

INTERAKSI FRAKSI SEMI POLAR EKSTRAK MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) DAN AMOXICILLIN TERHADAP *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN CHECKERBOARD ASSAY

Abel Candra Ningtyas, Noer Aini*, Rio Risandiansyah***

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, **Pusat Studi Integrasi Kedokteran Islam, Bioinformatikadan
Obat Tradisional Inndonesia (PSIKIBiOTI)

ABSTRAK

Pendahuluan: Salah satu upaya menanggulangi infeksi terkait perawatan kesehatan (HCAI) akibat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah dengan kombinasi antibiotik *amoxicillin* dengan bahan alam yang potensial seperti herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Kandungan flavonoid pada fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. berpotensi mengganggu dinding sel bakteri dan melengkapi mekanisme *amoxicillin* yang mengikat *Penicillin-Binding Proteins* (PBPs). Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi dan interaksi kombinasi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* berdasarkan nilai *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI) melalui metode *checkerboard assay*.

Metode: Penelitian eksperimental laborik secara *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi interaksi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *checkerboard assay*. Pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan tingkat kekeruhan sampel atau nilai *optical density* (OD), dan jenis interaksi kombinasi dianalisis berdasarkan perhitungan *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI).

Hasil: Kombinasi fraksi dan *amoxicillin* menunjukkan nilai MIC yang tetap berada pada konsentrasi 100%, sedangkan MIC *amoxicillin* dalam kombinasi juga tetap berada pada 1 MIC. Hasil perhitungan FICI diperoleh nilai 5 pada fraksi EF 14 dan EF 15, serta nilai sebesar 3 pada fraksi EF 14(2). Hasil interpretasi FICI tersebut menunjukkan bahwa kombinasi fraksi semi-polar herba *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* pada fraksi EF 14 dan EF 15 termasuk kategori antagonis dan EF 14(2) termasuk kategori indifferen.

Simpulan: Kombinasi fraksi semi-polar meniran dengan *amoxicillin* tidak selalu meningkatkan aktivitas antibakteri. Perbedaan yang diperoleh diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, komposisi fitokimia, konsentrasi senyawa aktif, serta interaksi antara metabolit sekunder dalam fraksi dan *amoxicillin*.

Kata Kunci: *Phyllanthus niruri* L, *Staphylococcus aureus*, *Checkerboard assay*.

Korespondensi: Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@email.id)

Jl. M.T. Haryono 193, Kota Malang, 65144

INTERACTION of SEMI POLAR FRACTION OF MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) AND AMOXICILLIN AGAINST *Staphylococcus aureus* USING CHECKERBOARD ASSAY

Abel Candra Ningtyas, Noer Aini*, Rio Risandiansyah***

*Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang, **Center for the Integration of Islamic Medicine,
Bioinformatics, and Indonesian Traditional Medicine (CMIIMBITM)

ABSTRACT

Background: One approach to combating healthcare-associated infections (HCAIs) caused by *Staphylococcus aureus* is to combine the antibiotic *amoxicillin* with promising natural compounds such as the herb meniran (*Phyllanthus niruri* L.). The flavonoid content in the semi-polar fraction of *Phyllanthus niruri* L. has potential to disrupt the bacterial cell wall and complement the mechanism of *amoxicillin*, which binds to *Penicillin-Binding Protein* (PBPs). This study aims to evaluate the potential and interaction of the semi-polar fraction of *Phyllanthus niruri* L. in combination with *amoxicillin* in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* based on the *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI) using the *checkerboard assay*.

Methods: An *in vitro* laboratory experimental study was conducted to evaluate the interaction between the semi-polar fraction of *Phyllanthus niruri* L. and *amoxicillin* against *Staphylococcus aureus* using the *checkerboard assay* method. Bacterial growth was measured based on sample turbidity or *optical density* (OD) values, and the type of combination interactions were analyzed using the *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI).

Results: The combination of these fractions with *amoxicillin* showed stable MIC values at a 100% concentration, while the MIC value of *amoxicillin* in these combinations also remained at 1 MIC. FICI calculations yielded a value of 5 for fractions EF 14 and EF 15, and a value of 3 for fraction EF 14(2). Interpretation of these FICI results indicates that the combination of semi-polar fractions from the medicinal plant *Phyllanthus niruri* L. with *amoxicillin* in fractions EF 14 and EF 15 falls into the antagonist category, whereas EF 14(2) falls into the neutral category.

Conclusion: The combination of the semi-polar fraction of meniran with *amoxicillin* does not always enhance antibacterial activity. The differences observed are thought to be influenced by several factors, including phytochemical composition, the concentration of active compounds, and interactions between secondary metabolites in the fraction and *amoxicillin*.

Keywords: *Phyllanthus niruri* L, *Staphylococcus aureus*, *Checkerboard assay*.

Corresponding author: Rio Risandiansyah (riorisandiansyah@email.id)

PENDAHULUAN

Infeksi terkait perawatan kesehatan dapat dikenal dengan HCAI (*Healthcare-Associated Infection*) merupakan salah satu bentuk infeksi yang didapatkan selama perawatan di rumah sakit atau fasilitas kesehatan. Salah satu patogen penyebab HCAI adalah *Staphylococcus aureus*, yang sering memicu infeksi pada luka (1) dan menimbulkan masalah resistensi yang dikenal sebagai *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (2). Untuk mengatasi infeksi secara umum, *amoxicillin* digunakan sebagai antibiotik pilihan dari turunan penisilin golongan beta-laktam. Mekanisme kerja *amoxicillin* berfokus pada kemampuannya dalam mengikat satu atau lebih *penicillin-binding proteins* (PBPs) pada bakteri (3). Namun, penggunaan antibiotik secara tidak tepat dapat memicu terjadinya resistensi sehingga mengurangi efektivitas terapi pengobatan (4).

Upaya untuk menanggulangi infeksi dapat dilakukan dengan pemanfaatan kombinasi herbal dan antibiotik, di mana kandungan *phytochemical* pada herbal berperan sebagai antimikroba alami yang memiliki beberapa keunggulan (5). Salah satu bahan alam yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri adalah herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, kuersetin, rutin, astragalin, dan lignan (6). Berdasarkan penelitian lanjutan, fraksi etil setat menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi n-Heksana. Hal ini menunjukkan bahwa Senyawa yang larut dalam pelarut semi-polar seperti flavonoid dan tanin diketahui memiliki aktivitas dalam mengganggu integritas dinding sel dan meningkatkan permeabilitas membran bakteri (7).

Oleh karena itu, kombinasi antara agen antimikroba alami dan antibiotik menjadi pendekatan yang potensial untuk menghasilkan interaksi yang sinergis dalam menanggulangi infeksi bakteri. Untuk mengevaluasi interaksi kombinasi agen mikroba tersebut, metode *checkerboard assay* dapat digunakan melalui perhitungan nilai *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis interaksi kombinasi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* berdasarkan nilai FICI menggunakan *checkerboard assay*.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian eksperimental laborik secara *in vitro* dilakukan untuk mengevaluasi interaksi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *checkerboard assay*. Pertumbuhan bakteri ditentukan berdasarkan tingkat kekeruhan sampel atau nilai *optical density* (OD), dan interaksi kombinasi dianalisis menggunakan perhitungan *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI).

Subyek/Sample Penelitian

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Universitas Islam Malang.

Kegiatan Pra Penelitian

Pembuatan Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Simplisia herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) sebanyak 500 gram diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96 % dengan perbandingan 1:3, maserasi dilakukan menggunakan water bath shaker selama 24 jam (8). Hasil maserasi disaring menggunakan corong bunchner untuk memisahkan filtrat dan residu (9). Residu yang diperoleh diremaserasi menggunakan etanol 96%, kemudian hasil filtrat maserasi dan remaserasi di oven hingga mendapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental tersebut kemudian dilakukan ekstraksi cair-cair untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolaran. Ekstraksi cair cair dilakukan menggunakan pelarut etil asetat, kemudian ekstrak dilarutkan menggunakan aquadest dan dimasukkan kedalam labu pisah. Selanjutnya dimasukkan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1, kocok labu selama 15 menit kemudian didiamkan hingga membentuk 2 lapisan, dan didapatkan fraksi etil asetat (10). Fraksi etil asetat kemudian dilakukan kromatografi kolom menggunakan eluen 100 % etil asetat, 90 % etil asetat : 10 % methanol, 75% etil asetat : 25 % methanol (11).

Kultur dan Standarisasi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* di inokulasi pada media agar dan di inkubasi 37 °C selama 24 jam. Bakteri di suspensikan dengan NS steril dan disesuaikan dengan standart McFarland 0,5.

Kegiatan Saat Penelitian

Interaksi antibakteri antara fraksi semipolar EF14, EF14(2), dan EF15 dengan amoksisilin dievaluasi menggunakan metode *checkerboard assay* dalam pelat mikro 96 sumur. Metode *checkerboard assay* bertujuan untuk mengevaluasi interaksi antara dua agen antimikroba melalui pengenceran seri ganda

pada berbagai kombinasi konsentrasi (12). *Amoxicillin* dilakukan optimasi dengan berbagai konsentrasi yaitu 2 mg/L, 1 mg/L, 0.002 mg/L, 0.0002 mg/L, and 0.00002 mg/L. Fraksi EF14, EF14(2), dan EF15 diuji pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25%, sedangkan *amoxicillin* digunakan pada 1 MIC, ½ MIC, dan ¼ MIC. Sebanyak 100 µL Mueller-Hinton Broth (MHB) ditambahkan ke setiap sumur pelat mikro. *Amoxicillin* sebagai agen antimikroba pertama, disusun secara horizontal melintasi baris-baris pelat mikro dan diencerkan secara berurutan dalam seri dua kali lipat, sedangkan fraksi EF14, EF14(2), dan EF15, sebagai agen antimikroba kedua, disusun secara vertikal pada kolom-kolom pelat mikro untuk menghasilkan berbagai kombinasi konsentrasi. Sebanyak 20 µL suspensi bakteri *Staphylococcus aureu* yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland ditambahkan ke setiap sumur. Kolom ke-11 diisi dengan media dan bakteri sebagai kontrol pertumbuhan, sedangkan kolom ke-12 diisi dengan media tanpa bakteri sebagai kontrol sterilitas.

Mikroplate tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri dinilai berdasarkan tingkat kekeruhan yang terbentuk.

Kegiatan Akhir Penelitian

Menghitung nilai Densitas Optik (OD)

Kekeruhan terbentuk diukur menggunakan pembaca mikroplate pada panjang gelombang 600 nm untuk memperoleh nilai densitas optik (OD). Nilai OD yang diperoleh digunakan untuk menentukan MIC *amoxicillin*, MIC kombinasi, dan untuk menghitung Indeks Konsentrasi Penghambatan Fraksional (FICI). Nilai FICI dihitung menggunakan rumus $FICI = (MIC\ A\ dalam\ kombinasi / MIC\ A\ sendiri) + (MIC\ B\ dalam\ kombinasi / MIC\ B\ sendiri)$. Interpretasi interaksi antimikroba didasarkan pada kriteria, di mana $FICI \leq 0,5$ menunjukkan efek sinergis, $0,5 < FICI \leq 4$ menunjukkan tidak ada interaksi (indiferent), dan $FICI > 4$ menunjukkan efek antagonis (13).

Analisa Data

Hasil analisis data statistik yang dimulai dengan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk terhadap data persentase inhibisi pada seluruh kelompok perlakuan. Apabila hasil menunjukkan bahwa tidak semua kelompok memiliki distribusi data normal ($p < 0,05$) maka untuk analisis selanjutnya diperlukan uji non parametrik menggunakan Kruskal-Wallis dan dilanjut dengan Post Hoc Mann-Whitney. Sedangkan apabila data yang dihasilkan normal dan homogen ($p > 0,05$), analisis hasil selanjutnya dilakukan menggunakan uji One-Way ANOVA yang dilanjut dengan uji Post-Hoc Tukey.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil *checkherboard assay* menunjukkan bahwa kombinasi fraksi semi polar *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* menghasilkan tingkat penghambatan yang berbeda berdasarkan kekeruhan dari setiap konsentrasi yang di uji. Penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dievaluasi menggunakan microplate reader dan di dapatkan hasil nilai absorbansi (*optical dencity*/OD). Nilai OD yang lebih rendah menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri lebih rendah, sebaliknya nilai OD yang lebih tinggi menunjukkan pertumbuhan bakteri yang lebih besar. Data absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversi menjadi persentase inhibisi untuk mengetahui kemampuan masing-masing kombinasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 1. Heatmap Persentase Inhibisi Kombinasi Fraksi EF 14 Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Fraksi EF 14	<i>Amoxicillin</i>			
	0 MIC	¼ MIC	½ MIC	1 MIC
100 %	100	100	100	100
50 %	100	100	100	100
25 %	100	100	100	100
0 %	100	84,16	76, 32	45,87

Tabel 2. Heatmap Persentase Inhibisi Kombinasi Fraksi EF 14(2) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Fraksi EF 14 (2)	<i>Amoxicillin</i>			
	0 MIC	¼ MIC	½ MIC	1 MIC
100 %	100	100	100	100
50 %	100	100	100	100
25 %	100	100	100	100
0 %	100	100	73, 92	38, 97

Tabel 3. Heatmap Persentase Inhibisi Kombinasi Fraksi EF 15 Terhadap *Staphylococcus aureus*

Fraksi EF 15	<i>Amoxicillin</i>			
	0 MIC	¼ MIC	½ MIC	1 MIC
100 %	100	100	100	100
50 %	100	100	100	100
25 %	100	100	100	100
0 %	81,77	82,7	67, 96	47,27

Hasil uji checkerboard yang ditunjukkan pada heatmap di Tabel 1. mengenai hasil persentase pertumbuhan bakteri pada kombinasi fraksi semi-polar EF 14 dan *amoxicillin*, bahwa sebagian besar kombinasi diperoleh nilai pertumbuhan bakteri

sebesar 100%, yang ditunjukkan dengan warna paling pekat. Kondisi tersebut terlihat pada seluruh kombinasi konsentrasi fraksi 100%, 50%, dan 25% dengan berbagai konsentrasi amoksisilin. Penurunan pertumbuhan bakteri hanya terlihat pada kombinasi fraksi 0% dengan *amoxicillin* sebesar 1/4 MIC, 1/2 MIC, dan 1 MIC yang menghasilkan nilai pertumbuhan bakteri berturut-turut sebesar 84,16%; 76,32%; dan 45,87%. Nilai pertumbuhan bakteri terendah diperoleh pada kombinasi *amoxicillin* 1 MIC tanpa penambahan fraksi (0%), yaitu sebesar 45,87%.

Hasil uji checkerboard yang ditunjukkan pada heatmap pada Tabel 2. mengenai hasil persentase pertumbuhan bakteri pada kombinasi fraksi semi-polar EF 14(2) dan *amoxicillin*, bahwa sebagian besar kombinasi diperoleh nilai pertumbuhan bakteri sebesar 100%, yang ditunjukkan dengan warna paling pekat. Kondisi tersebut terlihat pada seluruh kombinasi konsentrasi fraksi 100%, 50%, dan 25% dengan berbagai konsentrasi *amoxicillin*. Penurunan pertumbuhan bakteri hanya terlihat pada kombinasi fraksi 0% dengan *amoxicillin* sebesar 1/2 MIC dan 1 MIC yang menghasilkan nilai pertumbuhan bakteri berturut-turut sebesar 73,92% dan 38,97%. Nilai pertumbuhan bakteri terendah diperoleh pada kombinasi *amoxicillin* 1 MIC tanpa penambahan fraksi (0%), yaitu sebesar 38,97%.

Hasil uji checkerboard yang ditunjukkan pada heatmap Tabel 3. mengenai hasil persentase pertumbuhan bakteri pada kombinasi fraksi semi-polar EF 15 dan *amoxicillin*, bahwa sebagian besar kombinasi diperoleh nilai pertumbuhan bakteri sebesar 100%, yang ditunjukkan dengan warna paling pekat. Kondisi tersebut terlihat pada seluruh kombinasi konsentrasi fraksi 100%, 50%, dan 25% dengan berbagai konsentrasi *amoxicillin*. Penurunan pertumbuhan bakteri hanya terlihat pada kombinasi fraksi 0% dengan amoksisilin sebesar 1/4 MIC, 1/2 MIC, dan 1 MIC yang menghasilkan nilai pertumbuhan bakteri berturut-turut sebesar 82,7%; 67,96%; dan 47,27%. Nilai pertumbuhan bakteri terendah diperoleh pada kombinasi amoksisilin 1 MIC tanpa penambahan fraksi (0%), yaitu sebesar 47,27%.

Tabel 4. Nilai MIC dan FICI

Fraksi	MIC Fraksi Tunggal (%)	MIC <i>Amoxicillin</i>	MIC Fraksi Kombinasi
EF 14	1	0,25	1
EF14(2)	1	0,5	1
EF 15	1	0,25	1

Keterangan: Hasil penentuan nilai FICI

Tabel 5. Nilai MIC dan FICI

Fraksi	MIC <i>Amoxicillin</i> kombinasi	FICI	Interpretasi
EF 14	1	5	Antagonis
EF14(2)	1	3	Indiferent
EF 15	1	5	Antagonis

Keterangan: Hasil penentuan nilai FICI

Berdasarkan hasil yang disajikan pada Tabel 4 dan Tabel 5, hasil penentuan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Fractional Inhibitory Concentration* (FICI) pada seluruh fraksi menunjukkan nilai MIC fraksi tunggal sebesar 100%, sedangkan MIC *amoxicillin* tunggal EF 14 dan EF 15 didapatkan pada konsentrasi 1/4 MIC dan pada fraksi EF 15 didapatkan pada konsentrasi 1/2 MIC. Kombinasi fraksi dan *amoxicillin* menunjukkan nilai MIC yang tetap berada pada konsentrasi 100%, sedangkan MIC *amoxicillin* dalam kombinasi juga tetap berada pada 1 MIC. Hasil perhitungan FICI diperoleh nilai 5 pada fraksi EF 14 dan EF 15, serta nilai sebesar 3 pada fraksi EF 14(2). Hasil interpretasi FICI tersebut menunjukkan bahwa kombinasi fraksi semi-polar herba *Phyllanthus niruri* L. dengan amoxicillin pada fraksi EF 14 dan EF 15 termasuk kategori antagonis dan EF 14(2) termasuk kategori indiferent. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi fraksi semi-polar herba *Phyllanthus niruri* L. tidak menghasilkan efek yang sinergis terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Hasil analisis data statistik yang dimulai dengan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk terhadap data persentase inhibisi pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan bahwa tidak semua kelompok memiliki distribusi data normal ($p < 0,05$), sehingga untuk analisis selanjutnya diperlukan uji non parametrik menggunakan Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil adanya perbedaan yang signifikan pada persentase inhibisi antar kelompok perlakuan pada fraksi EF 14 ($p = 0,004$), EF 14(2) ($p = 0,003$), dan EF 15 ($p = 0,002$). Analisis lanjutan dilakukan menggunakan uji Mann-Whitney yang menunjukkan bahwa kombinasi fraksi EF 14, EF 14(2), dan EF 15 dengan amoxicillin tidak berbeda signifikan dibanding dengan amoxicillin tunggal yang ditunjukkan oleh nilai Exact Sig. masing-masing sebesar 0,100 ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri fraksi semi-polar herba *Phyllanthus niruri* L. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan oleh persentase inhibisi pada berbagai konsentrasi

kombinasi fraksi dan *amoxicillin*. Aktivitas antibakteri tersebut menunjukkan bahwa fraksi semi-polar herba *Phyllanthus niruri* L. memiliki senyawa bioaktif yang mampu bekerja dalam menghambat bakteri. Fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. menunjukkan kandungan fenolik dan flavonoid yang relatif tinggi dibandingkan dengan fraksi non-polar, aktivitas antibakteri tersebut diduga berkaitan dengan adanya senyawa semi-polar seperti flavonoid, tanin, dan fenolik yang memiliki mekanisme dalam mengganggu dinding sel bakteri serta menghambat aktivitas enzim bakteri (14). Pada kombinasi fraksi EF 14 dan EF 15 diperoleh nilai MIC herba tunggal sebesar 100%, nilai MIC *amoxicillin* tunggal diperoleh nilai $\frac{1}{4}$ MIC, sementara MIC *amoxicillin* kombinasi meningkat menjadi 1 MIC dan MIC herba kombinasi diperoleh pada konsentrasi 100%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. dan *amoxicillin* tidak meningkatkan aktivitas antibakteri dibandingkan penggunaan tunggal. Berdasarkan hasil perhitungan FICI diperoleh nilai 5 yang termasuk dalam kategori antagonis (15). Interaksi antagonis mengindikasikan bahwa kombinasi kedua agen menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih rendah dibandingkan dari penggunaan masing-masing agen secara tunggal (13).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yasmin et al. (2020) yang melaporkan bahwa kombinasi fraksi polar *Phyllanthus niruri* L. dengan *amoxicillin* menunjukkan interaksi antagonis terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa tidak semua kombinasi fraksi meniran mampu meningkatkan aktivitas antibiotik, bahkan pada fraksi tertentu dapat menyebabkan penurunan daya hambat bakteri. Temuan serupa juga dilaporkan oleh Nabila et al., (2022), yang melaporkan bahwa kombinasi Obat Herbal Tersandar meniran dan *amoxicillin* dapat menghasilkan interaksi yang antagonis pada konsentrasi tertentu (16). Kesamaan hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi herba meniran dan *amoxicillin* tidak selalu menghasilkan efek sinergis, namun dapat pula menurunkan aktivitas antibakteri. Interaksi antagonis yang diperoleh pada penelitian ini diduga disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi dan jumlah senyawa fitokimia dalam fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. yang dapat mempengaruhi aktivitas *amoxicillin*. Selain itu, polaritas fitokimia juga dapat mempengaruhi kelarutan dan ketersediaan senyawa dalam media uji, yang selanjutnya dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dan nilai MIC yang diperoleh (17). Pada konsentrasi tertentu semakin tinggi konsentrasi dapat mengganggu respon antibakteri dari antibiotik yang digunakan secara

bersamaan (16). Sifat antagonis juga dapat terjadi karena terdapat zat yang dapat menghambat kerja dari zat lainnya yang menyebabkan efek farmakologis yang dihasilkan menjadi kurang efektif akibat adanya perbedaan sifat zat aktif yang terkandung dalam kombinasi tersebut (18). Selain itu, perbedaan variasi dan jenis interaksi yang dihasilkan diduga disebabkan oleh adanya keberadaan berbagai senyawa bioaktif dalam fraksi, sedangkan *amoxicillin* merupakan senyawa aktif tunggal yang bekerja secara spesifik. Sehingga perbedaan komposisi dari senyawa dalam fraksi juga dapat diduga menyebabkan adanya perbedaan respon antibakteri serta interaksi yang terjadi ketika dikombinasikan oleh antibiotik (19).

Oleh karena itu interaksi antagonis pada penelitian ini diduga terjadi akibat adanya interaksi antara metabolit sekunder fraksi semi-polar meniran dan *amoxicillin* yang menyebabkan penurunan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan penggunaan masing-masing agen secara tunggal.

Berbeda dengan EF 14 dan EF 15 yang menunjukkan interaksi antagonis, kombinasi fraksi semi-polar EF 14(2) menghasilkan nilai FICI sebesar 3 yang termasuk kedalam kategori indifferen, dengan nilai MIC. Kategori indifferen menunjukkan bahwa efek antibakteri yang dihasilkan dari fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. tidak menghasilkan interaksi yang bermakna dengan *amoxicillin* (20). Kondisi tersebut diduga terjadi karena senyawa aktif dalam fraksi semi-polar meniran dan *amoxicillin* memiliki kesamaan target dalam penghambatan bakteri (21). Fenomena tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nikolic et al. (2022) yang menguji kombinasi antibiotik golongan beta laktam lainnya, yaitu oksasilin terhadap *Staphylococcus aureus* yang juga menghasilkan interaksi indifferen dengan nilai FICI sebesar 1,03-2,00 (22). Mekanisme *amoxicillin* yaitu dengan mengikat *Penicillin-Binding Proteins* (PBPs) untuk mencegah sintesis peptidoglikan. Nikolic et al., (2022) juga menjelaskan bahwa variabilitas efek kombinasi dapat dipengaruhi oleh kelas antibiotik, mekanisme aksi spesifik, serta tingkat resistensi dari strain bakteri yang diuji. Munculnya hasil indifferen pada penelitian ini mengindikasikan bahwa fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. tidak memberikan efek interaksi yang saling mendukung ataupun menginterferensi target pengikatan *amoxicillin* pada dinding sel bakteri.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji checkerboard dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L. dan *amoxicillin*

menunjukkan interaksi yang berbeda pada tiap fraksi terhadap *Staphylococcus aureus*, yaitu antagonis pada EF 14 dan EF 15 serta indiferent pada EF 14(2). Hasil tersebut menjelaskan bahwa kombinasi fraksi semi-polar meniran dengan *amoxicillin* tidak selalu meningkatkan aktivitas antibakteri. Perbedaan yang diperoleh diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, komposisi fitokimia, konsentrasi senyawa aktif, serta interaksi antara metabolit sekunder dalam fraksi dan *amoxicillin*. Oleh karena itu, kombinasi fraksi semi-polar *Phyllanthus niruri* L dan *amoxicillin* pada penelitian ini belum menunjukkan potensi yang optimal untuk meningkatkan efektivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Saran yang diberikan pada penelitian ini yaitu :

1. Peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) pada masing-masing fraksi sebelum dilakukan *checkerboard assay*, sehingga konsentrasi fraksi yang digunakan dalam pengujian kombinasi dapat ditetapkan berdasarkan nilai MIC yang diperoleh.
2. Pengukuran nilai *Optical density* (OD) disarankan untuk dilakukan sebelum dan setelah inkubasi untuk mengevaluasi kondisi awal dan perubahan pertumbuhan bakteri selama pengujian, serta mengidentifikasi kemungkinan pengaruh warna atau kekeruhan fraksi terhadap hasil pembacaan OD.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA atas dukungan pendanaan dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada dosen pembimbing atas arahan dan bimbingan selama proses penelitian hingga penyusunan jurnal. Terima kasih kepada Laboratorium Terpadu FK UNISMA dan tim laboran yang telah membantu proses penelitian dan analisa data.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mayasari E, Utama ED. Epidemiology and resistant profile of bacterial pathogens in a tertiary health care hospital, Medan City: a retrospective study. *PeerJ*. 2025;13(5):1–19.
2. Nur S, Puspawati N, Rukmana M. Deteksi Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Pasien RSUD Dr . Moewardi Surakarta Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) Detection of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on the Patients of RSUD Dr . Moewa. 2019;12(02).
3. Pratiwi M, Nabila NA, Sutomo A. Literatur Riview: Efektivitas Penggunaan Obat Antibiotik Pada Pasien Ispa. *Jurnal Farmasi Aisyah*. 2023 May 31;2(1):19-26.
4. Niken N, Yusuf RN. Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT JERUK GUNUNG OMEH (*Citrus nobilis* Lour) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA KULIT. *Jurnal Kesehatan Medika Saintika*. 2024 Jun 14;15(1):55-61.
5. Guedes BN, Krambeck K, Durazzo A, Lucarini M, Santini A, Oliveira MBPP, et al. Natural antibiotics against antimicrobial resistance: sources and bioinspired delivery systems. *Brazilian J Microbiol*. 2024;55(3):2753–66.
6. Fitri I. EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Salmonella* sp. dan *Propionibacterium acnes*. *JST (Jurnal Sains dan Teknol*. 2017;6(2):300–10.
7. Pratama A, Nasution HM, Pulungan AF, Rani Z. Uji Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksan Dan Etil Asetat Daun Seminyak (*Champereia manillana* (Blume) Merr.) Terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 2026 Mar 30:863-76.
<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com>
8. Sasongko GH, Hardianti AN, Roshiana DC, Irawan DA, Putrida S. Jurnal Farmasi IKIFA Vol. 3 No. 2 Juli 2024 Uji PARAMETER SPESIFIK DAN NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* Linn). 2024;3(2):29–42.
9. Iswary DAF, Faisal, Risandiansyah R. Efek Penambahan Fraksi Polar F24-F28

- Ekstrak Metanol Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Daya Hambat Amoksisilin Dan Kloramfenikol Pada *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Bio Komplementer Med*. 2019;6(3):230–9.
10. Dzakiyah I, Putri CD, Risandiansyah R. Potensi Fraksi N-Heksana Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Biofilm *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*. 2025;13(1).
 11. Sari WDP, Risandiansyah R, Airlangga H. Efek Penambahan Fraksi Semi Polar (F1-F7) Ekstrak Metanolik *Phyllanthus niruri*, L. Terhadap Daya Hambat Amoxicillin atau Chloramphenicol pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* The Effect Of Semi Polar Methanolic Fraction (F1-F7) *Phyllanthus niruri*. *J Kedokt Komunitas*. 2021;9(1):1–10.
 12. Bellio P, Fagnani L, Nazzicone L, Celenza G. New and simplified method for drug combination studies by checkerboard assay. *MethodsX* [Internet]. 2021;8(July):101543. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101543>
 13. Watts JL, Sweeney MT, Lubbers B V. Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria of Veterinary Origin. *Antimicrob Resist Bact from Livest Companion Anim*. 2018;6(2):17–32.
 14. Labu ZK, Karim S, Afroz M, Batul UK, Akther L, Rahman T, et al. GC-MS based bioactive profiling of *Phyllanthus niruri* and its antibacterial potential through experimental and computational studies. *PLoS One* [Internet]. 2026;21(1 January):1–48. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0340866>
 15. Apridamayanti P-, Robiyanto R, Farica T-. FICI Value Determination of Combination of *Aquilaria microcarpa* Baill. Ethanolic Extract with Amoxicillin against *Salmonella typhi*. *Kartika J Ilm Farm*. 2021;8(1):9–15.
 16. Nabila F, Aini N, Risandiansyah R. INTERAKSI OBAT HERBAL TERSTANDAR MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) DENGAN AMOKSISILIN TERHADAP PENGHAMBATAN *Staphylococcus J Kedokt Komunitas*. 2022;(0341):1–9.
 17. Tiwana G, Cock IE. and Enhanced Antibiotic Combinatorial Strategies. *Antibiot Artic*. 2024;
 18. Farah Yasmin, Rio Risandiansyah NAF. EFEK PENAMBAHAN FRAKSI POLAR F29-F32 EKSTAK METANOLIK MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) TERHADAP DAYA HAMBAT Chloramphenicol DAN Amoxicillin PADA *Staphylococcus*. 2024;2:306–12.
 19. Olajuyigbe OO, Cooposamy RM. Influence of first-line antibiotics on the antibacterial activities of acetone stem bark extract of *Acacia mearnsii* de Wild. against drug-resistant bacterial isolates. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2014;2014.
 20. Spitzer M, Robbins N, Wright GD. Combinatorial strategies for combating invasive fungal infections. *Virulence* [Internet]. 2017;8(2):169–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2016.1196300>
 21. Lasitarini Y, Sari R, Robiyanto. Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Lidah Buaya (*Aloe vera*) dan Siprofloksasin terhadap Bakteri Infeksi Saluran Kemih (ISK). *J Mhs Farm Fak Kedokt Untan*. 2018;3(1).
 22. Artalia A, Rosa EM. Descriptive Analysis of Risk Factors and Trends in Healthcare-Associated Infections: A 5-Year Retrospective Surveillance Study in East Java, Indonesia (2019-2023). *J Penelit Pendidik IPA*. 2025;11(12):131–41.

