liman, dengan berbagai jenisnya³². Hal yang sama juga berdasarkan pemurnian dari tanaman ini didapatkan beberapa jenis senyawa fenol seperti 3,4-dihydroxybenzaldehyde, vanillic acid, isovanillic acid, ferulic acid, p-hydroxybenzoic, tricin, 3-methoxy-4-hydroxyl cinnamic aldehyde, 2-hydroxybenzolate acid, syringic acid^{33 34 35 36}.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi semipolar (F9-14) dari ekstrak metanolik tapak liman mengandung senyawa aktif alkaloid serta fenol dan atau derivatnya.
2. Fraksi semipolar (F9-F13) dari ekstrak metanolik tapak liman memiliki zona inhibisi atau aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus*, kecuali fraksi 14.
3. Fraksi semipolar (F9-F14) ekstrak metanolik tapak liman tidak memiliki zona inhibisi pada bakteri *E.coli*.
4. Interaksi kombinasi fraksi 9-14 tapak liman dengan kloramfenikol terhadap bakteri *S. aureus* adalah antagonis sama dengan kombinasi fraksi 14 tapak liman dan amoksisilin memiliki interaksi antagonis

SARAN

Dalam pengembangan penelitian ini, terdapat beberapa saran untuk hasil yang lebih maksimal, yaitu:

1. Pada pembuatan fraksi perlu dilakukan evaporasi, untuk mendapatkan hasil fraksi dengan konsentrasi yang lebih maksimal.
2. Pembuatan larutan antibiotik harus benar-benar terlarut sempurna dan menggunakan pelarut yang sesuai dan memiliki solubilitas serta stabilitas yang tinggi sehingga kestabilannya dapat maksimal.
3. Proses pemilihan dosis antibiotik dan fraksi harus benar-benar disesuaikan lagi sehingga hasil dari daya hambat kombinasi bisa maksimal.
4. Dalam pembungkian adanya aktifitas antioksidan yang meningkatkan ROS pada fraksi 14, disarankan untuk dilakukan uji 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah memberikan dana untuk penelitian ini, kepada staf laboratorium, dan teman-teman kelompok penelitian yang telah membantu dalam penelitian in.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI. Permenkes tentang pedoman umum penggunaan antiotik. Jakarta: 2011.
2. Riskesdas. Hasil Utama Riskesdas 2018. Kementerian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018
3. WHO. World Health Statistic Report 2015. Geneva: World Health Organization. 2015.
4. Hacioglu, M., Sibel D., Ayse S.B.T., Gulten O. Antimicrobial activities of widely consumed herbal teas, alone or in combination with antibiotics: an in vitro study. *PeerJ*. 2017.
5. Avani, K., S. Neets. A Study of The Antimicrobial Activity Of *Elephantopus Scaber*. *Indian Journal Pharmacol*. 2005. Vol. 37. P. 126-128.
6. Nonci, Faridha Yenny, Rusli, Abidah Atqiyah. Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L.) Denga menggunakan Metode Klt Bioautografi. *JF FIK UINAM*. 2014. 2(4). H. 144-148.
7. Verryana Y., Risandiansyah Rio, Faisal. Efek Daya Hambat Kombinasi Tapak Liman (*Elephantopus Scaber*) dengan Antibiotik Amoxicillin, Chloramphenicol atau Cotrimoxazole Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Malang, Universitas Islam Malang*. 2018.
8. Noventius, D. Uji Potensi Antibakteri Fraksi Hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber*) Terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta*. 2005.
9. Rahmawati T. Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Herba Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak*. 2015.
10. Elyani Helmin, Risandiansyah Rio. Antibacterial potential of four herbal plants (*Syzygium cumini*, *Piperornatum*, *Anredera cordifolia*, and *Alpinia galangan*) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Islamic Medicine Research*. 2017.P. 26–33.
11. Risandiansyah Rio. Induction of Secondary Metabolism Across Actinobacterial Genera. *Thesis Faculty of medicine, Nursing and Health Sciences Flinders University of South Australia*. 2016.
12. Harborne, J.B. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. *Alih bahasa Kosasih Padmawinata. ITB Bandung*. 1987. Hal. 1-107.
13. Samuel G. Levine. Dip Reagents for Visualization in TLC. *Journal of Chemical Education*. 1996. 72(1).
14. Ziaei-Daroukalei N, Ameri M, Zahraei-Salehi T, Ziaei-Daroukalei O, Mohajer-Tabrizi T, Bornaei L. AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection. *Elsevier*. 2016. 3: P. 43-52.
15. Davis, Stout. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. 1971. 22(4).
16. Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-20, *EGC, Penerbit Buku Kedokteran*, Jakarta. 1996
17. Brooks, Geo F., Butel, Janet S., Morse, Stephen A, et al. Jawetz, Melnick & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran. Edisi I. Jakarta: *Salemba Medika*. 2005.
18. Cowan, M.M., Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*. 1999. 12(4): P. 564–82.
19. Robinson, T., Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI, *Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung*. 1995.
20. Parija, Subhash Chandra. Textbook of Microbiology & Immunology Ed 2. *Elsevier*. 2012.
21. Djide, M. Natsir, Sartini. Dasar-dasar mikrobiologi farmasi. *Lembaga Penerbitan Unhas. Makassar*. 2008.
22. Dyah, N.W. & Sondakh, R., Hubungan Struktur dan Proses Metabolisme Obat. In: Siswandono & Soekardjo, B. (Ed.), *Kimia Medisinal, Jilid 1, Airlangga University Press, Surabaya*. 2000. 88.
23. Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S. Dasar-Dasar Mikrobiologi. *Universitas Indonesia: Jakarta*. 2005.

24. Kalghatgi, S., Catherina S., James C.C., Marc L., Antibiotics Affect Mitochondria in mammalian cells. *Sci Transl Med*. 2013. Vol.5.
25. Rahate KP, Padma R, Parvathy NG, Renjith V. Quantitative estimation of tannins, phenols and antioxidant activity of methanolic extract of *Imperata cylindrical*. *Ind.J Pharm.Edu. Res*. 2013. Vol. 4.
26. Hanani, Endang. Abdul Mun'im dan Ryany Sekarin. Identifikasi senyawa antioksidan Dalam spons *calyspongia* sp Dari kepulauan seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2005. Vol. II, No.3. P. 127 – 133. ISSN : 1693-9883.
27. Katzung, B.G., Masters, S.B. dan Trevor, A.J., Farmakologi Dasar & Klinik, Vol.2, Edisi 12, Editor Bahasa Indonesia Ricky Soeharsono et al., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 2014.
28. Gordon N. C. dan David W. W., Antimicrobial activity of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2010. Vol.36. P. 129-131.
29. Waney, R., Gayatri C., Jemmy A., Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Serta Penetapan Kadar Tablet Furosemida Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal KESMAS*. 2012. Vol.1(2). P.504-995
30. Mulandari L. Kromatografi Lapis Tipis. *Taman Kampus PRESINDO peduli dan pelayan pendidikan*. 2012.
31. Kumar, S., K. Jyotirmayee, Monalisa S., Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *Int. Journal of Pharmaceutical Sciences Reviews and Research*. 2013. P:123-132.
32. Rao.B. G., Y. Venkateswara Rao, S. Pavani, V.S. Praneeth D., Qualitative and quantitative phytochemical screening and in vitro anti oxidant and anti microbial activities of *Elephantopus scaber* Linn. Recent Research in Science and Technology. 2012. 4(4). P:15-20.
33. Kabeer F.K. dan R. Prathapan. Phytopharmacological Profile of *Elephantopus Scaber*. *Science Reuters, Pharmacologia*. 2014. 5(8). P. 272-285.
34. Hisham, A., L. Pieters, M. Claeys, R. Dommissie, D.v. Berghe and A. Vlietinck. Guaianolide Glucosides from *E. scaber*. *Planta Med*. 1992. Vol. 58. P. 474-475.
35. Zhang, H.B., L.J. Kong, Q.L. Hang, J.H. Jiang dan Z.D. Min. Studies on triterpenes from *E. scaber*. *Chinese J. Exp. Traditional Med. Formulae*. 2011. Vol. 3. P.101-103.
36. Chang, C.L., C.C. Shen, C.L. Ni dan C.C. Chen. A new sesquiterpene from *E. scaber*. *Hiromitsu J*. 2012. Vol.65. P.49-56.