

**EFEK PEMBERIAN KOMBINASI JAMU TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber* L.) DENGAN AMOKSISILIN TERHADAP DAYA Hambat PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus***

Shabrina Yasyfi Hanifati, Noer Aini, Rio Risandiansyah\*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang*

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Kombinasi fraksi semi-polar dan polar ekstrak metanolik tapak liman dengan amoksisilin didapatkan peningkatan aktivitas amoksisilin terhadap penghambatan pertumbuhan *S. aureus*. Namun, penelitian serupa dengan menggunakan jamu belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengetahui interaksi kombinasi jamu tapak liman dengan amoksisilin terhadap bakteri *S. aureus*.

**Metode:** Jenis penelitian adalah eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Jamu tapak liman yang telah terdaftar pada Badan Pengawas Obat dan Makanan dilarutkan berdasarkan dosis anjuran minum (166,67 ppm) dan setengah dosis anjuran (83,33 ppm). Larutan diresapkan dalam cakram kosong dan disusun dengan cakram amoksisilin 30 µg sesuai ketentuan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST). Uji zona hambat dilakukan dengan metode *Kirby-Bauer*. Interaksi kombinasi diinterpretasikan berdasarkan metode AZDAST.

**Hasil:** ZOI kombinasi dan interaksi kombinasi larutan sampel jamu tapak liman 166,67 ppm dan amoksisilin tidak dapat diidentifikasi. ZOI kombinasi pada konsentrasi 83,33 ppm lebih besar dibandingkan amoksisilin akan tetapi tidak berbeda signifikan ( $p>0,05$ ). Interaksi kombinasi jamu tapak liman 83,33 ppm dan amoksisilin adalah *not distinguishable*. Saponin, fenol, flavonoid, tannin dan alkaloid tidak terdeteksi pada larutan jamu tapak liman.

**Kesimpulan:** Penambahan larutan sampel jamu tapak liman konsentrasi 83,33 ppm tidak mempengaruhi zona hambat amoksisilin terhadap *S. aureus*. Interaksi kombinasi larutan sampel jamu tapak liman 83,33 ppm dengan amoksisilin adalah *not distinguishable* terhadap *S. aureus*.

**Kata Kunci:** *Elephantopus scaber* L., Amoksisilin, Uji Kombinasi Antibiotik dan Herbal

Korespondensi:

Rio Risandiansyah

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

e-mail: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id), telepon : (0341) 558959

**THE EFFECTS OF ELEPHANT FOOT PLANT'S HERB (*Elephantopus scaber* L.) AND AMOXICILLIN COMBINATION AGAINST *Staphylococcus aureus***

Shabrina Yasyfi Hanifati, Noer Aini, Rio Risandiansyah\*

\*Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

**ABSTRACT**

**Introduction:** Elephant foot plant (*E. scaber*) is known to have antibacterial activity against *S. aureus*. The combination of semi-polar and polar fraction methanol extract of *E. scaber* and amoxicillin showed enhancement inhibition against *S. aureus*. The similar study using the herb of *E. scaber* has never been tested before. This study aims to determine the zone of inhibition and interaction in the combination of *E. scaber* herb and amoxicillin.

**Methods:** This study is an experimental laboratory in vitro. *E. scaber* herb has been registered in The Food and Drug Administration of Indonesia. Herb dissolved based on the consumption recommendation dosage (166,67 ppm) and it's half (83,33 ppm). The solution is infused in the blank disk then arranged with amoxicillin 30 µg according to the provision of the AZDAST method. Zone of Inhibition (ZOI) tested using the *Kirby-Bauer* method. Combination interactions are interpreted based on the AZDAST method.

**Results:** ZOI and interaction of the combination of *E. scaber* herb 166,67 ppm and amoxicillin couldn't be identified but on 83,33 ppm the ZOI is bigger than amoxicillin but not significant ( $p>0,05$ ). Combination interaction of *E. scaber* herb 83,33 ppm and amoxicillin is not distinguishable. Saponin, phenolik, flavonoid, tannin and alkaloid couldn't be detected in *E. scaber* herb.

**Conclusions:** Interaction of the combination on 83,33 ppm is not distinguishable on *S. aureus*.

**Keyword:** *Elephantopus scaber* L., Amoxicillin, The combination of herbs and antibiotics.

Corresponding Author:

Rio Risandiansyah

MT. Haryono 193 Malang City, East Java, Indonesia, 65144

e-mail: [riorisandiansyah@unisma.ac.id](mailto:riorisandiansyah@unisma.ac.id), phone: (0341) 558959

## PENDAHULUAN

Jamu merupakan salah satu obat tradisional yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenik, maupun campuran beberapa bahan tersebut yang secara empiris telah digunakan untuk pengobatan.<sup>1</sup> Masyarakat memiliki kecenderungan untuk mengkonsumsi obat tradisional sebagai dampak dari populernya gaya hidup *back to nature*.<sup>2</sup> Tingkat penerimaan masyarakat terhadap kemampuan obat tradisional dalam mengobati maupun menjaga kesehatan adalah sebesar 58% dengan motivasi utama konsumsi jamu untuk menghindari efek samping obat sintesis.<sup>3,4</sup>

Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai jamu di Indonesia adalah tapak liman (*Elephantopus scaber* L.).<sup>5</sup> Jamu tapak liman di Indonesia mudah didapatkan masyarakat dan tersedia dalam bentuk ramuan jadi sediaan kapsul yang terdaftar dalam Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Obat tradisional dalam bentuk “ramuan jadi” seperti jamu kapsul tapak liman diketahui lebih diminati masyarakat Indonesia dibandingkan “ramuan buatan” sendiri.<sup>6</sup>

Salah satu manfaat yang terdapat dalam tapak liman adalah kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>7,8</sup> Bagian daun, akar dan bunga tapak liman yang diekstrak menggunakan etanol, aseton dan air juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara *in-vitro*.<sup>7,8</sup> Ekstrak kasar dan fraksi metanol tapak liman juga diketahui mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*.<sup>9-12</sup> Bakteri *S. aureus* diketahui sebagai bakteri yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK) yang tergolong tinggi di Indonesia.<sup>13,14</sup> Penderita penyakit ISK di Indonesia diketahui mencapai 90-100 kasus per 100.000 penduduk per tahun.<sup>14</sup>

Obat tradisional seperti jamu umumnya dianggap sebagai pengobatan tambahan yang bersifat aman dan efektif.<sup>15</sup> Penambahan tapak liman pada amoksisilin diketahui dapat menimbulkan interaksi.<sup>10-12,16-18</sup> Amoksisilin sering diresepkan pada pelayanan primer di Indonesia.<sup>19</sup> Tanaman tapak liman yang diekstrak dengan metanol menghasilkan interaksi aditif apabila dikombinasikan dengan amoksisilin terhadap *S. aureus*.<sup>9</sup> Sedangkan penambahan fraksi-fraksi semi-polar dan polar ekstrak metanol tapak liman pada amoksisilin interaksi kombinasi yang dihasilkan beragam yaitu sinergis, *not distinguishable* dan antagonis dalam penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus*.<sup>10-12,16-17</sup>

Tapak liman dikonsumsi masyarakat dalam bentuk jamu dan tidak menggunakan pelarut metanol maupun etil asetat seperti pada penelitian sebelumnya. Belum terdapat penelitian yang menguji kombinasi jamu tapak liman yang beredar di masyarakat dengan amoksisilin terhadap

penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* secara *in-vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vitro* untuk mengetahui efek interaksi kombinasi jamu tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dan antibiotik amoksisilin secara tunggal dan kombinasi terhadap zona hambat (ZOI) pada bakteri *S. aureus*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga April 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

### Pembuatan Suspensi Bakteri

Pada pembuatan suspensi bakteri, diambil satu atau lebih koloni bakteri *S. aureus* dari stok bakteri dalam *Nutrient Agar* (NA) milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang menggunakan oshe kolong. Kemudian bakteri dibiakkan pada media NA yang baru dengan kandungan *peptone* 5 g/L, *meat extract* 3 g/L, dan agar-agar 12 g/L. Kemudian diinkubasi selama 20-24 jam pada suhu 37°C. Beberapa koloni bakteri diambil hingga setara dengan standar 0,5 McFarland (10<sup>8</sup> CFU/ml) dengan *optical density* 0,2 dan panjang gelombang 625 nm.<sup>9,20</sup>

### Penentuan Konsentrasi

Jamu tapak liman dilarutkan hingga mencapai konsentrasi dosis anjuran minum dan konsentrasi setengah dosis. Penggunaan konsentrasi anjuran dosis minum dan konsentrasi setengah dosis disesuaikan mengikuti volume distribusi obat yang menggambarkan konsentrasi obat dalam darah dengan jumlah total obat di dalam tubuh. Setelah terjadi distribusi darah menuju jaringan terjadi penurunan konsentrasi obat sehingga konsentrasi setengah dosis digunakan untuk mengetahui efektivitas suatu obat saat mencapai fase eliminasinya.<sup>21</sup>

$$\text{Konsentrasi pada air (ppm)} = \frac{1 \text{ mg zat terlarut}}{1 \text{ L pelarut}}$$

Kapsul tapak liman mengandung 500 mg ekstrak daun tapak liman dengan anjuran konsumsi minum sebanyak 2 kapsul. Kapsul tapak liman 2x@500 mg dibuka dan ekstrak yang terdapat di dalam kapsul dilarutkan dalam 6L aquades mengikuti total volume darah dalam tubuh manusia hingga didapatkan konsentrasi dalam satuan ppm. Kemudian larutan tersebut di encerkan kembali dengan mengambil 5 ml larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan menambahkan 5 ml aquadest untuk mendapatkan konsentrasi setengahnya. Didapatkan konsentrasi 166,67 dan

83,33 ppm. Kemudian larutan diresapkan ke dalam cakram kosong.<sup>22</sup>

### Pembuatan Media dan Pemiakan Bakteri dengan Metode *Spread Plate*

Media dibuat dari *Mueller-Hinton Agar* (MHA) yang dibuat dari *Mueller-Hinton Broth* (MHB) dan NA mengandung HM infusio setara dengan *casein acid hydrolysate*, *acicase*, tepung dengan pH  $7,3 \pm 0,1$ . Media dilarutkan dengan aquades kemudian di sterilkan pada suhu  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu  $44\text{-}48\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Cakram kosong yang telah diresapkan larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm dan cakram amoksisilin pro-analisa dosis  $10\text{ }\mu\text{g}$  disusun sedemikian rupa di dasar cawan petri sesuai ketentuan *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST).<sup>23</sup>

Perekat berbahan media MHA sebanyak  $\pm 1\text{ ml}$  dituangkan pada masing-masing susunan cakram dan didiamkan hingga menjadi solid. Selanjutnya, media MHA dituang ke cawan petri sebanyak  $\pm 25\text{ ml}$  media/cawan petri dan didiamkan hingga solid.<sup>23</sup> Kemudian suspensi bakteri diinokulasikan pada permukaan media menggunakan metode *spread plate* dan dilakukan inkubasi selama 18 jam pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  untuk selanjutnya dilakukan uji zona hambat (ZOI).<sup>20</sup>

### Pengukuran Zona Hambat (ZOI)

ZOI diukur berdasarkan metode *Kirby-Bauer*. Pasca inkubasi 18 jam, diperiksa ada atau tidak zona bening pada masing-masing susunan cakram. Kemudian jika ditemukan zona bening, maka zona tersebut diukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian  $0,01\text{ mm}$ .<sup>11</sup>

### Metode Penentuan Interaksi Kombinasi AZDAST

Interaksi kombinasi diinterpretasikan sinergis jika zona bening yang terentuk pada kombinasi antibiotik amoksisilin dan jamu tapak liman (AB) lebih besar dari zona bening antibiotik amoksisilin *single disk* (A) dan jamu tapak liman *single disk* (B), serta lebih kecil atau lebih besar dari antibiotik amoksisilin *double disk* (AA) dan/ jamu tapak liman *double disk* (BB). Interaksi kombinasi diinterpretasikan aditif jika (AB) sama dengan (AA) atau (BB). Antagonis jika (AB) lebih kecil daripada (A) atau (B). Potensiasi jika salah satu dari (A) atau (B) sama dengan nol dan (AB) lebih besar dari (A) dan (B) dan lebih kecil atau lebih besar dari (AA) dan/atau (BB). Disebut *not distinguishable* jika (AB) sama dengan salah satu dari (A) atau (B).<sup>23</sup>

### Metode Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia pada penelitian dilakukan untuk menguji secara kualitatif kandungan senyawa *flavonoid*, *fenol*, dan *saponin* pada larutan jamu

tapak liman yang dilarutkan sesuai anjuran konsumsi sampel jamu tapak liman hingga didapatkan konsentrasi 166,67 ppm. Kemudian konsentrasi ditingkatkan hingga 10.000 ppm menggunakan pelarut yang sesuai untuk mengetahui adanya kandungan *flavonoid*, *alkaloid*, *fenol*, *saponin*, *tannin*, *terpenoid* dan *steroid* dalam sampel jamu tapak liman. Pada konsentrasi 10.000 ppm pengujian dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali dan diamati oleh tiga pengamat.

Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara mencampurkan 0,1 gram jamu tapak liman dengan 10 ml aquades kemudian dipanaskan hingga mendidih. Larutan disaring kemudian diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan beberapa tetes NaOH 10%. Jika terjadi perubahan warna menjadi jingga maka terdeteksi senyawa flavonoid.<sup>24,25</sup>

Uji alkaloid dilakukan dengan cara melarutkan 0,1 gram jamu tapak liman dengan 10 ml kloroform kemudian ditambahkan 4 tetes  $\text{NH}_4\text{OH}$  dan dilakukan penyaringan. Ekstrak kloroform diletakkan dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak dikocok dan ditambahkan 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{ 2 N}$  hingga terbentuk dua lapisan. Setelah itu, lapisan bagian atas yang merupakan lapisan asam dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain untuk dilakukan penambahan pereaksi meyer dan dragendorf. Endapan warna putih akan terbentuk pada penambahan pereaksi meyer apabila terdeteksi senyawa alkaloid. Sedangkan pada penambahan pereaksi dragendorf akan timbul endapan merah-jingga.<sup>24</sup>

Pengujian senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan 0,1 gram jamu tapak liman dalam 20 ml methanol 70%. Larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan dua tetes  $\text{FeCl}_2\text{ 5\%}$ . Apabila terdeteksi senyawa fenol maka akan terbentuk warna hijau atau hijau-kebiruan.<sup>24</sup>

Pendeteksian senyawa saponin dilakukan dengan cara mencampurkan 0,1 gram jamu tapak liman ke dalam air panas kemudian dididihkan. Setelah itu, dilakukan penyaringan dan filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup. Filtrat dikocok selama  $\pm 10$  detik kemudian didiamkan selama 10 menit. Setelah 10 menit filtrat ditambahkan 1 ml HCl 2N. Apabila terdapat buih yang stabil maka terdeteksi senyawa saponin.<sup>24</sup>

Senyawa *tannin* dideteksi dengan cara mencampurkan 0,1 gram jamu tapak liman dengan 10 ml air panas kemudian dididihkan, Setelah itu, dilakukan penyaringan dan filtrat ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3\text{ 1\%}$ . Senyawa *tannin* terdeteksi dengan terbentuknya warna hijau-kehitaman.<sup>24</sup>

### Analisa Data Statistik

Diameter ZOI diukur menggunakan jangka sorong dan dilakukan uji normalitas dan

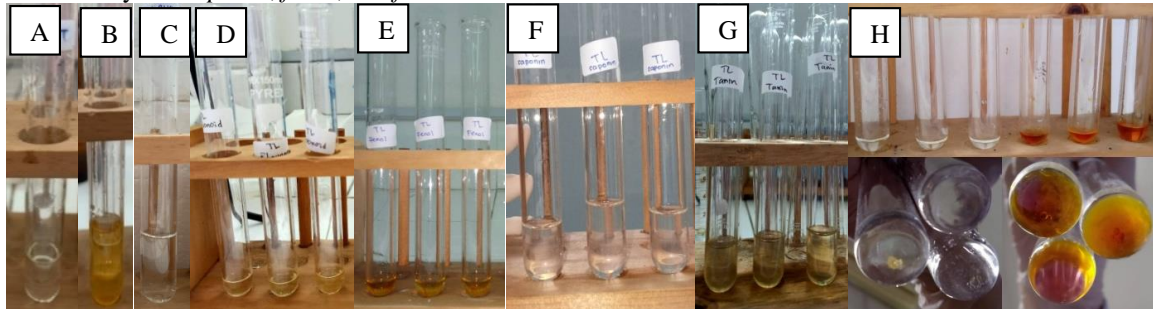
homogenitas. Data tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan *Mann-Whitney Test* menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Interaksi kombinasi diinterpretasikan berdasarkan metode AZDAST.

## HASIL

### Hasil Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa *flavonoid*, *fenol*, *saponin*, *tannin* dan *alkaloid* pada sampel jamu tapak liman. Pengujian pada larutan sampel jamu tapak liman konsentrasi dosis minum (166,67 ppm) dapat dilihat pada Gambar 1 bertanda A, B, dan C. Gambar bertanda A menunjukkan hasil pengujian senyawa *saponin* menunjukkan tidak terbentuk busa permanen setelah larutan dikocok kuat dan ditambahkan reagen HCl pekat. Gambar bertanda B menunjukkan tidak terbentuknya perubahan warna menjadi biru-keunguan pada penambahan  $\text{FeCl}_3$  pada uji senyawa *fenolik*. Gambar bertanda C menunjukkan tidak terbentuk warna kuning setelah penambahan NaOH pada uji *flavonoid*. Hasil menunjukkan tidak terdeteksi senyawa *saponin*, *fenol*, dan *flavonoid*.

Kemudian konsentrasi ditingkatkan hingga mencapai 10.000 ppm dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Hasil pengujian jamu tapak liman konsentrasi 10.000 ppm dapat dilihat pada Gambar 5.1 bertanda D, E, F, G, dan H. Pendeteksian senyawa *flavonoid* pada jamu tapak liman konsentrasi 10.000 ppm dapat dilihat pada Gambar 5.1 bertanda D. Didapatkan hasil bahwa tidak terjadi perubahan warna menjadi jingga pada penambahan reagen NaOH. Gambar bertanda E menunjukkan hasil pengujian senyawa *fenol* didapatkan hasil bahwa tidak terbentuk warna hijau atau hijau-kebiruan pada penambahan reagen  $\text{FeCl}_3$  5%. Gambar bertanda F menunjukkan tidak terbentuk buih stabil pada penambahan HCl 2N pada uji *saponin*. Gambar bertanda G merupakan hasil dari uji *tannin* yang menunjukkan tidak terdapat perubahan warna menjadi hijau kehitaman pada penambahan reagen  $\text{FeCl}_3$  1%. Gambar bertanda H menunjukkan tidak terbentuk endapan berwarna putih pada penambahan reagen *mayer* dan tidak terbentuk endapan berwarna jingga pada penambahan reagen *dragendorf*. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 1 dan rangkuman hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1: Hasil Uji Skrining Fitokimia

**Keterangan:** Hasil uji skrining fitokimia jamu tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) 166,67 ppm dengan pelarut air (A,B, C). Hasil uji skrining fitokimia jamu tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) 10.000 ppm (D, E, F, G, H).

Tabel 1: Hasil Uji Fitokimia Jamu Tapak Liman

Senyawa yang Diuji	Hasil Uji Fitokimia	
	10.000 ppm	166,67 ppm
<i>Flavonoid</i>	(-)	(-)
<i>Fenol</i>	(-)	(-)
<i>Saponin</i>	(-)	(-)
<i>Tanin</i>	(-)	(-)
<i>Alkaloid</i>	(-)	(-)

**Keterangan:** (-) = tidak terdeteksi. Hasil uji skrining fitokimia sampel jamu tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) 10.000 ppm diamati oleh tiga pengamat dengan n=3.

### Hasil Uji Zona Hambat (ZOI) Larutan Jamu Tapak Liman dan Amoksisilin secara Tunggal dan Kombinasi terhadap *S. aureus*

Zona hambat (ZOI) diukur pada jari-jari zona bening di sekitar cakram akibat zona hambat yang

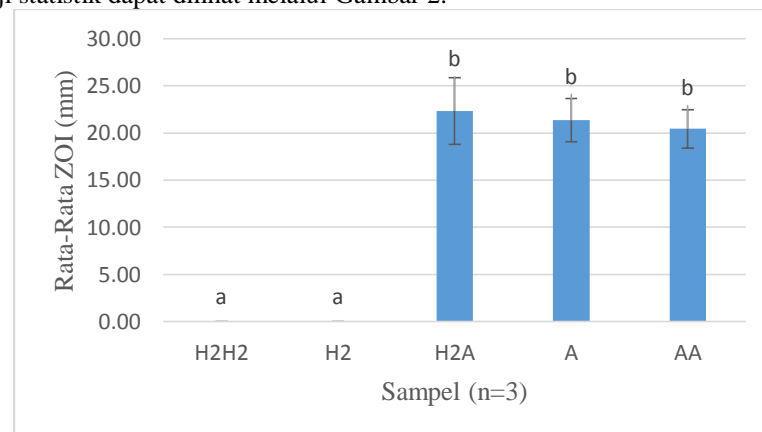
dihasilkan tidak berbentuk bulat sempurna sehingga tidak memungkinkan untuk mengukur zona hambat dalam skala diameter (Hudzicki, 2016). Hasil uji zona hambat (ZOI) dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Tabel 5.2: Hasil Pengukuran Uji Zona Hambat (ZOI)

Kelompok	Konsentrasi	Sampel	n	Rerata ± SD (mm)	Interaksi Kombinasi
Dosis Anjuran	333,33 ppm	H1H1	3	0 ± 0	
Minum Sampel	166,67 ppm	H1	3	0 ± 0	
Jamu Tapak Liman (166,67 ppm)	166,67 ppm + 30 µg	H1A	3	Tidak dapat diidentifikasi	Tidak dapat diidentifikasi
	30 µg	A	3	20,07 ± 0,47	
	60 µg	AA	3	23,50 ± 1,51	
Setengah Dosis Anjuran Minum	166,67 ppm	H2H2	3	0 ± 0 <sup>a</sup>	
Sampel Jamu Tapak Liman (83,33 ppm)	83,33 ppm	H2	3	0 ± 0 <sup>a</sup>	
	83,33 ppm + 30 µg	H2A	3	22,33 ± 3,54 <sup>b</sup>	<i>Not distinguishable</i>
	30 µg	A	3	21,33 ± 2,29 <sup>b</sup>	
	60 µg	AA	3	20,43 ± 2,02 <sup>b</sup>	

**Keterangan:** \*a,b= perbedaan huruf menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ , *Mann-Whitney Test*). H1H1: Larutan sampel jamu tapak liman dosis anjuran minum *double disk*; H1: Larutan sampel jamu tapak liman dosis anjuran minum *single disk*; H1A: Kombinasi larutan sampel jamu tapak liman dosis anjuran minum dan amoksisilin; H2H2: Larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum *double disk*; H2: Larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum *single disk*; H2A: Kombinasi larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum dan amoksisilin; A: Amoksisilin *single disk*; AA: Amoksisilin *double disk*.

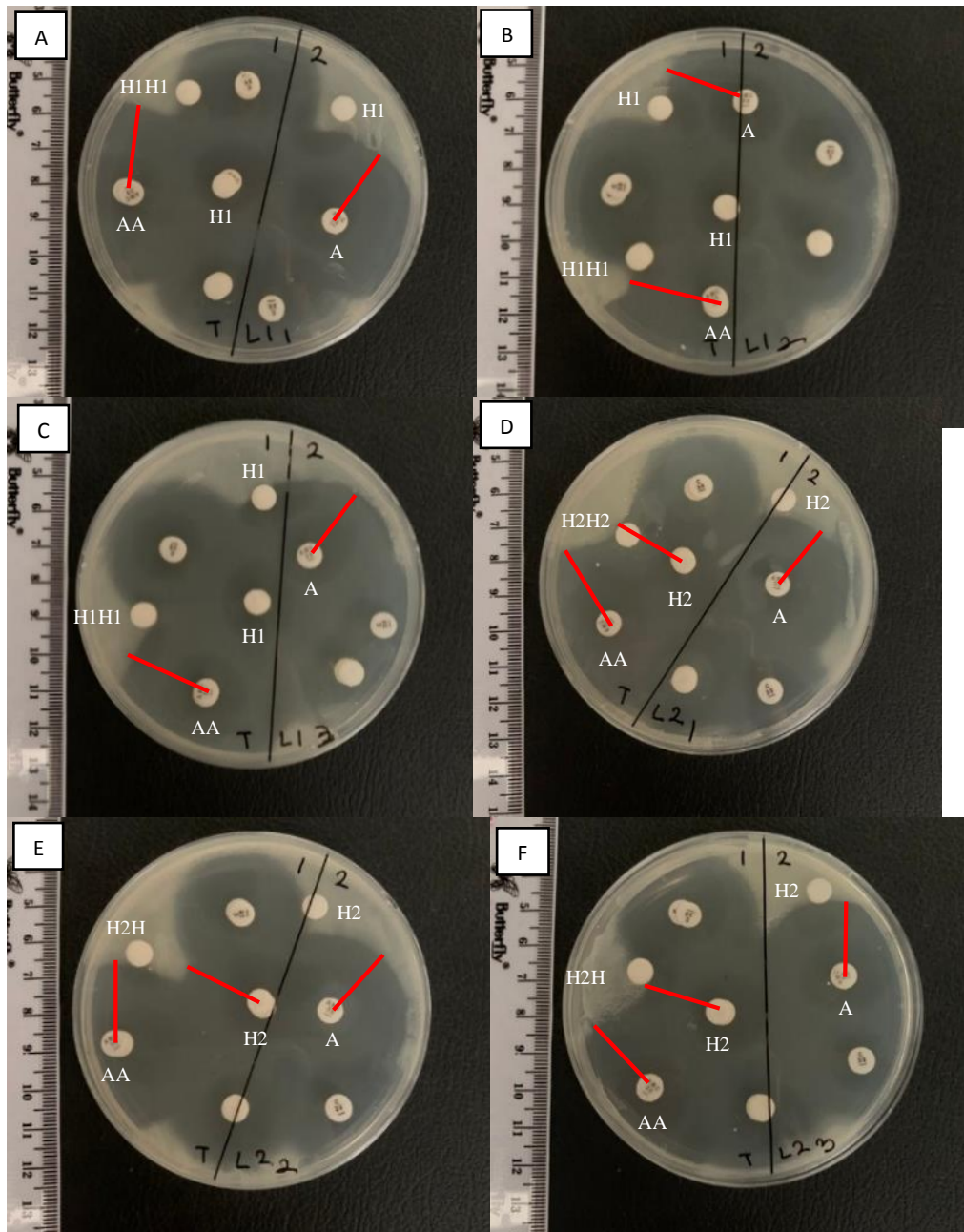
Larutan sampel jamu tapak liman tidak menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 83,33 ppm (H2), 166,67 ppm (H1 dan H2H2) serta 333,33 ppm (H1H1). Amoksisilin mampu menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus* pada dosis 30 µg (A) maupun 60 µg (AA) dengan perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) antara keduanya. Kombinasi larutan sampel jamu tapak liman dosis anjuran minum dan amoksisilin (H1A) menghasilkan zona hambat akan tetapi tidak dapat diidentifikasi akibat tertutup oleh zona hambat disekitarnya. Kombinasi larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum dengan amoksisilin (H2A) menghasilkan zona hambat yang dapat diukur. Kombinasi larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum dengan amoksisilin menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan zona hambat amoksisilin 30 µg (A) terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* akan tetapi tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Perbedaan zona hambat berdasarkan hasil uji statistik dapat dilihat melalui Gambar 2.



Gambar 5.2: Histogram Zona Hambat (ZOI) Setengah Dosis Anjuran Minum Jamu Tapak Liman (83,33 ppm)

**Keterangan:** Data diuji dengan *Kruskal-Wallis Test* dan *Mann-Whitney Test*. \*a,b = perbedaan huruf menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) pada zona hambat yang dihasilkan terhadap *S. aureus*.





**Gambar 3: Hasil Uji Zona Hambat (ZOI)**

**Keterangan:** ZOI diukur dalam jari-jari zona bening (garis merah). A, B, C; Pengulangan 1,2, dan 3 secara berturut-turut pada kelompok dosis anjuran minum tapak liman; D, E, F: Pengulangan 1, 2 dan 3 secara berturut-turut pada kelompok setengah dosis anjuran minum jamu tapak liman.

#### **Interaksi Kombinasi Larutan Jamu Tapak Liman dengan Amoksisilin Berdasarkan Metode AZDAST**

Interaksi kombinasi ditentukan berdasarkan metode AZDAST dengan memperhatikan zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang dibentuk oleh kombinasi larutan sampel jamu tapak liman dosis anjuran minum dan amoksisilin (H1A) tidak dapat diidentifikasi karena batas zona hambat tidak dapat ditentukan. Sehingga interaksi kombinasi larutan sampel jamu tapak liman dosis anjuran minum dan amoksisilin tidak dapat ditentukan.

Zona hambat yang dihasilkan pada kombinasi larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum dengan amoksisilin (H2A) lebih besar dibandingkan amoksisilin *single disk* (A) dan larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum *single disk* (H2) akan tetapi tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ). Sehingga, interaksi kombinasi yang dihasilkan oleh kombinasi larutan sampel jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum (83,33 ppm) dengan amoksisilin (30 ppm) berdasarkan metode AZDAST adalah *not distinguishable*.

## PEMBAHASAN

### Analisa Kandungan Senyawa Aktif Larutan Jamu Tapak Liman

Skrining fitokimia merupakan metode analisis awal untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman yang diuji.<sup>26</sup> Penelitian ini menggunakan sampel jamu tapak liman yang dijual bebas di masyarakat dan telah terdaftar di Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).

Uji skrining fitokimia dilakukan menggunakan dua tahap. Tahap pertama pengujian sampel menggunakan pelarut akuades menyesuaikan cara konsumsi sampel jamu tapak liman agar didapatkan gambaran informasi berkaitan dengan konsumsi sampel jamu tapak liman penelitian ini pada manusia.<sup>27</sup> Konsentrasi larutan sampel jamu tapak liman yang diuji adalah 166,67 ppm. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa sampel jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dengan menggunakan pelarut akuades tidak terdeteksi senyawa *flavonoid*, *fenol*, dan *saponin*. Kemudian yang kedua adalah menguji sampel jamu tapak liman dengan pelarut yang sesuai untuk menarik metabolit sekunder. Berdasarkan penelitian Nugrahani *et.al.* (2016) uji fitokimia terhadap ekstrak buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam sediaan serbuk yang diproduksi oleh industri obat dilakukan tanpa melalui tahap ekstraksi karena sampel yang digunakan adalah ramuan jadi.<sup>24</sup> Sehingga uji skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan dengan mereaksikan jamu kapsul yang berisi ekstrak daun tapak liman dengan reagen kimia sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi.<sup>24</sup> Konsentrasi ditingkatkan hingga 10.000 ppm. Hasil uji fitokimia sampel jamu pada konsentrasi 10.000 ppm tidak terdeteksi adanya senyawa *flavonoid*, *fenol*, *saponin*, *tannin* maupun *alkaloid*.

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak kasar daun tapak liman mengandung senyawa *flavonoid*, *fenol*, *saponin*, *tannin* dan *alkaloid*.<sup>28</sup> Tanaman tapak liman yang diuji kandungan senyawa metabolit dalam bentuk fraksi etil asetat ekstrak metanolik tapak liman diketahui mengandung senyawa *alkaloid* dan *fenol*.<sup>10-12</sup> Pada penelitian Kamalakann *et.al.*, (2011) alkaloid pada ekstrak tapak liman tidak terdeteksi pada pengujian dengan reagen FeCl<sub>3</sub> 5% akan tetapi terdeteksi pada *lead acetate* 10%.<sup>28</sup> Diduga sebenarnya terdapat kandungan senyawa *flavonoid*, *fenol*, *saponin*, *tannin* dan *alkaloid* pada sampel jamu tapak liman akan tetapi tidak terdeteksi pada penelitian ini.

Pada penelitian ini terdapat bias berupa tidak diketahui pasti komponen penyusun sampel jamu tapak liman. Penelitian oleh Amalia *et.al.* (2018) tidak mendeteksi adanya senyawa *alkaloid*, *flavonoid*, dan *tannin* pada ekstrak n-heksana dan metanol simplisia daun tanaman tapak liman dengan metode ekstraksi maserasi.<sup>29</sup> Tidak terdeteksinya

senyawa tersebut diduga dipengaruhi oleh faktor lingkungan tumbuh tapak liman yang diuji.<sup>29</sup> Senyawa metabolit sekunder diproduksi tanaman sebagai interaksi terhadap lingkungan sekitarnya. Oleh karena itu, sintesis metabolit sekunder oleh tanaman dipengaruhi faktor lingkungan seperti cahaya, unsur hara yang tersedia dalam tanah, komposisi medium, dan penggunaan zat pengatur tumbuh.<sup>30</sup> Sehingga diduga pada penelitian ini faktor lingkungan tumbuh tapak liman yang digunakan dalam sampel jamu tapak liman mempengaruhi tidak ditemukannya senyawa *flavonoid*, *fenol*, *saponin*, *tannin* maupun *alkaloid* karena tidak diketahui metode standardisasi yang dilakukan oleh produsen sampel jamu tapak liman.

Tidak terdeteksinya senyawa pada uji skrining fitokimia dalam penelitian ini diduga juga dipengaruhi oleh faktor bias penelitian. Bias pada penelitian ini berupa komposisi penyusun dan proses pembuatan ekstrak sampel jamu tapak liman yang tidak diketahui secara pasti. Informasi resmi mengenai proses pembuatan sampel ekstrak jamu tapak liman pada penelitian ini tidak diketahui.

Tidak adanya informasi mengenai proses pembuatan sampel jamu tapak liman dalam sediaan kapsul juga menjadi bias pada penelitian ini. Meskipun tidak terdapat informasi mengenai proses pembuatan sampel jamu tapak liman, terdapat sebuah studi yang memberikan informasi mengenai proses pembuatan jamu kapsul daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia lamk*). Jamu kapsul daun jati belanda diproduksi melalui beberapa tahap yaitu penggilingan/penepungan, pengayakan, pengeringan dan pengovenan kemudian diakhiri dengan proses pengkapsulan.<sup>31</sup> Dalam pembuatan jamu kapsul jati belanda tersebut tidak terdapat proses ekstraksi menggunakan pelarut polar seperti metanol maupun pelarut non-polar seperti n-heksan akan tetapi hanya dilakukan ekstraksi sederhana menggunakan pelarut akuades sebelum dilakukan proses penggilingan daun jati belanda.<sup>31</sup>

Apabila proses pembuatan sampel jamu tapak liman pada penelitian ini sama dengan proses pembuatan jamu kapsul daun jati belanda maka tidak adanya proses ekstraksi menggunakan pelarut polar seperti metanol juga dapat mempengaruhi hasil uji fitokimia pada penelitian ini. Diketahui bahwa senyawa *saponin* tidak terdeteksi pada ekstrak daun tapak liman yang menggunakan pelarut air akan tetapi dapat terdeteksi jika pelarut yang digunakan adalah etil alkohol, benzena dan petroleum eter.<sup>7,8</sup>

Pemilihan bagian tanaman diduga juga mempengaruhi tidak terdeteksinya senyawa uji pada penelitian ini. Senyawa *alkaloid* dan *flavonoid* diketahui tidak terdeteksi pada uji skrining fitokimia ekstrak daun tanaman tapak liman. Akan tetapi, kedua senyawa tersebut dapat terdeteksi pada pengujian skrining fitokimia ekstrak bunga tapak liman.<sup>7,8</sup>

Konsentrasi zat terlarut juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi uji skrining fitokimia.<sup>31</sup> Diduga kadar senyawa yang diuji pada penelitian ini tidak cukup besar untuk terdeteksi pada uji skrining fitokimia. Pengujian ekstrak tanaman tapak liman menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analyses* (GC-MS) yang merupakan uji kuantitatif mampu mendeteksi senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri yang tidak terdeteksi pada uji skrining fitokimia. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya adalah *pyrrolo 2,3 indole*, *linalool*, *terpinen-4-ol*, *2-4 quinolnediol*, dll.<sup>32</sup> Hal tersebut menunjukkan bahwa pengujian senyawa aktif lebih efektif menggunakan uji kuantitatif seperti GCMS karena belum tentu senyawa yang tidak terdeteksi pada uji skrining fitokimia tidak terkandung pada tanaman tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa aktif sampel jamu tapak liman penelitian ini menggunakan metode uji GC-MS.

#### **Analisa Daya Hambat Larutan Jamu Tapak Liman dan Amoksisilin secara Tunggal dan Kombinasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus***

Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya zona hambat pada keseluruhan konsentrasi larutan jamu tapak liman yaitu konsentrasi setengah dosis anjuran minum sampel jamu tapak liman (83,33 ppm), konsentrasi dosis anjuran minum (166,67 ppm), dan konsentrasi 333,33 ppm. Konsentrasi dosis anjuran minum sampel jamu tapak liman (166,67 ppm) dengan pelarut akuades diduga tidak cukup besar untuk menimbulkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Penelitian Al-Fahad *et.al.* (2018) pada ekstrak aqueous daun tapak liman konsentrasi 20 mg/ml atau 20.000 ppm tidak timbul zona hambat terhadap *S. aureus*.<sup>8</sup> *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak aqueous daun tapak liman terhadap *S. aureus* adalah sebesar 300 mg/ml atau 300.000 ppm.<sup>8</sup>

Pada penelitian ini pertumbuhan *S. aureus* dapat dihambat oleh antibiotik amoksisilin 30 µg. Amoksisilin merupakan antibiotik spektrum luas yang bekerja pada dinding sel bakteri. Mekanisme kerja amoksisilin adalah berikatan dengan *Penicillin Binding Protein* (PBP) sehingga terjadi penghambatan proses transpeptidasi, sintesis peptidoglikan terhambat, terjadi inhibisi terhadap inhibitor autolitik dan berakhir dengan terjadinya lisis dinding sel bakteri.<sup>16</sup> Amoksisilin dosis 30 µg (*single disk*) maupun 60 µg (*double disk*) mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan zona hambat  $\geq 20$  mm. CLSI (2008) menyatakan bahwa apabila diameter zona hambat amoksisilin 30 µg  $\geq 20$  mm maka amoksisilin *susceptible* terhadap *S. aureus*. *Susceptible* memiliki makna bahwa *S. aureus* dapat diterapi dengan amoksisilin dalam dosis normal regimen.<sup>33</sup>

Kombinasi larutan sampel jamu tapak liman konsentrasi (166,67 ppm) maupun konsentrasi (83,33 ppm) dengan amoksisilin mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Akan tetapi, pada penelitian ini zona hambat kombinasi larutan sampel jamu tapak liman konsentrasi (166,67 ppm) dengan amoksisilin tidak dapat diidentifikasi akibat kesalahan berupa terlalu banyak meletakkan kelompok cakram dalam satu cawan petri. Seharusnya, jumlah cakram yang diletakkan dalam satu cawan petri tidak lebih dari lima kelompok cakram seperti contoh metode AZDAST.<sup>23</sup> Zona hambat dapat diidentifikasi dengan baik jika peletakan jumlah cakram adalah lima kelompok cakram dalam satu cawan petri.<sup>34</sup>

Kombinasi jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum tidak menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan amoksisilin tunggal dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Akan tetapi apabila ditinjau dari rata-rata dan standar deviasi pada Tabel 5.2 terdapat kecenderungan kombinasi jamu tapak liman setengah konsentrasi dosis minum dengan amoksisilin memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan amoksisilin tunggal. Akan tetapi perbedaan tersebut tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Diduga terdapat kandungan senyawa antibakteri yang tidak terdeteksi pada uji skrining fitokimia seperti *17,19 dihydrodeoxyelephantopin* dan *iso-17,19 dihydrodeoxyelephantopin* golongan dari *sesquiterpene lactone* akan tetapi konsentrasinya tidak cukup untuk menimbulkan aktivitas antibakteri. Senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.<sup>35</sup>

#### **Interaksi Kombinasi Larutan Jamu Tapak Liman dan Amoksisilin terhadap Bakteri *S. aureus* Berdasarkan Metode AZDAST**

Interaksi yang ditimbulkan oleh kombinasi larutan sampel jamu tapak liman konsentrasi dosis anjuran minum (166,67 ppm) dengan amoksisilin 30 µg (H1A) tidak dapat ditentukan akibat zona hambat yang tidak dapat diidentifikasi pada cakram kombinasi tersebut (H1A). Kombinasi larutan jamu tapak liman setengah dosis anjuran minum (83,33 ppm) dengan amoksisilin dosis 30 µg (H2A) menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan amoksisilin dosis 30 µg *single disk* (A) maupun *double disk* (AA) akan tetapi tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan peningkatan zona hambat akan tetapi tidak signifikan. Berdasarkan AZDAST interaksi kombinasi yang dihasilkan adalah *not distinguishable*.<sup>23</sup> Diduga kecenderungan kecenderungan tersebut merupakan peran dari senyawa *17,19 dihydrodeoxyelephantopin* dan *iso-17,19 dihydrodeoxyelephantopin* yang diketahui terkandung dalam tanaman tapak liman akan tetapi tidak terdeteksi pada uji skrining fitokimia. Kedua senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.<sup>35</sup> Akan tetapi pada



kombinasi tersebut tidak diketahui secara pasti apakah zona hambat yang ditimbulkan hanya ditimbulkan oleh kerja amoksisilin dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* atau terdapat peran dari larutan sampel jamu tapak liman.

### KESIMPULAN

Berdasarkan analisa data dan pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Larutan jamu tapak liman tidak terdeteksi senyawa *flavonoid, fenol, saponin, tannin*, dan *alkaloid*.
2. Penambahan larutan jamu tapak liman konsentrasi 83,33 ppm tidak mempengaruhi amoksisilin dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.
3. Interaksi kombinasi larutan jamu tapak liman 83,33 ppm dengan amoksisilin 30 µg adalah *not distinguishable* terhadap *S. aureus*.

### SARAN

Adapun saran untuk mengembangkan dan meningkatkan penelitian selanjutnya adalah:

1. Menggunakan cakram berisi pelarut akuades sebagai kontrol negatif.
2. Meletakkan cakram pada cawan petri dengan jumlah tidak lebih dari 5 kelompok cakram.
3. Menguji kandungan zat aktif sampel jamu tapak liman pada penelitian ini dengan uji *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GCMS) atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang lebih sensitif jika dibandingkan uji kualitatif skrining fitokimia.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional. Jakarta. 2019.
2. Salim, Z. and Munadi, E., Info komoditi tanaman obat. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2017, 1-2..
3. Andriati A, Wahjudi RT. Tingkat Penerimaan Penggunaan Jamu sebagai Alternatif Penggunaan Obat Modern pada Masyarakat Ekonomi Rendah-Menengah dan Atas. **Masyarakat, Kebudayaan dan Politik**. 2016 Sep 22;29(3):133-45.
4. Bawono A. Kontribusi Religiusitas dalam Perilaku Pengambilan Keputusan Konsumsi. **Muqtasid: Jurnal Ekonomi dan Perbankan Syariah**. 2011 Jul 1;2(1):115-33.
5. Kementerian Pertanian. Tanaman Obat: Warisan Tradisi Nusantara untuk Kesejahteraan Rakyat. Bogor: Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Rempah dan Obat. 2019.
6. Kementerian Kesehatan. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2019.
7. Anitha, V.T., Marimuthu, J. and Jeeva, S., Antibacterial Studies on *Hemigraphis colorata* (Blume) HG Hallier and *Elephantopus scaber* L. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, 2012. 5(1), pp.52-57.
8. Al fahad, A.C.A., Hassan Z.A., Hamad, H.S., Al-shaheen, M.R., Al-shaheen, M.R., Determination Antimicrobial Activity of Leaves Extracted by Various Solvent from (*Elephantopus scaber* L.). 2018. IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 454012110
9. Agustin, V.Y.M., Risandiansyah R., Faisal. 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*. **Jurnal Kedokteran Komunitas**. 2019 Jan 30;6(3).
10. Pitaloka RE, Fadli M.Z, Risandiansyah R. Efek Kombinasi Fraksi Etil Asetat (F1-F8) Ekstrak Metanolik Tapak Liman (*Elephantopus scaber* Linn) dengan Amoksisilin atau Kloramfenikol terhadap Zona Inhibisi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Jurnal Bio Komplementer Medicine**. 2020 Mar 30;7(1).
11. Boesary, M.H.A., Faisal, Risandiansyah R. 2019. Efek Penambahan Fraksi Semi-Polar (F9-F14) Ekstrak Metanolik *Elephantopus scaber* L. terhadap Daya Hambat Amoksisilin atau Kloramfenikol pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. **Jurnal Bio Komplementer Medicine**, 6(3).
12. Rakhma NA, Fadli M.Z, Risandiansyah R. Efek Penambahan Fraksi Semi Polar (F15-F19) Ekstrak Metanol Tapak Liman pada Daya Hambat Amoksisilin dan Kloramfenikol terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Jurnal Kedokteran Komunitas**. 2020 Jan 30;8(1).
13. Taylor TA, Unakal CG. Staphylococcus Aureus. InStatPearls [Internet] 2019 Mar 27. StatPearls Publishing.
14. Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015.
15. Arimbawa PE, Suryaningsih NP, Putri DW, Santika IW. Persepsi Masyarakat Berdasarkan Metode Health Belief Model (HBM) dengan Penggunaan Obat Herbal Di Kota Denpasar. **Jurnal Kesmas (Kesehatan Masyarakat) Khatulistiwa**. 2020 Jun 4;7(2):62-9.
16. Dwary, A.F., Faisal, F. and Risandiansyah, R., Efek Penambahan Fraksi Semi-Polar (F20-F26) Ekstrak Metanolik Tapak Liman terhadap Daya Hambat Amoksisilin atau Kloramfenikol pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli*. **Jurnal Bio Komplementer Medicine**, 2020.7(1).

17. Dewi FR, Risandiansyah R, Fadli M.Z. Efek Kombinasi Fraksi Polar F27-F32 *Elephantopus scaber* Linn dengan Amoxicilin dan Chloramphenicol terhadap Daya Hambat pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Jurnal Kedokteran Komunitas**. 2020 Jan 30;8(1).
18. Tursinawati, Y. and Dharmana, E., Efektivitas Pemberian Kombinasi Produk Herbal dan Antibiotik Terhadap Infeksi *Salmonella typhimurium* pada Mencit BALB/C. Proc. Seminar Nasional & Internasional 2015. 2015.
19. Pradipta IS, Ronasih E, Kartikawati AD, Hartanto H, Amelia R, Febrina E, Abdulah R. Three years of antibacterial consumption in Indonesian community health centers: The application of anatomical therapeutic chemical/defined daily doses and drug utilization 90% method to monitor antibacterial use. **Journal Of Family & Community Medicine**. 2015 May;22(2):101.
20. Sanders, Erin R. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. **J. Vis Exp**. 2012. (63): 3064
21. Sani, Aluwi. Kliren dan Volume Distribusi. **Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia**. 2003. ISSN. 1693-1831. 2(3)
22. Terrie K. Boguski, P.E. Understanding Units of Measurement. Center for Hazardous Substance Resesarch (CHSR). 2006. 2. pp. 1-2
23. Ziaei-Daroukalei, N., Ameri, M., Zahraei-Salehi, T., Ziaei-Daroukalei, O., Mohajer-Tabrizi, T. and Bornaei, L., AZDAST The New Horizon in Antimicrobial Synergism Detection. **MethodsX**, 2016. 3, pp.43-52.
24. Nugrahani R, Andayani Y, Hakim A. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam Sediaan Serbuk. **Procedia Kimia**. 2017 Mar 7;1(1).
25. Ikalinus R, Widyastuti SK, Setiasih NL. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). **Indonesia Medicus Veterinus**. 2015;4(1):71-9.
26. Widyaningrum I, Wibisono N, Kusumawati AH. Effect of Extraction Method on Antimicrobial Activity Against *Staphylococcus Aureus* of Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L.) Leaves. **International Journal of Health and Medical Sciences**.;3(1):105-10.
27. Tongco JV, Villaber RA, Aguda RM, Razal RA. Nutritional and phytochemical screening, and total phenolic and flavonoid content of *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. from Philippines. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**. 2014;6(8):238-42.
28. Kamalakannan P, Kavitha R, Elamathi R, Deepa T, Sridhar S. Study of Phytochemical and Antimicrobial Potential of Methanol and Aqueous Extracts of Aerial Parts of *Elephantopus scaber* Linn. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**. 2012;4(1):18-21.
29. Amalia A, Sari I, Nursanty R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Prosiding Biotik**. 2018 Apr 5;4(1).
30. Kristina NN, Noveriza R, Syahid SF, Rizal M. Peluang peningkatan kadar kurkumin pada tanaman kunyit dan temulawak. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. <http://balittro.litbang.deptan.go.id/pdf/edisikhusus/2007>. Hal. 2007;1:2-5.
31. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A Review: **Intern. Pharmaceutica Scientia**. 2011;1(1).
32. Al-Shaheen MR, Al Shaheen MA, Abood MF. Identify Bioactive Compounds by Gc-MS From the Highest Antimicrobial Extract from Roots and Leaves of *Elephantopus Scaber*. **International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance**. 2019 Dec 25;10(04):619-24.
33. Wayne, PA. Edition AS. CLSI document M31-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008.
34. A'yun Q, Risandiansyah R, Fadli Z. Efek Kombinasi Alkaloid Ekstrak *Phyllanthus niruri*, L. dengan Amoxicillin atau Chloramphenicol terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. **Jurnal Bio Komplementer Medicine**. 2020 Sep 29;7(2).
35. Kabeer EA, Prathapan R. Phytopharmacological Profile of *Elephantopus scaber*. **Pharmacologia**, 2014. 5(8): pp. 272-285.