

**EFEK KOMBINASI TAPAK LIMAN (*ELEPHANTOPUS SCABER* L.) DENGAN
ANTIBIOTIK AMOXICILLIN, CHLORAMPHENICOL DAN COTRIMOXAZOLE
TERHADAP DAYA PERTUMBUHAN BAKTERI *S. AUREUS* DAN *E. COLI* SECARA IN
VITRO**

Verryna Yaumi M.A, Rio Risandiaansyah, Faisal
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email: verrynaYaumi@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Antibiotics are widely used as initial treatment for infections. But the use of antibiotics that can irrationally cause antibiotic resistance. In addition to antibiotics, infections can be overcome by using herbs, one of which is Tread liman (*Elephantopus scaber* Linn.). This study aimed to examine the zone of inhibition (ZOI), minimum inhibitory level (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) combination of antibiotics amoxicillin (AMX), chloramphenicol (CHL), and cotrimoxazole (COT) with Tread liman extract (TL) against the bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

Method: The ZOI test uses the AZDAST method which is modified with a well. Interpretation of results with clear zone measurements using a ruler. The MIC test was carried out by microdialution with a 96-well plate and was assessed using spectrophotometry with a wavelength of 600 nm, macrodialution using a test tube and assessed by turbidity and sedimentation. KBM test to assess whether there is a colony formed after incubation for 24 hours.

Results: The combination of TL with AMX, CHL and COT on *E. coli* is additive, while in *S. aureus* the additive are obtained in the combination of TL with AMX and COT, antagonist with CHL. *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI) results from combination MIC TL with AMX are antagonist in both bacteria, other antibiotics are additive. *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FBCI) results from the combination MBC of TL with AMX, CHL and COT were additive to *E. coli*, in combination with *S. aureus* TL with AMX and COT were additive, while CHL was antagonist.

Conclusion: In the combination ZOI test TL with CHL in *S. aureus* is antagonist. The combination of TL with AMX in both bacteria is antagonist. In the combination MIC test TL with CHL on *S. aureus* is antagonist in the KBM test. Whereas in other combinations of antibiotics are additive.

Keywords: Tread liman, AMX, CHL, COT, ZOI, KHM, KBM, Antibacterial Combination

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan permasalahan kesehatan yg banyak menyerang di berbagai negara di dunia, utamanya pda negara berkembang salah satunya yaitu Indonesia¹. Antibiotik banyak digunakan sebagai pengobatan awal terhadap infeksi. Antibiotik merupakan senyawa kimia baik berupa produk alami maupun hasil sintesis yg digunakan untuk menghambat atau membunuh aktivitas bakteri atau jamur². Antibiotik yg paling sering digunakan di Indonesia berdasarkan hasil penelitian dari *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-Study)* pda 781 pasien yg dirawat rumah sakit terdapat 81% *E. coli* resisten terhadap antibiotik *ampicillin* (73%), *cotrimoxazole* (56%), *chloramphenicol* (43%), *ciprofloxacin* (22%), dan *gentamycin* (18%) (Depkes, 2011). Pda tahun 2005, diatemukan peningkatan resistensi *E. coli* sebesar 20% di rumah sakit Surabaya (NCBI, 2017). Sedangkan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* merupakan *S. aureus* yg resisten terhadap metisilin dan antibiotik golongan beta-laktam seperti sefalosporin, *penicillin*, karbapenem dan monobaktam³.

Pda penelitian ini menggunakan antibiotik *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, dan *Cotrimoxazole* karena termasuk antibiotik spektrum luas dan telah tercatat memiliki efek resisten terhadap beberapa bakteri³. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* merupakan bakteri patogen yg banyak menyerang manusia. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif⁴. Sedangkan, *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yg banyak diatemukan pda usus besar dan merupakan flora normal di dalam tubuh manusia, di mana akan menjadi patogen apabila ada dalam jumlah banyak⁵. Kedua bakteri ini tercatat memiliki resistensi yg berbeda pda antibiotik. WHO memperkenalkan program sebagai solusi untuk mengatasi resistensi antibiotik yaitu *Combating Antibiotic Resistance*⁶.

Selain dengan obat-obatan antibiotik, infeksi bakteri dapat diatasi dengan pengobatan menggunakan tanaman herbal. Di Indonesia terdapat berbagai keanekaragaman hayati yg dapat dimanfaatkan kegunaannya sebagai obat salah satunya, yaitu Tapak liman (*Elephantopus scaber* Linn.)⁷. Tanaman ini mengandung beberapa senyawa antara lain *isodeoxyelephantopin*, *flavonoid*, *alkaloid*, *steroid*, *glikosida*, *epifriedelinol*, *lupeol*, *stigmaterol*, *triacontan-1-ol*, *dotriacontan-1-ol*, *lupeol acetate*, dan *deoxyelephantopin*. Menurut penelitian yg pernah dilakukan kandungan flavonoid, steroid dan alkaloid pda Tapak liman dapat diagolongkan sebagai antimikroba berspektrum luas karena dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif⁸.

Sampai saat ini belum ada penelitian yg mengkombinasikan Tapak liman dengan antibiotik. Pda penelitian ini akan dilakukan kombinasi antibiotik

amoxicillin, *chloramphenicol*, dan *cotrimoxazole* dengan ekstrak Tapak liman. Diharapkan pda penelitian ini diadapatkan efek yg lebih baik pda penggunaan kombinasi antibiotik dengan ekstrak Tapak liman.

METODE PENELITIAN

Rancangan, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Dialaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pda bulan April-Agustus 2018.

Pembuatan Ekstrak Tapak Liman

Dalam penelitian ini herbal yg digunakan adalah tanaman Tapak liman (*Elephantopus scaber* Linn.) yg diadapatkan dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Proses penggilingan tanaman dilakukan di Balai Materi Medika Batu sampai terbentuk simplisia halus. Pertama, simplisia diatimbang menggunakan neraca digital sebanyak 20 g dan diacampurkan dengan pelarut metanol 96% sebanyak 200 ml untuk diarendam di dalam Erlenmeyer, kemudian diatutup dengan aluminium foil dan dimasukkan dalam shaker water bath dan diabaikan selama 24 jam. Setelah itu hasil ekstrak diasaring dengan vacuum buchner dan di evaporasi pda suhu 40°C sampai sebagian metanol terpisah. Selanjutnya ekstrak diakeringkan dalam oven pda suhu 60°C. Bila ekstrak telah kering dialarutkan kembali dengan methanol 96% hingga di peroleh ekstrak cair⁹.

Pembuatan Larutan Antibiotik

Amoxicillin (AMX)

Antibiotik *amoxicillin* Phapros® Reg. No. GKL0319231344A1. Pembuatan larutan di mulai dengan serbuk vial *amoxicillin* sebanyak 1500 mg dialarutkan dengan aquadest steril untuk mencapai konsentrasi 1 mg/ml. Larutan tersebut di simpan di dalam kulkas 4°C¹⁰.

Chloramphenicol (CHL)

Antibiotik *chloramphenicol* Indofarm® Reg. No. GKL9420906501A1. Pembuatan larutan di mulai dengan 1 buah kapsul *chloramphenicol* yg berisi 500 mg, serbuk dari kapsul dialarutkan dengan aquadest steril untuk mencapai konsentrasi 1 mg/ml. Larutan tersebut di simpan di dalam kulkas 4°C¹⁰.

Cotrimoxazole (COT)

Antibiotik *cotrimoxazole* Bernofarm® Reg. No. GKL9402320210A1. Pembuatan larutan di mulai dengan 1 buah tablet *cotrimoxazole* yg berisi 480 mg, tablet diatumbuk sampai terbentuk serbuk halus kemudian

dialarutkan dengan aquadest steril untuk mencapai konsentrasi 1 mg/ml. Larutan tersebut disimpan didalam kulkas 4° C¹⁰.

Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Penelitian ini menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ygn diadapatkan dari Laboratorium Terpadu Universitas Islam Malang. Bakteri tersebut diabiakkan pda *Nutrient Agar* (NA) selama ±18-24 jam. Pembuatan suspensi menggunakan inokulum standar *McFarland* untuk mendapatkan suspensi bakteri 10⁸ CFU/ml, kemudiaan diaambil 1 ml dan diatambahkan 9 ml NaCl untuk mendapatkan suspensi bakteri 10⁷ CFU/ml¹¹.

Pengukuran Zona Inhibisi (ZOI)

Uji Zona Inhibisi dilakukan dengan metode lubang atau sumuran. Semakin luas zona bening diasekitar sumuran menandakan semakin besar bahan coba menghambat pertumbuhan bakteri¹². Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan suspensi 10⁸ CFU/ml. Metode ygn digunakan untuk uji ZOI yaitu AZDAST ygn diamodifikasi dengan sumuran untuk uji tunggal, dan metode *Kirby-bauer* sumuran untuk uji kombinasi^{13,14}. Tahap pertama, mempersiapkan biakan agar ygn telah diainokulasi bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan pola *lawn* pda seluruh permukaan mediaa agar. Cawan petri ygn telah terisi bakteri dan agar dibuat lubang sumuran dengan *cork borer* dengan diameter ±6 mm. Antibiotik dan Tapak liman diaencerkan dalam beberapa konsentrasi berbeda dengan konsentrasi awal 0,5 mg/ml. Hasil pengenceran dimasukkan kedalam sumuran sebanyak 30 µl untuk uji tunggal dan pda uji kombinasi menggunakan perbandingan 1:1 dengan total 30 µl.

Uji ZOI kombinasi menggunakan dua dosis ygn berbeda, dosis ygn pertama yaitu Antibiotik Dosis Tinggi (ADT) dan Herbal Dosis Tinggi (HDT) adalah hasil ZOI tunggal dengan diameter >10 mm, ygn kedua yaitu Antibiotik Dosis Rendah (ADR) dan Herbal Dosis Rendah (HDR) adalah hasil ZOI tunggal dengan diameter <8mm. Dosis antibiotik dan Tapak liman ygn digunakan dalam uji ZOI kombinasi terhadap *E. coli* sebagai berikut: AMX pda ADT 0,125 mg/ml dan ADR 0,03 mg/ml; CHL pda ADT 0,125 mg/ml dan ADR 0,03 mg/ml; COT pda ADT 0,25 mg/ml dan ADR 0,06 mg/ml. Dosis terhadap *S. aureus* adalah sebagai berikut: AMX pda ADT 0,125 mg/ml dan ADR 0,03 mg/ml; CHL pda ADT 0,06 mg/ml dan ADR 0,01 mg/ml; COT pda ADT 0,25 mg/ml dan ADR 0,06 mg/ml.

Menurut metode AZDAST, hasil ZOI kombinasi diinterpretasikan sebagai berikut: jika AB lebih besar dari A & B dan lebih kecil atau lebih besar dari AA dan / atau BB diasebut sinergis. Jika AB sama dengan AA dan / atau BB diasebut adiatif. Sedangkan, jika AB lebih kecil dari A atau B diasebut antagonis. Bersifat potensiasi

diakatakan jika A atau B sama dengan 0, AB lebih besar dari A & B dan lebih kecil atau lebih besar dari AA dan / atau BB.

Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji kadar hambat minimum dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari antimikroba ygn dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi selama 24 jam¹⁵. Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan suspensi 10⁷ CFU/ml. Terdapat dua cara dalam menguji KHM yaitu dengan mikrodialusi dan makrodialusi. Uji KHM tunggal menggunakan mikrodialusi yaitu dengan menyiapkan 96 well-plate ygn akan diisi antibiotik atau Tapak liman, *nutrient broth*, dan bakteri dengan total sebanyak 200 µl dengan perbandingan 2:1:1. Kemudian diinkubasi didalam inkubator dengan suhu 37°C selama ±18-24 jam. Hasil dari KHM mikrodialusi dapat diahitng dengan spektrofotometri EPOCH dengan program GEN 5™.

Uji KHM kombinasi menggunakan makrodialusi yaitu dengan menyiapkan tabung reaksi ygn masing-masing diisi antibiotik, Tapak liman, *nutrient broth*, dan bakteri total sebanyak 2 mg/ml dengan perbandingan 1:1:1:1. Kemudian diinkubasi didalam inkubator dengan suhu 37°C selama ±18-24 jam dan dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna. Untuk kelompok kontrol positif berisi aquades, *nutrient broth*, dan bakteri total sebanyak 200 µl untuk mikrodialusi dan 2 mg/ml untuk makrodialusi dengan perbandingan 2:1:1, diadapatkan hasil ygn keruh dan terdapat endapan putih pda bagian bawah tabungnya. Kelompok kontrol negatif berisi aquades, *nutrient broth*, dan NaCl total sebanyak 200 µl untuk mikrodialusi dan 2 mg/ml untuk makrodialusi dengan perbandingan 2:1:1, diadapatkan hasil ygn jernih dan tidak terdapat endapan pda bagian bawah tabung.

Hasil KHM kombinasi dievaluasi menggunakan *Checkerboard assay* dengan rumus:

$$\sum FIC = \frac{KHM\ kombinasi\ A}{KHM\ tunggal\ A} + \frac{KHM\ kombinasi\ B}{KHM\ tunggal\ B}$$

Apabila hasil $\sum FIC$ bernilai <0,5 maka kombinasi bersifat sinergis yaitu efek kombinasi senyawa aktif gabungan lebih besar diabandingkan dengan efek senyawa aktif saat bekerja secara tunggal¹⁶, jika bernilai 0,5-4,0 maka kombinasi bersifat adiatif yaitu efek kombinasi senyawa aktif gabungan sama dengan kerja senyawa aktif bila bekerja secara tunggal¹⁶, dan jika bernilai >4,0 maka kombinasi dikatakan bersifat antagonis yaitu efek kombinasi senyawa aktif gabungan lebih kecil daripda penggunaan senyawa aktif itu jika bekerja secara tunggal^{16,17}.

Pengukuran Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Kadar Bunuh Minimum dilakukan untuk melihat konsentrasi terkecil dari antibakteri yg dibutuhkan untuk membunuh bakteri¹⁸. Uji KBM dilakukan dengan menggunakan hasil dari KHM, sebelumnya cawan petri digambar kotak-kotak dengan ukuran 1,5 cm x 1,5 cm dan diisi dengan *Nutrient Agar* (NA), kemudian hasil KHM diteteskan di tiap kotak. Biakan yg telah dibuat diinkubasi selama ±18-24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi yg tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri dinyatakan sebagai KBM, yaitu konsentrasi terkecil yg mampu membunuh bakteri uji.

Hasil KHM kombinasi dievaluasi menggunakan *Checkerboard assay* dengan rumus:

$$\Sigma FBC = \frac{KBM\ kombinasi\ A}{KBM\ tunggal\ A} + \frac{KBM\ kombinasi\ B}{KBM\ tunggal\ B}$$

Interpretasi hasil FBC sama dengan FIC. FBC yg bernilai <0,5 bersifat sinergis, adiatif bila bernilai 0,5-4,0, dan antagonis bila bernilai >4,0¹⁷.

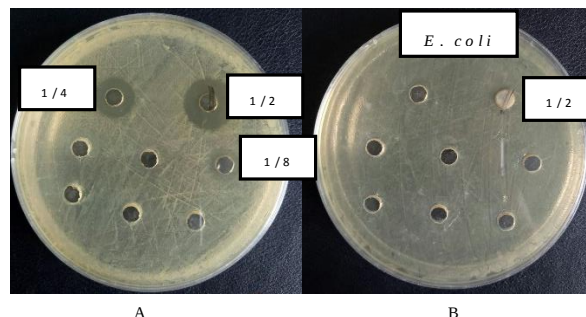
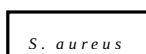
Analisa Data Statistik

Hasil ZOI tunggal dan kombinasi diaukur menggunakan mistar dengan ketelitian 1 mm, untuk mendapatkan rerata dan standar deviasi menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* 2016. Uji statistik normalitas menggunakan *Kolmogrov-Smirnov*, karena data menunjukkan tidak terdistribusi normal ($p > 0,5$), maka dilanjutkan dengan uji non parametric yaitu *Mann-Whitney* dengan membandingkan kombinasi yg satu dan lainnya. Perbandingan yg dilakukan antara ADT+HDT dengan ADT, ADR, HDT, dan HDR; ADT+HDR dengan ADT, ADR, HDT, dan HDR; ADR+HDT dengan ADT, ADR, HDT, dan HDR. Hasil KHM tunggal dianalisa menggunakan spektrofotometri EPOCH dengan program GEN 5™, hasil KHM dan KBM kombinasi dianilai menggunakan rumus FIC dan FBC dan diinterpretasikan berdasarkan indeks nilainya untuk mengetahui efektivitas kombinasi.

HASIL

Hasil Zona Inhibisi (ZOI) Ekstrak Tapak liman dan Antitibiotik terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ZOI Tunggal

Hasil rerata dan standar deviasi uji zona inhibisi ekstrak Tapak liman tunggal dengan konsentrasinya dapat dilihat pada tabel 1 dan hasil ZOI pada gambar 1.



Keterangan: Gambar 1. A. Zona inhibisi yg dihasilkan oleh ekstrak Tapak liman terhadap bakteri *S. aureus* terlihat pada dialusi ½, ¼, dan 1/8. B. Tidak terlihat adanya zona inhibisi yg dihasilkan oleh ekstrak Tapak liman terhadap bakteri *E. coli*.

Tabel 1. Rerata Hasil Pengukuran Zona Inhibisi Ekstrak Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

No	Dialusi	ZOI Tapak liman (mm)	
		$\bar{X} \pm SD$	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1.	½	12,33±1,53	0
2.	¼	10,33±0,58	0
3.	1/8	10±1	0
4.	1/16	0	0
5.	1/32	0	0

Keterangan: Tingkatkekuatan daya antibakteri 10-22 mm, daya hambat kuat; 5-10 mm, daya hambat sedang; <6 mm; daya hambat lemah

Dari hasil rerata pada tabel diatas menunjukkan bahwa semakin besar dialusi yg digunakan, maka semakin besar zona inhibisinya. Hal ini berlaku pada bakteri *S. aureus* dengan ZOI sebesar 12,33±1,53 mm sedangkan pada *E. coli* tidak terbentuk zona inhibisi sehingga tidak terdapat rerata pada hasil pengukurannya.

Hasil rerata dan standar deviasi antibiotik tunggal dapat dilihat pada tabel 2.1 dan 2.2.

Tabel 2.1 Rerata Hasil Pengukuran Zona Inhibisi Antibiotik Tunggal terhadap *E. coli*

No	Dialusi	AMX (mm)	CHL (mm)	CTX (mm)
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
1.	1/2	16,67±0,5 7	34,67±1,1 5	20,67±0,5 7
2.	1/4	13,33±0,5 7	28,00±3,4 6	16,33±0,5 7
3.	1/8	11,00±0	24,00±2,0 0	14,33±0,5 7
4.	1/16	10,67±1,1 5	16,33±4,7 2	12,00±1,0 0
5.	1/32	5,33±4,61	12,00±3,4 6	0

Keterangan: Tingkatkekuatan daya antibakteri 10-22 mm, daya hambat kuat; 5-10 mm, daya hambat sedang; <6 mm; daya hambat lemah

Berdasarkan tabel 2.1 terlihat bahwa semakin tinggi dialusi ygn diagunakan, maka semakin besar zona inhibisinya. Dari ketiga antibiotik ygn diaujikan terhadap bakteri *E.coli*, antibiotik CHL bekerja paling kuat diaikuti CTX dan AMX. Zona inhibisi ygn terbentuk adalah $34,67 \pm 1,15 \text{ mm}$.

Tabel 2.2 Rerata Hasil Pengukuran Zona Inhibisi Tunggal Antibiotik terhadap *S. aureus*

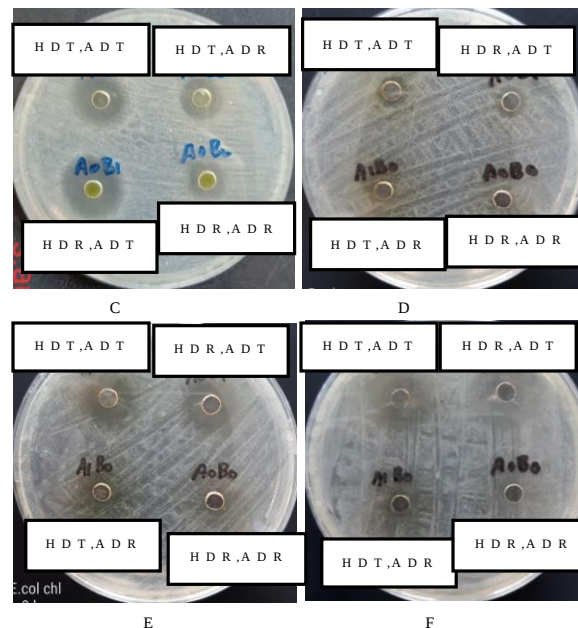
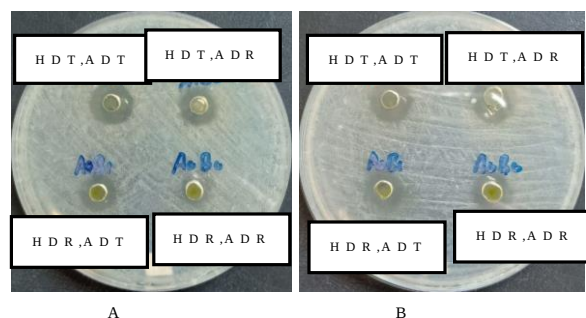
No.	Dialusi	AM X (mm) $\bar{X} \pm SD$	CHL (mm) $\bar{X} \pm SD$	COT (mm) $\bar{X} \pm SD$
1.	1/2	$21,67 \pm 1,52$	$32,67 \pm 1,15$	$25,00 \pm 3,00$
2.	1/4	$19,33 \pm 1,52$	$29,33 \pm 1,15$	$19,33 \pm 1,52$
3.	1/8	$16,67 \pm 1,52$	$24,00 \pm 2,00$	$15,67 \pm 2,08$
4.	1/16	$14,00 \pm 2,00$	$19,67 \pm 0,57$	$12,00 \pm 1,00$
5.	1/32	$10,33 \pm 2,08$	$15,67 \pm 1,52$	0

Keterangan: Tingkat kekuatan daya antibakteri 10-22 mm, daya hambat kuat; 5-10 mm, daya hambat sedang; < 6 mm; daya hambat lemah

Berdasarkan tabel 2.2 menyatakan bahwa semakin tinggi dialusi ygn diagunakan, maka semakin besar zona inhibisinya. Dari ketiga antibiotik ygn diaujikan terhadap bakteri *S. aureus*, antibiotik CHL bekerja paling kuat diaikuti COT dan AMX. Zona inhibisi ygn terbentuk pda CHL sebesar $32,67 \pm 1,15 \text{ mm}$.

ZOI Kombinasi

Hasil ZOI kombinasi Tapak liman dengan antibiotik dapat dilihat pda gambar 2 dan tabel 3 di bawah ini.

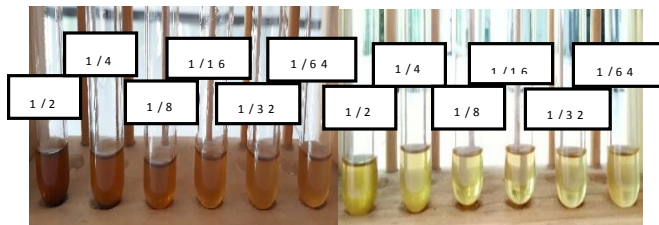


Keterangan: Gambar 2. Kombinasi Herbal dan Antibiotik pda bakteri *S. aureus* A. TL+AMX; B. TL+CHL; C. TL+COT; Kombinasi Herbal dan Antibiotik pda *E. coli* D. TL+AMX; E. TL+CHL; F. TL+COT; AMX, amoxicillin; CHL, chloramphenicol; COT, cotrimoxazole; TL, Tapak Liman; HDT, Herbal dosis tinggi dengan hasil ZOI tunggal > 10mm; HDR, Herbal dosis rendah dengan hasil ZOI tunggal < 8mm; ADT, Antibiotik dosis tinggi dengan hasil ZOI tunggal > 10mm; ADR, Antibiotik dosis rendah dengan hasil ZOI tunggal < 8mm

Dari gambar 2 didapatkan hasil bahwa pda kombinasi Tapak liman dengan COT lebih kuat dalam menghambat bakteri *S. aureus* diatunjukkan dengan gambaran zona bening diasekitar sumuran ygn lebih lebar diabandingkan pda antibiotik AMX dan CHL. Sedangkan kombinasi Tapak liman dengan CHL dan COT lebih kuat dalam menghambat bakteri *E. coli* diatunjukkan dengan gambaran zona bening diasekitar sumuran ygn lebih lebar diabandingkan pda antibiotik AMX.

Hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) Tunggal dan Kombinasi

Hasil data KHM tunggal maupun kombinasi dapat dilihat pda tabel 4.1 Interpretasi hasil KHM dilihat dengan ada tidaknya endapan pda dasar tabung. Pda KHM tunggal ekstrak Tapak liman dapat menurunkan nilai Kadar Hambat Minimum ygn lebih besar pda bakteri *S. aureus*. Hal ini diabuktikan dengan dialusi ygn dibutuhkan untuk menghambat bakteri berada pda 1/8 lebih kecil diabandingkan pda *E. coli* yaitu 1/4. Artinya, pda pemberian dosis ygn lebih kecil sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil KHM tunggal pda AMX dan CHL terdapat pda konsentrasi 1/64 pda bakteri *E. coli*, sedangkan pda COT terdapat pda konsentrasi 1/512. Hasil KHM terhadap bakteri *S. aureus* pda AMX, CHL dan COT terdapat pda konsentrasi 1/64. Berikut gambar hasil KHM tunggal Tapak liman:



A

B

Keterangan: Gambar 3. A. Hasil KHM ekstrak tapak liman terhadap bakteri *E. coli*. B. Hasil KHM ekstrak tapak liman terhadap bakteri *S. aureus*

Tabel 3 Rerat Zona Inhibisi Hasil Tunggul dan Kombinasi Ekstrak Tapaklinan dengan Antibiotik

Bakteri	Model Tunggul	Dosis [AMK CHL COL, IL]	ZO (±SD)				Model Kombinasi	Dosis [IL] [AMK]	ZO AMK (±SD)	Dosis [IL] [CHL]	ZO CHL (±SD)	Dosis [IL] [COL]	ZO COL (±SD)
			IL	AMK	CHL	COL							
<i>E. coli</i>	HDI	[1/2]	0±0				HDI	[1/2]	11,33±0,58 ^{ab}	[1/2]	11,00±1,00 ^b	[1/2]	11,00±0 ^{abc}
	HLR	[1/4]	0±0				HLR	[1/4], [1/8]	9,67±0,58 ^{bc}	[1/4], [1/8]	12,33±1,15 ^b	[1/4]	10,00±0 ^{abcd}
	ADI	[1/8], [1/4]		12,66±1,15	24,00±2,00	16,33±0,57	ADI	[1/2], [1/8]	8,33±1,15 ^b	[1/2], [1/8]	13,33±2,08 ^b	[1/2]	13,33±0,58 ^{bd}
	ALK	[1/32], [1/16]		5,33±4,61	12,00±3,46	12,00±1,00	ALK	[1/4]	8,33±0,58	[1/4]	8,33±0,58	[1/4]	8,67±0,58
	HDI	[1/2]	14,00±0,00				HDI	[1/2]	11,00±0 ^{acd}	[1/2]	10,00±0 ^{acd}	[1/2]	11,00±1,00 ^{ac}
	HLR	[1/4]	10,66±1,15				HLR	[1/4], [1/8]	12,00±0 ^c	[1/4]	9,67±0,58 ^c	[1/4]	10,66±0,58 ^c
	ADI	[1/8], [1/4]		16,66±1,52	19,66±0,57	19,33±1,52	ADI	[1/2], [1/8]	13,00±0 ^f	[1/2]	11,67±0,58 ^{cd}	[1/2]	12,00±1,00 ^c
	ALK	[1/32], [1/16]		10,33±2,08	11,66±0,57	12,00±1,00	ALK	[1/4]	9,67±0,58	[1/4]	8,33±0,58	[1/4]	9,33±0,58
<i>S. aras</i>	HDI	[1/2]	0±0				HDI	[1/2]	11,33±0,58 ^{ab}	[1/2]	11,00±1,00 ^b	[1/2]	11,00±0 ^{abc}
	HLR	[1/4]	0±0				HLR	[1/4], [1/8]	9,67±0,58 ^{bc}	[1/4], [1/8]	12,33±1,15 ^b	[1/4]	10,00±0 ^{abcd}
	ADI	[1/8], [1/4]		12,66±1,15	24,00±2,00	16,33±0,57	ADI	[1/2], [1/8]	8,33±1,15 ^b	[1/2], [1/8]	13,33±2,08 ^b	[1/2]	13,33±0,58 ^{bd}
	ALK	[1/32], [1/16]		5,33±4,61	12,00±3,46	12,00±1,00	ALK	[1/4]	8,33±0,58	[1/4]	8,33±0,58	[1/4]	8,67±0,58
	HDI	[1/2]	14,00±0,00				HDI	[1/2]	11,00±0 ^{acd}	[1/2]	10,00±0 ^{acd}	[1/2]	11,00±1,00 ^{ac}
	HLR	[1/4]	10,66±1,15				HLR	[1/4], [1/8]	12,00±0 ^c	[1/4]	9,67±0,58 ^c	[1/4]	10,66±0,58 ^c
	ADI	[1/8], [1/4]		16,66±1,52	19,66±0,57	19,33±1,52	ADI	[1/2], [1/8]	13,00±0 ^f	[1/2]	11,67±0,58 ^{cd}	[1/2]	12,00±1,00 ^c
	ALK	[1/32], [1/16]		10,33±2,08	11,66±0,57	12,00±1,00	ALK	[1/4]	9,67±0,58	[1/4]	8,33±0,58	[1/4]	9,33±0,58

Keterangan: Hasil data tunggal pengulangan ZO dilakukan uji statistik menggunakan *Min Witney* ($p < 0,05$); AMK, *amoxicillin*; CHL, *chloramphenicol*; COL, *carinocazole*; IL, Tapak Linan; ^a, berbeda signifikan terhadap HDI; ^b, berbeda signifikan terhadap HLR; ^c, berbeda signifikan terhadap ADI; ^d, berbeda signifikan terhadap ADR pada bakteri *S. aras* dan *E. coli*; HDI, Hasil dosis tinggi; HLR, Hasil dosis rendah; ADI, Antibiotik dosis tinggi; ADR, Antibiotik dosis rendah.

Kadar Hambat Minimum kombinasi dilakukan dengan mencampurkan kombinasi antibiotik dengan ekstrak Tapak liman. Konsentrasi yg digunakan berasal dari hasil KHM tunggal pda antibiotik yaitu pda antibiotik AM X dan CHL dosis yg digunakan pda konsentrasi 1/32, sedangkan COT pda konsentrasi 1/256.

Tapak liman menggunakan dosis pda konsentrasi 1/4 terhadap bakteri *E. coli*. KHM untuk bakteri *S. aureus* pda antibiotik AM X, CHL dan COT adalah 1/32 dan ekstrak Tapak liman pda konsentrasi ¼.

Hasil KHM kombinasi Tapak liman dengan AM X terhadap *E. coli* lebih besar nilai KHM nya daripada KHM tunggal antibiotiknya yaitu 1/16. Kombinasi Tapak liman dengan CHL sama nilainya dengan KHM antibiotik tunggal CHL yaitu 1/32. Kombinasi Tapak liman dengan COT sama nilainya dengan antibiotik tunggal COT yaitu 1/256. Sedangkan, kombinasi Tapak liman dengan AM X terhadap *S. aureus* lebih besar nilai KHM nya daripada KHM tunggal antibiotiknya yaitu 1/16. Pda kombinasi Tapak liman dengan CHL dan Tapak liman dengan COT sama nilainya dengan antibiotik tunggalnya yaitu 1/32.

Hasil KHM kombinasi selanjutnya dilakukan perhitungan menggunakan rumus FIC (tabel 4.2). Dari hasil perhitungan FIC didapatkan kombinasi Tapak liman dengan antibiotik pda bakteri *E. coli* memiliki indeks bernilai 0,5-4,0 yg menunjukkan kombinasi Tapak liman dengan CHL dan COT bersifat adiatif, dan kombinasi Tapak liman dengan AM X bersifat antagonis yg bernilai 5,0. Pda bakteri *S. aureus* kombinasi Tapak liman dengan CHL dan COT memiliki nilai indeks 0,5-4,0 yg berarti memiliki sifat adiatif. Sedangkan kombinasi Tapak liman dengan AM X memiliki nilai indeks FIC sebesar 8,0 yg bersifat antagonis.

Hasil Kadar Bunuh Minimum (KBM) Tunggal dan Kombinasi

Nilai KBM dinyatakan baik apabila konsentrasi KBM yg dibutuhkan semakin kecil, tetapi sudah memiliki daya bunuh bakteri. Nilai KBM ekstrak Tapak liman terhadap *E. coli* yaitu 1/4, sedangkan pda *S. aureus* yaitu 1/8. Nilai KBM terkecil pda pemberian antibiotik tunggal terhadap *E. coli* terjadi pda antibiotik CHL, yaitu 1/32 dan nilai terkecil terhadap *S. aureus* terjadi pda antibiotik AM X, yaitu 1/32 (Tabel 5.1).

Hasil nilai KBM kombinasi selanjutnya dilakukan perhitungan menggunakan rumus FBC (Tabel 5.2). Dari keseluruhan kombinasi TL dengan antibiotik didapatkan nilai FIC berkisar 0,5-4,0. Hal ini menunjukkan kombinasi TL dengan AM X, CHL dan COT pda *E. coli* bersifat Adiatif. Sedangkan kombinasi TL dengan AM X dan COT pda *S. aureus* bersifat adiatif, dan kombinasi TL dengan CHL bersifat antagonis dengan nilai 4,25.

PEMBAHASAN

Uji ZOI, KHM, dan KBM Tunggal Antibiotik dan Tapak liman terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak Tapak liman dengan antibiotik AM X, CHL, dan COT dengan uji tunggal memiliki daya hambat yg lebih besar terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan gambaran zona bening (*clear zone*) yg terbentuk pda cawan petri. Pda uji kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum juga didapatkan hasil bahwa aktivitas antibakteri ekstrak Tapak liman tunggal lebih kuat terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan nilai kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum pda bakteri *S. aureus*.

Berdasarkan penelitian yg telah dilakukan ekstrak Tapak liman tunggal dan antibiotik AM X, CHL, dan COT secara tunggal terbukti lebih efektif terhadap daya hambat pda bakteri Gram positif yaitu *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*. Perbedaan hasil penelitian diduga disebabkan adanya perbedaan pda susunan diandiang sel pda bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki struktur diandiang sel yg lebih sederhana daripada bakteri Gram negatif yg struktur diandiang selnya lebih kompleks. Struktur diandiang sel pda bakteri Gram negatif terdiri dari asam teikoat dan peptidoglikan, sedangkan struktur diandiang sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan dan membran luar yg mengandung tiga komponen yaitu lipoprotein, lipopolisakarida, dan membran periplasma. Sehingga bakteri Gram positif lebih mudah dihambat pertumbuhannya daripada bakteri Gram negatif¹⁹.

Ekstrak Tapak liman memiliki beberapa kandungan senyawa kimia diantaranya flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, dan saponin. Pda penelitian sebelumnya, ekstrak Tapak liman yg dialarutkan dengan etanol terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *P. Aeruginosa*, dan *Vibrio sp.*⁸. Sehingga pda ekstrak Tapak liman dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri terbukti dengan adanya zona bening yg terbentuk pda mediaa yg ditumbuhi bakteri *S. aureus* dan memiliki Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pda bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Mekanisme kerja alkaloid dan terpenoid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan pda sel bakteri, sehingga diandiang sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri²⁰. Saponin dan steroid sebagai antibakteri bekerja dengan merusak membran sel bakteri menyebabkan morfologi membran sel berubah sehingga sel mudah lisis²¹. Selain itu flavonoid juga merusak membran sel bakteri dan diikuti keluarnya senyawa intraseluler, juga mengganggu permeabilitas diandiang sel²².

Antibiotik memiliki mekanisme kerja yg berbeda-beda terhadap bakteri. Antibiotik AMX bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu transpeptidase sintesis di dinding sel bakteri. AMX lebih efektif melawan mikroorganisme Gram positif dibandingkan Gram negatif²³. CHL memiliki cara kerja yaitu dengan menghambat sintesis protein bakteri, melekat pada subunit 50s dari ribosom. CHL termasuk dalam antibiotik bakteristatik yg aktif terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif²⁴. COT terdapat atas kombinasi trimetoprim dan sulfonamid, keduanya bekerja dengan cara menghambat pembentukan asam folat sehingga menghambat terjadinya reaksi reduksi dari dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat penting untuk reaksi-reaksi pemindahan satu atom C, seperti pembentukan basa purin (adenine, guanine dan timidine) dan beberapa asam amino (metionin, glisin). Sehingga pembentukan DNA bakteri pada proses replikasi akan terganggu²⁵.

Uji ZOI, KHM, dan KBM kombinasi Antibiotik dan Tapak liman terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan hasil pada uji zona inhibisi bahwa kombinasi Tapak liman dengan antibiotik AMX, CHL, dan COT terhadap *E. coli* bersifat adiatif. Kombinasi Tapak liman dengan AMX dan COT terhadap *S. aureus* bersifat adiatif, sedangkan pada CHL bersifat antagonis menurut teori AZDAST. Namun pada hasil uji kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum menggunakan perhitungan FICI dan FBICI didapatkan hasil pada KHM kombinasi Tapak liman dengan antibiotik CHL, dan COT terhadap *E. coli* dan *S. aureus* bersifat adiatif. Kombinasi Tapak liman dengan AMX terhadap *E. coli* dan *S. aureus* bersifat antagonis. Hasil KBM menyatakan bahwa kombinasi kombinasi Tapak liman dengan antibiotik AMX, CHL, dan COT terhadap *E. coli* bersifat adiatif, sedangkan pada *S. aureus* kombinasi AMX dan COT bersifat adiatif, pada CHL bersifat antagonis.

Hasil dari ZOI pada *E. coli* dia ketiga antibiotik yg diakombinasikan dengan Tapak liman bersifat adiatif yg artinya kombinasi herbal dan antibiotik memiliki efek yg sama dengan antibiotik tunggalnya¹⁶. Hal ini kemungkinan disebabkan antibiotik COT dan CHL bersifat bakterisidal di buktikan dengan adanya hasil KBM tunggal di kedua antibiotik, sedangkan ekstrak Tapak liman kemungkinan juga bersifat bakterisidal, karena pada uji tunggal tapak liman memiliki hasil KBM $\frac{1}{2}$ dan $\frac{1}{4}$. Selain itu, pada penelitian sebelumnya, beberapa senyawa tapak liman yaitu alkaloid dan saponin dapat menyebabkan bakteri lisis dengan mengganggu penyusunan dinding sel dan merubah morfologi bakteri^{21,22}. Hal ini juga terjadi pada kombinasi ekstrak Tapak liman dengan COT pada *S. aureus*. Kombinasi AMX dengan Tapak Liman pada *E. coli* dan *S. aureus* bersifat

adiatif, sedangkan KHM nya antagonis. Hal ini diduga karena kedua uji menggunakan jenis media yg berbeda yaitu padat dan cair, sehingga difusinya akan berbeda dan mempengaruhi efektivitas dari antibakterinya²⁵.

Kombinasi CHL dengan ekstrak Tapak liman pada bakteri *S. aureus* ZOI dan KBM didapatkan hasil antagonis. Antagonis yaitu apabila efek kombinasi senyawa aktif gabungan lebih kecil daripada penggunaan senyawa aktif itu jika bekerja secara tunggal¹⁶. Hal ini ditunjukkan dengan rerata zona inhibisi kombinasi antibiotik dengan herbal dosis tinggi (HDT, ADT) yg dibandingkan dengan tunggal antibiotik dosis rendah (ADR) yg sesuai dengan teori AZDAST juga pada perhitungan dengan rumus FBC.

Hasil pengujian Kadar Hambat Minimum (KHM) menggunakan rumus FIC, didapatkan kombinasi CHL dan COT dengan ekstrak Tapak liman pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* bernilai 0,5-4,0 yg artinya kombinasi ini bersifat adiatif, sehingga tidak saling mempengaruhi apabila diakombinasikan. Sedangkan, pada kombinasi AMX dengan ekstrak Tapak liman pada kedua bakteri menunjukkan hasil antagonis, yg artinya efek yg dihasilkan saat kedua senyawa diakombinasikan lebih kecil daripada tunggalnya¹⁶. Hal ini diduga disebabkan karena AMX memiliki target pada struktur sel bakteri yg sama dengan ekstrak Tapak liman yaitu pada dinding sel. Mekanisme kerjanya yaitu AMX bersifat bakteristatik yg kerjanya menghambat proses sintesis dinding sel yg memerlukan pertumbuhan bakteri, sedangkan Tapak liman bersifat bakterisidal yg kerjanya menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga kerja keduanya dikatakan antagonis¹⁶.

Namun, pada hasil pengujian Kadar Bunuh Minimum (KBM) menggunakan rumus FBC didapatkan kombinasi AMX, CHL, dan COT dengan ekstrak Tapak liman pada bakteri *E. coli* dan kombinasi AMX dan COT dengan ekstrak Tapak liman pada bakteri *S. aureus* bersifat adiatif dengan nilai indeks 0,5-4,0 yg artinya kombinasi keduanya tidak saling mempengaruhi¹⁶. Hal ini diduga sama dengan terjadi pada ZOI kombinasi. Sedangkan, kombinasi CHL dengan ekstrak Tapak liman bersifat antagonis dengan nilai indeks lebih dari 4,0. Hal ini dapat dikatakan bahwa kombinasi CHL dengan ekstrak Tapak liman tidak cukup kuat untuk dapat membunuh bakteri.

Hal lain yg menyebabkan hasil pada penelitian ini bersifat adiatif dan antagonis yaitu dosis yg digunakan terlalu rendah yaitu 1 mg/ml. Pada penelitian sebelumnya yg pernah dilakukan, pada kombinasi Tapak liman dengan kunyit, kemuning, dan jambu biji menggunakan dosis 2,5 mg/ml dengan hasil pada uji ZOI, KHM, dan KBM tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan *S. typhi*²⁶.

Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah:

1. Kombinasi Tapak liman dengan CHL pda *S. aureus* bersifat antagonis, sedangkan pda antibiotik lain bersifat adiatif. Kombinasi Tapak liman dan ketiga antibiotik AM X, CHL, dan COT pda *E. coli* bersifat adiatif pda hasil uji ZOI.
2. Kombinasi ekstrak Tapak liman dengan antibiotic CHL dan COT pda *E. coli* dan *S. aureus* bersifat adiatif, sedangkan pda kombinasi dengan AM X bersifat antagonis dia kedua bakteri pda uji Kadar Ham bat M inimum (KHM).
3. Kombinasi ekstrak Tapak liman dengan antibiotik AM X, CHL, dan COT pda *E. coli* dan AM X dan COT pda *S. aureus* bersifat adiatif, sedangkan COT pda *S. aureus* bersifat antagonis pda uji Kadar Bunuh M inimum (KBM).

Saran

Adapun saran untuk mengembangkan dan meningkatkan penelitian ini kedepannya adalah:

1. Melakukan penelitian In silico pda herbal Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) untuk menguji aktivitas antibakteri.
2. Melakukan uji fitokimia untuk mengetahui senyawa ygn mengandung antibakteri pda herbal Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.).
3. Melakukan penelitian untuk menguji zona inhibisi (ZOI), kadar bunuh minimum (KHM), dan kadar bunuh minimum (KBM) dengan menggunakan dosis ygn lebih besar untuk menghasilkan hasil ygn sinergis pda kombinasi Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dengan antibiotik *amoxicillin*, *chloramphenicol*, dan *cotrimoxazole*.
4. Melakukan fraksinasi terhadap tanaman Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.).

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) selaku pemebri dana penelitian, kelompok penelitian yang telah membantu dalam berjalannya penelitian, serta dr. Hj. Noer Aini, M.Kes, Ph.D selaku *reviewer*.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan RI. 2011. Pedoman penggunaan antibiotik. Jakarta. Departemen Kesehatan RI.
2. Mulyani, N.S. (2013). *Imunisasi untuk anak*. Yogyakarta : Nuha Mediaka
3. Nathwani, D., Morgan, M., Robert, G., Masterton., Dryden, M., Barry, D., Cookson, French, G. and Lewis, D. (2008). Guidelines for UK Practice for The Diagnosis and Management of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infections Presenting in The Community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(1), 976–994.
4. Baorto, P.E. 2017. *Staphylococcus aureus* Infection. Diaambil 25 Februari 2018, from <https://emediacine.medscape.com/>
5. Madappa, T. 2017. *Escherichia coli* Infection. Diaambil 25 Februari 2018, from <https://emediacine.medscape.com/>
6. Ganiswarna, S, G., 2005. farmakologi dan terapi ediasi IV. Jakarta: Gaya baru
7. Dalim artha, Setiawan. 2009. Atlas Tumbuhan Obat Jilid 6. Jakarta: PT Pustaka Bunda.
8. Nonci, F. Y.; Rusli, dan Atqiyah, A., 2014. Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L.) Dengan menggunakan Metode Klt Bioautografi. *FIK UIN AM*. 2(4):147.
9. Voigth, R., Buku Pelajaran Teknologi Ekstraksi, Diaalibahasakan oleh Soewandhi, S.N. ediasi 5. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 1995.
10. Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Second Informational Supplement. 2012.
11. Parija S. Textbook of Microbiology & Immunology. Indiaa: Elsevier. 2009
12. David ww, Stout TR. 1971. Diask Plate Method Of Microbiology Antibiotic Assay. *Microbiology*. 22 (4): 659-65
13. Reynolds J., College R. Kirby-Bauer Test For Antibiotic Susceptibility. 2011.
14. Ziaei-Daroukalei N., Ameri M., Zhraei-Salehi T et al. AZDAST the New Horison in Antimicrobial Synergism Detection. National Center For Biotechnology Information. USA. 2016
15. Andrew JM., Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, pp 5-16. 2001.
16. Fradgley S., Interaksi Obat dalam Aslam, M., Tan C., K., dan Prayitno, A., Farmasi Klinis. 119-13-. Gram ediaa: Jakarta. 2003
17. 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.
18. Amyes S et al. Antimicrobial Chemotherapy: Pocketbook. CRC Press. 1996.
19. Lesage G., Bussey H. Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Reviews*. 70(2): 317-343. Doi: 10.1099/mic.0.26471-0
20. Nuria, Cut., 2009, Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*,

- Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, Jurnal uji antibakteri, 5 (2), h 10-12.
21. Darsana, I.G.O., 2012, Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordiafolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro, Indonesia Mediacus Veterinus, 1 (3), 337 – 351.
 22. Ahmad, S. A., 2007, Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-tumbuhan Obat Indonesia, 43-44, 63-64 ITB Press, Bandung.
 23. Solikin, 2007, *Potensi Jenis-jenis Herba Liar di Kebun Raya Purwodadia sebagai Obat*, http://fisika.brawijaya.ac.id/bssub/proceediang/PDF%20FILES/BSS_118_2.pdf. Diaakses 10 Juli 2018
 24. Najib, A. 2009. Tanin. <http://nadjieb.files.wordpress.com/2009/03/tanin.pdf> diaunduh 23 Juli 2018.
 25. Cheung A L., Fieschetti V A., Variation in the Expression of Cell Wall Proteins of *Staphylococcus aureus* Grown on Solid and Liquid Media. N C B I. 1988.
 26. Purnama, Aroma Senja Eka (2016) *Skirining antibakteri kombinasi ekstrak etanol kunyit, kemuning, tapak liman dan jambu biji terhadap Escherichia coli, Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus*. Undergraduate thesis, Widya Mandala Catholic University Surabaya.

Tabel 41 Kadar Hambat Minimum Kombinasi Tapaklinan dengan Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Dosis	KHM Tunggal				KHM Kombinasi		
		[IL]	[AMK]	[CH]	[COL]	[IL&AMK]	[IL&CH]	[IL&COL]
<i>E. coli</i>	1							
	1/2	-	-	-	-			
	1/4	-*	-	-	-			
	1/8	+	-	-	-	1/2	1/2	
	1/16	+	-	-	-	1*	-	
	1/32	+	-	-	-	+	1*	
	1/64	+	1*	1*	-	+	+	1/2
	1/128		+	+	-	+	+	-
	1/256		+	+	-			1*
	1/512		+	+	1*			+
	1/1024		+	+	+			+
	1/2048		+	+	+			
	1/4096		+	+	+			
	1/8192							
<i>S. aureus</i>	1							
	1/2	-	-	-	-			
	1/4	-	-	-	-			
	1/8	-	-	-	-	1/2	1/2	1/2
	1/16	1*	-	-	-	1*	-	-
	1/32	+	-	-	-	+	1*	1*
	1/64	+	1*	1*	1*	+	+	+
	1/128		+	+	+	+	+	+
	1/256		+	+	+			
	1/512		+	+	+			
	1/1024		+	+	+			
	1/2048		+	+	+			
	1/4096		+	+	+			
	1/8192							

Keterangan: KHM, Kadar Hambat Minimum; [IL], Konsentrasi Tapaklinan; [AMK], Amoxicillin; [CH], Chloramphenicol; [COL], Ceftriaxone; [IL&AMK], Tapaklinan kombinasi Amoxicillin; [IL&CH], Tapaklinan kombinasi Chloramphenicol; [IL&COL], Tapaklinan kombinasi Ceftriaxone; 1/2, Konsentrasi terendah dalam kombinasi terhadap *E. coli* dan *S. aureus*; *, Kadar Hambat Minimumnya dalam kisaran; +, Adanya erupsi pada dasar tulang; -, Tidak ditemukan erupsi pada dasar tulang

Tabel 42 Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) Tapaklin dengan Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Fractional Inhibitory Concentration			Sifat	Fractional Inhibitory Concentration			Sifat	Fractional Inhibitory Concentration			Sifat
	FICI	FICI	ΣFICI		FICI	FICI	ΣFICI		FICI	FICI	ΣFICI	
	TL	AMK			TL	CHL			TL	COL		
<i>E. coli</i>	1,0	4,0	5,0	Antagonis	0,5	2,0	2,5	Adaptif	0,5	2,0	2,5	Adaptif
<i>S. aureus</i>	4,0	4,0	8,0	Antagonis	2,0	2,0	4,0	Adaptif	2,0	2,0	4,0	Adaptif

Keterangan: FICI, Fractional Inhibitory Concentration Index; ΣFICI, Fractional Inhibitory Concentration Total; TL, Tapaklinar; AMK, Amoxicillin; CHL, Chloramphenicol; COL, Ceftriaxone; Sifat: Nilai FICI < 0,5; Adaptif, Nilai FICI < 0,5-4,0; Antagonis, Nilai FICI > 4,0

Tabel 51 Fractional Bactericidal Concentration Index (FBCI) Tapaklin dengan Antibiotik Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

Bakteri	Fractional Bactericidal Concentration			Sifat	Fractional Bactericidal Concentration			Sifat	Fractional Bactericidal Concentration			Sifat
	FBCI	FBCI	ΣFBCI		FBCI	FBCI	ΣFBCI		FBCI	FBCI	ΣFBCI	
	(TL)	(AMK)			(TL)	(CHL)			(TL)	(COL)		
<i>E. coli</i>	2,0	0,5	2,5	Adaptif	1,0	1,0	2,0	Adaptif	2,0	1,0	3,0	Adaptif
<i>S. aureus</i>	0,5	0,5	1,0	Adaptif	4	0,5	4,5	Antagonis	1,0	0,125	1,125	Adaptif

Keterangan: Tabel 5.3.3.3 Menunjukkan FBCI, Fractional Bactericidal Concentration Index; ΣFBCI, Fractional Inhibitory Concentration Total; TL, Tapaklinar; AMK, Amoxicillin; CHL, Chloramphenicol; COL, Ceftriaxone; Adaptif, Nilai FBCI < 0,5-4

Tabel 52 Kadar Bunuh Minimum Kombinasi Tapaklinan dengan Antibiotik Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*

Bakteri	Dosis	[IL]	[AMK]	[CHL]	[COI]	[IL&AMK]	[IL&CHL]	[IL&COI]
<i>E. coli</i>	1							
	1/2	-	-	-	-			
	1/4	-*	-*	-	-			
	1/8	+	+	-	-			
	1/16	+	+	-	-*	-1/2*	-1/2	
	1/32	+	+	-*	+	+	-*	
	1/64	+	+	+	+	+	+	
	1/128		+	+	+	+	+	-1/2*
	1/256		+	+	+	+	+	+
	1/512		+	+	+			+
	1/1024		+	+	+			+
	1/2048		+	+	+			+
	1/4096		+	+	+			
<i>S. aureus</i>	1							
	1/2	-	-	-	-			
	1/4	-	-	-*	-			
	1/8	-*	-	+	-*			
	1/16	+	-	+	+	-1/2	-1/2*	-1/2
	1/32	+	-*	+	+	-	+	-
	1/64	+	+	+	+	-	+	-*
	1/128		+	+	+	-*	+	+
	1/256		+	+	+	+	+	+
	1/512		+	+	+			
	1/1024		+	+	+			
	1/2048		+	+	+			
	1/4096		+	+	+			

Keterangan: KBM Kadar Bunuh Minimum [IL], Konsentrasi Tapaklinan; [AMK], Amoxicillin; [CHL], Chloramphenicol; [COI], Ceftriaxone; [IL&AMK], Tapaklinan kombinasi Amoxicillin; [IL&CHL], Tapaklinan kombinasi Chloramphenicol; [IL&COI], Tapaklinan kombinasi Ceftriaxone 1/2. Konsentrasi herbal dan kombinasi terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, *: Kadar Bunuh Minimumnya tidak tercapai; +, Adanya koloni bakteri dan tidak; -, Tidak ditemukan koloni bakteri dan tidak