

Efek Pemberian Kombinasi Obat Herbal Terstandar *Phyllanthus niruri* L. dengan *Chloramphenicol* terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Rahmadani Alfitra Santri, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Kombinasi *Phyllanthus niruri* L. dan *Chloramphenicol* diketahui memiliki interaksi yang aditif terhadap daya hambat *S.aureus*. Penggunaan obat tradisional jenis OHT digunakan karena bahan telah memenuhi standar kualitas dan mutu yang telah di uji secara praklinik, namun belum ada penelitian mengenai kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* terhadap pertumbuhan *S.aureus*. Penggunaan obat herbal sebagai pendamping obat sintetik di masyarakat menjadikan landasan dilakukan pengujian untuk mengetahui daya hambat dan interaksi OHT *P.niruri* dengan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus*.

Metode: Untuk mengetahui daya hambat dilakukan pengukuran *zone of inhibition* dengan menggunakan metode Kirby-Bauer antara kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol*, penggunaan dosis OHT *P.niruri* berdasarkan anjuran minum (183.3ppm) dan dosis setengah anjuran minum (91.65 ppm). Dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada OHT *P.niruri*. Dilakukan pengukuran zona bening untuk mengetahui efek penghambatan antibiotik yang diukur menggunakan jangka sorong. Interaksi antibiotik diinterpretasikan menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) dan berdasarkan data statistik ($p < 0.05$).

Hasil: Uji fitokimia OHT *P.niruri* didapatkan adanya kandungan senyawa aktif berupa flavonoid dan saponin. Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* pada penggunaan dosis 183.3ppm menghasilkan zona bening 15.17 ± 0.09 mm lebih besar dibandingkan pada dosis 91.65 ppm yang menghasilkan zona bening 14.09 ± 2.18 mm.

Kesimpulan: Penentuan interaksi ZOI kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* memiliki interaksi yang tidak dapat dibedakan (*Not Distinguishable*).

Kata Kunci: *Chloramphenicol*, *Phyllanthus niruri* L., Kombinasi OHT dan antibiotik, *Zone of Inhibition*, hasil interaksi

*Korespondensi penulis.

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., Ph.D

Jl, MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

email : riorisandiansyah@unisma.ac.id Tel. (0341) 558959

Effects of *Phyllanthus niruri* L. Combination of Standardized Herbal Medicines with *Chloramphenicol* on Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Introduction: The combination *Phyllanthus niruri* L. and *Chloramphenicol* which is known to have additive interactions on the inhibition of *S.aureus*. The use of *Standardized Herbal Medicine* traditional medicines is used because the ingredients have standardized and that have been tested in preclinical terms, but there has been no research on *SHM* combination *P.niruri* and *Chloramphenicol* on growth *S.aureus*. The use of herbal medicines as a companion to synthetic drugs in the community is the basis for testing to determine inhibition and *SHM* interactions *P.niruri* with *Chloramphenicol* against *S.aureus*.

Method: To determine the inhibitory potential, a zone of inhibition was measured using the method Kirby-Bauer between the *SHM* combination of *P.niruri* and *Chloramphenicol*, the use of *SHM* doses *P.niruri* based on recommended dose (183.3ppm) and half the recommended drinking dose (91.65 ppm). Phytochemical testing was carried out to determine the content of active compounds contained in *SHM P.niruri*. Clear zone measurements were taken to determine the inhibitory effect of antibiotics measured using a caliper. Antibiotic interactions were interpreted using the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method and based on statistical data ($p < 0.05$).

Result : Phytochemical test *SHM P.niruri* obtained the content of active compounds in the form of flavonoids and saponins. Combination of *SHM P.niruri* and *Chloramphenicol* at a dose of 183.3ppm produce clear zone 15.17 ± 0.09 mm greater than at a dose of 91.65 ppm which produces a clear zone of 14.09 ± 2.18 mm.

Conclusion: Determination of interaction ZOI combination *SHM P.niruri* and *Chloramphenicol* has an interaction that cannot be distinguished (*Not Distinguishable*).

Keywords: *Chloramphenicol*, *Phyllanthus niruri* L., Combination of *SHM* and antibiotics, *Zone of Inhibition*, interaction results.

*Corresponden author.

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., Ph.D

Jl, MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

email : riorisandiansyah@unisma.ac.id Tel. (0341) 558959

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan pemanfaatan dan budidaya bahan baku obat herbal di dunia hingga mencapai 1.200 jenis¹. Penggunaan obat herbal di yakini oleh masyarakat memiliki banyak keunggulan dibanding obat sintetik diantaranya harga yang relatif murah, kemudahan dalam memperoleh produk, serta efek samping minimal sehingga banyak dikalangan masyarakat menjadikan obat herbal sebagai pengobatan utama maupun dikombinasikan dengan obat sintetik¹.

Adanya kekhawatiran terhadap efek samping dari konsumsi obat-obatan sintetik jangka panjang mengakibatkan banyak individu yang memilih menggunakan obat tradisional sebagai alternatif pengganti obat sintetik, ataupun dikonsumsi secara bersamaan². Salah satu jenis obat tradisional telah banyak dipasarkan yaitu obat herbal terstandar berbasis meniran yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri². Berdasarkan presentase data statistik penduduk Indonesia yang melakukan pengobatan dengan menggunakan obat tradisional yaitu sebanyak 24,24% pada tahun 2019, dan mengalami sedikit peningkatan menjadi 24,33% pada tahun 2012³.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan menunjukkan ekstrak meniran memiliki interaksi hambat bakteri yang aditif terhadap bakteri *S.aureus*⁴. Penelitian fraksi semi polar (F14-18) dari ekstrak metanolik meniran didapatkan adanya daya hambat bersifat sinergis pada fraksi 16 ekstrak metanolik meniran dengan antibiotik Chloramphenicol terhadap bakteri *S.aureus*⁵. Penelitian yang dilakukan Iswary 2019, diketahui efek kombinasi ekstrak metanolik meniran memiliki interaksi yang *not distinguishable* terhadap *S.aureus*⁶.

Penggunaan obat herbal sebagai pendamping obat sintetik saat ini diduga banyak dilakukan di masyarakat. Hal ini karena kurangnya informasi dan penelitian yang membahas secara spesifik mengenai keamanan dan interaksi dari kombinasi obat herbal dengan obat sintetik. Penelitian yang sudah dilakukan hanya sebatas pengujian ekstrak dengan menggunakan simplisia. Berdasarkan fakta tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian untuk mengetahui daya hambat *Chloramphenicol* yang dikombinasikan dengan obat herbal terstandar berbasis meniran terhadap bakteri *S.aureus*, serta mengetahui jenis interaksinya dengan metode AZDAST.

METODE

Pendekatan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dilakukan secara *in vitro* dan bersifat analitik laboratorik. Penelitian dilakukan untuk mengetahui ZOI serta efek interaksi OHT *P.niruri* secara tunggal dan kombinasinya dengan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S.aureus*.

Proses Pembiaakkan Bakteri Dengan Metode Streaking

Peremajaan bakteri dilakukan dengan membuat stok bakteri baru menggunakan media *Nutrient Agar* yang di tanami bakteri *S.aureus* dengan inokulasi menggunakan media *Nutrient Broth merck* KgaA dengan komposisi peptone dari daging 5.0; ekstrak daging 3.0. Satu koloni atau lebih suspensi bakteri diambil menggunakan oshe kolong kemudian dicelupkan ke dalam 10 ml *Nutrient Broth*, diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Bakteri diencerkan dengan NS hingga mencapai nilai absorbansi 0,2. Dilanjutkan penggoresan pada media NA baru dengan menggunakan oshe kolong, dilakukan inkubasi selama 18 – 24 jam dengan suhu 37°C sehingga didapatkan bakteri baru.

Pembuatan Inokulum Bakteri

Koloni bakteri *S.aureus* diambil menggunakan oshe, dicelupkan kedalam erlenmeyer berisi 30 ml larutan NS. Larutan tersuspensi diambil menggunakan mikropipet 1 ml dimasukkan kedalam kuvet, selanjutnya 1 ml larutan NS dimasukkan kedalam kuvet yang digunakan sebagai kontrol.

Spektrofotometri diatur panjang gelombang 625 nm, Larutan NS kontrol dimasukkan terlebih dahulu kedalam spektrofotometri untuk dijadikan kontrol. Kuvet berisi suspensi bakteri kemudian dimasukkan kedalam spektrofotometri dengan hasil absorbansi yang di inginkan yaitu 0,2 nm.

Melakukan Pengujian ZOI OHT *P.niruri*

Pengujian ZOI OHT diawali dengan penentuan dosis OHT. Satu kapsul OHT (550 mg) di larutkan kedalam 1000 ml aquadest, kemudian larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 1 ml dan ditambahkan 9 ml aquadest sehingga didapatkan konsentrasi larutan OHT 550 ppm. Larutan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi larutan uji 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12.5 ppm, dan 6.25 ppm⁷. Larutan disimpan dalam tabung ependorf dan perendaman cakram kosong selama ± 20 menit agar larutan dapat meresap kedalam cakram.

Pembuatan media uji dilakukan dengan mencampur 10,5 gr *MHA* dan 7,5 gr agar yang dilarutkan kedalam 500 ml aquadest dengan menggunakan *schott bottle*, memasukan media uji kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit untuk dilakukan pemanasan. Cakram OHT *P.niruri* dan cakram antibiotik *Chloramphenicol* disusun kedalam cawan petri dengan ketentuan metode AZDAST. Cakram direkatkan pada permukaan cawan petri menggunakan media agar dengan mikropipet hingga menutupi permukaan cakram, media agar dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 3-4 mm dan diamkan media hingga solid.

Bakteri *S.aureus* diinokulasikan pada media agar dengan metode spread plate. Spreader kaca dicelupkan kedalam alkohol kemudian ujung spreader dibakar menggunakan api bunsen ± 1-2 menit, bakteri *S.aureus* yang telah diinokulasi

diambi menggunakan mikropipet sebanyak 0.25 ml diletakkan ditengah cawan petri, kemudian inokulum bakteri disebarkan pada permukaan media menggunakan spreader dengan gerakan memutar 180° sebanyak empat putaran. Dilakukan inkubasi pada media inokulasi selama 18-24 jam dengan suhu 37 °C, kemudian ZOI dapat diukur dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong.

Penentuan Dosis dan Pembuatan Cakram Herbal

Penentuan dosis dilakukan setelah didapatkan hasil zona bening yang terbentuk dan dapat diamati secara jelas dari dosis yang digunakan pada saat melakukan eksplorasi dosis. Apabila pada uji ZOI OHT tidak dapat ditentukan, maka dilakukan perubahan konsentrasi dengan mengikuti dosis anjuran minum pada OHT. Penggunaan dosis anjuran minum dan dosis setengahnya disesuaikan dengan mengikuti volume distribusi obat yang akan menggambarkan konsentrasi obat yang ada dalam darah dengan jumlah total obat yang terdapat dalam tubuh⁸.

Dosis disesuaikan dengan dosis anjuran minum pada OHT dikarenakan tidak ditemukannya zona bening yang terbentuk pada saat eksplorasi dosis. Dilakukan penghitungan dosis OHT sesuai dengan volume distribusi obat yaitu jumlah obat per konsentrasi obat dalam plasma⁸. Dilarutkan 1100 mg sediaan ke dalam 6 L *aqudest* yang menggambarkan volume darah manusia⁹. Sehingga didapatkan konsentrasi 1833.3 ppm, dilanjutkan 10 kali pengenceran, sehingga didapatkan dosis pertama yaitu 183.3 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran kembali untuk mendapatkan konsentrasi setengahnya sehingga didapatkan konsentrasi 91,65 ppm.

Setelah didapatkan konsentrasi uji, larutan dipindah kedalam tabung ependorf dan dilakukan perendaman cakram selama $\pm$ 20 menit agar cairan OHT dapat meresap kedalam cakram, setelah dilakukan perendaman cakram OHT dapat langsung digunakan untuk pengujian ZOI

Pembuatan Media dan Uji ZOI Tunggal dan Kombinasi Dengan Metode Spread Plate

Uji ZOI dilakukan dengan metode penyebaran bakteri pada media agar. Pembuatan media uji dilakukan dengan mencampur 10,5 gr *MHA* dan 7,5 gr agar yang dilarutkan kedalam 500 ml *aquadest* dengan menggunakan *scot bottle*, kemudian media uji dimasukkan kedalam autoclave untuk dilakukan pemanasan.

Cakram OHT dan cakram kloramfenikol disusun kedalam cawan petri dengan ketentuan metode *Ameri-Ziaei double antibiotic synergism test* (AZDAST). Cakram direkatkan pada permukaan cawan petri menggunakan media agar dengan mikropipet hingga menutupi permukaan cakram,

media agar dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 3-4 mm dan diamkan media hingga solid.

Bakteri *S.aureus* diinokulasikan pada media agar dengan metode *spread plate*. *Spreader* aluminium dicelupkan kedalam alkohol kemudian ujung spreader dibakar menggunakan api bunsen $\pm$ 1-2 menit atau hingga ujung spreader kemerahan, bakteri *S.aureus* yang telah diinokulasi diambi menggunakan mikropipet sebanyak 0.25 ml dan diletakkan ditengah cawan petri, kemudian inokulum bakteri disebarkan pada permukaan media menggunakan spreader dengan gerakan memutar 180° sebanyak empat putaran. Dilakukan inkubasi pada media inokulasi selama 18-24 jam dengan suhu 37 °C, kemudian dilakukan pengukuran ZOI. Pengukuran ZOI dilakukan sebanyak tiga kali dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong dengan ketelitian mm.

Pengujian Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan sebagai *screening* untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam herbal yang akan diteliti. Metode *screening* dilakukan dengan pengujian warna dengan suatu pereaksi atau reagen tertentu dan melihat interaksi perubahan warna larutan¹⁰.

Uji fitokimia yang pertama dilakukan yaitu dengan menggunakan reagen *Meyer* atau *Dragendrof*, dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi ekstrak yang sudah ditambahkan amonia 0.05 N dan asam sulfat 2 N untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan senyawa alkaloid pada OHT *P.niruri*. Hasil positif jika ditemukan endapan putih pada penggunaan reagen *Meyer*, sedangkan penggunaan reagen *Dragendrof* akan menunjukkan adanya endapan merah coklat apabila terdapat senyawa alkaloid pada OHT¹¹. Selanjutnya yaitu uji senyawa saponin dengan memasukkan ekstrak kedalam tabung reaksi, dan dikocok kuat beberapa waktu hingga terbentuk busa pada ekstrak, adanya busa yang menetap permanen $\pm$ 15 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCL pekat menunjukkan OHT berbasis meniran memiliki kandungan senyawa saponin¹¹.

Pengujian senyawa fenolik menggunakan reagen FeCl_3 yang diteteskan kedalam tabung reaksi berisi larutan OHT berbasis meniran. Apabila terbentuk warna biru sampai biru keunguan pada larutan menunjukkan adanya kandungan senyawa fenolik pada OHT berbasis meniran¹². Uji terakhir yang dilakukan yaitu larutan sebanyak 4 ml masing-masing dimasukkan kedalam dua tabung reaksi. Tabung reaksi pertama diteteskan 1ml amoniak encer dan dikocok perlahan, dilakukan perbandingan dengan larutan kontrol pada tabung reaksi kedua. Terbentuknya pewarnaan kuning pada larutan menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada OHT *P.niruri*¹².

Metode Penentuan Interaksi

Tabel 1. Pedoman Interpretasi Metode AZDAST

Hasil kombinasi	Interpretasi
Jika $AB > A$ dan B dan $<$ atau $>$ dari AA dan BB	Sinergis
Jika salah satu dari A atau $B = 0$ dan $AB >$ dari A dan B dan $<$ atau $>$ dari AA dan atau BB	Potensiasi
Jika $AB < A$ atau B	Antagonis
Jika $AB = AA$ dan atau BB	Aditif
Jika $AB =$ salah satu A atau B	Not distinguishable

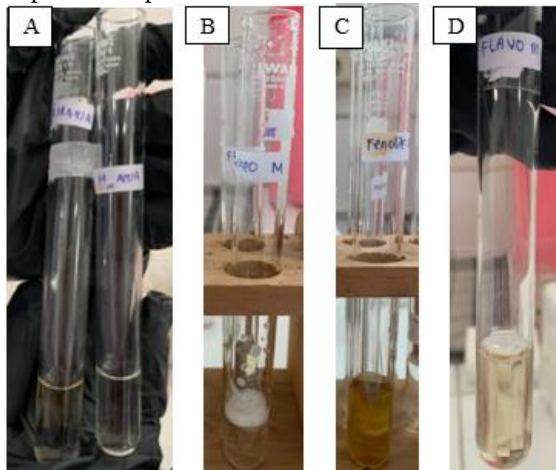
Analisa Data

Analisa hasil ZOI dapat dikur dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong dengan ketelitian mm. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas, kemudian dilakukan uji beda menggunakan *one way* ANOVA dan dilanjutkan uji *least significance different* (LSD). Analisa data dilakukan dengan memakai software statistik SPSS.

HASIL

Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat pada obat herbal terstandar berbasis meniran. Hasil dan keterangan kandungan senyawa yang di uji dari uji fitokimia dapat dilihat pada **Gambar 1** dan **Tabel 2**, berikut:



Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia OHT *Phyllanthus Niruri L.*; **A.** uji alkaloid dengan reagen *dragendroff* dan *meyer*; **B.** Uji saponin; **C.** Uji fenolik dengan reagen $FeCl_3$; **D.** Uji flavonoid dengan reagen amoniak cair.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Pada OHT *Phyllanthus Niruri L.*

Senyawa Uji	Reagen	Perubahan warna
Alkaloid	<i>Dragendroff</i>	Putih (-)
	<i>Meyer</i>	merah coklat (-)
Saponin	-	Busa menetap (+)
Fenolik	$FeCl_3$	Biru keunguan (-)
Flavonoid	Amoniak encer	Kuning (+)

Pada **Gambar 1** dan **Tabel 2** menunjukkan bahwa pada larutan OHT berbasis meniran didapatkan kandungan senyawa saponin dan flavonoid .

Hasil Uji ZOI OHT *P.niruri* Terhadap *S.aureus*

Zone of inhibition (ZOI) digunakan untuk mengetahui resistensi dan interaksi suatu senyawa dengan membandingkan tingkat aktivitas penghambatan bakteri. Suatu zona bening yang terbentuk disekitar sumuran dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian mm.

Berdasarkan **Tabel 3** didapatkan hasil ZOI pada dosis anjuran minum OHT berbasis meniran maupun setengah dosis anjuran minum tidak memiliki daya hambat terhadap *S.aureus* (lihat Gambar 2).

Hasil Uji ZOI Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus*

Pengamatan dan penghitungan ZOI kombinasi OHT meniran dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Rerata Tiga Pengulangan *Zone of Inhibition* terhadap *S.aureus*

Konsentrasi	Sampel	Rata – rata $\pm$ SD (mm) n= 3	Signifikansi
Dosis anjuran minum OHT (183.3 ppm)	H	4.81 ± 8.33^c	0.58
	C	14.83 ± 0.91^a	0.94
	HH	5.91 ± 10.23^a	0.08
	CC	16.43 ± 0.52^b	0.79
Setengah dosis anjuran minum OHT (91.65 ppm)	HC	15.17 ± 0.09^a	0.09
	H	0 ± 0^a	0.00
	C	15.02 ± 1.23^b	0.36
	HH	0 ± 0^a	0.00
(183.3 ppm)	CC	17.39 ± 0.94^c	0.00
	HC	14.09 ± 2.18^b	2.18

Keterangan: HH= OHT *double disk*; H= OHT *single disk*; HC= kombinasi OHT dan *Chloramphenicol*; C= *Chloramphenicol*; CC= *Chloramphenicol double disk*.

Berdasarkan tabel 3 dapat dilihat pada dosis anjuran minum OHT *P.niruri* dengan konsentrasi (183,3 ppm) didapatkan HC memiliki jari-jari zona bening lebih besar dibandingkan dengan C maupun H, akan tetapi jari-jari zona bening HC lebih kecil dibandingkan jari-jari zona bening pada CC. Sedangkan pada setengah dosis anjuran minum (91.65 ppm) jari-jari zona bening HC lebih kecil dibandingkan dengan C maupun CC, namun lebih

besar dibandingkan dengan H dan HH dikarenakan tidak ditemukannya zona bening pada pengukuran.

Interaksi Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus* Berdasarkan Metode AZDAST

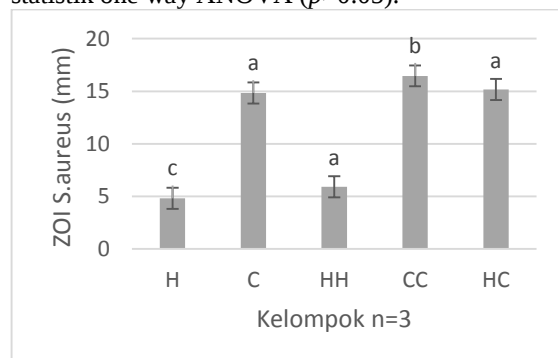
Penghitungan ZOI dan penentuan interaksi kombinasi OHT *Phyllanthus Niruri L.* dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus* berdasarkan metode AZDAST dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Interaksi ZOI Kombinasi OHT Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan *Chlormphenicol* dengan Metode AZDAST

Konsentrasi	Sampel		Rata – rata ± SD (mm)	Signifikansi	Interaksi	Jenis Interaksi Metode AZDAST
Dosis OHT anjuran minum (183.3 ppm)	HC 15.17±0.09 ^a	H	4.81±8.33 ^c	0.58	↑	Not Distinguishable
		C	14.83±0.91 ^a	0.94	↑	
		HH	5.91±10.23 ^a	0.08	↑	
		CC	16.43±0.52 ^b	0.79	↓	
Setengah dosis OHT anjuran minum (91.65 ppm)	HC 14.09±2.18 ^b	H	0±0 ^a	0.00	↑	Not Distinguishable
		C	15.02±1.23 ^b	0.36	↑	
		HH	0±0 ^a	0.00	↓	
		CC	17.39±0.94 ^c	0.00	↓	

Keterangan: HH= OHT double disk; H= OHT single disk; C= *Chloramphenicol* single disk; CC= *Chloramphenicol* double disk; HC= Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol*

Pada **Tabel 4** dapat dilihat pada dosis anjuran minum OHT *P.niruri* dengan konsentrasi (183,3 ppm) didapatkan HC memiliki jari-jari zona bening lebih besar (15.17 ± 0.09) dibandingkan dengan C (14.83 ± 0.91), maupun H (4.81 ± 8.33). Pada perbandingan kombinasai OHT (183,3 ppm) dosis anjuran minum dan *Chlormphenicol* (30μ) didapatkan adanya peningkatan rata – rata zona bening, dengan hasil yang tidak signifikan pada uji statistik one way ANOVA ($p>0.05$).

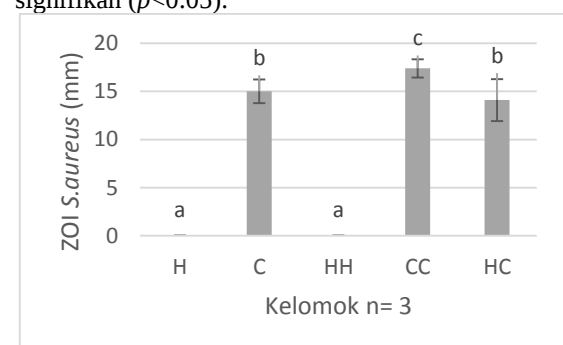


Gambar 1. ZOI kombinasi OHT *P.niruri* dengan *Chloramphenicol* menggunakan dosis anjuran minum (183.3 ppm)

Keterangan: Data dalam mean ± SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, ($p>0.05$) perbedaan huruf menyatakan berbeda signifikan

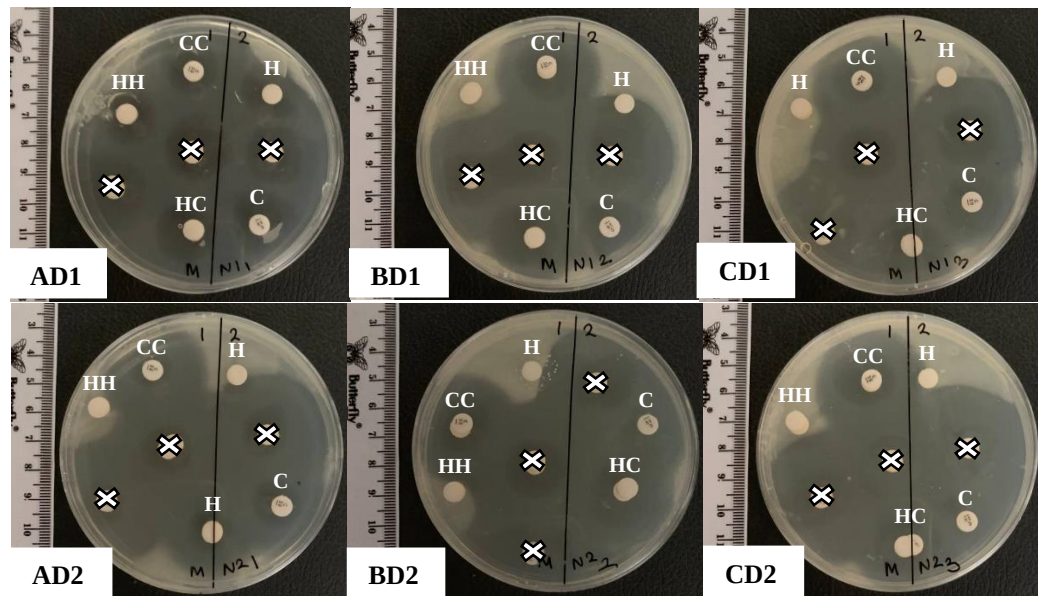
Sedangkan pada setengah dosis anjuran minum (91,65 ppm) didapatkan hasil jari-jari zona bening HC (14.09 ± 2.18) lebih kecil dibandingkan

jari – jari zona bening yang didapatkan pada C (15.02 ± 1.23), dan tidak didapatkan hasil peningkatan atau penurunan pada perbandingan antara HC dan H (0 ± 0) dikarenakan tidak ditemukan zona bening yang terbentuk pada herbal *single disk*. Pada uji statistik yang dilakukan pada setengah dosis anjuran minum perbandingan HC dan C terdapat penurunan dengan hasil yang tidak signifikan ($p>0.05$), sedangkan perbandingan HC dan H berdasarkan uji statistik memiliki hasil yang signifikan ($p<0.05$).



Gambar 2. ZOI kombinasi OHT *P.niruri* dengan *Chloramphenicol* menggunakan setengah dosis anjuran minum (91.65 ppm) HC 91.65 ppm berbanding C 30μ ($p>0.05$)

Keterangan: Data dalam mean ± SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, ($p>0.05$) perbedaan huruf menyatakan berbeda signifikan



Gambar 2: Hasil ZOI kombinasi OHT *P.niruri* dengan *Chloramphenicol*; **AD1, BD1, CD1.** ZOI yang dihasilkan dengan penggunaan dosis anjuran minum; **AD2, BD2, CD2.** ZOI yang dihasilkan dengan penggunaan setengah dosis anjuran minum.

PEMBAHASAN

Analisa Kandungan Senyawa Aktif Pada OHT *P.niruri*

Pada hasil uji fitokimia didapatkan adanya perubahan warna pada pengujian dengan menggunakan reagen amoniak cair dan pengocokkan beberapa saat, diduga adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam larutan obat herbal terstandar *P.niruri*, akan tetapi pada penggunaan reagen *dragendroff* dan *meyer* tidak ditemukan adanya perubahan warna pada larutan obat herbal terstandar *P.niruri*.

Tidak ditemukannya kandungan senyawa yang lain dalam uji fitokimia dapat dipengaruhi salah karena adanya perbedaan jenis pelarut yang digunakan, tidak adanya ekstraksi ataupun pemansan yang dilakukan. Penggunaan jenis pelarut berpengaruh terhadap senyawa yang dapat diisolasi dari suatu ekstrak, penggunaan pelarut polar dapat mengekstrak senyawa metabolit lebih tinggi dibandingkan pelarut nonpolar tergantung pada jenis senyawa yang ingin diketahui¹⁴. Pada penelitian ini digunakan pelarut air untuk melarutkan obat herbal terstandar *P.niruri* dikarenakan menyesuaikan konsumsi OHT yang menggunakan air sehingga tidak banyak senyawa metabolit sekunder yang dapat diidentifikasi melalui uji fitokimia.

Hasil pengujian fitokimia didapatkan adanya busa yang menetap ± 15 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl pekat menandakan pada larutan OHT positif mengandung saponin¹⁵. Adanya perubahan warna larutan OHT menjadi kuning pemberian reagen amoniak cair menandakan adanya kandungan senyawa flavonoid¹⁴.

Sejumlah penelitian telah menunjukkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *P.niruri* yaitu diantaranya

flavonoid, terpenoid, alkaloid, dan tanin beserta turunannya yang dapat diperoleh dengan pelarut etil asetat maupun klorofom¹⁶. Kandungan senyawa steroid dan turunannya dapat diperoleh dengan menggunakan pelarut salah satunya metanol¹⁷. Pada penelitian lainnya juga menyebutkan *P.niruri* memiliki kandungan senyawa utama yaitu ligin dan flavonoid¹⁸.

Daya Hambat Tunggal *Chloramphenicol* dan OHT *P.niruri* Terhadap *S.aureus*

Pada hasil pengukuran uji ZOI tunggal *P.niruri* dosis anjuran minum (183.3 ppm) dan setengah dosis minum (91.65 ppm) terhadap *S.aureus* tidak ditemukan adanya zona bening yang terbentuk. Sehingga dapat diketahui OHT *P.niruri* tidak memiliki aktivitas antibiotik. Hal ini berlawanan dengan penelitian Putri (2018) dan Susilo (2019) yang menyatakan bahwa *P.niruri* memiliki daya hambat terhadap *S.aureus*⁴⁻⁵. Penelitian lain dengan ekstrak air *P.niruri* menunjukkan adanya daya hambat optimum terhadap *S.aureus* sebanyak 17,5%¹⁹. Pada penelitian Noor (2020) diketahui ekstrak air daun *P.niruri* dengan konsentrasi 50% menghasilkan diameter zona bening sebesar 19 mm²⁰.

Perbedaan dari aktivitas antibakteri bergantung dari jumlah senyawa metabolit aktif dari ekstrak. Pengambilan senyawa aktif tersebut dapat dipengaruhi dari jumlah dosis dan pelarut yang digunakan untuk melihat aktivitas antibakteri pada OHT *P.niruri*. Penggunaan jenis pelarut berpengaruh terhadap senyawa yang dapat diisolasi dari suatu ekstrak, penggunaan pelarut polar seperti metanol dapat mengekstrak senyawa metabolit lebih tinggi dibandingkan pelarut nonpolar¹⁴. Penggunaan pelarut dan peningkatan konsentrasi suatu ekstrak akan meningkatkan senyawa aktif yang diperoleh²¹.

Penelitian ini menggunakan air karena menyesuaikan dengan konsumsi OHT sehari-hari di masyarakat yang menggunakan air sehingga tidak digunakan pelarut polar maupun non polar. Hal ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dengan pelarut air.

Uji ZOI tunggal *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus* didapatkan bahwa *Chloramphenicol* memiliki daya hambat terhadap *S.aureus*. hal ini dapat terjadi karena mekanisme kerja *Chloramphenicol* yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat subunit 50s dari ribosom. *Chloramphenicol* dapat mengganggu pengikatan asam amino pada rantai peptida dengan menghambat enzim peptidil transferase sehingga mengakibatkan terhambatnya sintesis protein dan menurunkan pembentukan energi dan struktur bakteri yang berpengaruh terhadap perkembangan bakteri²².

Berdasarkan CSLI, kondisi standar yang harus dipenuhi yaitu konsentrasi inoculum bakteri, media perbenihan (Muller Hinton) dengan memperhatikan pH, konsentrasi kation, tambahan darah dan serum, kadungan timidin, suhu inkubasi, lamanya inkubasi dan konsentrasi antimikroba²³. Hasil yang didapatkan menurut *National Commitee for Clinical Laboratoy Standard* (NCCLS) menunjukkan bahwa *S.aureus* yang diuji bersifat intermediet terhadap *Chloramphenicol* dengan kategori resisten apabila zona bening ≤ 12 mm, intermediet 13 – 17 mm, dan sensitif apabila ≥ 18 mm²⁴. Pada pengujian tunggal ZOI *Chloramphenicol* didapatkan rata – rata diameter antara 13 – 17 mm. Namun, bakteri yang digunakan tidak standar, melainkan merupakan pembiakan kembali dengan media baru dengan tidak memenuhi kondisi standar secara keseluruhan. Hal ini menjadikan bakteri tersebut belum terkarakterisasi secara mendetail.

Daya Hambat dan Interaksi Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus*

Berdasarkan data yang didapatkan dari hasil penilaian dengan menggunakan metode AZDAST dan pengolahan data statistik, kombinasi obat herbal terstandar *P.niruri* dosis anjuran minum (183.3 ppm) dan *Chloramphenicol* 30 μ g didapatkan zona bening lebih besar dibandingkan OHT *single*, OHT *double disk*, dan *Chloramphenicol* tunggal, namun lebih kecil dibandingkan dengan *Chloramphenicol double disk* akan tetapi tidak berbeda signifikan ($p>0.05$). hasil yang diperoleh dari kombinasi *P.niruri* dosis anjuran minum (183.3 ppm) dan *Chloramphenicol* 30 μ g tidak bisa dibedakan (*Not Distinguishable*).

Pada penggunaan setengah dosis minum (91.65 ppm) pada kombinasi obat herbal terstandar *P.niruri* dan *Chloramphenicol* memiliki zona bening lebih besar dibandingkan herbal *single* dikarenakan zona bening tidak ditemukan pada herbal *single*, maupun herbal *double disk* dengan data yang signifikan ($p<0.05$) sehingga didapatkan hasil interaksi tidak dapat dibedakan (*Not Distinguishable*). Sedangkan kombinasi obat herbal

terstandar *P.niruri* dan *Chloramphenicol* memiliki zona bening lebih kecil dibandingkan dengan *Chloramphenicol single* maupun *Chloramphenicol double disk* akan tetapi tidak berbeda signifikan ($p>0.05$) sehingga juga didapatkan interaksi tidak dapat dibedakan (*Not Distinguishable*). Interaksi *Not Distinguishable* yaitu aktivitas antibiotik yang didapatkan pada kombinasi tidak diketahui berasal dari antibiotik tunggal atau herbal¹³. Namun, karena tidak ada aktivitas dari *P. niruri* pada pemberian tunggal, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri berasal dari *Chloramphenicol*.

Berdasarkan uji fitokimia dapat berhubungan dengan kandungan senyawa flavonoid yang terkandung pada meniran. Flavonoid bekerja sebagai antibiotik dengan mendenaturasi protein pada dinding sel yang dapat merusak susunan dan permeabilitas dinding sel, flavonoid pada tanaman tercampur glikosida pada jaringan tumbuhan²⁵. Sedangkan *Chloramphenicol* memiliki interaksi yang dapat mengendapkan beberapa obat dari golongan aminoglikosida sehingga dapat menekan aktivitas antibakteri jika diberikan bersamaan²⁶.

Berdasarkan rerata dan standar deviasi kombinasi obat herbal terstandar *P.niruri* menggunakan dosis anjuran minum (183.3 ppm) dan *Chloramphenicol* terhadap *S.aureus*, diduga memiliki potensi interaksi yang sinergis karena dari nilai menunjukkan adanya peningkatan meski tidak signifikan antara kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* dibandingkan *Chloramphenicol single*, OHT *P.niruri single*, maupun OHT *P.niruri double disk* berbeda dengan *Chloramphenicol double disk* yang memiliki potensi antagonis karena nilai yang mengalami penurunan namun tidak signifikan.

Apabila dilihat dari mekanisme kerja flavonoid ataupun saponin yang terdapat pada *P. niruri*, hal ini dapat terjadi melalui mekanisme kedua senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri dengan mendestruksi protein dan enzim sel sehingga mengakibatkan kebocoran membran sitoplasma²⁷. Tidak terjadinya interaksi tersebut diduga karena flavonoid dan saponin merupakan senyawa glikosida yang mana apabila dikombinasikan dengan *Chloramphenicol*, dapat mengendapkan kerja dari senyawa aminoglikosida²². Hal ini dapat disebabkan pula karena konsentrasai dari OHT *P.niruri* kurang dalam menimbulkan aktivitas hambat bakteri, karena tidak ada proses ekstraksi maupun penggunaan pelarut polar untuk mengisolasi senyawa²⁸. Maka, *P.niruri* berpotensi untuk memiliki senyawa-senyawa aktif yang dapat berinteraksi sinergis, dan hal ini telah ditunjukkan pada penelitian Susilo (2019) adanya interaksi sinergis pada fraksi 16 ekstrak metanolik meniran dengan antibiotik *Chlormphenicol* terhadap bakteri *S.aureus*⁵.

Berdasarkan uji fitokimia dapat dikaitkan dengan adanya kandungan senyawa flavonoid dan saponin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan mendenaturasi dinding sel bakteri dan menghambat proses pertumbuhan bakteri²⁹.

Sedangkan pada *Chloramphenicol* bekerja menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat subunit 50s dari ribosom²². Sehingga dapat disimpulkan baik OHT *P.niruri* maupun pada *Chloramphenicol* memiliki aktivitas antibakteri. Namun, memiliki mekanisme yang berbeda sehingga tidak saling berinteraksi. Tidak ditemukan adanya zona bening yang terbentuk pada OHT *P.niruri* dapat disebabkan dosis yang kurang untuk menghasilkan aktivitas antibakteri, maupun pada proses pelarutan OHT *P.niruri* yang tidak menggunakan larutan polar hanya menggunakan air sehingga tidak banyak senyawa yang dihasilkan.

Hasil uji kombinasi OHT *P.niruri* setengah dosis minum (91.65 ppm) dan *Chloramphenicol* berdasarkan rerata dan standar deviasi memiliki interaksi *Not Distinguishable* sehingga di duga aktivitas hambat bakteri diperankan oleh *Chloramphenicol*.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. OHT *P.niruri* didapatkan kandungan senyawa saponin dan flavonoid.
2. OHT *P.niruri* tidak memiliki daya hambat terhadap *S.aureus*.
3. Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* memiliki daya hambat terhadap *S.aureus*.
4. Kombinasi OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* memiliki interaksi yang tidak dapat dibedakan (*Not Distinguishable*).

SARAN

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

1. Melakukan penyusunan cakram pada cawan petri tidak lebih dari lima cakram untuk menghindari pelebaran zona inhibisi antar cakram.
2. Membuat kontrol negatif sebagai perbandingan ZOI OHT *P.niruri* dan *Chloramphenicol* yang di uji.
3. Melakukan uji farmakokinetik untuk mengetahui keamanan dalam mengkonsumsi OHT *P.niruri*

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang karena telah membantu pendanaan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Salim, zamroni, et al. Info komoditi tanaman obat. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2017, 1-2.
2. Sumayyah, Shofiah; Salsabila, Nada. Obat Tradisional: Antara Khasiat dan Efek Sampingnya. *Majalah Farmasetika*, 2017, 2.5: 1-4.
3. Badan Pusat Statistik. Persentase Penduduk yang Mempunyai Keluhan Kesehatan dan Penggunaan Obat menurut Provinsi dan Jenis Kelamin Periode 2009-2014. 2016
4. Putri, Ira Adelia. Rio Risandiansyah, Faisal.A. Efek Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) dengan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol dan Kotrimoksazol terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 2019, 6.3.
5. Susilo, Wigdio Almadany. M.Zainul Fadli, Rio Risandiansyah Efek Penambahan Fraksi Semi Polar Ekstrak Metanolik Herba *Phyllanthus niruri*, L. terhadap Daya Hambat Amoxicillin dan *Chloramphenicol* pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 2019, 7.1.
6. Iswary, Daan Anisa Fadilah. Faisal.A, Rio Risandiansyah. Efek Penambahan Fraksi Polar F24-F28 Ekstrak Metanol Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Daya Hambat Amoksisilin dan Kloramfenikol Pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*, 2019, 6.3.
7. Terrie K. Boguski, P.E. Understanding Units of Measurement. Center for Hazardous Substance Research (CHSR). 2006. 2. pp. 1-2
8. Sani, Aluwi. Kliren dan Volume Distribusi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2003, 1.2: 78-81.
9. Andriyanto, nastiti k.; fitri, Y. Potensi ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai alternatif sediaan diuretik alami. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2011, 9.2: 78-84.
10. Simaremare, Eva Susanty. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 2014, 11.1.
11. Asmara, Anjar Purba. Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Metanol Bunga Turi Merah (*Sesbania Grandiflora* L. Pers). *Al-Kimia*, 2017, 5.1: 48-59.
12. Safitri, Intan Rakhma. Analisis Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Demam Tifoid Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Surakarta Tahun 2009. 2010. Phd Thesis. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
13. Ziaei-daroukalei, Navid, et al. AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection. *MethodsX*, 2016, 3: 43-52.
14. Romadanu, Hanggita, Siti; Lestari, Shanti Dwita. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Jurnal FistechH*, 2014, 3.1: 1-7.
15. Rivai, Harrizul; Septika, Refilia; Boestari, Agusri. Karakterisasi ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) dengan analisa fluoresensi. *Jurnal Farmasi Higea*, 2017, 5.2: 127-136.

16. Kardinan, A., & Kusuma, F.R. Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami . Jakarta : Agromedia Pustaka. 2004.121-173
17. Surahmaida, Surahmaida; Umarudin, Umarudin. Studi Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi Dan Daun Kumis Kucing Menggunakan Pelarut Metanol. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 2019, 3.1: 1-6.
18. Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia.(Volume I) .Jakarta : Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan Republika Indonesia. 2004.
19. Leono, Lie Vanny; Edyson, Edyson; Budiarti, Lia Yulia. Perbandingan Aktivitas Daya Hambat Sediaan Tunggal dengan Kombinasi Infus *Phyllanthus niruri* dan *Peperomia pellucida* terhadap *Staphylococcus aureus*. *Homeostasis*, 2020, 3.1: 75-82.
20. Noor, S. M.; Poeloengan, M. Daya anti bakteri temu kunci (*Kampferia Pandurta* Roxb) dan meniran (*Phyllanthus Niruni* L) terhadap beberapa isolat bakteri secara *In Vitro*. *Media Peternakan*, 2016, 24.3: 37-41.
21. Mangunwardoyo, Wibowo; Cahyaningsih, Eni; USIA, Tepy. Ekstraksi dan identifikasi senyawa antimikroba herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 2009, 7.2: 57-63.
22. Dinos, George P., et al. Chloramphenicol derivatives as antibacterial and anticancer agents: historic problems and current solutions. *Antibiotics*, 2016, 5.2: 20.
23. Soleha, Tri Umiana. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*, 2015, 5.9: 119-123.
24. Alang, Hasria, et al. Potensi *Staphylococcus Hominis* K1a Dari Susu Kerbau Belang Toraja Sulawesi Selatan Sebagai Kandidat Probiotik. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 2019, 5.1: 18-26.
25. Desiana KH et al. Daya Antibakteri EkstrakMeniran (*Phyllanthus niruri* linn) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Conservative Dentistry Journal* Vol.6 No.2 Juli-Desember 2016
26. Friambodo, Bambang, Purnomo, Y., Dewi, Ariani R. Efek Kombinasi Amoksisilin dan Kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. *Journal of Islamic Medicine Research*. Vol. 1. p.12-20. 2017.
27. Fitri, Inayah. Efektivitas antibakteri ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella* sp. dan *Propionibacterium acnes*. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 2017, 6.2: 300-310.
28. Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia: Jakarta. 2005.231-245.
29. Jawetz, Adelberg, Melnick. *Medical Microbiology*, Edisi 23, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008.225-230