

Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanolik atau Dekokta Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Amoksisilin pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* secara *in vitro*

Julita Maulidina, Erna Sulistyowati, Reza Hakim*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Latar Belakang: Penggunaan ekstrak tanaman dengan kombinasi antibiotik dapat mencegah resistensi. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid yang diketahui memiliki efek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek kombinasi ekstrak daun *S. polyanthum* dengan amoksisilin pada pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Metode: Ekstrak metanolik dan dekokta daun *S. polyanthum* ditetaskan pada medium nutrient agar yang sudah ditumbuhi koloni kedua bakteri tersebut. Uji *zone of inhibition* (ZOI) menggunakan metode Kirby-Bauer. Metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) digunakan untuk menghitung interaksi *S. polyanthum* dengan Amoksisilin. Data dikatakan signifikan bila $p < 0,05$. Ada 5 (lima) variabel kelompok uji, yaitu amoksisilin dosis tinggi dan rendah (ADT dan ADR), ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dosis tinggi dan rendah (HDT dan HDR), dekokta daun *S. polyanthum* dosis tinggi dan rendah, kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan amoksisilin (DSA) dan kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan Amoksisilin (EMSA) pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hasil: ZOI kombinasi antibiotik dan EMSA terhadap *Staphylococcus* ADT+HDT ($14,3 \pm 0,5$) ($p > 0,05$) lebih tinggi dari pada ADT tunggal ($11,3 \pm 3,0$). ZOI kombinasi antibiotik dan DSA terhadap *Staphylococcus aureus* ADT+HDT ($17,3 \pm 1,1$) ($p < 0,05$) lebih tinggi dari pada ADT tunggal ($13,3 \pm 0,5$) dan DSA terhadap *Escherichia coli* ADT+HDT ($11,0 \pm 1,0$) ($p > 0,05$) lebih tinggi dari pada ADT tunggal ($7,6 \pm 0,5$).

Kesimpulan: Efek kombinasi antibiotik EMSA terhadap *Staphylococcus aureus* pada semua perlakuan dosis memberikan efek sinergis. Efek kombinasi antibiotik DSA terhadap *Staphylococcus aureus* pada semua perlakuan dosis memberikan efek sinergis. Efek kombinasi antibiotik DSA terhadap *Escherichia coli* pada dosis (ADT+HDT, ADT+HDR, ADR+HDT) memberikan efek sinergis.

Kata Kunci: *Syzygium polyanthum*, Amoksisilin, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Resistensi antibiotik

Koresponden :

Reza Hakim, M. BioMed

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

The Antibacterial Effect on Combination of *S. polyanthum* Leaf Decoction or Methanol Extract with Amoxicillin on In Vitro in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Julita Maulidina, Erna Sulistyowati, Reza Hakim*

*Medical Faculty University of Islam Malang

ABSTRACT

Background: Herb extract as an antibiotic adjuvant can reduce the antibiotic resistance problem. *S. polyanthum* contains some active compound such as flavonoid, tannin, saponin, and alkaloid that has antibacterial effect. The purpose of this research to know the combination effect between extract leaf *S. polyanthum* and amoxicillin on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* growth.

Method: Methanol extract and leaf *S. polyanthum* decoction were dropped in the nutrient agar that contains the bacteria. Zone of inhibition (ZOI) test by using Kirby-Bauer method. The interaction of *S. polyanthum* and Amoxicillin were calculated by using *Ameri –Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) with significant level $p < 0,05$. There were 5 group, high and low dosage of amoxicillin group (ADT and ADR), high and low dosage *S. polyanthum* methanol extract group (HDT dan HDR), high and low dosage *S. polyanthum* decoction extract group, *polyanthum* decoction extract and amoxicillin combination group (DSA), and the last was *S. polyanthum* methanol extract group and amoxicillin (EMSA) group against *S.aureus* and *E.coli*.

Result: ZOI antibiotic combination and EMSA against *Staphylococcus aureus* ADT+HDT ($14,3 \pm 0,5$) ($p > 0,05$) were higher than single ADT ($11,3 \pm 3,0$). ZOI antibiotic combination and DSA against *Staphylococcus aureus* ADT+HDT ($17,3 \pm 1,1$) ($p < 0,05$) were higher than single ADT ($13,3 \pm 0,5$) and DSA against *Escherichia coli* ADT+HDT ($11,0 \pm 1,0$) ($p > 0,05$) were higher than single ADT ($7,6 \pm 0,5$).

Conclusion: Antibiotic combination effect of EMSA against *Staphylococcus aureus* in all dosage has synergy effect.

Antibiotic combination effect DSA against *Escherichia coli* in (ADT+HDT, ADT+HDR, ADR+HDT) has synergy effect.

Key words: *Syzygium polyanthum*, Amoxicillin, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Antibiotic resistance

Reza Hakim, M. BioMed

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, persebaran yang tidak rasional, peredaran yang luas dan pengawasan yang lemah merupakan faktor terjadinya resistensi¹. Telah banyak ditemukan kasus resistensi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik². Resistensi ditemukan pada pasien yg mendapat terapi ampicilin akibat infeksi *Escherichia coli*. Ditemukan enzim perusak antibiotik khusus terhadap golongan beta-laktam dengan nama penisilinase yang ditemukan pada *Staphylococcus aureus* dari pasien yg mendapat pengobatan penisilin. Salah satu antibiotik yg memiliki resistensi tinggi ialah amoksisilin sebesar 67,16% karena sangat mudah didapatkan tanpa resep dokter³.

Salah satu cara menanggulangi resistensi antibiotik adalah menggunakan ekstrak tanaman, baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi dengan antibiotik. Kombinasi dapat berupa ekstrak tanaman yg berbeda atau ekstrak tanaman dengan antibiotik standar⁴. Daun *S. poliantum* memiliki kandungan alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid^{5,6} yang diduga sebagai antibakteri^{7,8,9,10}. Bahan aktif tersebut dapat diekstraksi dengan metode ekstraksi metanol maupun dekokta¹¹.

Interaksi obat dengan zat aktif lain dapat bersifat antagonis maupun sinergis¹². Fardila (2019) menunjukkan kombinasi ekstrak metanolik atau dekokta daun *S. poliantum* dengan kloramfenikol tidak didapatkan ZOL. Belum ada data tentang interaksi kombinasi daun *S. Poliantum* dengan amoksisilin. Sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai interaksi kombinasi daun *S. Poliantum* dengan amoksisilin.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan secara eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2019 di Laboratorium Herbal Biomedik dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Pembuatan Ekstrak Meithanolik Daun Salam

Serbuk simplisia daun *S. Poliantum* ditimbang terlebih dahulu sebanyak 40 gram. Meithanol 96% sebanyak 400 ml dicampurkan bersama simplisia didalam erlenmeyer yg ditutup dengan aluminium foil dan

diamsukan dalam *shaker water bath* selama 24 jam. Ekstrak dikeluarkan dari *shaker water bath* untuk disaring dengan *vacum buchner*, setelah itu dievaporasi pada suhu 45°C. Ekstrak dikeringkan pada suhu 60°C menggunakan oven^{13 14}.

Pembuatan Dekokta Daun *Syzygium Polyanthum*

Simplisia herbal ditimbang sebanyak 20 gram diletakkan dalam panci dekokta. Aquades 400 ml ditambahkan bersama simplisia dan dipanaskan sampai suhu 90°C. Setelah 30 menit hasil dekok diangkat lalu disaring dengan *vacuum Buchner*.¹⁵

Pembuatan Larutan Amoksisilin

Amoksisilin murni 1000 mg ditimbang dengan neraca digital. Amoksisilin dilarutkan didalam 10ml aquades steril sehingga didapatkan konsentrasi 100mg/ml. Selanjutnya 100mg/ml diambil 1ml dan ditambahkan aquadest steril hingga didapatkan konsentrasi 10mg/ml. Setelah didapatkan larutan dengan konsentrasi 10mg/ml diambil 1ml dan ditambahkan aquades steril hingga volume 10 ml. Hasil akhir didapatkan larutan amoksisilin dengan konsentrasi 1mg/ml¹⁶.

Pembiakan dan Pembuatan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* dari isolate klinis, kemudian dilakukan inokulasi bakteri dalam media *Nutrient Agar* (NA). Selanjutnya kurang lebih 18-24 jam pada suhu 37°C dilakukan inkubasi¹⁷.

Larutan NaCl 0,9% steril digunakan untuk melarutkan bakteri hasil inokulasi, selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex. Mikropipet digunakan untuk mengambil larutan lalu dimasukkan kedalam kuvet, dengan gelombang 600nm dibaca melalui spektrofotometer, (hasil absorbansi/0.2 total volume pengenceran) ditemukan hasil absorbansi kemudian dilakukan pengenceran (dilusi) sesuai rumus dengan NaCl 0,9% I⁸.

Pembuatan Media Inokulum

Nutrient Agar (NA) dilarutkan bersama aquades steril didalam erlenmeyer dengan perbandingan 1:50 kemudian dimasukan kedalam autoklaf. Media dikeluarkan dari autoklaf dan suhu media diukur menggunakan termometer infrared digital, apabila suhu < 50°C suspensi yg telah dibuat pada tahap sebelumnya dimasukkan sebanyak 1% (5 ml dalam 500 ml media), selanjutnya media digoygkan hingga suspensi bakteri tercampur rata lalu dituang ke dalam cawan petri (20-25ml)¹⁸.

Metode *Zon of inhibition* (ZOL)

Metode AZDAST yang digunakan untuk pengujian ZOLna hambatan dengan modifikasi sumuran. Peningkatan daya hambatan pada bakteri dapat dilihat dari perluasan *clear Zon*. Media dipersiapkan untuk uji Zon hambatan. *Plating* pada media dilakukan secara merata hingga padat lalu dilubangi dengan *cork borer* berukuran 6mm. Pada setiap lubang sumuran diberi tetesan larutan antibiotik dan ekstrak herbal daun *S. polyanthum*. Untuk setiap uji Zon hambatan tunggal antibiotik dan herbal ditetaskan sebanyak 30 µl, dan pada uji zona hambatan kombinasi ditetaskan masing-masing amoksisilin dan ekstrak *S. polyanthum* sebanyak 15 µl, tercapai volume total 30 µl. Pada uji Zon hambatan dosis yg digunakan antibiotik tunggal 10 mg/ml, dekokta daun salam tunggal digunakan 0,05 mg/ml hingga 10 kali pengenceran, dan ekstrak meithanol daun salam tunggal digunakan 1 g/ml hingga 10 kali pengenceran. Dosis uji ZOLna hambatan dibagi menjadi 4, yaitu Antibiotik Dosis Tinggi (ATT) dengan hasil ZOL tunggal >10mm, Antibiotik Dosis Rendah (ADR) dengan hasil ZOL tunggal ≤10mm, Herbal

Dosis Tinggi (HTB) dengan ZOL tunggal >10mm, dan Herbal Dosis Rendah (HDR) dengan ZOL tunggal ≤10mm. Kemudian, media diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 jam - 24 jam¹⁵.

Interpretasi Hasil *Zon of inhibition* (ZOL)

Evaluasi dilakukan dengan metode AZDAST, nterpretasi dilakukan dengan cara.

Hasil dikatakan **sinergis** apabila $AB > A$ dan $B < A$ atau $AB > AA$ dan BB , Hasil dikatakan **potensiasi** jika A atau $B = 0$ dan $AB > A$ dan B atau AA dan BB , Hasil didefinisikan **aditif** ketika $AB = AA$ atau BB atau A dan B , Hasil dikatakan **antagonis** apabila $AB < A$ dan B atau AA dan BB , **Not distinguishable** jika $AB = A$ atau B , $AB > A$ dan B dan $>$ atau $<$ dari AA atau BB ¹⁹.

Keterangan :

A = Herbal

B = Antibiotik

AB = Kombinasi Herbal-Antibiotik

AA = Penambahan dosisi herbal A

BB = Penambahan dosisi herbal B

Analisa Data Statistik

Analisis data di lakukan secara komputerisasi dengan SPSS (*Statistical Package of the Social Sciences*). Data dibuat dengan *Microsoft Excel 2016* untuk mendapatkan nilai rerata dan standar deviasi. Data diuji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*. Karena data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji parametrik *one way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan antara kelompok. Selanjutnya, untuk melihat kelompok perlakuan yang bermakna terhadap kelima variable dosis uji maka digunakan analisa *Pos Hoc Test*.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil *ZOLne of inhibition* (ZOI) Amoksisilin Tunggal pada *S.aureus* dan *E.coli*

Tabel 1. Hasil *Zone of inhibition* (ZOI) Amoksisilin Tunggal

Sumurn ke-	Dilusi	Diameter ZOL ± SD (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	1/1	21,3 ± 1,1	10,8 ± 0,3
2	1/2	21,6 ± 2,1	9,5 ± 1,1
3	1/4	19,7 ± 0,6	9,0 ± 0,0
4	1/8	19,7 ± 2,1	0,0 ± 0,0
5	1/16	18,0 ± 1,0	0,0 ± 0,0
6	1/32	15,7 ± 1,5	0,0 ± 0,0
7	1/64	14,3 ± 1,1	0,0 ± 0,0
8	1/128	13,0 ± 5,0	0,0 ± 0,0
9	1/256	10,0 ± 2,0	0,0 ± 0,0
10	1/512	5,6 ± 5,1	0,0 ± 0,0
KN		0	0

Keterangan Tabel 1 >20mm daya hambat sangat kuat, 10-20 daya hambat kuat, 5-10 daya hambat sedang, ≤5 daya hambat lemah; KN, kontrol - berupa pelarut akuades.

Hasil ZOI 3 kali pengulangan memperlihatkan bahwa pada dilusi yang sama Amoksisilin tunggal menghasilkan diameter ZOI yang lebih besar pada *Staphylococcus aureus* daripada *Escherichia coli*. Pada dilusi 1/8 amoksisilin tunggal masih mampu menghambat *Staphylococcus aureus* tetapi tidak mampu menghambat *Escherichia coli*. Hal tersebut menunjukkan bahwa Amoksisilin tunggal lebih efektif menghambat *Staphylococcus aureus* dibanding *Escherichia coli*. Penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa ZOI amoksisilin tunggal pada *Staphylococcus aureus* memiliki daya sedang, kuat, hingga sangat kuat. **Tabel 1.**

Hasil *Zone of inhibition* (ZOLI) Tunggal pada Ekstrak Metanolik terhadap *S.aureus* dan *E.coli*

Tabel 2. Hasil *Zone of inhibition* (ZOI) Tunggal Ekstrak Metanolik Daun *S. polyanthum*

Sumuran ke-	Dilusi	Diameter ZOL ± SD (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
1	1	16,3±2,5	0,0±0,0
2	½	12,0±2,0	9,0±1,0
3	¼	11,0±2,0	6,0±5,3
4	1/16	9,7±1,5	5,7±4,9
5	1/32	8,7±0,6	2,7±4,6
6	1/64	7,7±0,6	0,0±0,0
7	1/128	2,3±4,0	0,0±0,0
8	1/256	0,0±0,0	0,0±0,0
9	1/512	0,0±0,0	0,0±0,0
10	1/1024	0,0±0,0	0,0±0,0
KN		0	0

Ketreangan : KN, kontrol - berupa pelarut akuades dan meithanol.

Hasil ZOI 3 kali pengulangan memperlihatkan bahwa pada dilusi yang sama ekstrak metanol daun *S. poliantumetunggal* menghasilkan diameter ZOL yg lebih besar pada *Staepehylococus aureusi* daripada *Escherichia coli*. Pada dilusi 1/64 ekstrak metanol daun *S. poliantumetunggal* masih mampu menghambat *Staepehylococus aureusi* tetapi tidak mampu menghambat *Escherichia coli*. Adapun pada *Escherichia coli* dilusi 1/1 tidak memberikan Zon hambat. Penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa ZOL ekstrak metanol daun *S. polyanthum* tunggal terhadap *Escherichia coli* pada peneltia ini memiliki daya hambat kuat, sedang, hingga lemah. **Tabel 2.**

Hasil Analisa ZOLI Tunggal pada Dekokta terhadap *S.aureus* dan *E.coli*

Hasil ZOI 3 kali pengulangan memperlihatkan bahwa pada dilusi yang sama dekokta daun *S. polyanthum* tunggal memiliki diameter ZOLI yang lebih besar pada *Escherichia coli* daripada *Staphylococcus aureus* pada dilusi 1/32. Hal tersebut menunjukkan bahwa dekokta daun *S. poliantumetunggal* lebih efektif menghambat *Escherichia coli* dibanding *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa ZOLI dekokta daun *S. polyanthum* tunggal pada

Escherichia coli memiliki daya sedang hingga kuat. Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Zone of inhibition (ZOI) Tunggul Dekokta Daun *Syzygium polyanthum*

Sumuran ke-	Dilusi	Diameter ZOL ± SD (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
1	1	13,0±1,0	14,7±1,5
2	½	12,3±3,2	13,0±0,0
3	¼	6,7±4,0	10,0±0,0
4	1/16	2,6±4,6	6,7±1,5
5	1/32	0,0±0,0	0,0±0,0
6	1/64	0,0±0,0	0,0±0,0
7	1/128	0,0±0,0	0,0±0,0
8	1/256	0,0±0,0	0,0±0,0
9	1/512	0,0±0,0	0,0±0,0
10	1/1024	0,0±0,0	0,0±0,0
KN		0	0

Ketreangan : KN, kontrol - berupa pelarut akuades.

Tabel 4. Hasil Zone of inhibition (ZOI) Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun *S. polyanthum* dan Amoksisilin Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Sumuran ke-	Dosis	Diameter ZOL ± SD (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
1	ADT+HDT	14,3±0,5	16,0±4,3
2	ADT+HDR	12,0±2,6	0,0±0,0
3	ADR+HTB	11,3±2,0	10,3±0,5
4	ADR+HDR	14,0±2,6	0,0±0,0
5	-	-	-
6	ADT	11,3±3,0	0,0±0,0
7	ADR	11,0±1,0	16,0±4,3
8	-	-	-
9	HDT	0,0±0,0	0,0±0,0
10	HDR	9,3±0,5	6,6±5,8

Keterangan : Rata-rata zona hambat kombinasi ekstrak metanol daun salam pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*; ADT, Antibiotik Dosis Tinggi (dilusi 1/1 pada *S. aureus* dan 1/2 *E. coli*); ADR, Antibiotik Dosis Rendah (dilusi 1/256 pada *S. aureus* dan 1/4 pada *E. coli*); HTB, Herbal Dosis Tinggi (dilusi 1/1 pada *S. aureus* dan 1/2 pada *E. coli*); HDR, Herbal Dosis Rendah (dilusi 1/16 pada *S. aureus* dan dilusi 1/2 pada *E. coli*); Sumuran 5 dan 8 pada *S. aureus* dan *E. coli* dikosongkan untuk memberikan jarak antar perlakuan.

Hasil Analaisa Zone of inhibition (ZOI) Kombinasi Ekstrak Metanolik Daun *S. polyanthum* dan Amoksisilin Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Analisa yang dilakukan dengan metode AZDAZT menunjukkan uji ZOI kombinasi EMSA terhadap *Staphylococcus aureus* bersifat sinergis pada semua kelompok dosis uji. Berdasarkan uji statistik *Post Hoc Test* didapatkan interaksi dosis yang tidak signifikan ($p>0.05$) pada semua kelompok dosis uji. Sedangkan DSA terhadap *Staphylococcus aureus* bersifat sinergis

pada semua kelompok dosis uji, karena didapatkan

peningkatan diameter ZOI. Berdasarkan uji statistik *Post Hoc Test* didapatkan interaksi dosis yang signifikan ($p<0.05$). **Grafik I**

Hasil Analisa Zon of inhibition (ZOI) Kombinasi Dekokta Daun *S. poliantumedan* Amoksisilinn Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Analisa yg dilakukan dengan metode AZDAZT menunjukkan uji ZOL kombinasi EMSA terhadap *Escherichia coli* pada kelompok dosis ATT+HTB bersifat Nd (*Not distinguishable*/efek kombinasi tidak ada perbedaan dari penggunaan tunggalnya). Berdasarkan uji statistik *Post Hoc Test* didapatkan interaksi dosis yg tidak signifikan ($p>0.05$). Pada *Escherichia coli* kelompok dosis ATT+HDR, ADR+HTB, dan ADR+HDR bersifat antagonis karena didapatkan penurunan diameter ZOL. Berdasarkan uji statistik *Post Hoc Test* didapatkan interaksi dosis yg tidak signifikan ($p>0.05$).

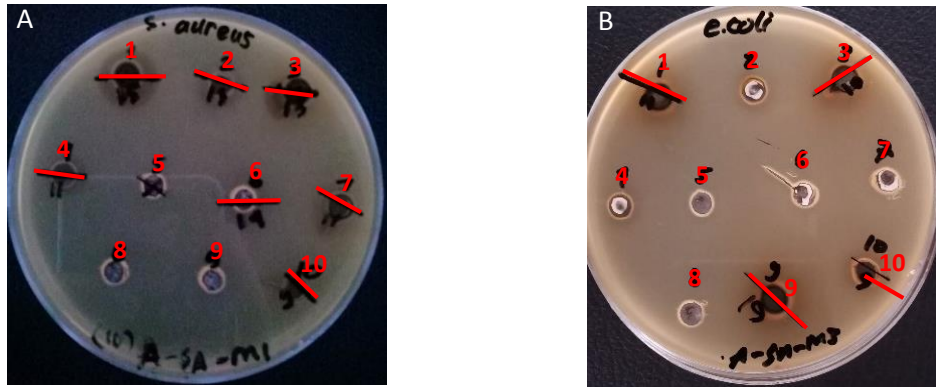
Sedangkan ZOL kombinasi DSA terhadap *Escherichia coli* bersifat sinergis pada kelompok dosis ATT+HTB, ATT+HDR, dan ADR+HTB. Berdasarkan uji statistik *Post Hoc Test* didapatkan interaksi dosis yg tidak signifikan ($p>0.05$). Kelompok dosis ADR+HDR pada *Escherichia coli* bersifat antagonis, karena didapatkan penurunan diameter ZOL kombinasi. Berdasarkan uji statistik *Post Hoc Test* didapatkan interaksi dosis yg tidak signifikan ($p>0.05$).

Grafik 2

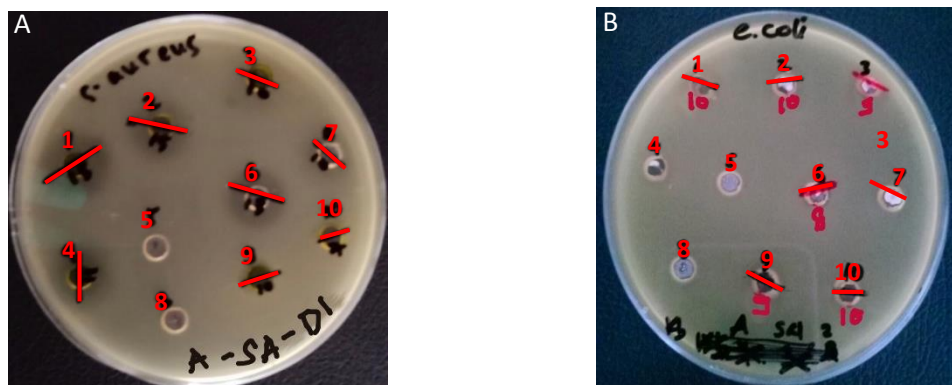
Tabel 5. Hasil Zon of inhibition (ZOL) Kombinasi Dekokta Daun *S. poliantumedan* Amoksisilinn Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Sumuran ke-	Dosis	Diameter ZOL ± SD (mm)	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
1	ATT+HTB	17,3 ± 1,1	11,0±1,0
2	ATT+HDR	16,3 ± 1,5	10,6±1,1
3	ADR+HTB	11,3 ± 1,1	11,3±2,0
4	ADR+HDR	11,3 ± 1,1	0,0 ± 0,0
5	-	-	-
6	ATT	13,3 ± 0,5	7,6 ± 0,5
7	ADR	11,3 ± 1,1	0,0 ± 0,0
8	-	-	-
9	HTB	11,0 ± 1,0	10,3±0,5
10	HDR	9,3 ± 2,0	9,3 ± 0,5

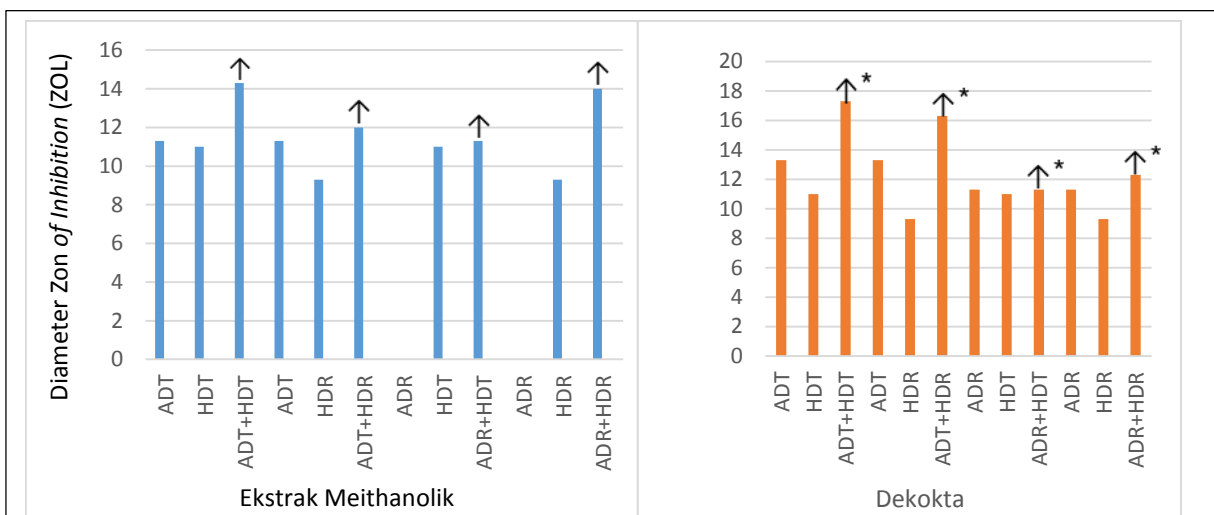
Keterangan: Rata-rata Zon hambat kombinasi dekokta daun *S. poliantumedan* pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*; ATT, Antibiotik Dosis Tinggi (dilusi 1/1 pada *S. aureus* dan *E. coli*); ADR, Antibiotik Dosis Rendah (dilusi 1/256 pada *S. aureus* dan 1/4 pada *E. coli*); HTB, Herbal Dosis Tinggi (dilusi 1/1 pada *S. aureus* dan *E. coli*); HDR, Herbal Dosis Rendah (dilusi 1/4 pada *S. aureus* dan ¼ *E. coli*); Sumuran 5 dan 8 pada *S. aureus* dan *E. coli* dikosongkan untuk memberikan jarak antar perlakuan.



Gambar 1. A. ZOL Kombinasi ekstrak meithanolik daun *S. polyanthum* dengan amokssisilinn terhadap *Staepehylococcus auireusi*; B. ZOL Kombinasi ekstrak meithanolik *S. polyanthum* dengan amokssisilinn terhadap *Escherichia coli*.

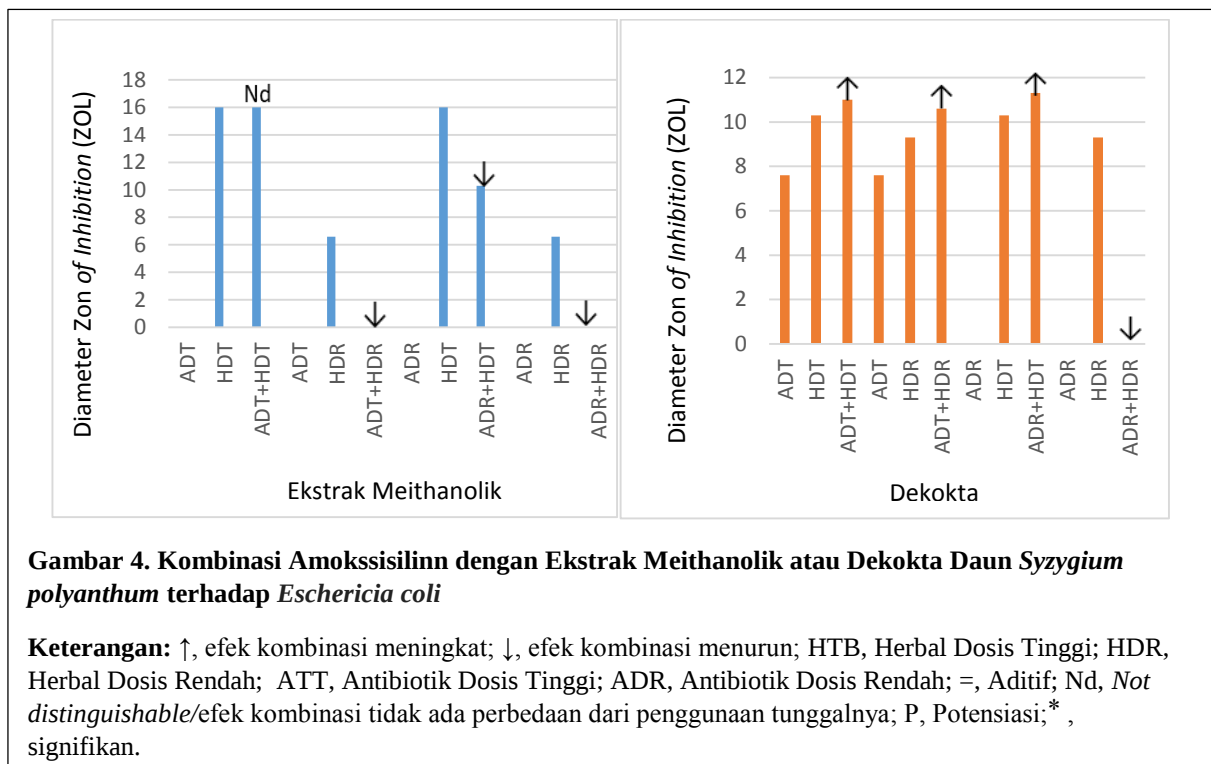


Gambar 2. A. ZOL Kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan amokssisilinn terhadap *Staepehylococcus auireusi*; B. ZOL Kombinasi dekokta *S. polyanthum* dengan amokssisilinn terhadap *Escherichia coli*.



Gambar 3. Kombinasi Amokssisilinn dengan Ekstrak Meithanolik atau Dekokta Daun *Syzygium polyanthum* terhadap *Staepehylococcus auireusi*

Keterangan: ↑, efek kombinasi meningkat; ↓, efek kombinasi menurun; HTB, Herbal Dosis Tinggi; HDR, Herbal Dosis Rendah; ATT, Antibiotik Dosis Tinggi; ADR, Antibiotik Dosis Rendah; =, Aditif; Nd, Not distinguishable/efek kombinasi tidak ada perbedaan dari penggunaan tunggalnya; P, Potensiasi; *, signifikan.



PEMBAHASAN

Zon of inhibition (ZOL) Sediaan Tunggal Amokssisilinn Ekstrak Meithanol *S. poliantum* terhadap Bakteri *Staeheylococcus aureusi* dan *Eescihierichia coli*

Hasil penelitian yg telah dilakukan didapatkan hasil yg serupa pada sediaan tunggal dari amokssisilinn dan ekstrak meithanolik *S. poliantum* masing-masing lebih efektif terhadap *Staeheylococcus aureusi* daripada *Escherichia coli*. *Staeheylococcus aureusi* memiliki struktur dinding sel lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida. *Escherichia coli* memiliki dinding sel mengandung tiga polimer yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan dan membrane luar berupa bilayer (mempunyai ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yg keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik)²⁰. Sehingga amokssisilinn lebih mudah menyerang *Staeheylococcus aureusi* daripada *Escherichia coli*.

Amokssisilinn bersifat bakterisida terhadap mikroorganisme melalui penghambatan mukopeptida dinding sel selama proses replikasi bakteri. Amokssisilinn bekerja dengan mengikat protein penicillin binding protein IA (PBP-1A) yg terletak di dalam sel bakteri dengan baik. Mencegah pembentukan ikatan silang dari dua lapisan peptidoglikan linier, dan menghambat tahapan dari

sinthesis dinding sel bakteri²¹. Sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk dengan sempurna.

Senyawa aktif yg terlarut dalam ekstrak meithanolik *S. poliantum* seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Dekokta *S. poliantum* memiliki senyawa aktif seperti tannin, saponin, dan flavonoid. Masing-masing senyawa memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri, senyawa alkaloid mengganggu penyusunan peptidoglikan sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh. Saponin mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dan menekan sintesis protein. Senyawa tanin memiliki kemampuan merusak dinding sel bakteri. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma^{8,9}.

Zon of inhibition (ZOL) Sediaan Tunggal Dekokta Daun *S. poliantum* terhadap Bakteri *Staeheylococcus aureusi* dan *Eescihierichia coli*

Hasil penelitian yg telah dilakukan didapatkan pada sediaan tunggal dari dekokta daun *S. poliantum* lebih efektif terhadap *Escherichia coli* daripada *Staeheylococcus aureusi*. Dekokta daun *S. poliantum* memiliki senyawa tanin, saponin dan flavonoid. Flavonoid memiliki sejumlah gugus hidroksil sehingga pada umumnya larut dalam pelarut polar seperti air, flavonoid memiliki kemampuan menghambat sintesis DNA dan RNA

bakteri. Tanin adalah senyawa polifenol yg dapat larut dalam air, senyawa tanin memiliki kemampuan merusak dinding sel bakteri^{9,22}.

Zon of inhibition (ZOL) Kombinasi Ekstrak Meithanolik *S. poliantumedennan* Amokssisilinn (EMSA) dan Dekokta Daun *S. poliantumedennan* Amokssisilinn (DSA) terhadap *Staepleylococcus aureusi*

Uji ZOL EMSA pada *Staepleylococcus aureusi* bersifat sinergis didapatkan peningkatan diameter ZOL yg tidak signifikan ($p>0.05$) dibanding ZOL tunggalnya. Sedangkan uji ZOL kombinasi DSA pada *Staepleylococcus aureusi* juga bersifat sinergis, didapatkan peningkatan diameter ZOL yg signifikan ($p<0.05$) dibanding ZOL tunggalnya. Sifat sinergis kombinasi EMSA dan DSA pada *Staepleylococcus aureusi* dapat disebabkan karena adanya interaksi yg saling menguatkan antara amokssisilinn dengan ekstrak metanlik maupun dekokta daun *S. poliantumese* sehingga menyebabkan peningkatan daya hambat bakteri yg signifikan.

Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yg larut dalam air, yg berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Karena sifat larut air inilah yg menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid dan tanin pada *S. poliantumese* bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yg bersifat polar dari pada lapisan lipid yg non polar. Hal tersebut menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar dari pada bakteri gram negatif²⁰.

Zon of inhibition (ZOL) Kombinasi Eksrtak Mettanolik Daun *S. poliantumedennan* (EMSA) dan Dekokta Daun *S. poliantumedennan* Amokssisilinn (DSA) terhadap *Eescihierichia coli*

Uji ZOL kombinasi EMSA (ATT+HTB) bersifat *Not distinguishable*/tidak berbeda dari penggunaan tunggalnya pada *Escherichia coli* karena efek kombinasi tidak ada perbedaan dari penggunaan tunggalnya dilihat pada diameter ZOL yg tidak terbentuk. Amokssisilinn memiliki pH 4-5 sedangkan *Escherichia coli* dapat tumbuh maksimal pada pH 7,5-7. Ketidak simbangan pH inilah yg membuat amokssisilinn tidak dapat bekerja maksimal²³. Sifat *Not distinguishable* juga dapat terjadi karena tidak adanya interaksi yg saling menguatkan atau mengganggu antara amoksilin dengan ekstrak meithanolik daun *Syzygium polyanthum*.

Uji ZOL kombinasi EMSA (ADR+HTB, ATT+HDR, ADR+HDR) dan DSA (ADR+HDR) bersifat antagonis pada *Escherichia coli* karena

didaptkan penurunan diameter ZOL dibandingkan ZOL tunggalnya. Pada penelitian ini pengenceran akhir tidak menggunakan dapar, dimana dapar adalah buffer pH pada amokssisilinn yg menjaga efektivitas dan stabilitas dari amokssisilinn yg bekerja maksimal pada pH 3,5-6. Pemilihan pH penting karena dapat mempengaruhi kelarutan dan laju disolusi obat atau kecepatan efek yg diberikan obat terhadap target sehingga dapat mempengaruhi hasil uji ZOL tunggal maupun kombinasi²⁴. Fafktor media yg kurang terstandar juga dapat mempengaruhi hasil ZOL, seperti volume media NA yg dituangkan pada setiap *plate* dan proses peletakan *plate* pada *Bio Safety Cabinet* yg miring sehingga ketebalan NA pada setiap *plate* berbeda yg diduga mempengaruhi luas Zon hambat kombinasi antibiotik dan herbal, faktor *human error* juga menjadi salah satu bias yg mempengaruhi tingginya nilai standar deviasi yakni pada saat melakukan penetesan antibiotik dan herbal ke dalam *plate* yg menyebabkan konsentrasi antibiotik dan herbal kurang sesuai dengan dosis yg telah ditentukan¹⁵. Akan tetapi, senyawa aktif flavonoid dari ekstrak metanol daun *S. polyanthum* memiliki karakteristik yg tidak tahan terhadap panas²⁵. Hal ini diduga dapat menjadi penyebab adanya penurunan kadar flavonoid pada ekstrak metanol daun *S. polyanthum* yg berdampak pada aktivitas antibakteri yg ditimbulkan. Daun *S. poliantumese* mengandung banyak senyawa metabolit primer maupun sekunder, beberapa diantaranya tidak berpotensi sebagai antibakteri¹⁵. Kandungan daun *S. polyanthum* yang beragam diduga menyebabkan amokssisilinn menjadi kurang efektif atau lebih sulit bekerja pada *Escherichia coli*.

Sedangkan pada uji ZOL kombinasi DSA (ADT+HDT, ADT+HDR, ADR+HDT) pada *Escherichia coli* bersifat sinergis didapatkan peningkatan diameter ZOL yang tidak signifikan ($p>0.05$) dibanding ZOL tunggalnya. Interaksi yg saling menguatkan antara amokssisilinn dengan dekokta daun *S. polyanthum* diduga dapat menyebabkan peningkatan daya hambat bakteri yg signifikan. Kandungan senyawa aktif tanin dan saponin dari dekokta *S. polyanthum* lebih sensitif menghambat bakteri gram negatif, dimana pada bakteri gram negatif memiliki tekanan osmotik yg lebih kecil diduga dapat mempengaruhi kondisi senyawa aktif dari dekokta daun salam. Sehingga kombinasi DSA lebih efektif terhadap *Escherichia coli* daripada *Staepleylococcus aureusi*. Apabila dua obat atau lebih diberikan bersamaan, maka yang satu dapat menjadi interaktan dari yang lainnya. Ini dapat menyebabkan kerja obat berubah, terjadi sinergisme, potensiasi, aditif, antagonisme, atau kerja obat berkurang/terhambat²⁷.

KESIMPULAN

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

1. Penambahan ekstrak meithanolik daun *S. poliantum* meningkatkan kerja amoksisilinn terhadap *Staepleylococcus aureusi*.
2. Penambahan ekstrak meithanolik daun *S. poliantum* meningkatkan kerja amoksisilinn terhadap *Staepleylococcus aureusi* *Escherichia coli*.
3. Penambahan dekokta daun *S. poliantum* meningkatkan kerja amoksisilinn terhadap *Staepleylococcus aureusi* dan *Escherichia coli*.
4. Penambahan dekokta daun *S. poliantum* tidak meningkatkan kerja amoksisilinn terhadap *Escherichia coli*.
2. Melakukan penelitian lanjutan dengan meminimalisir terjadinya bias pada larutan amoksisilinn menggunakan pelarut yg sesuai, strain bakteri yg terstandarisasi, dan tanaman herbal yg terstandarisasi.
3. Melakukan uji *in vivo* untuk mengetahui respon kombinasi dari daun *S. polyanthum* sebagai terapi tambahan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) sebagai sumber dana dalam penelitian.

SARAN

Adapun beberapa saran untuk meningkatkan penelitian ini di masa mendatang antara lain :

1. Melakukan uji fitokimia untuk mengetahui perbedaan jenis dan kadar senyawa antibakteri pada ekstrak metanolik dan dekokta daun *Syzygium polyanthum*.