

E f e k D a y a H a m b a t K o m b i n a s i A l a n g - a l a n g (*Imperata cylindrica*) d e n g a n A n t i b i o t i k A m o x i s i l i n , K l o r a m f e n i k o l a t a u K o t r i m o k s a z o l T e r h a d a p B a k t e r i *Escherichia coli* d a n *Staphylococcus aureus*

Dimas Anugraha B*, Rio Risandiansyah**, Faisal**

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email: dimasab7@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: The plants that can be used to treat infections are *Imperata cylindrica*. Currently, bacteria are resistant to several antibiotics, so it is necessary to act to overcome this resistance with combine medicinal plants with antibiotics. This study aims to determine the interaction of the combination of *Imperata* with antibiotics against *E.coli* and *S.aureus*.

Methods: This study uses on in vitro experimental laboratory. Zone of inhibition (ZOI) test was performed using the well-modified AZDAST method. The combination of the minimum inhibition concentration (MIC) was tested by the macrodilution method and evaluated by observing the presence of deposits in the lower part of the tube. The minimum Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is a follow-up of the MIC test performed on a petri dish, and the MIC is removed from each suspension to determine if bacterial growth is present or not.

Results: The ZOI combination of cane with amoxicillin (AMX), chloramphenicol (CHL) and cotrimoxazole (CTX) in *E.coli* significantly increased the diameter of clear zone. The results of the combination with AMX and CTX ZOI in *S.aureus* were worth the same as their single results, while combinations of CHL with rods significantly reduced the diameter. The results of the fractional inhibitory concentration index (FICI) from MIC values of all antibiotics show additive interactions with both bacteria. The fractional bactericidal concentration index (FBCI) from MBC value indicating synergistic interactions with *Imperata* and *S.aureus* and additives to other antibiotics. In *E.coli*, FBCI was evaluated only with CHL antibiotics with additive values.

Conclusion: *Imperata* increases the effectiveness of the three antibiotics against *E.coli* bacteria. In *S.aureus* *Imperata* only increases AMX and CHL, so it can be concluded that the combination is synergistic. The combination of rods with CHL against *E.coli* is bactericidal, as is AMX and CTX against *S.aureus*. In combinations of herbs with *S. aureus* CHL, it is bacteriostatic.

Key words: *Imperata*, amoxicillin, chloramphenicol, cotrimoxazole, *E.coli*, *S.aureus*, ZOI, KHM, KBM.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati khususnya tanaman herbal, dan dimanfaatkan untuk memenuhi kesejahteraan rakyat. Salah satu manfaatnya digunakan sebagai pengobatan. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai pengobatan adalah alang-alang (*Imperata cylindrica*). Sebelum digunakan dalam pengobatan, tanaman ini dianggap tidak berguna karena sifatnya yang merusak. Setelah dilakukan penelitian, diketahui ternyata tanaman ini memiliki manfaat untuk mengobati diare, gonore dan banyak penyakit lainnya¹.

Menurut Koh dkk (2011), alang-alang memiliki khasiat farmakologi seperti antidiuretik, antiinflamasi, neuroprotektif dan antibakteri. Ekstrak etanol alang-alang memiliki 12 kandungan senyawa aktif yaitu 4,7-dimethoxy-5-methylcoumarin, 7-hydroxy-4-methoxy-5-methylcoumarin, 7-O- β -D-glucopyranosyl-4-methoxy-5-methylcoumarin, 6-hydroxy-5-methoxyflavone, 5-methoxyflavone, 5,7-dihydroxy-8-methoxyflavone, 4-hydroxybenzaldehyde, 4-hydroxy-cinnamic acid, 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid, 3,4-dimethoxyphenyl-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, impericyloside, dan graminone A². Senyawa dengan aktifitas antibakteri terhadap *E.coli* dan *S.aureus* hanya coumarin, methoxyflavone, cinnamic acid dan methoxybenzoic acid³.

Karena mengandung zat aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri, maka tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati penyakit infeksi. Infeksi adalah penyakit dengan angka kejadian tinggi dinegara berkembang, salah satunya Indonesia⁴. Beberapa agen yang menjadi penyebabnya adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, namun diketahui bahwa bakteri tersebut telah mengalami mutasi dan resisten terhadap beberapa antibiotik⁵. Dilaporkan antibiotik yang telah mengalami resisten antara lain ampicilin, kotrimoksazol, kloramfenikol, siprofloksasin dan gentamisin. Resistensi tersebut menimbulkan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL)^{6,7}.

Parkavi tahun 2012 melaporkan bahwa ekstrak air dan etanol alang-alang memiliki zona hambat yang cukup besar, dan penelitian tersebut dilakukan pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, dengan diameter zona bening sebesar 20 mm pada ekstrak air dan 14 mm pada ekstrak etanol¹. Alang-alang yang memiliki efek sebagai antibakteri diharapkan dapat menjadi solusi terhadap masalah resistensi antibiotik. Beberapa penelitian terkait dengan efek antibakteri herbal telah dilakukan secara kombinasi dengan antibiotik, seperti contohnya curcumin yang dikombinasikan dengan oxacillin, ampicillin, chloramphenicol dan norflaxasi. Kombinasi tersebut menghasilkan efek yang sinergis untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*⁸. Selain itu penelitian lain mengenai kombinasi herbal

ciplukan dengan ampicilin menghasilkan efek yang aditif dan dengan tetrasiklin menghasilkan efek yang sinergis⁹.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat dari kombinasi amoxicillin (AMX), chloramphenicol (CHL) dan co-trimoxazole (CTX) dengan meniran, dan setiap bahan coba secara tunggal terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimental laboratorium, in vitro. Dilakukan untuk mengetahui Zone of Inhibition (ZOI), Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) kombinasi amoxicillin, chloramphenicol dan co-trimoxazole dengan alang-alang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – September 2018 di Laboratorium Biokimia FK UNISMA.

Pembuatan Larutan Antibiotik

Larutan Amoksisilin Phapros® dengan Reg. No. GKL0319231344A 1 1 mg/ml dipersiapkan dengan cara melarutkan serbuk vial dalam 1500 mg dengan aqudest steril dalam perbandingan 1:1 (m/v). Larutan kloramfenikol Indofarm® Reg.No, GKL9420906501A 1 1 mg/ml dibuat dengan melarutkan kapsul 500 mg dengan aquadest steril dalam perbandingan 1:1 (m/v). Larutan kotrimoksazol Bernofarm® dengan No. Reg. GKL9402320210A 1 1 mg/ml dipersiapkan dengan cara menghaluskan tablet yang kemudian dilarutkan dengan aquadest steril dalam perbandingan 1:1 (m/v).

Pembuatan Ekstrak Metanol Alang-alang

Pembuatan ekstrak metanol 96% alang-alang dilakukan dengan mempersiapkan simplisia yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Prosedur awal dilakukan dengan menimbang simplisia sebanyak 20 gr yang dilarutkan dengan pelarut metanol 96% sebanyak 200 ml didalam tabung Erlenmeyer. Larutan simplisia didiamkan selama 18-24 jam dalam Shaker Water Bath dengan kecepatan 4. Ekstrak disaring dengan vacuum buchner dan dilapisi dengan 3 lapis kertas saring halus, hasil filtrat kemudian dievaporasi sampai menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental dilarutkan dengan metanol 96% menjadi 100 mg/ml, Hasil ekstrak disimpan dalam kulkas.

Biakan Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus

Bakteri *E.coli* dan *S.aureus* yang didapatkan dari Laboratorium Biokimia Universitas Islam Malang. Bakteri ditumbuhkan pada media padat Nutrient agar (NA) dengan komposisi (Pepton 5,0

g/l, *Meat extract* 3,0 g/l, agar-agar 12,0 g/l) selama 18-24 jam. Pembuatan bakteri dilanjutkan dengan metode 0,5 *McFarland* untuk mendapatkan suspensi bakteri 10^8 CFU/ml, kemudian suspensi bakteri dibuat menjadi 10^7 CFU/ml, dengan cara menambahkan 1 ml bakteri 10^8 CFU/ml dengan 9 ml NaCl.

Zone of Inhibition (ZOI)

ZOI adalah uji yang dilakukan untuk melihat efektifitas dari bahan coba dengan melihat zona bening yang terbentuk¹⁰. Uji ZOI kombinasi dilakukan dengan metode AZDAST yang dimodifikasi dengan sumuran dan uji ZOI tunggal dengan metode Kirby-bauer menggunakan sumuran. Data ZOI dikatakan lemah apabila diameter hambat <5 mm, sedang apabila diameter hambat 5-10 mm, kuat apabila diameter hambat 10-20 mm dan sangat kuat apabila diameter hambat >20 mm¹¹.

Sumuran dibuat dengan mempersiapkan petri dish berisi agar yang kemudian dilubangi dengan cork borer berukuran 6mm. Setiap sumuran akan diisi dengan bahan coba baik secara tunggal maupun kombinasi dengan volume 30 µl, ZOI kombinasi dilakukan dengan mengisi sumuran dalam perbandingan 1:1 (v/v) sesuai dengan konsentrasi yang digunakan, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dalam suhu 37°C.

ZOI kombinasi dalam penelitian ini menggunakan 2 dosis yang berbeda dari tiap bahan coba, yang mana dosis tersebut diambil berdasarkan hasil dari ZOI tunggal antibiotik maupun herbal. Dosis pertama menggunakan antibiotik dosis rendah (ADR) dan herbal dosis rendah (HDR), merupakan dosis ZOI tunggal dengan diameter <10mm. Dosis kedua menggunakan antibiotik dosis tinggi (ADT) dan herbal dosis tinggi (ADT), yang merupakan dosis yang 8x lebih besar dari ADR dan HDR.

Uji ZOI kombinasi terhadap *E.coli* pada AMX menggunakan dosis ADT sebesar 0,25 mg/ml dan ADR sebesar 0,03 mg/ml, untuk CHL menggunakan dosis ADT sebesar 0,125 mg/ml dan ADR sebesar 0,01 mg/ml dan untuk CTX menggunakan dosis ADT sebesar 0,25 mg/ml dan ADR sebesar 0,03 mg/ml, Dosis alang-alang yang digunakan dalam kombinasi yaitu, HDR sebesar 0,5 mg/ml dan HDT sebesar 2 mg/ml.

Uji ZOI kombinasi terhadap *S.aureus* pada AMX menggunakan dosis ADT sebesar 0,125 mg/ml dan ADR sebesar 0,01 mg/ml, CHL menggunakan dosis ADT sebesar 0,06 mg/ml dan dosis ADR sebesar 0,007 mg/ml, sedangkan untuk CTX dosis ADT yang digunakan sebesar 0,125 mg/ml dan ADR sebesar 0,03 mg/ml, Pada ekstrak alang-alang yang digunakan dalam kombinasi menggunakan dosis HDT sebesar 1 mg/ml dan HDR sebesar 0,25 mg/ml.

ZOI kombinasi dievaluasi dengan melihat interaksinya dari tiap kombinasi. Dikatakan sinergis apabila ADT/R+HDT/R lebih besar dari ADT/R

dan HDT/R dan lebih kecil atau lebih besar dari ADT/R+ADT/R atau HDT/R+HDT/R. Dikatakan aditif apabila ADT/R+HDT/R sama dengan ADT/R+ADT/R atau HDT/R+HDT/R. Dikatakan antagonis jika ADT/R+HDT/R lebih kecil dari ADT/R+HDT/R.

Kadar Hambat Minimum (KHM)

Uji KHM dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri¹². Uji KHM kombinasi dan tunggal dilakukan dengan metode mikrodilusi dan makrodilusi. Makrodilusi dilakukan untuk menguji KHM herbal secara tunggal dan juga kombinasi antibiotik dengan herbal. Metode ini menggunakan 24 tabung reaksi yang nantinya pada uji antimikroba kombinasi akan diisi dengan antibiotik, herbal, *Nutrient Broth* (NB) dan bakteri dengan kepadatan 10^7 CFU/ml, volume total dari setiap tabung adalah 2 ml dengan ratio 1:1:1:1. Sedangkan herbal tunggal berisi herbal, NB dan bakteri dengan perbandingan 2:1:1.

Metode mikrodilusi digunakan untuk uji KHM antibiotik tunggal, dimana metode ini menggunakan 96 well-plate yang berisi antibiotik, NB dan bakteri dalam perbandingan 2:1:1. Hasil dari KHM nantinya akan dievaluasi menggunakan Spektrofotometer EPOCH dengan program GEN 5™. Kontrol negatif berisikan aquadest, NB dan juga NaCl atau diisi dengan bakteri pada kontrol positif. Suspensi KHM yang telah dibuat diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C¹³.

Dosis awal antibiotik dan herbal yang akan digunakan dalam uji kombinasi yaitu, pada *E.coli* dosis AMX dan CHL sebesar 0,01 mg/ml dan CTX sebesar 0,003 mg/ml. Pada *S.aureus* dosis awal AMX sebesar 0,03 mg/ml, sedangkan pada CHL dan CTX sebesar 0,06 mg/ml. Dosis herbal awal yang digunakan dalam uji KHM kombinasi pada *E.coli* sebesar 0,5 mg/ml dan pada *S.aureus* sebesar 0,25 mg/ml.

Evaluasi hasil KHM kombinasi menggunakan Checkerboard assay dengan rumus:

$$\Sigma FICI = \frac{MIC_{combination\ a}}{MIC_{alone\ a}} + \frac{MIC_{combination\ b}}{MIC_{alone\ b}}$$

Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) merupakan suatu penghitungan uji KHM untuk menentukan interaksi dari kombinasi dua bahan coba. Kombinasi dan tunggal a diperuntukan kepada antibiotik, sedangkan kombinasi dan tunggal b diperuntukan kepada herbal. Interpretasi hasil FICI dibagi menjadi 3 kategori, apabila hasil bernilai ≤0,5 maka dapat dikatakan sinergis, bernilai 0,5–4 kombinasi bersifat aditif dan apabila hasil bernilai >4 maka kombinasi bersifat antagonis¹⁴.

Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Kadar bunuh minimum merupakan konsentrasi terkecil dari suatu senyawa untuk membunuh bakteri¹⁵. Uji KBM dilakukan dengan

memersiapkan *petri dish* yang sebelumnya digambar kotak-kotak berukuran 1,5 cm x 1,5 cm. Hasil KHM dari tiap tabungnya diteteskan kedalam *petri dish* berisi NA sebanyak 10 µl, KBM yang telah dibuat diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil dari KBM dapat dievaluasi dengan melihat adanya koloni bakteri yang tumbuh dari setiap konsentrasi.

Hasil KBM kombinasi dilakukan perhitungan dengan *Checkerboard Assay* menggunakan rumus:

$$\sum FBCI = \frac{MB C combination a}{MBC alone a} + \frac{MB C combination b}{MBC alone b}$$

Fractional Bactericidal Concentration Index (FBCI) merupakan uji yang dilakukan untuk melihat interaksi kombinasi dua bahan coba dari uji KBM. Data FBC indeks dievaluasi menggunakan kategori yang sama dengan FIC indeks. Dikatakan¹⁴.

Analisa Data Statistik

Hasil ZOI dievaluasi menggunakan mistar dengan tingkat ketelitian 1 mm dan diolah menggunakan *Microsoft Excel* 2016 untuk mendapatkan rerata dan standar deviasi. ZOI kombinasi diuji statistik normalitas distribusi menggunakan *Kolmogrov-Smirnov*, namun karena sebaran data tidak normal, maka ujidilakukan secara *non-parametric* menggunakan *Mann-Whitne*. Uji dilakukan untuk membandingkan antar kombinasi antibiotik dengan herbal antara lain, ADT+HDT dengan ADT+HDR, ADT+HDT dengan ADR+HDT dan ADT+HDT, ADT+HDR, ADR+HDT dengan ADR+HDR, dengan ADR+HDR. Analisa hasil KHM tunggal antibiotik dilakukan menggunakan Spektrofotometer EPOCH dengan program GEN 5™, Hasil KHM dan KBM kombinasi diuji menggunakan FIC dan FBC indeks untuk melihat interaksi dari setiap kombinasi.

HASIL

Zone of Inhibition Tunggal

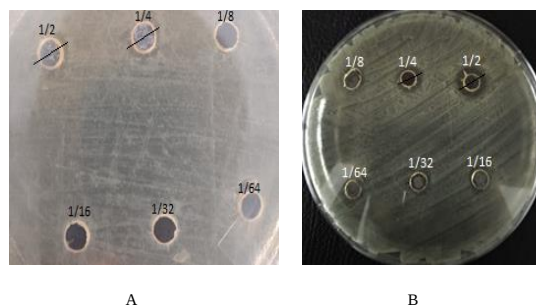
Pada penelitian ini uji ZOI ekstrak alang-alang tunggal menggunakan konsentrasi induk 2 mg/ml

terhadap *E.coli* dan 1 mg/ml terhadap *S.aureus*. Hasil ZOI alang-alang tunggal terhadap *E.coli* didapatkan pada dosis 2 mg/ml (2) dan 1 mg/ml (1) masing-masing memiliki diameter sebesar 10 mm dan 8 mm. Hasil ZOI terhadap *S.aureus* pada dosis 1 mg/ml (1) dan 0,5 mg/ml (1/2) masing-masing memiliki diameter sebesar 11 mm dan 8 mm. Hasil ZOI dari alang-alang dan antibiotik tunggal dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2, sedangkan contoh uji ZOI herbal tunggal dapat dilihat pada gambar 1 berikut ini.

Tabel 1. Hasil ZOI Alang-alang Tunggal terhadap

Dosis mg/ml	Pengenceran	Rata-rata Diameter ZOI (mm)	
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
2	2	10 ± 0	-
1	1	8,3 ± 0,5	10,3 ± 0,5
0,5	1/2	0	8 ± 0
0,25	1/4	0	0
0,125	1/8	0	0
0,06	1/16	0	0
0,03	1/32	-	0

Bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.



Gambar 1. Hasil ZOI Alang-alang tunggal terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*, A. ZOI Alang-alang tunggal terhadap *E.coli* dengan zona bening pada pengenceran 1/2 = 10 mm dan 1/4 = 8 mm; B, ZOI Alang-alang terhadap *S.aureus* dengan zona bening pada pengenceran 1/2 = 11 mm dan 1/4 = 8 mm.

Tabel 2. Rerata dan Standar Deviasi Ukuran ZOI Antibiotik AMX, CHL dan CTX terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

Pengenceran	Dosis (mg/ml)	Diameter ZOI (mm)					
		<i>Eschericia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
		AMX	CHL	CTX	AMX	CHL	CTX
½	0,5	17,3 ± 1,52	34,6 ± 1,15	20,6 ± 0,57	21,6 ± 1,53	32,6 ± 1,15	25 ± 3
¼	0,25	15,6 ± 1,15	28 ± 3,46	16,3 ± 0,57	19,3 ± 1,53	30 ± 0	19,3 ± 1,53
1/8	0,125	12,6 ± 1,15	24 ± 2	14,3 ± 0,57	16,6 ± 1,53	24,6 ± 2,31	15,6 ± 2,1
1/16	0,06	10,6 ± 1,15	18,6 ± 1,15	12 ± 1	14 ± 2	20 ± 0	12 ± 1
1/32	0,03	8 ± 0	14 ± 0	0	10,3 ± 2,1	14,6 ± 1,15	0
1/64	0,01	0	0	0	8 ± 2	11,6 ± 0,58	0
1/128	0,007	0	0	0	0	0	0
1/256	0,003	0	0	0	0	0	0
1/512	0,001	0	0	0	0	0	0

Keterangan: A M X : *Amoxicillin*
 C H L : *Chloramphenicol*

 C T X : *Co-trimoxazole*

Berdasarkan data ZOI antibiotik tunggal pada tabel 2 menunjukkan ZOI tertinggi antibiotik terhadap *E.coli* ada pada CHL sebesar 34,6 mm, kemudian diikuti CTX sebesar 20,6 mm dan AMX 17,3 mm. Hasil ZOI antibiotik tunggal terhadap *S.aureus* terdapat pada antibiotik CHL sebesar 32,6 mm, dan diikuti oleh CTX dan AMX yang masing-masing sebesar 25 mm dan 21,6 mm. Pada penelitian ini ZOI dikatakan menghilang atau tidak adanya zona bening yang mengitari sumuran apabila memiliki diameter <6 mm, yang mana pada AMX, CHL dan CTX terhadap *E.coli* zona menghilang pada pengenceran 1/32, 1/64 dan 1/32, sedangkan terhadap *S.aureus* pada pengenceran 1/128, 1/128 dan 1/32 (Tabel 2).

Z O I K o m b i n a s i

Hasil ZOI kombinasi antibiotik dan herbal dapat dilihat pada tabel 3 dibawah ini. Penelitian ini menunjukkan pengombinasian antibiotik dosis tinggi AMX, CHL dan CTX dengan herbal dosis tinggi alang-alang terhadap *E.coli* menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan ADT dan HDT. Pengombinasian antibiotik dosis rendah AMX dengan herbal dosis rendah terhadap *E.coli* berbeda signifikan dengan ADR, sedangkan pengombinasian HDR dengan ADR CHL dan CTX menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan HDR. Pengombinasian antibiotik dosis tinggi

AMX, CHL dan CTX dengan herbal dosis rendah alang-alang terhadap *E.coli* menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan dengan HDR. Pengombinasian antibiotik dosis rendah AMX, CHL dan CTX dengan herbal dosis tinggi alang-alang berbeda signifikan dengan ADR.

Hasil ZOI kombinasi antibiotik dengan alang-alang terhadap *S.aureus* menunjukkan, pengombinasian antibiotik dosis tinggi CHL dengan herbal dosis tinggi alang-alang menunjukkan hasil berbeda signifikan dengan ADT. ZOI kombinasi antibiotik dosis tinggi AMX dan CTX dengan herbal dosis tinggi alang-alang berbeda secara signifikan dengan HDT+HDT dan HDT. Pngombinasian antibiotik dosis rendah AMX dengan herbal dosis rendah menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan ADR dan HDR, sedangkan pada CHL dan CTX berbeda signifikan dnegan HDR+HDR. Pada pengombinasian antibiotik dosis tinggi AMX, CHL dan CTX dengan herbal dosis rendah alang-alang terhadap *S.aureus* memberikan hasil berbeda secara signifikan dengan HDR. Pada pengombinasian antibiotik dosis rendah AMX, CHL dan CTX dengan herbal dosis tinggi alang-alang terhadap *S.aureus* menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan dengan ADR.

Tabel 3. Rerata dan SD dari Kombinasi *Amoxicillin*, *Chloramphenicol* dan *Co-trimoxazole* dengan Alang-alang terhadap *E.coli* dan *S.aureus*.

Dosis Kombinasi	ZOI (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	AMX + A	CHL + A	CTX + A	AMX + A	CHL + A	CTX + A
ADT+HDT	18±1 ^{b,c,d}	24,3±0,5 ^{b,c,d}	24,3±2,1 ^{a,b,c,d}	17,3±2,1 ^{c,d}	9,3±1,1 ^{a,b}	19,6±1,5 ^{c,d}
ADT+ADR	15,6±1,5	24±2	16,3±0,57	16,6±1,52	20±0	19,3±1,52
ADT	12,6±1,15	16,3±4,7	14,3±0,57	14±2	14,6±1,15	15,6±2,08
HDT+HDT		10±0			10,3±0,57	
HDT		8,3±0,57			8±0	
ADR+HDR	10,6 ^{e,f,h}	0±0 ^g	0±0 ^g	7±0 ^{f,h}	0±0 ^g	0±0 ^g
ADR+ADR	8±0	0±0	0±0	8±2	0±0	0±0
ADR	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
HDR+HDR		8,3±0,57			8±0	
HDR		0±0			0±0	
ADT+HDR	16,3±0,57 ^{b,g,h}	19,6±0,57 ^{a,g,h}	16,6±2,51 ^{g,h}	14,6±2,51 ^h	9±0 ^{a,b,g,h}	17,3±0,57 ^{g,h}
ADT+ADR	15,6±1,5	24±2	16,3±0,57	16,6±1,52	20±0	19,3±1,52
ADT	12,6±1,15	16,3±4,7	14,3±0,57	14±2	14,6±1,15	15,6±2,08
HDR+HDR		8,3±0,57			8±0	
HDR		0±0			0±0	
ADR+HDT	13,3±0,57 ^{c,d,f}	0±0 ^{c,d,e}	0±0 ^{c,d,e}	10,3±0,57 ^{d,f}	7±0 ^{c,d,e,f}	7±0 ^{c,d,e,f}
ADR+ADR	8±0	0±0	0±0	8±2	0±0	0±0
ADR	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
HDT+HDT		10±0			10,3±0,57	
HDT		8,3±0,57			8±0	

Keterangan: AMX = *Amoxicillin*; CHL = *Chloramphenicol*; CTX = *Co-trimoxazole*; A = Alang-alang; ADT = Antibiotik Dosis Tinggi; ADT untuk AMX (*E.coli*=0,125 mg/ml, *S.aureus*=0,06 mg/ml); ADT untuk CHL (*E.coli*=0,06 mg/ml, *S.aureus*=0,03 mg/ml); ADT untuk CTX (*E.coli*=0,125 mg/ml, *S.aureus*=0,125 mg/ml); ADR=Antibiotik Dosis Rendah; ADR untuk AMX (*E.coli*=0,01 mg/ml, *S.aureus*=0,007 mg/ml); ADR untuk CHL (*E.coli*=0,01 mg/ml, *S.aureus*=0,007 mg/ml); ADR untuk CTX (*E.coli*=0,03 mg/ml, *S.aureus*=0,03 mg/ml); HDT=Herbal Dosis Tinggi (*E.coli*=2 mg/ml, *S.aureus*=0,5 mg/ml); HDR=Herbal Dosis Rendah (*E.coli*=1 mg/ml, *S.aureus*=0,25 mg/ml); a. Berbeda signifikan dengan ADT+ADR; b. Berbeda signifikan dengan ADT; c. Berbeda signifikan dengan HDT+HDT; d. Berbeda signifikan dengan HDT; e. Berbeda signifikan dengan ADR+HDR; f. Berbeda signifikan dengan ADR; g. Berbeda signifikan dengan HDR+HDR; h. Berbeda signifikan dengan HDR

Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) Tunggal

Hasil uji KHM antibiotik AMX, CHL dan CTX dievaluasi menggunakan EPOCH dengan program GEN 5™ dan hasilnya akan diinterpretasi

menggunakan program *Microsoft Excel* dalam rerata dan standar deviasi. Penentuan hasil KHM antibiotik tunggal yaitu 20-50% dari kontrol positif dalam setiap ujinya. Hasil KHM antibiotik AMX

terhadap *E.coli* didapatkan nilai $0,588 \pm 0,186$, yaitu pada dosis $0,007 \text{ mg/ml}$. Hasil pada CHL didapatkan nilai $0,219 \pm 0,007$, yaitu pada dosis $0,007 \text{ mg/ml}$, dan hasil pada CTX didapatkan nilai $0,677 \pm 0,09$, yaitu pada dosis $9 \times 10^{-5} \text{ mg/ml}$.

Hasil KHM antibiotik AMX terhadap *S.aureus* diperoleh nilai $0,246 \pm 0,02$, yaitu pada dosis sebesar $0,007 \text{ mg/ml}$. Sedangkan pada CHL dan CTX hasil KHM terhadap *S.aureus* ada pada dosis yang sama yaitu pada dosis $0,007$ diperoleh nilai $0,206 \pm 0,015$, mg/ml dan $0,32 \pm 0,143$.

Hasil KHM alang-alang tunggal menggunakan metode makrodilusi dievaluasi secara visual dengan melihat kejernihan atau ada tidaknya endapan pada dasar tabung reaksi dan dibandingkan dengan kontrol negatif dan positif untuk menentukan KHM herbal tersebut. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa hasil KHM alang-alang tunggal ditandai dengan tidak adanya endapan pada tabung terakhir pada dosis $0,125 \text{ mg/ml}$ (1/8) terhadap *E.coli*, sedangkan terhadap *S.aureus* sebesar $0,06 \text{ mg/ml}$ (1/16).

Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) Kombinasi Antibiotik dengan Alang-alang

KHM kombinasi pada penelitian ini menunjukkan jika kombinasi AMX, CHL dan CTX dengan alang-alang terhadap bakteri *E.coli* tidak mengalami perubahan dosis baik dibandingkan dengan KHM antibiotik dan alang-alang secara tunggal (Tabel 4). Hasil ini berbeda halnya dengan KHM kombinasi terhadap *S.aureus*, hasil KHM kombinasi AMX, CHL dan CTX dengan alang-alang memperlihatkan terjadinya penurunan dosis dibandingkan dengan KHM antibiotik dan herbal secara tunggal. Namun pada kombinasi CTX dengan alang-alang tidak terjadi perubahan pada dosis herbalnya. Hasil diatas diinterpretasi secara visual dengan melihat tabung terakhir yang tidak terbentuk endapan, yang mana tabung dengan dosis yang tidak dapat menghambat bakteri akan terbentuk endapan putih didasarnya.

Kombinasi yang telah dilakukan akan diakumulasi menggunakan FIC (*Fractional Inhibitory Concentration*) indeks untuk menentukan interaksinya. Penelitian ini menunjukkan FIC indeks pada kombinasi AMX, CHL dan CTX dengan alang-alang terhadap *E.coli* dan *S.aureus* menghasilkan sifat aditif, dikategorikan demikian

karena memiliki nilai FIC indeks antara $0,5 - 4$ (Tabel 5).

Hasil Kadar Bunuh Minimum (KBM) Antibiotik dan Herbal Tunggal

Berdasarkan data pada tabel 4, hasil KBM antibiotik dan herbal tunggal menunjukkan dosis yang lebih tinggi dibandingkan dengan uji tunggalnya, yang mana hasil KBM AMX, CHL dan CTX tunggal terhadap *E.coli* ada pada dosis dan pengenceran $0,25 \text{ mg/ml}$ (1/4), $0,03 \text{ mg/ml}$ (1/32) dan $0,125 \text{ mg/ml}$ (1/8). Hasil KBM antibiotik tunggal terhadap *S.aureus* menunjukkan hasil KBM AMX sebesar $0,06 \text{ mg/ml}$ (1/16), CHL dan CTX sebesar $0,125 \text{ mg/ml}$. Untuk data KBM herbal tunggal terhadap *E.coli* dan *S.aureus* sama-sama sebesar $0,25 \text{ mg/ml}$ (1/4).

Hasil Kadar Bunuh Minimum (KBM) Kombinasi

Uji KBM kombinasi pada penelitian ini menunjukkan kombinasi AMX dan CTX dengan alang-alang terhadap *E.coli* berada diluar dosis yang diujikan, sedangkan hasil KBM kombinasi CHL dengan alang-alang pada *E.coli* mengalami penurunan KBM dibandingkan uji tunggalnya meskipun dosis herbal mengalami peningkatan.

Pada KBM kombinasi antibiotik dan herbal terhadap *S.aureus* menunjukkan jika semua kombinasi memberikan hasil KBM yang lebih baik dibandingkan dengan uji KBM tunggalnya, meskipun pada kombinasi CHL dengan alang-alang tidak mengalami perubahan pada dosis alang-alang (Tabel 4).

KBM kombinasi yang telah dilakukan diinterpretasikan kedalam FBC indeks untuk melihat hasil interaksi dari KBM kombinasi antibiotik dengan herbal. Berdasarkan data pada tabel 5.FBC indeks tidak dapat dilakukan pada beberapa kombinasi karena nilai KBM berada diluar dosis yang diujikan pada penelitian.

Namun, beberapa kombinasi dapat dievaluasi dengan FBC indeks antara lain, KBM kombinasi CHL dengan alang-alang terhadap kedua bakteri dan KBM kombinasi CTX dengan alang-alang terhadap *S.aureus* bersifat aditif karena memiliki nilai antara $1 - 4$. Berbeda halnya dengan FBC indeks KBM kombinasi AMX terhadap *S.aureus* yang bersifat sinergis karena memiliki nilai $\leq 0,5$ (Tabel 5).

Tabel 4 Data Hasil Pengukuran K-H dan K-B secara Tunggal dan Kombinasi terhadap *Ecdi* dan *Saras*

Bakteri	Dosis (mg/ml)	Dosis	K-H Tunggal				K-B Tunggal				K-H Kombinasi			K-B Kombinasi		
			AMK	CHL	CIM	A	AMK	CHL	CIM	A	AMK+ A	CHL+ A	CIM+ A	AMK+ A	CHL+ A	CIM+ A
<i>Ecdi</i>	0.5	1/2	-	-	-	*	-	-	-	-						
	0.25	1/4	-	-	-	-	-	-	-	-						
	0.125	1/8	-	-	-	-	-	-	-	-						
	0.06	1/16	-	-	-	+	+	-	-	+						
	0.03	1/32	-	-	-	+	+	-	+	+						
	0.01	1/64	-	-	-	-	+	-	+	+	*	*		+	*	
	0.001	1/128	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-		+	+	
	0.0005	1/256	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	*	+	+	+
	0.0001	1/512	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	9x10 ⁻⁵	1/1024	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	4x10 ⁻⁵	1/2048	+	+	+	-	+	+	+	+			+			+
	2x10 ⁻⁵	1/4096	+	+	+	-	+	+	+	+			+			+
<i>Saras</i>	0.5	1/2	-	-	-	-	-	-	-	-						
	0.25	1/4	-	-	-	-	-	-	-	-						
	0.125	1/8	-	-	-	-	-	-	-	+						
	0.06	1/16	-	-	-	-	-	-	-	+						
	0.03	1/32	-	-	-	+	-	+	+	+						
	0.01	1/64	-	-	-	+	+	+	+	+						
	0.001	1/128	-	+	+	+	+	+	+	+						
	0.0005	1/256	+	+	+	+	+	+	+	+						
	0.0001	1/512	+	+	+	+	+	+	+	+	-			+		
	9x10 ⁻⁵	1/1024	+	+	+	+	+	+	+	+						
	4x10 ⁻⁵	1/2048	+	+	+	+	+	+	+	+						
	2x10 ⁻⁵	1/4096	+	+	+	+	+	+	+	+						

Keterangan

AMK : Amoxicillin
CHL : Chloramphenicol
CIM : Cotrimoxazole
A : Amalgam

K-H : Kadar Hambat Minimum
K-B : Kadar Bunuh Minimum
• : Dosis minimal untuk kombinasi terhadap *Saras*
* : Dosis minimal untuk kombinasi terhadap *Ecdi*

 : Hasil K-H dan K-B

Label 5 Hasil Perhitungan HC dan FBC Indeks Kombinasi Antibiotik dengan Aargalag

Bakteri	HC(A)	HC (AMX)	ΣHCI	Sifat	HC(A)	HC (CH)	ΣHCI	Sifat	HC(A)	HC (CIX)	ΣHCI	Sifat
<i>E.coli</i>	1	1	2	Addit	1	1	2	Addit	0,48	1	1,48	Addit
<i>S aureus</i>	0,5	0,14	0,64	Addit	0,5	0,3	0,8	Addit	0,5	0,3	0,8	Addit
	HBC(A)	HC (AMX)	ΣHBCI	Sifat	HBC(A)	HC (CH)	ΣHBCI	Sifat	HBC(A)	HC (CIX)	ΣHBCI	Sifat
<i>E.coli</i>					2	0,7	2,7	Addit				
<i>S aureus</i>	0,12	0,05	0,17	Sinergis	1	0,5	1,5	Addit	0,5	0,16	0,66	Addit

Keterangan

AMX : Amoxicillin
 CH : Chloramphenicol
 CIX : Cotrimoxazole
 A : Aargalag
 HC : Fractional Inhibitory Concentration
 HBC : Fractional Bactericidal Concentration
 HCI : Fractional Inhibitory Concentration Index
 HBCI : Fractional Bactericidal Concentration Index

Hasil pada penghitungan FICI dengan antibiotik FICI dan FBCI mer untuk mengetahui bahan coba yang menggunakan rumus bab metodologi penelitian menunjukkan peng ketiga antibiotik *S. aureus* memberikan nilai FIC aditif jika hasil FIC Nilai FBCI dari k CHL menunjukkan namun pada antibi karena kemungkinannya. Pengombinasian dengan CIX menunjukkan pada A berilai sinergis. Nilai <0,5.

PEMBAHASAN

Uji ZOI dan KHM Alang-alang dan Antibiotik Tunggal terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hasil ZOI antibiotik tunggal pada penelitian ini masih menunjukkan adanya aktivitas hambat terhadap kedua bakteri, namun antibiotik menunjukkan respon yang resisten. Hasil tersebut disesuaikan dengan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) yaitu mengenai standar kerentanan dari suatu antimicroba terhadap bakteri, yang mana kategori menghambat sesuai dengan dosis yang CLSI tentukan¹⁶. Diduga hal ini terjadi karena antibiotik yang digunakan dalam penelitian tidak menggunakan senyawa murni, sehingga hasil yang didapat tidak lebih baik dari standar CLSI. Namun, jika hasil KHM pada penelitian ini merujuk pada CLSI maka dapat dikategorikan jika antibiotik memberikan respon yang sensitif, menyesuaikan menggunakan dosis dalam µg/ml pada CLSI¹⁶.

Hasil uji ZOI ekstrak alang-alang terhadap *E.coli* yang diawali dengan konsentrasi induk 2 mg/ml menunjukkan adanya aktifitas daya hambat. Zona bening yang didapat sebesar 10 mm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ismail et al (2011), yang dilakukan dengan ekstrak metanol alang-alang dalam konsentrasi 1 mg/ml, 20 mg/ml dan 50 mg/ml. Penelitian ini menunjukkan jika alang-alang memiliki zona hambat pada konsentrasi 1mg/ml dan 20 mg/ml sebesar 7,67 mm terhadap bakteri *E.coli* dan 9,67 mm pada konsentrasi 50 mg/ml¹⁷.

Hasil penelitian ini berbeda terhadap bakteri *S.aureus*. ZOI ekstrak metanol alang-alang terhadap *S.aureus* pada konsentrasi 1 mg/ml tidak menunjukkan adanya zona bening, namun pada konsentrasi 20 mg/ml sebesar 7 mm dan 50 mg/ml sebesar 8,67 mm. Pada penelitian ini dengan ekstrak metanol 96% alang-alang dengan dosis 1 mg/ml dapat menghambat *S.aureus* sebesar 11 mm. Sehingga, uji ZOI ekstrak metanol alang-alang dalam penelitian ini memiliki efektifitas sebagai antibakteri dan menghambat lebih kuat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya¹⁷.

Ekstrak alang-alang menunjukkan hasil adanya daya hambat terhadap kedua bakteri, diduga karena herbal tersebut memiliki senyawa aktif yang dapat bekerja sebagai antibakteri antara lain *coumarin*, *methoxyflavone*, *cinnamic acid* dan *methoxybenzoic acid*³. Senyawa aktif ini diketahui bekerja pada membran plasma dari bakteri, sehingga apabila membran plasma bakteri terganggu akan memudahkan lisisnya bakteri, sehingga hal tersebut yang menyebabkan bakteri dapat terhambat atau bahkan mati^{18,19,20}.

Hasil ZOI herbal diatas didukung dengan Uji KHM nya. Uji KHM alang-alang terhadap bakteri

E.coli terdapat pada dosis 0,125 mg/ml (1/8), sedangkan pada *S.aureus* dosis terkecil yang dapat menghambat ada pada dosis 0,06 mg/ml (1/16). Dapat dikatakan jika alang-alang memberikan respon yang lebih baik dalam menghambat *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli*. Diduga hal ini terjadi karena struktur dinding sel kedua bakteri berbeda, *E.coli* memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan dengan *S.aureus*. Penjelasan ini juga diperkuat oleh Jawetz et al (2013), *E.coli* adalah bakteri gram negatif yang telah resisten terhadap beberapa senyawa karena memiliki tiga lapis dinding sel yang memiliki ketahanan lebih baik terhadap senyawa-senyawa yang keluar dan masuk²¹.

Hasil KBM antibiotik tunggal terhadap bakteri pada tabel 4 menunjukkan, bahwa dibutuhkan dosis yang lebih besar untuk membunuh bakteri dibandingkan dengan menghambatnya²². Hal tersebut terjadi karena KHM merupakan uji yang dilakukan untuk melihat kerja bakteriostatik dari suatu senyawa. Uji tersebut kemungkinan hanya dapat membunuh (<90%) bakteri, sedangkan KBM dilakukan untuk melihat suatu senyawa bekerja sebagai bakterisidal dimana efektifitas dalam membunuh bakteri harus mencapai (≥99%)²³.

Pada uji KBM antibiotik tunggal terhadap *S.aureus*, ketiga antibiotik bekerja secara bakterisidal (tabel 4). Dikatakan bakterisidal apabila hasil uji KBM tidak 4 kali lebih besar dibandingkan dengan uji KHM nya²². Hasil KBM ketiga antibiotik tidak lebih dari 4 kali hasil KHM nya. Sedangkan, pada KBM antibiotik tunggal terhadap *E.coli* hanya CHL yang bekerja secara bakterisidal dan antibiotik lainnya tidak.

Hasil KBM tunggal alang-alang terhadap kedua bakteri menunjukkan hasil yang sama pada dosis 0,25 mg/ml atau pada pengenceran 1/4 (Tabel 4). Hasil ini menunjukkan jika alang-alang adalah tanaman herbal yang berinteraksi secara bakterisidal, sehingga dalam penelitian ini alang-alang dapat dikatakan efektif dalam membunuh bakteri.

Uji ZOI dan KHM Kombinasi Antibiotik dengan Alang-alang terhadap *E.coli* dan *S.aureus*

Uji ZOI dan KHM kombinasi antibiotik dengan alang-alang dievaluasi untuk melihat interaksinya dan dibandingkan dengan uji tunggalnya. Hasil uji ZOI kombinasi ketiga antibiotik dengan alang-alang terhadap bakteri *E.coli* menunjukkan hasil yang sinergis. Sama halnya dengan ZOI kombinasi alang-alang dengan AMX dan dengan CTX terhadap *S.aureus*. Diduga respon sinergis terjadi karena kandungan fitokimia dari alang-alang yang lipofilik dan struktur molekul planar, sehingga berkontribusi

dalam penetrasi melalui membran dinding sel bakteri¹⁷. Berbeda halnya dengan hasil ZOI kombinasi alang-alang dengan CHL yang memberikan respon antagonis, dimana perbandingan diameter dengan uji tunggalnya sangat besar. Diduga hal tersebut dapat terjadi karena uji yang dilakukan menggunakan jenis media yang berbeda yaitu padat dan cair, sehingga perbedaan tersebut akan mempengaruhi difusi dari setiap bahan coba dan membuat efektifitas bahan coba pada dua uji tersebut berbeda²⁴.

Penelitian ini menunjukkan jika hasil ZOI kombinasinya tidak konsisten dengan interaksi dari hasil FICI dari nilai KHM. Kombinasi pada kedua bakteri menunjukkan interaksi yang bersifat aditif. Selain itu respon sinergis juga dapat terjadi karena alang-alang memiliki senyawa antibakteri yang bekerja pada membran sel dan ribosom pada bakteri, sehingga apabila dikombinasikan dengan ketiga antibiotik maka akan menambahkan efektifitasnya terhadap kedua bakteri^{18,19,20}. Bila dikombinasikan dengan AMX, antibiotik akan bekerja dalam membentuk ikatan β -lactam dan akan menghancurkan lapisan terluar dari bakteri dan hasil akhirnya menyebabkan bakteri mudah lisis²⁶. Sedangkan, methoxyflavon dari alang-alang juga bekerja dalam menghambat *penicillin binding protein* (PBP) pada bakteri. Pada CHL dan CTX, alang-alang akan membuka jalan masuknya kedua antibiotik dengan mudah karena struktur dinding sel dan membrane sel pada bakteri sebelumnya telah dirusak oleh herbal²⁷.

Pada penelitian ini hasil KBM kombinasi menunjukkan jika alang-alang apabila dikombinasikan dengan AMX dan CTX terhadap *E.coli* maka akan bekerja secara bakteriostatik, karena bakteri masih tumbuh pada pemberian antibiotik dengan herbal setelah inkubasi 24 jam. Sehingga dalam penelitian ini memperlihatkan jika kombinasi AMX dan CTX dengan meniran merubah interaksinya menjadi bakteriostatik terhadap bakteri *E.coli*. Namun berbeda halnya dengan kombinasi CHL dengan alang-alang terhadap *E.coli*, kombinasi ini tetap bekerja secara bakterisidal sesuai dengan hasil KBM uji tunggalnya.

Pada uji KBM kombinasi antibiotik dengan herbal terhadap *S.aureus* menunjukkan jika kombinasi AMX dan CTX dengan alang-alang bekerja secara bakterisidal dan kombinasi ini tidak merubah interaksi bahan coba dari hasil uji tunggalnya, sedangkan kombinasi CHL dengan alang-alang membuat kerjanya menjadi bakteriostatik, karena hasil KBM nya lebih besar 4 kali dari uji KHM kombinasinya,

KESIMPULAN

Kombinasi ketiga antibiotik dengan alang-alang terhadap *E.coli* dalam uji ZOI meningkatkan kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan ZOI tunggalnya. Sama halnya dengan kombinasi alang-alang dengan AMX dan dengan CTX. Namun, kombinasi alang-alang dengan CHL menurunkan aktifitas menjadi antagonis.

Kombinasi ketiga antibiotik dengan alang-alang terhadap kedua bakteri dalam perhitungan FICI berdasarkan nilai KHM kombinasi memberikan hasil yang aditif, Karena, memiliki hasil diantara 0,5-4.

Kombinasi alang-alang dan CHL dan dengan CTX terhadap *S.aureus* berdasarkan hasil FICI dari nilai KBM kombinasi berinteraksi secara aditif, sama halnya dengan kombinasi alang-alang dan CHL terhadap *S.aureus*. Namun, alang-alang pada kombinasinya dengan AMX terhadap *S.aureus* memberikan respon yang sinergis.

SARAN

1. Melakukan identifikasi dan pemisahan senyawa metabolit sekunder Alang-alang (*Imperata cylindrica*).
2. Melakukan uji ZOI, KHM dan KBM dari masing-masing senyawa bioaktif alang-alang yang telah dipisahkan.
3. Menggunakan metode yang efektif pada uji KHM herbal yang memiliki warna pekat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah memberikan bantuan secara finansial, laboratorium Biokimia FK UNISMA dan FK UNISMA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Parkavi V., Vignesh M., Selvakumar K., Muthu M, J., Joysa R, J. Antibacterial Activity of Aerial Part of *Imperata cylindrica* (L) Beauv. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 4 (3) 209-212. 2012.
2. Koh K, H., Tham F, Y. Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum sensing inhibitors activity. *Journal of Microbiology Immunology Infection*. 44: 144-148. 2011.
3. Liu R, H., Chen S, S., Ren G., Shao F., Huang H, I. Phenolic Compounds from Roots of *Imperata cylindrica* var. major. *Chinese Herbal Medicines*. China. 2013.
4. Radji M. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2011.

5. Mardiasuti K, A., Kiranasari A., Ikaningsih., Kadarsih R. Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. 57(3) 75-79. 2007.
6. AMRIN study group. Antimicrobial Resistance, Antibiotic Usage and Infection Control. Jakarta: Directorate General of Medical Care Ministry of Health Republic of Indonesia. 2005.
7. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2015 Tentang Program Pengendalian Resistensi Antimikroba di Rumah Sakit. Jakarta. 2015.
8. Sanhueza L., Melo R., Montero R et al. Synergistic interactions between phenolic compounds identified in grape pomace extract with antibiotics of different classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. National Center for Biotechnology Information. 2017.
9. Choirunnisa A., Sutijatmo AB, Pengaruh kombinasi ekstrak etanol herbal cecendet (*Physalis angulate L*) dengan beberapa antibiotik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. Fakultas Farmasi Universitas Jendral Achmad Yani. 2017.
10. Tortora G, J., Funke B, R., Case C, L, *Microbiology*. 9th ed. San Fransisco; Pearson Education. 2007.
11. Dawis WW and Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. American Society for Microbiology. 1971.
12. Mulyadi M., Wuryanti and Sarjono PR. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. Universitas Diponegoro. Semarang. 2017.
13. Tortora, Funke, and Case. *Microbiology : An Introduction*. 12th Edition. Pearson Education, Inc. San Francisco. 2017.
14. Hallander HO., Dornbusch K., Gezelius L et al, Synergism between Aminoglycosides and Cephalosporins with Antipseudomonal Activity: Interaction Index and Killing Curve Method. National Bacteriological Laboratory, Sweden. 1982.
15. French G, L. "Bactericidal agents in the treatment of MRSA infections--the potential role of daptomycin". *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 58 (6): 1107-17. 2006.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testng 26th Ed. USA. 2016.
17. Ismail AFH., Samah OA and Sule A. A Preliminary Study on Antimicrobial Activity of *Imperata cylindrica*. International Islamic University of Malaysia. 2011.
18. Souza S, M., Monache F, D., Smania Jr. Antibacterial Activity of Coumarins, 2005 https://www.researchgate.net/publication/7447682_Antibacterial_Activity_of_Coumarins
19. Yemis G, P., Pagotto F., Bach S., Delaquis O. Effect of Vanillin, Ethyl Vanillin and Vanillic acid on the Growth and Heat Resistance of *Coronobacter* Species. *Journal of Food Protection*. 2011.
20. Vasconcelos N, G., Croda J., Simionatto S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. Volume 120. Microbial Pathogenesis. 2018.
21. Jawetz et al. Medical Microbiology 26th ed. McGraw-Hill. United States. 2013.
22. Goins M. Minimum Inhibitory (MIC) and Minimum Bactericidal concentration (MBC) Evaluation AS R&D Tools. 2017.
23. Pankey GA., Sabath LD. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positif Bacterial Infections. Clinical Infectious Disease. 2004.
24. Swastini., Ayu D dkk. Buku Ajar Farmakognosia. Universitas Udayana. Bukit Jimbaran. 2007.
25. National Center for Biotechnology Information. Amoxicillin. National Library of Medicine. USA. 2018. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/amoxicillin>
26. Wu T., He M., Zang X et al. A structure-activity relationship study of flavonoids as inhibitor of *E.coli* by membrane interaction effect. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. Elsevier. 2013.