

**Efek Penambahan Fraksi Semi Polar (F8-F13) Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri*, L. Terhadap Daya Hambat Amoxicillin atau Chloramphenicol pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli***

Gizella Kurnia Wardhani, Faisal, Rio Risandiansyah\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang  
Email: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Resistensi antibiotik merupakan masalah global. Salah satu solusi dalam menangani resistensi adalah dengan penggunaan antibiotik disertai pemberian herbal sebagai adjuvan. Senyawa aktif herbal dapat meningkatkan aktivitas antibiotik sehingga berpotensi sebagai adjuvan antibiotik. Ekstrak kasar *Phyllanthus niruri*, L. diketahui memiliki interaksi yang berbeda-beda ketika dikombinasikan dengan antibiotik amoxicillin dan chloramphenicol dalam menghambat *E. coli* dan *S. aureus* yang disebabkan banyaknya senyawa dalam ekstrak tersebut. Oleh sebab itu, penelitian ini akan melakukan pemisahan gabungan senyawa aktif ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. serta melakukan pengujian interaksi dengan antibiotik.

**Metode:** Ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. didapatkan dengan metode maserasi dilanjutkan proses fraksinasi menggunakan eluen etil asetat : metanol (90:10). Uji Zona Inhibisi (ZOI) menggunakan metode Kirby-Bauer. Interaksi antibiotik dan senyawa aktif herbal dihitung menggunakan metode Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST). Uji fitokimia menggunakan pereaksi dragendorff, FeCl<sub>3</sub>, dan formaldehyde disertai Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

**Hasil:** Fraksi dengan eluen etil asetat : metanol (90:10) menghasilkan 6 fraksi yaitu F8-F13. Fraksi F9 memiliki interaksi antagonis dengan chloramphenicol dalam menghambat *E. coli* dengan ZOI kombinasi 11,3 ± 1,7 mm dan ZOI antibiotik tunggal 13,6 ± 0,5 mm. Fraksi F11 memiliki interaksi potensiasi dengan chloramphenicol dalam menghambat *E. coli* dengan ZOI kombinasi 12,3 ± 2,1 mm dan ZOI antibiotik tunggal 0 ± 0 mm. Fraksi F11 juga memiliki interaksi potensiasi dengan amoxicillin dalam menghambat *E. coli* dengan ZOI kombinasi 11,3 ± 1,7 mm dan ZOI antibiotik tunggal 0 ± 0 mm. Sedangkan pada fraksi lain memiliki interaksi *not distinguishable*. Fraksi F9, F11, F12, dan F13 memiliki senyawa fenol dengan jenis senyawa berbeda.

**Kesimpulan:** Fraksi F9 bersifat antagonis dengan chloramphenicol dalam menghambat *E. coli*. F11 bersifat potensiasi dengan amoxicillin dan chloramphenicol dalam menghambat *E. coli*. Fraksi F9, F11, F12 dan F13 mengandung senyawa aktif fenol. Pada F8 dan F10 tidak mengandung senyawa yang diujikan.

**Kata Kunci:** *Phyllanthus niruri*, L., Amoxicillin, Chloramphenicol, Zona Inhibisi, Kombinasi Antibiotik.

**Inhibitory Effects of Semipolar Methanolic Fraction (F8-F13) *Phyllanthus niruri*, L. Extract Combination with Amoxicillin or Chloramphenicol on *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli***

Gizella Kurnia Wardhani, Faisal, Rio Risandiansyah\*  
Faculty of Medicine the University of Islam Malang  
Email: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id)

**ABSTRACT**

**Introduction:** Antibiotic resistance continues to be a global problem. Alternative solution in decreasing the antibiotic resistance is by using antibiotics along with the combination of herbs as adjuvants. Herb contains active compound which increase antibiotic activity so it potentials to be an antibiotic adjuvant. Crude extract *Phyllanthus niruri*, L. has different interaction when combined with amoxicillin and chloramphenicol against *E. coli* and *S. aureus* because their crude extract contains many active compound.. Therefore, this reasearch would separete the active compound *Phyllanthus niruri*, L. and test interactions with antibiotics.

**Methods:** *Phyllanthus niruri*, L. methanolic extract was obtained by maceration method followed by the fractionation process using ethyl acetate : methanol eluent (90:10). Zone of Inhibition (ZOI) test was used Kirby-Bauer method. Antibiotic and herb active compound interaction determined using Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST). Phytochemical test interpreted by using dragendorff, FeCl<sub>3</sub>, and formaldehyde reagent and Thin Layer Chromatography (TLC).

**Results:** The fraction with ethyl acetate : methanol eluent (90:10) obtained 6 fractions, F8-F13. F9 fraction and chloramphenicol showed antagonist interaction against *E. coli* with ZOI combination 11,3 ± 1,7 mm and ZOI single antibiotic 13,6 ± 0,5mm. F11 fraction and chloramphenicol also showed potentiation interaction against *E. coli* with ZOI combination 12,3 ± 2,1 mm and ZOI single antibiotic 0 ± 0 mm. F11 fraction and amoxicillin showed potentiation interaction againgt *E. coli* with ZOI combination 11,3 ± 1,7 mm and ZOI single antibiotic 0 ± 0 mm. And the other fractions have not distinguishable interactions. F9, F11, F12, and F13 fractions contain phenolic compound with different structure.

**Conclusion:** F9 fraction with chloramphenicol showed antagonist interaction against *E. coli*. and F11 fraction with amoxicillin and chloramphenicol showed potentiation interaction against *E. coli*. In F9, F11, F12 and F13 has phenol contain. F8 and F10 showed no tested active compound.

**Keywords:** *Phyllanthus niruri*, L., Amoxicillin, Chloramphenicol, Zone of Inhibition, Antibiotic Combination.

## PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar tidak saja di Indonesia, tetapi juga di seluruh dunia.<sup>1</sup> Infeksi adalah suatu keadaan yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen yang dapat disertai atau tanpa disertai gejala klinik.<sup>2</sup> Antibiotik merupakan obat yang digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri.<sup>3</sup> Salah satu khasiat antibiotik memiliki efek membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>4</sup> Saat ini *Multiple Antibiotic Resistance* (MAR) pada bakteri menjadi perhatian utama dan resistensi menjadi masalah serius yang mengancam sistem pengobatan modern sehingga perlu pengendalian resistensi antimikroba.<sup>5</sup>

Upaya untuk mengatasi resistensi bakteri juga dapat dilakukan dengan kombinasi antibiotik.<sup>4</sup> Terapi kombinasi dapat digunakan untuk memperluas spektrum antibakteri, meminimalisasi toksisitas, dan memperoleh aktivitas antibakteri yang sinergis.<sup>6</sup> Senyawa aktif dari herbal jika dikombinasi dengan antibiotik dapat memberikan efek sinergis, antagonis maupun aditif.<sup>7</sup> Beberapa penelitian mengenai kombinasi antara antibiotik dengan herbal telah banyak dilakukan, salah satunya pada tanaman daun Sirih (*Piper betle*, L.) yang dikombinasikan dengan *amoxicillin* dan mendapatkan hasil antagonis terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*,<sup>8</sup> dimana efek agen kombinasi lebih rendah dibandingkan dengan efek agen tunggalnya.<sup>9</sup>

Pada penelitian sebelumnya oleh Putri *et al* (2018) mengenai kombinasi ekstrak kasar meniran (*Phyllanthus niruri*, L.) dan *chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* mendapatkan hasil yang menandakan tidak adanya interaksi antara herbal dengan antibiotik terhadap bakteri dalam meningkatkan maupun menurunkan daya hambat ataupun daya bunuh pada bakteri.<sup>10</sup> Sedangkan pada uji yang sama ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. dengan *amoxicillin* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* mendapatkan hasil sinergis dan antagonis,<sup>10</sup> hasil yang berlawanan ini diduga karena senyawa yang didapatkan dari ekstrak herbal masih berupa senyawa campuran yang mempengaruhi interaksi dengan antibiotik terhadap bakteri.<sup>11</sup>

Pada hasil penelitian diatas, diketahui bahwa ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. dapat mempengaruhi kerja antibiotik *amoxicillin* atau *chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus* atau *E. coli*, namun senyawa spesifik yang mempengaruhi aktivitas *Phyllanthus niruri*, L. pada kinerja dari antibiotik terhadap bakteri belum diketahui. Beberapa penelitian mengenai fraksinasi dan uji aktivitas antibakteri telah dilakukan, salah satunya penelitian Susilo (2019) mengenai efek penambahan fraksi semi polar ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. terhadap daya hambat *amoxicillin* dan *chloramphenicol* terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang didapatkan hasil yang sinergis dan memiliki kandungan senyawa saponin.<sup>12</sup>

Pada penelitian ini akan dilakukan pemisahan kandungan senyawa aktif ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. berdasarkan kepolarannya dengan metode fraksinasi, dengan mengambil fraksi F8-F13 karena memiliki sifat semi polar. Senyawa aktif yang dapat terkandung di dalam fraksi F8-F13 adalah *phyllanthin*, *phyltetralin*, *hypophyllanthin*, *quercetin* dan sebagainya, yang memungkinkan memiliki aktivitas antibakteri ataupun dapat berinteraksi dengan antibiotik yang digunakan. Interaksi antara masing-masing fraksi semi polar ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. dengan *amoxicillin* atau *chloramphenicol* dinilai dari menghitung perubahan *Zone of Inhibition* (ZOI) terhadap bakteri *E. coli* atau *S. aureus*. Serta untuk mengetahui jenis senyawa aktif dari fraksi semi polar (F8-F13) ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. melalui uji KLT dan uji fitokimia.

## METODE PENELITIAN

### Desain Penelitian

Rancangan penelitian ini dengan menggunakan cara *in vitro*, dilakukan untuk mengetahui efek dari kombinasi fraksi F8-F13 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *amoxicillin* atau *chloramphenicol* terhadap perubahan diameter *Zone of Inhibition* (ZOI) kombinasi dengan bakteri *S. aureus* atau *E. coli*. Pengujian fitokimia herbal *Phyllanthus niruri*, L. juga dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung didalamnya.

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan sejak Januari hingga April 2019 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Herbal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

### Pembuatan Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri*, L.

Pembuatan ekstraksi *Phyllanthus niruri*, L. menggunakan metode maserasi yang diawali dengan mempersiapkan simplisia herbal *Phyllanthus niruri*, L. dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Simplisia herbal sebanyak 200 g dicampurkan dengan metanol PA 96% sebanyak 2000 ml, dibagi rata kedalam 5 buah erlenmeyer ukuran 500 ml. Setiap erlenmeyer yang sudah tercampur 40 g simplisia dan 400 ml metanol PA 96% ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama 24 jam pada *shaker water bath*. Hasil ekstrak disaring menggunakan *vacum buchner* untuk memperoleh filtrat dan dilakukan evaporasi menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 55°C hingga volume filtrat berkurang dan menjadi kental. Hasil ekstrak disimpan dalam oven dengan suhu 40°C selama 3-5 hari. Ekstrak diencerkan menggunakan metanol 96% dalam hitungan 100 mg/ml dan disimpan dalam kulkas.

### Metode Fraksinasi *Phyllanthus niruri*, L.

Fraksinasi dilakukan menggunakan kromatografi kolom berdiameter 2 cm dan panjang kolom 30 cm, dengan fasa diam (silica gel) dan fasa gerak yang terdiri dari pelarut polar hingga non polar (etil asetat dan metanol). Susunan pada fraksi yaitu pada bagian paling bawah diisi dengan kertas saring, dilanjutkan diisi glass wool, lalu  $\pm 2/3$  kolom diisi dengan silica, herbal 2 g dengan silica 3 g dicampurkan. Setelah tersusun, dimasukkan pelarut ke dalam kolom dengan urutan dan perbandingannya yaitu : (1) 100 % etil asetat, (2) 90 etil asetat : 10 metanol, (3) 75 etil asetat : 25 metanol, (4) 50 etil asetat : 50 metanol, (5) 25 etil asetat : 75 metanol, (6) 100% metanol. Fraksi F8-F13 didapatkan dari pelarut kedua.

Hasil fraksi yang didapat ditampung pada tabung reaksi. Setelah terisi 10 ml, hasil fraksi dipindahkan ke dalam vial. Selain itu, mengganti setiap tabung reaksi jika terdapat perubahan warna pada tetesan yang keluar walaupun belum mencapai 10 ml atau sesuai dengan pergantian dari pelarut. Fraksi dalam vial ditimbang, dan dituang ke dalam eppendorf sebanyak 1 ml.

### Pembuatan Larutan Antibiotik

Pembuatan larutan antibiotik dimulai dengan mempersiapkan kapsul *chloramphenicol* serbuk 1000 mg dan tablet *amoxicillin* 1000 mg. Masing-masing antibiotik tersebut dilarutkan ke dalam 10 ml aquadest steril hingga didapatkan konsentrasi 100 mg/ml.

### Kromatografi Lapis Tipis

Setelah fraksi didapatkan, dilakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui hasil fraksi yang memiliki senyawa yang sama dimana akan digabungkan kedalam satu fraksi. KLT menggunakan F<sub>254</sub> silica plate dengan pelarut 3 ml etil asetat : 7 ml metanol. Plat KLT yang telah diaktivasi (di dalam oven selama 15 menit dengan suhu 50°C) kemudian ditetesi dengan menggunakan *yellow tip* sebanyak 50-100  $\mu$ l. Setelah kering, plat KLT dimasukkan kedalam chamber berisi eluen dan didiamkan, ditunggu hingga pelarut naik sampai batas garis atas pada plat. Plat dikeluarkan dan hasilnya diamati. Hasil nilai *R<sub>f</sub>* yaitu dengan membagi jarak tempuh zat (jarak noda) dengan jarak tempuh pelarut (jarak eluasi).

### Uji Fitokimia *Phyllanthus niruri*, L.

Uji pertama skrining fitokimia yang dilakukan adalah menentukan kandungan alkaloid, dengan menggunakan reagen *dragendorff* yang disemprotkan pada KLT yang sudah ditotoli fraksi (F8-F13) ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. kemudian diamati perubahan warnanya dan dicatat nilai *R<sub>f</sub>*. Jika terbentuk endapan keruh dan terjadi perubahan warna jingga – kecoklatan, menunjukkan sampel mengandung senyawa aktif alkaloid.

Uji kandungan fenol dilakukan dengan menggunakan reagen *ferric chloride* (FeCl<sub>3</sub>) yang

disemprotkan pada KLT yang sudah ditotoli fraksi (F8-F13) ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. KLT yang sudah disemprot dipanaskan selama 10 menit dengan pemanasan hingga 110°C, kemudian diamati dan dicatat perubahan warnanya. Perubahan warna biru, menunjukkan sampel mengandung senyawa aktif fenolik.

Deteksi kandungan steroid alkaloid, steroid, sapogenin dan derivat phenothiazine dengan menggunakan reagen *formaldehyde* yang disemprotkan pada KLT yang telah ditotoli fraksi (F8-F13) ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. KLT didiamkan pada suhu ruang hingga kering, kemudian diamati dan dicatat perubahan warnanya. Hasil dikatakan mengandung senyawa aktif jika terjadi perubahan warna kecoklatan.

### Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode *Pour Plate*

Metode *Pour plate* dilakukan dengan cara mempersiapkan inokulum menggunakan spektrofotometer. Koloni bakteri diambil menggunakan Oshe steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% steril 10 ml hingga warna berubah menjadi keruh. Larutan dilakukan homogenisasi menggunakan *vortex mixer*. Sampel bakteri diambil sebanyak 1 ml dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai absorbansi dicatat dan dilakukan pengenceran dengan target OD600 nm adalah 0,2.

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

Pembuatan media agar dibuat sesuai dengan instruksi dari produsen media yaitu dengan perbandingan nutrient agar dan aquadest 20 g/L, dan disterilisasi menggunakan autoklaf. Inokulum dimasukkan sebanyak 1% dari media (10 ml/1L media) kedalam media agar. Media dituang ke dalam cawan petri 90 mm sehingga mengisi setengah tinggi cawan (kira kira 20-25 ml pada cawan 90 mm).<sup>13</sup>

### Zone of Inhibition (ZOI)

Uji ZOI dilakukan dengan metode sumuran pada media agar. Biakan agar dilubangi dengan *cork borer* diameter 6 mm sebanyak 10 lubang dengan pola 3-4-3 lubang, dan diisi dengan fraksi aktif herbal tunggal, antibiotik tunggal, dan kombinasi keduanya.

Uji ZOI kombinasi herbal dan antibiotik dilakukan dengan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) untuk menilai efek kombinasi keduanya. Sumuran media agar diisi menggunakan dosis yang sudah ditentukan. Jika ditemukan zona bening disekitar lubang menunjukkan bahwa terdapat zona hambat pada pertumbuhan bakteri.<sup>14</sup> Media agar diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. *Clear zone* yang terbentuk diukur menggunakan penggaris dengan satuan mm.

Berdasarkan hasil penelitian uji ZOI tunggal antibiotik yang dilakukan oleh Wardati (2019) menunjukkan bahwa *amoxicillin* memiliki luas ZOI lebih besar daripada *chloramphenicol* pada bakteri *S. aureus* sedangkan pada bakteri *E. coli*, luas ZOI *chloramphenicol* lebih besar dibandingkan dengan *amoxicillin*.<sup>15</sup>

#### Metode Penentuan Jenis Interaksi

Hasil ZOI diinterpretasikan menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST). Hasil sinergis jika diameter zona bening pada kombinasi herbal dengan antibiotik (A+B) lebih besar daripada herbal tunggal (A) dan antibiotik tunggal (B), dan lebih kecil atau lebih besar dari kombinasi herbal (AA) dan atau kombinasi antibiotik (BB). Hasil antagonis jika didapatkan hasil A+B lebih kecil dari A ataupun B. dikatakan aditif jika A+B sama dengan AA atau BB. Hasil potensial jika A atau B didapatkan sama dengan 0, A+B lebih besar dari A dan B, dan lebih kecil atau lebih besar dari AA dan/atau BB. Hasil *Not distinguishable* apabila A+B sama dengan salah satu dari A atau B.<sup>16</sup>

#### Analisa Data Statistik

Pembacaan hasil ZOI tunggal dan kombinasi dilakukan menggunakan mistar dengan tingkat ketelitian 1 mm dan dimasukkan pada *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapatkan rata-rata dan standar deviasi. Uji Statistik penelitian ini menggunakan uji parametrik independent T-Test untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara variabel ZOI tunggal dan ZOI kombinasi pada setiap fraksi aktif herbal yang diujikan. Hasil ZOI akan diinterpretasikan menggunakan metode AZDAST.<sup>16</sup>

### HASIL

#### Hasil Uji ZOI Secara Tunggal pada Pengujian Fraksi (F8-F13) *Phyllanthus niruri*, L. terhadap *S. aureus*

Pengukuran ZOI kombinasi herbal dan antibiotik diukur dengan memperhatikan panjang diameter zona bening (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar sumuran dalam satuan mm. Dapat disimpulkan bahwa pada pengujian tunggal fraksi herbal *Phyllanthus niruri*, L. dengan dosis 15 µl pada bakteri *S. aureus* semua fraksi memiliki zona inhibisi terhadap bakteri *S. aureus*. Aktivitas yang paling tinggi terdapat pada fraksi F9 dengan ZOI  $9,3 \pm 0,5$  mm dan aktivitas paling rendah terdapat pada fraksi F8 dengan ZOI  $0 \pm 0$  mm (**Tabel 1**).

Pada pengujian tunggal fraksi herbal *Phyllanthus niruri*, L. dengan dosis 30 µl aktivitas paling tinggi terdapat pada F12F12 dengan ZOI  $9,6 \pm 0,5$  mm dan yang memiliki aktivitas paling rendah pada F8F8 dengan ZOI  $0 \pm 0$  mm (**Tabel 1**).

#### Hasil Uji ZOI Kombinasi antara Herbal *Phyllanthus niruri*, L. dengan Antibiotik *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* terhadap *S. aureus*

Pengujian kombinasi antara fraksi *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *chloramphenicol* didapatkan hasil bahwa fraksi F8-F13 tidak signifikan yaitu  $p > 0,05$  setelah dilakukan uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test*, sehingga fraksi F8-F13 memiliki interaksi *not distinguishable* (**Tabel 1**).

Pada pengujian kombinasi dengan antibiotik *amoxicillin* fraksi F8-F13 di dapatkan hasil yang tidak signifikan yaitu  $p > 0,05$  setelah dilakukan uji statistik non parametrik *Mann-Whitney*, dan semua interaksi pada fraksi F8-F13 adalah *not distinguishable* (**Tabel 1**).

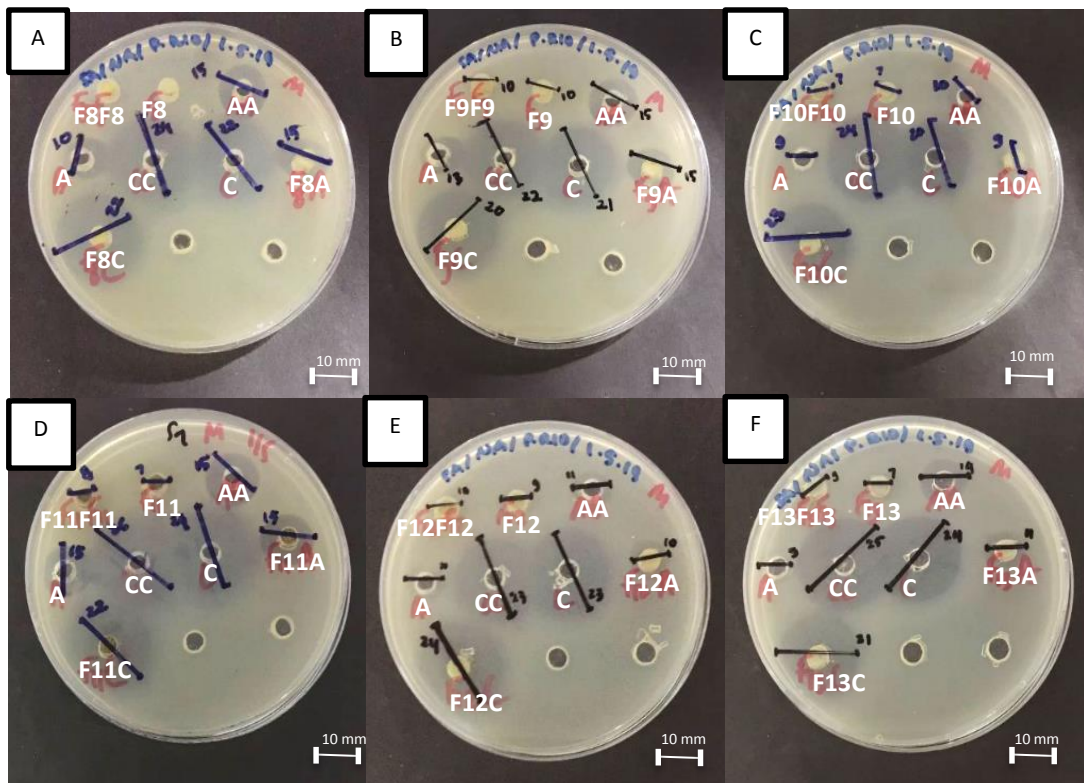
#### Hasil Uji ZOI Secara Tunggal pada Pengujian Fraksi (F8-F13) *Phyllanthus niruri*, L. terhadap *E. coli*

Pengujian tunggal fraksi herbal *Phyllanthus niruri*, L. dengan dosis 15 µl pada bakteri *E. coli* tidak semua fraksi memiliki ZOI. Fraksi yang memiliki ZOI tertinggi yaitu pada fraksi F11 dengan ZOI  $10,3 \pm 1,1$  mm, dan pada fraksi lainnya tidak didapatkan hasil ZOI. Sedangkan, pada pengujian fraksi herbal *Phyllanthus niruri*, L. tunggal dengan dosis 30 µl hanya fraksi F9 yang memiliki ZOI dengan hasil  $11,3 \pm 1,1$  mm (**Tabel 1**).

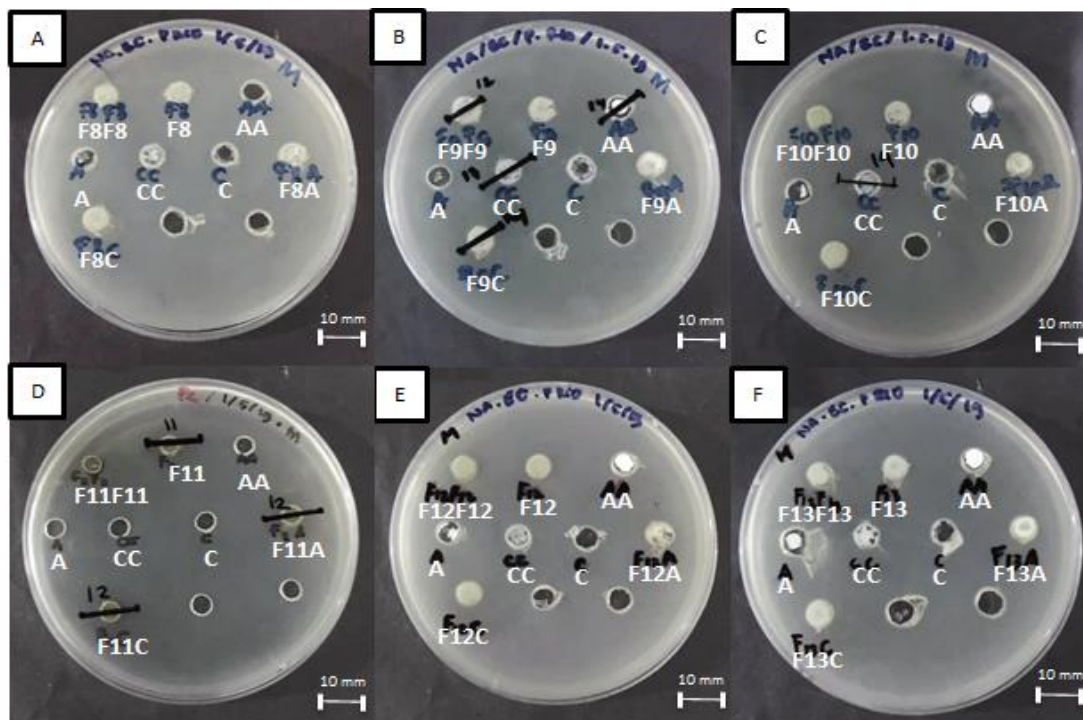
#### Hasil Uji ZOI Kombinasi Antara Herbal *Phyllanthus niruri*, L. dengan Antibiotik *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* terhadap *E. coli*

Kombinasi antara herbal *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *amoxicillin* dengan dosis 15 µl pada bakteri *E. coli* fraksi F11 didapatkan hasil yang signifikan yaitu  $p < 0,05$  setelah diukur dengan uji statistik non parametrik *Mann-Whitney Test* dan didapatkan jenis interaksi potensiasi. Sedangkan, pada fraksi lainnya didapatkan hasil yang tidak signifikan yaitu  $p > 0,05$  setelah dilakukan uji statistik *Mann-Whitney Test*, dan didapatkan jenis interaksi *not distinguishable* (**Tabel 1**).

Sama halnya dengan uji kombinasi antara fraksi *Phyllanthus niruri*, L. dengan antibiotik *chloramphenicol* dengan dosis 15 µl, fraksi F9 dan F11 didapatkan hasil yang signifikan yaitu  $p < 0,05$  setelah dilakukan uji statistik *Mann-Whitney Test*, dan didapatkan jenis interaksi antagonis dan potensiasi. Sedangkan pada fraksi lainnya didapatkan hasil yang tidak signifikan yaitu  $p > 0,05$  setelah dilakukan uji statistik *Mann-Whitney Test*, dan didapatkan jenis interaksi *not distinguishable* (**Tabel 1**).



**Gambar 1** Hasil ZOI Tunggal dan Kombinasi Fraksi *Phyllanthus niruri*, L. dan Antibiotik pada *S. aureus*; **A.** Fraksi 8 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L., F8F8= Fraksi 8 dosis 30  $\mu$ l, F8= Fraksi 8 dosis 15  $\mu$ l, AA= Amoxicillin dosis 30  $\mu$ l, A= Amoxicillin dosis 15  $\mu$ l, CC= Chloramphenicol dosis 30  $\mu$ l, C= Chloramphenicol dosis 15  $\mu$ l, F8A= Kombinasi fraksi 8 dan Amoxicillin, F8C= Kombinasi fraksi 8 dan Chloramphenicol; **B.** Fraksi 9 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **C.** Fraksi 10 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **D.** Fraksi 11 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **E.** Fraksi 12 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **F.** Fraksi 13 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.



**Gambar 2** Hasil ZOI Tunggal dan Kombinasi Fraksi *Phyllanthus niruri*, L. dan Antibiotik pada Bakteri *E. coli*; **A.** Fraksi 8 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L., F8F8= Fraksi 8 dosis 30  $\mu$ l, F8= Fraksi 8 dosis 15  $\mu$ l, AA= Amoxicillin dosis 30  $\mu$ l, A= Amoxicillin dosis 15  $\mu$ l, CC= Chloramphenicol dosis 30  $\mu$ l, C= Chloramphenicol dosis 15  $\mu$ l, F8A= Kombinasi fraksi 8 dan Amoxicillin, F8C= Kombinasi fraksi 8 dan Chloramphenicol; **B.** Fraksi 9 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **C.** Fraksi 10 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **D.** Fraksi 11 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **E.** Fraksi 12 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.; **F.** Fraksi 13 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L.



**Tabel 1. Rerata dalam Tiga Kali Pengulangan Hasil Pengukuran Zona Inhibisi pada Pengujian Bersama antara Kombinasi Fraksi *Phyllanthus niruri*, L. dengan Amoxicillin atau Chloramphenicol terhadap *S. aureus* atau *E. coli***

| No.<br>Fraksi | Sampel | Amoxicillin |           |            |            | Sampel | Chloramphenicol |           |            |            |
|---------------|--------|-------------|-----------|------------|------------|--------|-----------------|-----------|------------|------------|
|               |        | S. aureus   |           | E. coli    |            |        | S. aureus       |           | E. coli    |            |
|               |        | Rerata±     | Jenis     | Rerata±    | Jenis      |        | Rerata±         | Jenis     | Rerata±    | Jenis      |
|               |        | SD<br>(mm)  | Interaksi | SD<br>(mm) | Interaksi  |        | SD<br>(mm)      | Interaksi | SD<br>(mm) | Interaksi  |
| 8             | F8F8   | 0 ± 0       |           | 0 ± 0      |            | F8F8   | 0 ± 0           |           | 0 ± 0      |            |
|               | F8     | 0 ± 0       | Not       | 0 ± 0      | Not        | F8     | 0 ± 0           | Not       | 0 ± 0      | Not        |
|               | AA     | 11,6 ± 2,8  | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  | CC     | 22,6 ± 1,2      | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  |
|               | A      | 8 ± 2       | shable    | 0 ± 0      | shable     | C      | 20,6 ± 1,2      | shable    | 0 ± 0      | Shable     |
|               | F8A    | 10,6 ± 3,7  |           | 0 ± 0      |            | F8C    | 21 ± 1,7        |           | 0 ± 0      |            |
| 9             | F9F9   | 9 ± 1       |           | 11,3 ± 1,1 |            | F9F9   | 9 ± 1           |           | 11,3±1,1   |            |
|               | F9     | 9,3 ± 0,5   | Not       | 0 ± 0      | Not        | F9     | 9,3 ± 0,5       | Not       | 0 ± 0      |            |
|               | AA     | 11 ± 3,4    | Distingui | 11,6 ± 2,1 | Distingui  | CC     | 20 ± 1,7        | Distingui | 13,6± 0,5  | Antagonis  |
|               | A      | 10,6 ± 2,1  | shable    | 0 ± 0      | shable     | C      | 18,6 ± 2,5      | shable    | 0 ± 0      |            |
|               | F9A    | 11.3 ± 8,5  |           | 0 ± 0      |            | F9C    | 17 ± 3          |           | 12,3± 2,1  |            |
| 10            | F10F10 | 7 ± 0       |           | 0 ± 0      |            | F10F10 | 7 ± 0           |           | 0 ± 0      |            |
|               | F10    | 7 ± 0       | Not       | 0 ± 0      | Not        | F10    | 7 ± 0           | Not       | 0 ± 0      | Not        |
|               | AA     | 9,6 ± 0,5   | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  | CC     | 23,6 ± 0,5      | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  |
|               | A      | 8,6 ± 0,5   | shable    | 0 ± 0      | shable     | C      | 21 ± 2,6        | shable    | 0 ± 0      | shable     |
|               | F10A   | 9 ± 0       |           | 0 ± 0      |            | F10C   | 21,3 ± 1,5      |           | 0 ± 0      |            |
| 11            | F11F11 | 8,6 ± 2,1   |           | 0 ± 0      |            | F11F11 | 8,6 ± 2,1       |           | 0 ± 0      |            |
|               | F11    | 8 ± 1,7     | Not       | 10,3 ±1,1  |            | F11    | 8 ± 1,7         | Not       | 10,3±1,1   |            |
|               | AA     | 13,3 ± 2,8  | Distingui | 0 ± 0      | Potensiasi | CC     | 24,6 ± 1,5      | Distingui | 0 ± 0      | Potensiasi |
|               | A      | 11 ± 4      | shable    | 0 ± 0      |            | C      | 24 ± 0          | shable    | 0 ± 0      |            |
|               | F11A   | 12,6 ± 2,1  |           | 11,3 ±1,7  |            | F11C   | 23,3 ± 1,1      |           | 11,3±1,7   |            |
| 12            | F12F12 | 9,6 ± 0,5   |           | 0 ± 0      |            | F12F12 | 9,6 ± 0,5       |           | 0 ± 0      |            |
|               | F12    | 8,6 ± 0,5   | Not       | 0 ± 0      | Not        | F12    | 8,6 ± 0,5       | Not       | 0 ± 0      | Not        |
|               | AA     | 9,6 ± 1,2   | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  | CC     | 25 ± 2,6        | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  |
|               | A      | 9 ± 1       | shable    | 0 ± 0      | shable     | C      | 24 ± 1          | shable    | 0 ± 0      | shable     |
|               | F12A   | 9,3 ± 0,5   |           | 0 ± 0      |            | F12A   | 24,6 ± 1,1      |           | 0 ± 0      |            |
| 13            | F13F13 | 9 ± 0       |           | 0 ± 0      |            | F13F13 | 9 ± 0           |           | 0 ± 0      |            |
|               | F13    | 7 ± 0       | Not       | 0 ± 0      | Not        | F13    | 7 ± 0           | Not       | 0 ± 0      | Not        |
|               | AA     | 10,6 ± 2,8  | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  | CC     | 23 ± 1,7        | Distingui | 0 ± 0      | Distingui  |
|               | A      | 8,3 ± 0,5   | shable    | 0 ± 0      | shable     | C      | 21 ± 2,6        | shable    | 0 ± 0      | shable     |
|               | F13A   | 8,3 ± 2,3   |           | 0 ± 0      |            | F13C   | 20,6 ± 0,5      |           | 0 ± 0      |            |

**Keterangan:** 8. Fraksi 8 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L., F8F8= Fraksi 8 dosis 30 µl, F8= Fraksi 8 dosis 15 µl, AA= Amoxicillin dosis 30 µl, A= Amoxicillin dosis 15 µl, CC= Chloramphenicol dosis 30 µl, C= Chloramphenicol dosis 15 µl, F8A= Kombinasi fraksi 8 dan Amoxicillin, F8C= Kombinasi fraksi 8 dan Chloramphenicol; 9. Fraksi 9 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. F9F9= Fraksi 9 dosis 30 µl, F9= Fraksi 9 dosis 15 µl, AA= Amoxicillin dosis 30 µl, A= Amoxicillin dosis 15 µl, CC= Chloramphenicol dosis 30 µl, C= Chloramphenicol dosis 15 µl, F9A= Kombinasi fraksi 9 dan Amoxicillin, F9C= Kombinasi fraksi 9 dan Chloramphenicol; 10. Fraksi 10 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. F10F10= Fraksi 10 dosis 30 µl, F10= Fraksi 10 dosis 15 µl, AA= Amoxicillin dosis 30 µl, A= Amoxicillin dosis 15 µl, CC= Chloramphenicol dosis 30 µl, C= Chloramphenicol dosis 15 µl, F10A= Kombinasi fraksi 10 dan Amoxicillin, F10C= Kombinasi fraksi 10 dan Chloramphenicol; 11. Fraksi 11 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. F11F11= Fraksi 11 dosis 30 µl, F11= Fraksi 11 dosis 15 µl, AA= Amoxicillin dosis 30 µl, A= Amoxicillin dosis 15 µl, CC= Chloramphenicol dosis 30 µl, C= Chloramphenicol dosis 15 µl, F11A= Kombinasi fraksi 11 dan Amoxicillin, F11C= Kombinasi fraksi 11 dan Chloramphenicol; 12. Fraksi 12 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. F12F12= Fraksi 12 dosis 30 µl, F12= Fraksi 12 dosis 15 µl, AA= Amoxicillin dosis 30 µl, A= Amoxicillin dosis 15 µl, CC= Chloramphenicol dosis 30 µl, C= Chloramphenicol dosis 15 µl, F12A= Kombinasi fraksi 12 dan Amoxicillin, F12C= Kombinasi fraksi 12 dan Chloramphenicol; 13. Fraksi 13 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. F13F13= Fraksi 13 dosis 30 µl, F13= Fraksi 13 dosis 15 µl, AA= Amoxicillin dosis 30 µl, A= Amoxicillin dosis 15 µl, CC= Chloramphenicol dosis 30 µl, C= Chloramphenicol dosis 15 µl, F13A= Kombinasi fraksi 13 dan Amoxicillin, F13C= Kombinasi fraksi 13 dan Chloramphenicol; SD= Standard Deviasi.

### Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui berbagai kandungan senyawa yang terdapat dalam tanaman yang berkaitan dengan struktur kimia dalam *Phyllanthus niruri*, L. menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang sudah ditetaskan fraksi *Phyllanthus niruri*, L. F8-F13 yang akan disemprotkan dengan reagen yang telah ditentukan. Pada penelitian ini, reagen yang digunakan adalah *dragendorff*, *formaldehyde*, dan  $\text{FeCl}_3$  dimana hasilnya dianggap positif jika terjadi perubahan warna. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada **Gambar 3** dan **Tabel 2**.

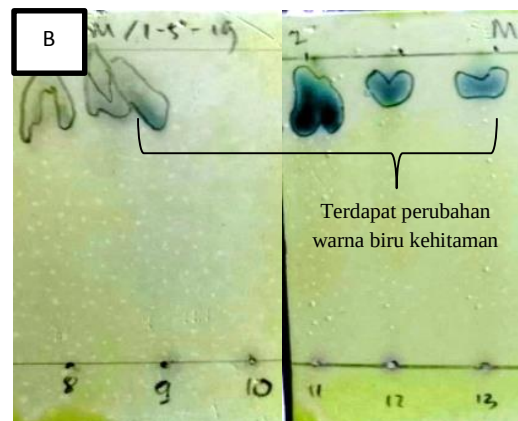
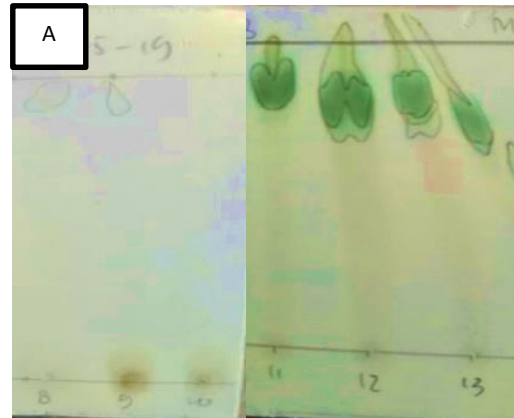
Pada uji reagen  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan bahwa pada fraksi F9, F11, F12, dan F13 didapatkan perubahan warna menjadi biru kehitaman yang positif menandakan pada fraksi tersebut mengandung fenol. Pada uji reagen lainnya yaitu reagen *dragendorff* dan *formaldehyde* tidak menunjukkan perubahan warna sehingga menandakan hasil negatif tidak mengandung alkaloid, steroid dan terpenoid (**Gambar 3** dan **Tabel 2**).

Nilai  $R_f$  merupakan parameter untuk menilai distribusi komponen dan pergerakan komponen senyawa terhadap pelarut. Semakin besar nilai  $R_f$ , maka semakin besar jarak senyawa tersebut bergerak pada plat KLT.

**Tabel 2. Hasil Perhitungan  $R_f$  pada KLT F8-F13**

| No. Fraksi | Reagent (Senyawa Aktif) |                   |                                 |
|------------|-------------------------|-------------------|---------------------------------|
|            | Alkaloid ( $R_f$ )      | Fenol ( $R_f$ )   | Steroid dan Terpenoid ( $R_f$ ) |
| F8         | - (0,92)                | - (0,84)          | - (0,94)                        |
| F9         | - (0,94)                | + ( <b>0,86</b> ) | - (0,94)                        |
| F10        | - (0,92)                | -                 | -                               |
| F11        | - (0,91)                | + ( <b>0,89</b> ) | - (0,86)                        |
| F12        | - (0,89)                | + ( <b>0,92</b> ) | - (0,82)                        |
| F13        | - (0,89)                | + ( <b>0,97</b> ) | - (0,85)                        |

**Keterangan** Hasil penyemprotan dengan reagen *Dragendorff* untuk uji senyawa alkaloid,  $\text{FeCl}_3$  untuk uji senyawa fenol dan *Formaldehyde* untuk uji senyawa steroid dan terpenoid pada fraksi F8-F13 ekstrak *Phyllanthus niruri*, L.  $R_f$  = Jarak tempuh substansi/Jarak tempuh pelarut (3,8 cm).



**Gambar 3** Hasil KLT F8-F13 ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. yang sudah disemprot reagen; A. Disemprot dengan reagen *dragendorff*; B. Disemprot dengan reagen  $\text{FeCl}_3$ ; C. Disemprot dengan reagen *formaldehyde* (Gambar disertai dengan perubahan kontras).

## PEMBAHASAN

### Daya Hambat Tunggal Fraksi F8-F13 *Phyllanthus niruri*, L. terhadap *S. aureus* atau *E. coli*

*Amoxicillin* dan *chloramphenicol* lebih efektif terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini dibuktikan oleh ukuran zona inhibisi *S. aureus* yang lebih besar dari pada *E. coli*. Hasil ini diduga disebabkan oleh perbedaan mekanisme kerja antibiotik dan struktur bakteri. *Amoxicillin* bekerja dengan cara berikatan dengan *penicillin binding protein* (PBP) sehingga menghambat sintesis peptidoglikan. Hambatan terhadap sintesis peptidoglikan menyebabkan terganggunya sintesis dinding selnya. Sedangkan *chloramphenicol* bekerja dengan cara berikatan dengan protein subunit 50S yang menyebabkan hambatan pada enzim *peptidyl transferase* sehingga menghambat sintesis protein bakteri menyebabkan metabolisme bakteri terganggu dan menimbulkan kematian sel bakteri.<sup>17</sup>

Bakteri gram negatif memiliki struktur yang berbeda dengan bakteri gram positif. Pada bakteri gram negatif seperti *E. coli* memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks yang terdiri dari *inner membrane* dan *outer membrane*. *Outer membrane* bakteri terbentuk dari glikolipid. *Outer membrane* berperan penting terhadap adaptasi dari bakteri gram negatif. *Outer membrane* terdiri dari beberapa enzim fosfolipase, protease, dan modifikasi dari lipopolisakarida. Pada bakteri gram positif tidak memiliki organel *outer membrane* sehingga lebih sensitif terhadap antibiotik. Pada bakteri gram positif memiliki struktur dinding yang sederhana yang terdiri dari asam teikoat, peptidoglikan, dan komponen membran luar yang terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida, dan membran periplasma.<sup>18</sup>

Fraksi F8-F13 *Phyllanthus niruri*, L. dalam dosis 30 µL memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Efek antibakteri ini diduga disebabkan oleh kandungan *quercetin*, *rutin*, *isoquercetin*, *corilagin*, *ellaginacid*, *hinokinin*. Senyawa aktif tersebut bekerja langsung terhadap dinding sel bakteri yang akan membuat bakteri lisis.<sup>11</sup> Seperti pada *quercetin* mampu berikatan dengan DNA girase bakteri yang berperan dalam replikasi DNA. *Quercetin* mengganggu kerja enzim girase sehingga proses replikasi DNA terhenti. Menurut Pelczar dan Chan (1988) mekanisme *quercetin* sebagai antibakteri berhubungan dengan pembentukan ikatan kompleks dengan protein pada membran (protein-fenol) sehingga menyebabkan permeabilitasnya turun. Ikatan kompleks yang telah terbentuk kemudian terurai dan berpenetrasi ke dalam sel sehingga terjadi koagulasi protein dan menyebabkan enzim bakteri tidak aktif. Akibatnya dinding sel bakteri tidak terbentuk dengan baik sehingga terjadi kebocoran sel dan bakteri mati. Bahwa dapat dikatakan senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi F8-F13 memungkinkan memiliki aktivitas antibakteri serta berinteraksi dengan antibiotik yang digunakan.<sup>19</sup>

### Daya Hambat Kombinasi Fraksi F8-F13 *Phyllanthus niruri*, L. dan *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* terhadap *S. aureus* atau *E. coli*

*Phyllanthus niruri*, L. memiliki fraksi yang bersifat antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Phyllanthus niruri*, L. memiliki fraksi F9 dan F11 yang efektif terhadap *E. coli* dan F9-F13 yang efektif terhadap *S. aureus*. Fraksi F9 dan fraksi F11-F13 mengandung senyawa fenol dengan jenis berbeda-beda sehingga menghasilkan efek yang berbeda.

Kombinasi herbal dan antibiotik dapat bersifat sinergis maupun antagonis. Pada fraksi F9 bersifat antagonis dan fraksi F11 bersifat potensiasi dengan *chloramphenicol* terhadap *E. coli*. Selain itu, fraksi F11 juga bersifat potensiasi dengan *amoxicillin* terhadap *E. coli*. Sifat antagonis terjadi apabila terdapat senyawa antibakteri menurunkan efektivitas senyawa antibakteri lain.<sup>16</sup> Berdasarkan hasil, didapatkan *Amoxicillin* dengan dosis 30 µl memiliki standard deviasi yang tinggi di beberapa fraksi, diduga dikarenakan dalam pembuatan antibiotik *Amoxicillin* dilarutkan dengan pelarut air, yang menyebabkan aktivitasnya tidak stabil, serta tergradasi atau tidak tercampur secara optimal. Walaupun air memiliki tingkat kepolaran yang tinggi, tetapi air juga memiliki kelemahan yaitu dapat menyebabkan reaksi fermentatif (kerusakan bahan aktif lebih cepat) dan larutan yang akan mudah terkontaminasi.<sup>20</sup> Suhu penyimpanan mempengaruhi tingkat degradasi zat aktif kelembaban dan pH dapat mempengaruhi kadar *Amoxicillin*.<sup>21</sup> Penyimpanan dengan kondisi yang kurang tepat juga dapat mempengaruhi terjadinya degradasi, sehingga penting dalam memperhatikan letak penyimpanan suatu sediaan obat untuk menjaga stabilitas zat aktif yang terkandung didalamnya.

Sifat potensiasi terjadi apabila pada suatu senyawa yang tidak memiliki efek antibakteri dapat meningkatkan efek antibakteri dari senyawa lain.<sup>16</sup> Interaksi obat juga dapat terjadi antara antibiotik dan senyawa yang tidak memiliki aktivitas antimikroba sendiri tetapi dapat memperkuat efek antibiotik. Namun, pada fraksi *Phyllanthus niruri*, L. yang lain memberikan efek *not distinguishable*, dimana kombinasi antara herbal dengan antibiotik memiliki hasil yang sama dengan hasil dari pengujian secara tunggal. Efek *not distinguishable* ini dapat terjadi dikarenakan beberapa faktor seperti pada pembuatan media terjadi perbedaan ketebalan agar (volume media) pada cawan petri yang menyebabkan pelarutan antibiotik antara cawan petri satu dengan yang lain menjadi berbeda. Berdasarkan penjelasan diatas, bahwa pada pelarutan antibiotik *Amoxicillin* menggunakan pelarut air, dimana seharusnya *amoxicillin* dilarutkan menggunakan dapar, begitupula pada *chloramphenicol* yang juga seharusnya dilarutkan menggunakan pelarut etanol. Kelarutan *chloramphenicol* dalam air pada 25° C adalah 2,5 g/l pada rentang pH yang luas. *Chloramphenicol* terdegradasi dengan cara biologis,



kimia, dan fotolitik dan mengalami reaksi oksidasi, reduksi, dan kondensasi saat terpapar cahaya dalam larutan.<sup>22</sup> Penggunaan antibiotik tablet juga memiliki beberapa komposisi seperti laktosa, asam sitrat, sorbitol, *Carboxymethylcellulosum Natrium* dsb yang dapat mengganggu kestabilan antibiotik.<sup>23</sup> Penggunaan pelarut yang sesuai dibutuhkan untuk dapat menjaga stabilitas antibiotik. Stabilitas antibiotik juga dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan luar seperti udara, cahaya, kelembapan dan suhu.<sup>24</sup> Perbedaan efek ini dapat disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi tersebut berbeda.

Interaksi dua senyawa dengan mekanisme kerja yang berbeda dalam menghambat atau membunuh bakteri dapat menghasilkan jenis interaksi yang berbeda. Antibiotik *chloramphenicol* memiliki interaksi antagonis dengan inhibitor sintesis asam folat seperti *cotrimoxazole*. Selain itu, *chloramphenicol* memiliki interaksi supresif dengan antibiotik *nitrofulantoin*. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh antibiotik *amoxicillin*. Antibiotik *amoxicillin* bersifat sinergis dengan *cotrimoxazole* tapi bersifat antagonis dengan *chloramphenicol* dan *nitrofurantoin*.<sup>25</sup> Oleh karena itu, hasil interaksi yang didapatkan pada penelitian ini dapat dijelaskan dengan fraksi F9 dan F11 memiliki mekanisme kerja yang berbeda.

Efek sinergis dan antagonis juga dapat dipengaruhi oleh sifat bakteriostatik dan bakterisidal. Berdasarkan penelitian oleh Ocampo, *et al* (2014) antibiotik bakteriosidal memiliki efek antagonis ketika dikombinasikan antibiotik bakteriostatik. *Chloramphenicol* bersifat bakteriostatik sedangkan *amoxicillin* bersifat bakteriosidal.<sup>26</sup> Pada penelitian ini fraksi F9 diduga memiliki sifat bakteriosidal sedangkan fraksi F11 memiliki sifat bakteriostatik. Meskipun pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran KBM sehingga sifat fraksi tidak diketahui, tetapi dapat mengetahui jenis interaksi sinergis atau antagonis sehingga terdapat kemungkinan mekanisme interaksi yang didapatkan adalah perbedaan bakteriostatik atau bakteriosidal.

Reaksi radikal bebas dan antioksidan diketahui berperan dalam mekanisme membunuh bakteri. Beberapa antibiotik seperti flourokuinolon, beta laktam, dan aminoglikosida menginduksi protein Cpx. Induksi Cpx menginduksi protein Arca sehingga meningkatkan aktivitas siklus krebs. Aktivitas siklus krebs ini meningkatkan aktivitas transpor elektron dan menghasilkan senyawa radikal bebas seperti ion hidroksil. Ion hidroksil ini bersifat radikal bebas dan merusak protein, lipid, dan DNA bakteri.<sup>27</sup> Efek ini dapat dinetralisir oleh senyawa antioksidan dari herbal. Pada hasil uji fitokimia menunjukkan *Phyllanthus niruri*, L. mengandung senyawa aktif fenol yang juga bekerja sebagai antioksidan.

### Analisa Kandungan Senyawa Aktif Fraksi F8-F13 *Phyllanthus niruri*, L.

Pengujian skrining fitokimia pada ekstrak metanol *Phyllanthus niruri*, L. menunjukkan adanya senyawa aktif di dalamnya. Pada pengujian fitokimia menggunakan reagen *dragendorff* dan *formaldehyde* tidak ditemukan perubahan warna yang menandakan tidak ada senyawa aktif alkaloid dan steroid. Pada uji skrining fitokimia yang menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$  didapatkan perubahan warna pada F9, F11, F12, dan F13 menjadi biru kehitaman menandakan adanya senyawa aktif fenol. Perubahan warna ini disebabkan karena pengaruh dari cincin benzene pada struktur molekulnya sehingga uji ini dapat digunakan untuk membedakan alkohol dengan fenol. Senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. memiliki nilai *Rf* yang berbeda (Tabel 2). Perbedaan nilai *Rf* ini disebabkan karena perbedaan pergerakan komponen senyawa terhadap pelarut.

*Phyllanthus niruri*, L. diketahui memiliki senyawa fenol berupa galotannins corilagin, geraniin,<sup>28</sup> *Hydroxybenzoic acids*, *Hydroxycinnamic acids*, *Flavan-3-ols monomers*, *Flavan-3-ols procyanidin dimers*, *Flavan-3-ols propelargonidin dimers*, dan *Flavan-3-ols procyanidin trimers*.<sup>29</sup> Dari beberapa senyawa aktif tersebut senyawa yang memiliki efek antibakteri adalah corilagin,<sup>30</sup> geraniin,<sup>31</sup> *Hydroxybenzoic acids*, *Hydroxycinnamic acids*,<sup>32</sup> dan *Flavan-3-ols procyanidin dimers* yang terdiri dari proantosianidin.<sup>33</sup> Senyawa fenol tersebut bekerja pada dinding sel bakteri sehingga menyebabkan bakteri lisis.<sup>11</sup> Pada penelitian sebelumnya *Phyllanthus niruri*, L. diketahui memiliki efek antibiotik terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *S. typhi*, *Shigella sp*, *Kleibseila pneumonia*, dan *Enterobacter sp*.<sup>34</sup> Kombinasinya dengan antibiotik gentamisin bersifat sinergis dalam membunuh MRSA.<sup>35</sup>

Penelitian oleh Rivai, *et al* (2015) ekstrak metanol *Phyllanthus niruri*, L. mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, fenolik dan tannin.<sup>36</sup> Penelitian lain menunjukkan ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. mengandung tanin, terpenoid, alkaloid, glikosida, saponin, dan flavonol.<sup>28</sup> Perbedaan kandungan senyawa dalam uji fitokimia ini disebabkan oleh perbedaan metode ekstraksi dan perbedaan lokasi herbal. Pada penelitian tersebut tidak dilakukan fraksinasi sehingga masih terdapat berbagai senyawa aktif sedangkan pada penelitian ini telah dilakukan fraksinasi.<sup>28</sup> Senyawa aktif herbal juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, perbedaan kondisi lingkungan menyebabkan perbedaan senyawa aktif yang terkandung dalam herbal.

### KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Fraksi F8-F13 ekstrak *Phyllanthus niruri*, L.

memiliki zona inhibisi atau aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.

2. Fraksi F9 dan F11 dari ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. memiliki zona inhibisi atau aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.
3. Kombinasi ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. fraksi F9 dengan antibiotik *chloramphenicol* memiliki interaksi antagonis terhadap *E. coli* dan kombinasi ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. fraksi F11 dengan *chloramphenicol* dan *amoxicillin* memiliki interaksi potensiensi terhadap *E. coli*.
4. Fraksi F9, F11, F12, dan F13 mengandung senyawa aktif fenol yang memiliki jenis berbeda.

### SARAN

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

1. Melakukan penelitian lebih lanjut untuk ZOI pada fraksi F8-F13 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. dengan konsentrasi yang lebih besar untuk mempengaruhi daya hambat pada kombinasi *Phyllanthus niruri*, L. dan antibiotik *amoxicillin* atau *chloramphenicol* terhadap *S. aureus* atau *E. coli*.
2. Melakukan penelitian lanjutan tentang mekanisme dan jenis senyawa pada fraksi F8-F13 ekstrak metanolik *Phyllanthus niruri*, L. dengan melakukan isolasi serta identifikasi senyawa fenol yang terkandung didalamnya.
3. Melakukan penelitian lanjutan mengenai uji KBM untuk mengetahui sifat fraksi dan uji DPPH untuk menguji antioksidan dalam *Phyllanthus niruri*, L.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada ikatan orang tua mahasiswa (IOM) yang telah memberikan pendanaan pada penelitian ini. Serta, kepada DR. dr. Doti Wahyuningsih, M.Kes selaku reviewer jurnal.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Mardiasuti, Ikaningsih, Kurniawati, A., Kiranasari, A. & Retno, K. Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Maj. Kedokteran. Indonesia*. 57, (2007).
2. Kementrian Kesehatan. *Profil Kesehatan Indonesia 2016*. (Departemen Kesehatan RI, 2017).
3. Setiabudi, R. *Pengantar Antimikroba Farmakologi dan Terapi*. (Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2007).
4. Kementrian Kesehatan. *Pedoman Penggunaan Antibiotik*. (Departemen Kesehatan RI, 2011).
5. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance. <http://bit.ly/1rOb3cx> (2014).
6. Aiyegoro, A. O., Afolayan, A. J. & Okoh, A. I. In Vitro Antibacterial Activities of Crude Extracts of The Leaves of *Helichrysum longifolium* In Combination with Selected Antibiotics. *African J. Pharm. Pharmacol.* 3, 293–300 (2009).
7. Adwan, G. & Mhanna, M. Synergistic Effects of Plant Extracts and Antibiotics on *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Clinical Specimens. *Middle-East J. Sci. Res.* 3, 134–139 (2008).
8. Kurniawati, D., Rukmi, I. & Lunggani, A. T. Aktivitas Antimikroba Kombinasi Rebusan Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap *Candida albicans*. *J. Biol.* 3, 55–61 (2017).
9. Jain, S., Sharma, P., Kulshreshtha, S., Mohan, G. & Singh, S. The role of calcium, magnesium, and zinc in pre-eclampsia. *Biol. Trace Elem. Res.* 133, 162–170 (2011).
10. Putri, I. A., Risandiansyah, R. & Faisal. Efek Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) dengan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol dan Kotrimoksazol terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J. Kedokt. Komunitas* 6, 1–13 (2018).
11. Cheesman, M. J., Ilanko, A., Blonk, B. & Cock, I. E. Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/Compounds with Conventional Antibiotics the Solution? *Pharmacogn. Rev.* 11, 57–72 (2017).
12. Susilo, W. A. Risandiansyah, R. & Faisal. Efek Penambahan Fraksi Semi Polar Ekstrak Metanolik Herba *Phyllanthus niruri*, L. terhadap Daya Hambat Amoxicillin dan *Chloramphenicol* pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Kedokt. Komunitas* 7, 1–7 (2019).
13. Risandiansyah, R. *Induction of Secondary Metabolism Across Actinobacterial General (Thesis)*. (Flinders, 2016).
14. Parija, S. C. *Textbook of Microbiology and Immunology*. (Elsevier Inc., 2012).
15. Wardati, F. Risandiansyah, R. & Faisal. Efek Daya Hambat Kombinasi Fraksi Semi Polar (F33-37) *Elephantopus scaber* dengan Amoksisilin dan Kloramfenikol Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 2019.
16. Ziaei-daroukalei, N. & Ameri, M. AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection. *MethodsX* 3, 43–52 (2016).
17. Katzung, B. G., Masters, S. B. & Trevor, A. B. *Katzung - Basic and Clinical Pharmacology 12th Edition* (2012). (Mc Graw Hill LANGE, 2012).
18. Silhavy, T. J., Kahne, D. & Walker, S. The

- Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2, 1–16 (2010).
19. Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., Hadzioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. S, dan Angka, S. L. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press (1988).
  20. Hardiningtyas S. D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* sp. Yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. Bogor: ITB. (2009).
  21. Naidoo, KK, Nompuku P., Mkalali SN., Shabangu K, Nkabinde L, dan Singh V. Post-marketing Stability Surveillance : Amoxicillin. *SA Fam Pract*, vol 48, hal 14 (2006).
  22. De Vries H et al. Photoreactivity of chloramphenicol in vitro and in vivo. *Photochem Photobiol* 1994; 60: 249-52
  23. Waney. Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Serta Penetapan Kadar Tablet Furosemida Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal KESMAS*. Vol 1 (2012).
  24. Talogo, A. S. M. Pengaruh Waktu dan Temperatur Penyimpanan Terhadap Tingkat Degradasi Kadar Amoxicillin Dalam Sediaan Suspensi Amoxicillin-Asam Klavulanat, Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasai, Jakarta (2014).
  25. Chevereau, G. & Bollenbach, T. Systematic discovery of drug interaction mechanisms. *Mol. Syst. Biol.* 11, 1–9 (2015).
  26. Ocampo, P. S., Arnoldini, M., Fekete, G., Ackermann, M. & Bonhoeffer, S. Antagonism between Bacteriostatic and Bactericidal Antibiotics Is. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58, 4573–4582 (2014).
  27. Acker, H. Van & Coenye, T. The Role of Reactive Oxygen Species in Antibiotic-Mediated Killing of Bacteria. *Trends Microbiol.* 20, 1–11 (2016).
  28. Nisar, M. F., He, J., Ahmed, A., Yang, Y., Li, M., Wan, C., Chemical Components and Biological Activities of the Genus *Phyllanthus*: A Review of the Recent Literature. *MDPI* 23, 1–25 (2018).
  29. Navarro M, Moreira I, Arnaez E, Quesada S, Azofeifa G, Alvarado D. Cytotoxic Activities of Three Plants Commonly Used in Traditional Medicine in Costa Rica : *MDPI* 6, 1–13 (2017).
  30. Shimizu M, Shiota S, Mizushima T, Ito H, Hatano T, Yoshida T. Marked Potentiation of Activity of beta-Lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Corilagin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 3198–3201 (2001).
  31. Anokwuru, C. P., Sinisi, A., Samie, A. & Taglialatela-scafati, O. Natural Product Research : Formerly Natural Product Letters Antibacterial and antioxidant constituents of *Acalypha wilkesiana*. *Nat. Prod. Res.* 29, 37–41 (2014).
  32. Sanchez-Maldonado, A. F., Scheieber, A. & Ganzle, M. G. Structure – function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 111, 1176–1184 (2011).
  33. Navarro-hoyos M, Lebrón-aguilar R, Quintanilla-lópez JE, Cueva C, Hevia D, Quesada S. Proanthocyanidin Characterization and Bioactivity of Extracts from Different Parts of *Uncaria tomentosa* L. *MDPI* 6, 1–18 (2017).
  34. Sharadadevi, D. R. & Swamy, P. L. In Vitro Antimicrobial Synergism of Three Indian Medicinal Plant Extracts Alone and In Combination with Different Antimicrobials Against Pathogenic Bacterial. *Int. J. Pharm.* 10, 120–126 (2019).
  35. Rahman, A., Marzan, M. & Parvez, A. K. Synergism of *Phyllanthus niruri* Extract with Gentamicin against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Synergism Gentamicin against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *European J. Med. Plants* 25, 1–7 (2018).
  36. Rivai, H., Septika, F. & Boestar, A. Karakterisasi Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* Linn) dengan Analisa Fluoresensi. *J. Farm. Higea* 5, 15–22 (2015).