

Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun *Syzygium polyanthum* dengan Kotrimoksazol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *In Vitro*

Nurul Faizah, Erna Sulistyowati, Reza Hakim*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Latar Belakang: Kombinasi herbal-antibiotik berpotensi menghambat resistensi penggunaan antibiotik kotrimoksazol. Daun *Syzygium polyanthum* berpotensi sebagai antibakteri yang bekerja pada dinding sel maupun secara intrasel. Namun sifat kombinasi zat aktif dari ekstrak daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol terhadap *S. aureus* dan *E. Coli* belum diketahui.

Metode: Ekstraksi zat aktif *S. polyanthum* menggunakan cara sederhana yaitu dekoktasi, dan cara lebih kompleks yaitu ekstrak metanol. Kombinasi hasil ekstraksi *S. polyanthum* dengan kotrimoksazole diberikan pada biakan masing-masing bakteri. Pengukuran menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) yang dimodifikasi. Variabel bebas ada 5, yaitu kotrimoksazol dosis tinggi dan rendah (ADT dan ADR), ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dosis tinggi dan rendah (HDTm dan HDRm), ekstraksi air dekokta daun *S. polyanthum* dosis tinggi dan rendah (HDTd dan HDRd), kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol (KMSK), dan kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol (KDSK). Zona hambat dari hasil ekstraksi tunggal dan kotrimoksazol tunggal diperlukan untuk perbandingan. Data zona hambat dianalisa dengan uji *One-Way Anova* dengan tingkat signifikansi $p < 0.05$.

Hasil: Pada *S. aureus* dan *E. coli*, KDSK (*S. aureus* = 26,0 mm; *E. coli* = 11 mm) dan KMSK (*S. aureus* = 18,0 mm; *E. coli* = 11 mm) memiliki zona hambat yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan antibiotik tunggal ($p = 0,02$ dan $0,008$).

Kesimpulan: Kombinasi dekokta atau ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol meningkatkan daya hambat terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Kata Kunci: Resistensi antibiotik, Daun *Syzygium polyanthum*, Kotrimoksazol, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

*Korespondensi:

Reza Hakim, 083834810883

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

Antibacterial Effect of *Syzygium polyanthum* Leaf Extract with Cotrimoxazole Combination On *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* In Vitro Study

Nurul Faizah, Erna Sulistyowati, Reza Hakim*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Background: Combination between Herbs and antibiotics combination could potentially inhibit cotrimoxazole resistancy. Antibacterial features derived from bay leaves are executable both in cellular wall and intracellular system. But, the nature of combination of active substance from the bay leaf extract with cotrimoxazole will identify the inhibition zone of *S. aureus* and *E. coli*

Method: Inhibition zone will be tested by utilizing modified *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method. The variables were divided into 5 groups consisting high and low dosages of cotrimoxazole (HDA and LDA), high and low dosage of Bay leaves methanol extract (HDHm and LDHm), high and low dosages of Bay leaves decoction (HDHd and LDHd), the methanol extract of bay leaves and cotrimoxazole combination (CSMC), and bay leaves decoction- cotrimoxazole (CSDC) compound in *S. aureus* and *E. coli*. The inhibition zone will be analyzed by *One-Way Anova* test with significance level value of $p < 0.05$.

Results: In *S. aureus* and *E. coli*, CSDC (*S. aureus* = 26,0 mm; *E. coli* = 11 mm) and CMSC (*S. aureus* = 18,0 mm; *E. coli* = 11 mm) have a better inhiition zone compared to the single use of antibiotic ($p = 0, 02$ and $0, 008$).

Conclusion: The combination of bay leaves decoction and methanol extract increase the inhibition of *S. aureus* and *E. coli*

Keywords: Antibiotic resistance, Bay leaves, Cotrimoxazole, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

*Corresponding author :

Reza Hakim, 083834810883

Jl. MT Haryono 193 Malang City, East Java, Indonesia, 65145

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik dengan dosis yang kurang tepat dan tanpa indikasi dapat menjadi pemicu terjadinya resiko resistensi antibiotik¹. Perkiraan kematian penduduk akibat AMR (*Antimicrobial Resistance*) resistensi antibiotik mencapai 10 juta jiwa per tahun². Angka kejadian resistensi di Eropa menurut *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS) dari tahun 2002-2009 sebesar 71% pada kasus infeksi *E. coli* dan 34 % untuk infeksi *S. aureus*³. Penelitian oleh *Antimicrobial Resistant in Indonesia* (AMRIN-Study) menyatakan bahwa *E. coli* resisten dengan pengobatan berbagai antibiotik, begitu pula dengan bakteri *S. aureus*^{4,5}.

Antibiotik yang dinyatakan resisten terhadap *E.coli* oleh penelitian tersebut seperti kotrimoksazol (56%), siprofloksasin (22%), gentamisin (18%). Sedangkan yang resisten pada *S.aureus* seperti penisilin, metisilin, eritromisin, klindamisin, gentamisin, siprofloksasin dan kotrimoksazol^{4,5}. Resistensi antibiotik dapat mempengaruhi keberhasilan terapi infeksi^{6,7}. Salah satu antibiotik yang mengalami resistensi adalah kotrimoksazol. Resistensi di Indonesia saat ini terhadap antibiotik mengalami peningkatan⁸. Angka kematian akibat bakteri resisten di Indonesia berdasarkan Perhimpunan Dokter *Intensive Care* Indonesia (PERDICI) mencapai 72%^{9,10}.

Penggunaan herbal sebagai terapi tambahan (*adjuvant*) diharapkan dapat meningkatkan efek kerja antibiotik utama dengan meminimalisir efek samping obat yang ditimbulkan¹¹. Salah satu herbal yang diketahui mempunyai potensi antibakteri adalah *Syzygium polyanthum* (tanaman Salam), yang mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, dan minyak atsiri sebagai bahan yang poten¹². Berdasarkan penelitian lain menunjukkan adanya efek yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri termasuk *S. aureus* dan *E. coli* pada ekstrak etanol daun *S. polyanthum*¹³.

Pada penelitian lain menyatakan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan amoksisilin dosis rendah mampu memberikan efek sinergis yang signifikan pada *S. aureus*¹⁴. Penelitian yang serupa dengan kombinasi dekokta daun teh hijau dan kotrimoksazol pada *S.aureus* menunjukkan hasilnya bersifat potensiasi¹⁵, serta penelitian sebelumnya juga telah dilakukan uji fitokimia daun *S. polyanthum* didapatkan senyawa aktif antibakteri diantaranya saponin, alkaloid bersifat polar. Berdasarkan pemilihan-pemilihan tersebut, penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol serta dekoktasi dengan pelarut aquades. Kedua pelarut tersebut bersifat polar, dapat mengekstrak senyawa fitokimia daun *S. polyanthum* yang larut dalam pelarut polar¹². Metode maserasi dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa yang relatif tidak tahan panas, sedangkan

dekokta mampu mengekstrak senyawa yang tahan terhadap panas. Kedua metode ini cukup mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan yang mahal, sehingga dapat mudah diaplikasikan di masyarakat¹⁶.

Penggunaan tanaman herbal dapat dilakukan sebagai terapi tambahan atau *adjuvant* yang diharapkan dapat meningkatkan efek dari antibiotik dan memperkecil angka resistensi atau bisa juga terjadi efek sebaliknya. Sampai saat ini Belum ada data mengenai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak metanol dan dekokta *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol sehingga perlu penelitian lebih lanjut mengenai efek kombinasi dari daun *S. polyanthum* dengan antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

METODE

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Herbal Biomedik dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Maret-Mei 2019.

Pembuatan Ekstrak Metanol Daun *S. polyanthum*

Simplisia ditimbang menggunakan neraca digital sebanyak 40 gram dan dicampurkan dengan pelarut metanol 96% sebanyak 400 ml untuk direndam di dalam erlenmeyer. Tabung Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*, lalu dimasukkan dalam *shaker waterbath* dengan kecepatan 4,5 rpm dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu hasil ekstrak disaring dengan *vacuum Buchner* dan dievaporasi pada suhu 55°C. Selanjutnya, ekstrak dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C. Bila telah kering, ekstrak dilarutkan kembali dengan methanol hingga diperoleh ekstrak cair^{17,18,16}.

Pembuatan Dekokta Daun *S. polyanthum*

Pada penelitian sebelumnya dekokta dengan konsentrasi 5% (W/V) merupakan rujukan dosis eksplorasi. Untuk pembuatan dekokta dengan konsentrasi 5% tersebut dilakukan melalui tahapan penimbangan serbuk simplisia daun salam menggunakan neraca digital sebanyak 20 gram kemudian diletakkan dalam panci, lalu tambahkan 400 ml aquadest atau air ke dalam panci tersebut, panaskan selama 30 menit dengan suhu 90°C. Setelah itu, angkat lalu saring dekokta dengan *vacuum buchner*¹⁹.

Pembuatan Larutan Antibiotik

Cara melarutkan tablet kotrimoksazol yaitu dengan digerus dan ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades steril sehingga didapatkan konsentrasi 100 mg/ml. Larutan dengan konsentrasi 100 mg/ml diambil 1 ml, kemudian ditambahkan aquades steril hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/ml. Larutan dengan konsentrasi 10 mg/ml diambil 1 ml dan ditambahkan aquades steril hingga volume menjadi 10 ml sehingga didapatkan larutan kotrimoksazol dengan konsentrasi 1 mg/ml²⁰.

Pembuatan Media Biakan Pour Plate

Nutrient Agar (NA) dilarutkan dalam aquades steril dengan perbandingan 1:50 kemudian di autoklaf. Setelah steril suhu media diukur menggunakan termometer infrared, apabila suhu < 50°C suspensi bakteri dimasukkan sebanyak 1% (5 ml dalam 500 ml media), selanjutnya media digoyangkan hingga suspensi bakteri tercampur rata lalu dituang kedalam cawan petri (20-25ml)²¹.

Zona Hambat Bakteri

Uji zona inhibisi pertama dilakukan dengan melakukan persiapan media yang telah ditambahkan dengan suspensi *S.aureus* dan *E.coli* pada tahap sebelumnya. Kemudian pada tiap media dibuat 10 lubang berdiameter sekitar 6 mm menggunakan *cork borer*²². Kemudian, pada lubang sumuran diberi tetesan larutan antibiotik dan ekstrak herbal. Uji zona hambat antibiotik dan herbal tunggal ditetaskan sebanyak 30 µl, sedangkan pada uji zona hambat kombinasi ditetaskan masing-masing antibiotik kotrimoksazol dan ekstrak *S. Polyanthum* sebanyak 15 µl, sehingga diperoleh volume total 30 µl. Dosis yang digunakan pada uji zona hambat antibiotic tunggal yaitu 10 mg/ml sampai dengan 0.0010 mg/ml, dekokta daun *S. polyanthum* tunggal digunakan 0,05 mg/ml hingga 10 kali pengenceran, dan ekstrak methanol daun salam tunggal digunakan 1 g/ml hingga 10 kali pengenceran. Dosis uji zona hambat dibagi menjadi 4, yaitu Antibiotik Dosis Tinggi (ADT) dengan hasil zona hambat tunggal lebih dari 10 mm, Antibiotik Dosis Rendah (ADR) dengan hasil zona hambat tunggal kurang dari sama dengan 10 mm, Herbal Dosis Tinggi (HDT) dengan zona hambat tunggal lebih dari 10 mm, dan Herbal Dosis Rendah (HDR) dengan ZOI tunggal kurang dari sama dengan 10 mm. Kemudian, media diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 jam²³.

Analisa Data Statistik

Zona hambat tunggal dan kombinasi dengan cara menghitung diameter dari *clear zone* menggunakan penggaris dengan tingkat ketelitian 1 mm. Data diolah menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapat nilai rerata dan standar deviasi. Uji statistik dilakukan dengan menilai normalitas distribusi data dan homogenitas data. Data terdistribusi normal dan homogen, maka menggunakan uji parametrik *One-Way Anova*.

HASIL DAN ANALISA DATA

Tabel 1. Hasil Zona Hambat Kotrimoksazol

Hole	Dilusi	Rerata ± SD(mm) <i>S.aureus</i>	Rerata ± SD(mm) <i>E. coli</i>
1	1	28.67 ± 4.17*	11.33 ± 1.53*
2	½	27 ± 6.08*	9.33 ± 0.58*
3	¼	24 ± 1	6 ± 5.19
4	1/8	19 ± 1	0 ± 0
5	1/16	16 ± 1.73	0 ± 0
6	1/32	10.33 ± 0.58	0 ± 0
7	1/64	0 ± 0	0 ± 0
8	1/128	0 ± 0	0 ± 0
9	1/256	0 ± 0	0 ± 0
10	1/512	0 ± 0	0 ± 0

Keterangan : >20mm daya hambat sangat kuat, 10-20 daya hambat kuat, 5-10 daya hambat sedang, ≤5 daya hambat lemah. Dilusi : Kotrimoksazol dilarutkan dalam aquades untuk mendapatkan konsentrasi tertentu.

Hasil uji ZOI kotrimoksazol terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Tampak bahwa pada dilusi yang sama kotrimoksazol menghasilkan diameter ZOI yang lebih besar pada *S.aureus* daripada *E.coli*. Pada dilusi 1/32 masih didapatkan. ZOI pada *S.aureus*, sedangkan pada *E.coli* tidak terbentuk ZOI sejak dilusi 1/8. Hal tersebut menunjukkan bahwa kotrimoksazol lebih efektif menghambat *S.aureus* dibanding *E.coli*.

Tabel 2. Hasil Zona Hambat Tunggal Dekokta Daun *S. polyanthum*

Sumuran	Dilusi	Rerata ± SD (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	1/1	13,0±1,0*	14,7±1,5*
2	1/2	10,3±0,6	13,0±0
3	1/4	8,7±0,6	10,0±0
4	1/16	5,3±4,6	5,3±4,6
5	1/32	0	0
6	1/64	0	0
7	1/128	0	0
8	1/256	0	0
9	1/512	0	0
10	1/1024	0	0
KN		0	0

Keterangan: KN, kontrol negatif aquades

Hasil zona hambat pada *E. coli* lebih kuat dibandingkan dengan *S. aureus*. Hal ini dibuktikan dengan luas zona hambat pada *E. coli* lebih besar dibandingkan pada *S. aureus* yakni pada dilusi 1/1, 1/2, 1/4, dan 1/16. Sehingga penggunaan dekokta daun *S. polyanthum* tunggal pada penelitian ini lebih potensial terhadap *E. coli* dibandingkan pada *S. aureus*. Hasil zona hambat tunggal ekstrak metanol daun salam dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Zona Hambat Tunggal Ekstrak Metanol Daun *S. polyanthum*

Sumuran	Dilusi	Rerata \pm SD (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	1/1	13,7 \pm 1,5*	0
2	1/2	12,0 \pm 2,0	9,0 \pm 1,0
3	1/4	11,0 \pm 2,0	6,0 \pm 5,3
4	1/16	9,7 \pm 1,5	5,7 \pm 4,9
5	1/32	9,7 \pm 0,6	2,7 \pm 4,6
6	1/64	8,7 \pm 0,6	0
7	1/128	2,3 \pm 4,0	0
8	1/256	0	0
9	1/512	0	0
10	1/1024	0	0
KN		0	0

Keterangan: KN, kontrol negatif pelarut metanol

Hasil zona hambat ekstrak metanol daun *S. polyanthum* pada penelitian ini lebih sensitif terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Didapatkan zona hambat pada *S. aureus* dimulai dari dilusi 1/1 hingga dilusi 1/128. Adapun pada *E. coli* dilusi 1/1 tidak memberikan zona hambat tetapi pada dilusi 1/2, 1/4, 1/16, dan 1/32 didapatkan zona hambat dengan rata-rata kurang dari 10mm sehingga daya hambat ekstrak metanol daun *S. polyanthum* tunggal terhadap *E. coli* pada penelitian ini dikatakan minimal.

Tabel 4. Hasil Zona Hambat Kombinasi Dekokta Daun *S. polyanthum* dan Kotrimoksazol pada *S. aureus*

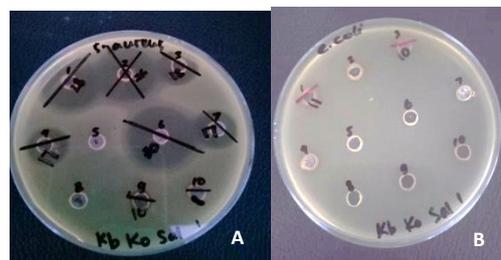
Sumuran	Dosis	Rerata \pm SD (mm)
1	ADT+HDT	26,0 \pm 1,5*
2	ADT+HDR	27,0 \pm 1,15*
3	ADR+HDT	16,0 \pm 1,7
4	ADR+HDR	16,0 \pm 0,6
6	ADT	28,0 \pm 2,1
7	ADR	17,0 \pm 0,6
9	HDT	9,0 \pm 1,15
10	HDR	8,0 \pm 1,5

Keterangan: ADT, Antibiotik Dosis Tinggi (dilusi 1/1); ADR, Antibiotik Dosis Rendah (dilusi 1/2); HDT, Herbal Dosis Tinggi (dilusi 1/1); HDR, Herbal Dosis Rendah (dilusi 1/2).

Tabel 5. Hasil Zona Hambat Kombinasi Dekokta Daun *S. polyanthum* dan Kotrimoksazol pada *E. coli*

Sumuran	Dosis	Rerata \pm SD (mm)
1;3;5	ADT+HDT	11,0 \pm 0,0*
2;4;6	ADT+HDR	3,0 \pm 5,2
8	ADT	0,0 \pm 0,0
9	HDT	0,0 \pm 0,0
10	HDR	0,7 \pm 0,0

Keterangan: ADT, Antibiotik Dosis Tinggi (dilusi 1/1); HDT, Herbal Dosis Tinggi (dilusi 1/1); HDR, Herbal Dosis Rendah (dilusi 1/4).



Keterangan: Gambar 1. A. Zona hambat kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol terhadap *S. aureus*; B. Zona hambat kombinasi dekokta daun salam dengan kotrimoksazol terhadap *E. coli*

Gambar 5.4 menunjukkan bahwa, berbeda dengan kondisi tunggalnya, kondisi zona hambat kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol terhadap *S. aureus* dan *E. coli* memiliki daya hambat yang lebih besar. Setelah mengukur diameter zona hambat dilanjutkan dengan uji statistik untuk menilai interaksi antara dosis kombinasi dengan dosis tunggalnya.

Tabel 6. Hasil Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Metanol dan Kotrimoksazol pada *S. aureus*

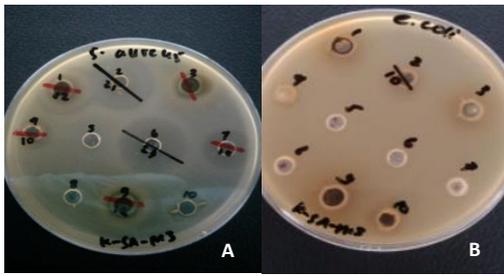
Sumuran	Dosis	Rerata \pm SD (mm)
1	ADT+HDT	15,0 \pm 3,79*
2	ADT+HDR	18,0 \pm 3,06*
3	ADR+HDT	0,0 \pm 0,0
4	ADR+HDR	9,0 \pm 9,02
6	ADT	20,0 \pm 3,06
7	ADR	7,0 \pm 6,43
9	HDT	12,0 \pm 2,00
10	HDR	6,0 \pm 5,20

Keterangan: ADT, Antibiotik Dosis Tinggi (dilusi 1/1); ADR, Antibiotik Dosis Rendah (dilusi 1/2); HDT, Herbal Dosis Tinggi (dilusi 1/1); HDR, Herbal Dosis Rendah (dilusi 1/16).

Tabel 7. Hasil zona hambat kombinasi ekstrak metanol dan kotrimoksazol pada *E. coli*

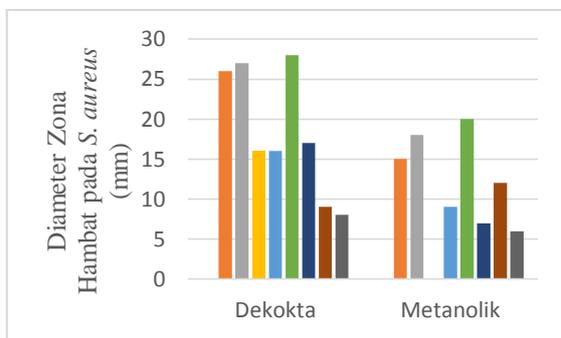
Sumuran	Dosis	Rerata $\bar{x} \pm$ SD (mm)
1;3;5	ADT+HDT	0,0 \pm 0,0
2;4;6	ADT+HDR	11 \pm 1,53*
8	ADT	0,0 \pm 0,0
9	HDT	0,0 \pm 0,0
10	HDR	0,0 \pm 0,0

Keterangan: ADT, Antibiotik Dosis Tinggi (dilusi 1/1); HDT, Herbal Dosis Tinggi (dilusi 1/1); HDR, Herbal Dosis Rendah (dilusi 1/2).



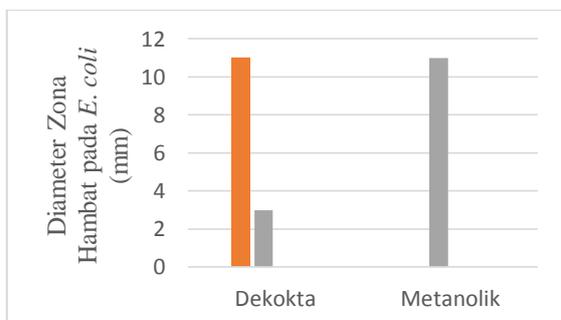
Keterangan: Gambar 2. A. Zona hambat Kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol terhadap *S. aureus*; B. Zona Hambat Kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol terhadap *E. coli*

Berdasarkan Tabel 6 dan Tabel 7, menunjukkan kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol terhadap *S. aureus* dan *E. coli* memiliki efek berbeda dari penggunaan tunggalnya. Selain itu, berdasarkan uji statistik *One-Way Anova* didapatkan interaksi dosis kombinasi dengan kedua bakteri uji menunjukkan hasil yang signifikan pada semua dosis uji dibandingkan dengan penggunaan tunggalnya.



Gambar 3. Grafik Perbandingan Zona Hambat Kombinasi pada *S. aureus*

Pada grafik berwarna orange merupakan Antibiotik Dosis Tinggi + Herbal Dosis Tinggi pada *S. aureus* dengan diameter 26,0 pada dekokta dan 15,0 pada ekstrak metanolik yang memiliki diameter lebih luas dibanding penggunaan tunggalnya



Gambar 4. Grafik Perbandingan Zona Hambat Kombinasi pada *E. coli*

Pada grafik berwarna abu-abu merupakan Antibiotik Dosis Tinggi + Herbal Dosis Rendah dengan diameter 3,0 pada dekokta dan 11,0 pada ekstrak metanolik yang memiliki diameter lebih luas dibanding penggunaan tunggalnya.

PEMBAHASAN

Daya Hambat Dekokta Daun *S. polyanthum*

Pada penelitian yang dilakukan menunjukkan aktivitas antibakteri pada dekokta daun *S. polyanthum* terhadap *S. aureus* cukup kuat. Dibandingkan dengan penelitian yang pernah ada sebelumnya didapatkan zona hambat dekokta daun *S. polyanthum* pada *S. aureus* sebesar 10,67mm pada konsentrasi 10% dan 13,67mm pada konsentrasi 50%²¹.

Aktivitas antibakteri dekokta daun *S. polyanthum* pada *E. coli* menunjukkan daya hambat yang cukup kuat. Hal tersebut berbeda dengan penelitian serupa yang menunjukkan bahwa dekokta daun *S. polyanthum* tidak mampu menghambat *E. coli*²⁵. Penelitian dengan metode infusa daun *S. polyanthum* juga tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap *E. coli* pada konsentrasi tinggi maupun rendah²⁶. Perbedaan zona hambat antara dekokta daun *S. polyanthum* pada *S. aureus* dan *E. coli* didapatkan lebih sensitif terhadap *E. coli* dengan rata-rata zona hambat pada dilusi 1/1 sampai dilusi 1/4 ≥ 10 mm. Diduga karena kandungan senyawa aktif tanin dan saponin dari dekokta daun *S. polyanthum* lebih sensitif menghambat bakteri Gram negatif, dimana pada bakteri Gram negatif memiliki tekanan osmotik yang lebih kecil diduga dapat mempengaruhi kondisi senyawa aktif dari dekokta daun *S. polyanthum*, yakni tanin dan saponin^{27,28}.

Penggunaan metode dekokta diharapkan mampu mencari senyawa aktif lebih banyak dikarenakan waktu yang digunakan untuk penyarian ekstrak lebih lama²⁴. Selain itu, pemilihan metode dekokta dimaksudkan agar lebih mudah dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari mengingat daun *S. polyanthum* sering digunakan dalam bahan masak¹².

Luasnya zona hambat dekokta daun *S. polyanthum* dipengaruhi berbagai faktor yang dapat mempengaruhi. Faktor simplisia diduga dapat berpengaruh terhadap hasil zona hambat yang ditimbulkan. Faktor yang pertama meliputi sifat genetik dari tanaman meliputi jenis dan varietasnya akan menentukan kandungan kimia yang dihasilkan. Faktor yang kedua meliputi faktor budidaya, perawatan, dan lingkungan seperti cahaya matahari, suhu dan kelembaban, musim, habitat, dan unsur hara di sekitar tempat tumbuh suatu tanaman. Faktor ketiga meliputi usia daun yang dipakai²⁹.

Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun *S. polyanthum*

Pada penelitian ekstrak metanol daun *S. polyanthum* terhadap *S. aureus* didapatkan daya hambat yang kuat dengan rata-rata zona hambat 10-13mm³⁰. Penelitian sebelumnya didapatkan bahwa konsentrasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* 25 μ g/sumuran memperlihatkan zona hambat sebesar 10,44mm, pada konsentrasi 50 μ g/sumuran 11,33mm, konsentrasi 200 μ g/sumuran 12,11mm,

dan konsentrasi 400 µg/sumuran 12mm²⁸. Hal ini menunjukkan efek antibakteri pada ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dalam penelitian ini kecil.

Ekstrak metanol daun *S. polyanthum* lebih sensitif terhadap *S. aureus* daripada terhadap *E. coli*. Hal ini dapat disebabkan oleh karena struktur dinding sel *S. aureus* lebih sederhana yang terdiri dari peptidoglikan dengan asam teikuronat dengan atau tanpa *envelope* yang terdiri dari protein dan polisakarida dibandingkan *E. coli* yang lebih kompleks. Metanol merupakan pelarut polar yang dapat membuat solven memasuki pori-pori simplisia saat proses ekstraksi sehingga dapat menyari zat aktif lebih sempurna²⁴.

Daya Hambat Kotrimoksazol terhadap *S.aureus* dan *E.coli*

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa kotrimoksazol lebih efektif menghambat pertumbuhan *S.aureus* daripada *E.coli*³¹ Namun diameter ZOI *E.coli* yang terbentuk pada penelitian ini jauh lebih kecil dibanding hasil penelitian sebelumnya³². Hal ini diduga karena beberapa faktor penyebab, meliputi faktor sediaan kotrimoksazol, teknik pembuatan dan pengenceran larutan kotrimoksazol, serta bakteri *E.coli* yang digunakan.

Penelitian ini menggunakan kotrimoksazol generik sediaan tablet 480 mg, namun berdasarkan penelitian lain melaporkan tidak didapatkan perbedaan daya hambat yang signifikan antara kotrimoksazol sediaan generik dan sediaan paten³³. Teknik pembuatan dan pengenceran larutan kotrimoksazol pada penelitian ini merujuk pada penelitian sebelumnya menggunakan pelarut aquades steril³¹, sedangkan sulfametoksazol dan trimetoprim memiliki kelarutan yang rendah didalam air³⁴, sehingga hal tersebut menjadi bias pada penelitian ini.

Berdasarkan kriteria *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) kotrimoksazol dikatakan resisten jika menghasilkan diameter ZOI ≤ 10 mm, intermediet 11-15 mm, dan sensitif ≥ 16 mm³⁵. Pada penelitian ini didapatkan hasil ZOI kotrimoksazol pada *E.coli* termasuk kategori intermediet dan mendekati resisten. Hal tersebut dapat disebabkan karena beberapa hal, seperti kesalahan pada teknik pembiakan, pembuatan suspensi serta media *E.coli* maupun bias pada strain *E.coli* yang digunakan. Penelitian lain melaporkan bahwa terdapat perbedaan sensitivitas kotrimoksazol pada strain *E.coli* terstandarisasi (*American Type Culture Collection/ ATCC*) dengan strain *E.coli* lokal. Hal itu terjadi karena *E.coli* ATCC dikultur ulang tanpa pengaruh lingkungan yang berarti, sedangkan strain *E.coli* lokal/ isolat klinis sebagaimana yang digunakan pada penelitian ini telah banyak mendapat pengaruh dari lingkungan yang dinamis bahkan mengancam hidupnya seperti pemakaian antibiotik yang luas, sehingga timbul mekanisme pertahanan diri dengan mutasi gen yang mengakibatkan resistensi³².

Daya Hambat Kombinasi Dekokta Daun *S. polyanthum* dengan Kotrimoksazol

Pada penelitian ini didapatkan kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol pada *S. aureus* diamati dari rata-rata luas zona hambat menunjukkan peningkatan dan secara statistik pada hasil penelitian terdapat interaksi atau dapat dibedakan dari penggunaan tunggalnya. Sedangkan pada *E. coli*, kombinasi ini secara statistik juga menunjukkan efek yang signifikan. Hal ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang telah dipaparkan sebelumnya sehingga menyebabkan perbedaan hasil zona hambat.

Penelitian lain mengatakan bahwa kombinasi dekokta daun *S. polyanthum* dengan amoksisilin pada *S. aureus* dan *E. coli* memberikan efek sinergis yang signifikan pada beberapa dosis perlakuan¹⁴. Amoksisilin bekerja pada dinding sel bakteri yang akan mengganggu reaksi transpeptidasi sintesis dinding sel sehingga menghentikan sintesis peptidoglikan yang menyebabkan kematian bakteri. Amoksisilin bekerja dengan baik pada golongan bakteri gram negatif ketika diberikan bersamaan dengan klavulanat atau salbaktam³⁶.

Penelitian lain yang menggunakan kombinasi dekokta daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kotrimoksazol pada *S.aureus* bersifat potensiasi, karena setelah dilakukan kombinasi terdapat peningkatan diameter ZOI yang signifikan dibanding ZOI pemberian tunggal dekokta daun teh hijau yang semula tidak memiliki daya hambat (diameter ZOI = 0 mm) serta pemberian tunggal kotrimoksazol dosis rendah. Hal demikian juga berlaku pada kombinasi kotrimoksazol dengan dekokta herbal lain yang memberikan efek lebih baik ketika dilakukan kombinasi antara antibiotik dan herbal. Sebagaimana halnya juga dalam penelitian ini terjadi efek yang sinergis dari kombinasi daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol¹⁵.

Efek sinergistik dapat ditimbulkan oleh adanya *efflux pump inhibitor* (EPI) dari senyawa aktif tanaman yang merupakan mekanisme resistensi bakteri. EPI bekerja dengan menghambat *efflux pump* sehingga menyebabkan peningkatan konsentrasi antibiotik di dalam sel bakteri³⁷. Konsentrasi kotrimoksazol akan meningkat ketika terjadi hambatan *efflux pump* oleh senyawa tanin daun salam sehingga dapat meningkatkan aktivitas antibakteri kotrimoksazol dan menunjukkan efek yang tidak berbeda signifikan.

Pemilihan pelarut air atau akuades steril yang merupakan pelarut polar menyebabkan senyawa antibakteri yang terekstrak cenderung polar. Kepolaran dari senyawa antibakteri ini yang menyebabkan senyawa lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif. Molekul yang bersifat hidrofobik akan lebih sulit melewati lipopolisakarida dibandingkan hidrofilik. Bakteri gram positif tidak memiliki struktur lipopolisakarida sehingga molekul yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik dapat mengakses bakteri³⁸.

Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Metanol Daun *S. polyanthum* dengan Kotrimoksazol

Pada penelitian ini didapatkan kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dan kotrimoksazol terhadap *S. aureus* dan *E. coli* secara statistik terdapat perbedaan signifikan dari penggunaan tunggalnya. Penggunaan pelarut metanol yang merupakan pelarut polar dalam proses ekstraksi bertujuan agar solven dapat memasuki pori-pori simplisia secara lebih optimal sehingga senyawa aktif yang didapatkan lebih sempurna²⁴. Selain itu, metanol merupakan pelarut dengan tingkat polaritas tinggi sehingga mampu melarutkan banyak senyawa aktif dalam ekstrak daun *S. polyanthum*²⁸. Golongan flavonoid yang terkandung dalam daun *S. polyanthum* dapat merusak dinding sel bakteri sehingga komponen utama dari sel keluar dan menyebabkan kematian sel bakteri, serta menghambat pembentukan protein sel³⁹.

Kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol secara teori menunjukkan interaksi antara obat dengan senyawa aktif dari herbal. Flavonoid yang merupakan kandungan utama dari daun salam tercampur sebagai glikosida pada jaringan tumbuhan⁴⁰. Sedangkan kotrimoksazol memiliki interaksi yang dapat mengendapkan beberapa obat dari golongan aminoglikosida sehingga dapat menekan aktivitas antibakteri jika diberikan bersamaan⁴¹.

Penelitian lain mendapatkan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan amoksisilin dosis rendah mampu memberikan efek sinergis yang signifikan pada *S. aureus*¹⁴. Hal tersebut juga berlaku pada *E. coli* dimana kombinasi kotrimoksazol dan ekstrak metanol daun *S. polyanthum* juga menunjukkan hasil serupa dimana pada penelitian ini ditemukan hasil yang signifikan pada *E. coli* sehingga diduga penggunaan ekstrak metanol dan kotrimoksazol pada bakteri Gram negatif efektif dalam meningkatkan kerja terapi utama.

Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah:

1. Kombinasi ekstrak daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol dapat meningkatkan daya hambat terhadap terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Kombinasi ekstrak metanol daun *S. polyanthum* dengan kotrimoksazol dapat meningkatkan daya hambat terhadap terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Saran

Saran yang dapat dilakukan untuk meningkatkan penelitian ini:

1. Melakukan pengkajian ulang terkait strain bakteri *E. coli* yang digunakan.
2. Melakukan penelitian lanjutan dengan meminimalisir terjadinya bias pada zat pembawa

antibiotik, suhu yang digunakan, pelarut yang digunakan, dan simplisia yang digunakan.

3. Perlu dilakukan pembuatan larutan antibiotik kotrimoksazol standar dengan pelarut yang tepat sesuai sifat kelarutan dari antibiotik (etanol).
4. Menggunakan antibiotik kotrimoksazol sediaan murni.
5. Melakukan uji *in vivo* untuk mengetahui respon kombinasi dari daun *S. polyanthum* sebagai terapi tambahan.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) selaku yang memberikan dana penelitian, serta kelompok penelitian yang telah membantu dalam berjalannya penelitian.

Daftar Pustaka

1. Utami, E.R. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. El Hayah. UIN Maliki, Malang. 2011
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peningkatan Pelayanan Kefarmasian dalam Pengendalian Resistensi Antimikroba Apoteker Ikut Atasi Masalah Resistensi Antimikroba, (April), pp. 1–6. 2018.
3. Gagliotti, C., et al, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: bad news and good news from the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, formerly EARSS), 2002 to 2009. pp. 1–5. 2009.
4. Yuwono. *Staphylococcus aureus* dan Metichillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA). Palembang : Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. 2012
5. Parraton, H. Progress towards antimicrobial resistance containment and control in Indonesia. pp. 31–35. 2017.
6. Fridkin, S.K., Gaynes, R.P. Antimicrobial Resistance in Intensive Care Units. *Clin Chest Med.* 20:303-16. 1999
7. McGowan, J.E., Tenover, F. Antimicrobial Resistance in the Intensive Care Unit: Impact of New Patterns. *Int J Clin Pract Suppl.* 95:14-22. 1998
8. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/Menkes/Per/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Jakarta: Kemenkes. 2011
9. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 2015 tentang Program Pengendalian Resistensi Antimikroba di Rumah Sakit. Jakarta: Kemenkes. 2015
10. Katzung, Bertram G. Farmakologi Dasar dan Klinik, Ed. 12, Vol.2. Jakarta : EGC. 2013
11. Lam KS. New aspects of natural products in drug discovery. *Trends Microbiol.* 15: 279-289. 2007
12. Hamad, A., Mahardika, M. G. P., Yuliani, I. and Hartanti, D. Chemical constituents and antimicrobial activities of essential oils of

- Syzygium polyanthum* and *Syzygium aromaticum*. *Rasayan Journal of Chemistry*. 10: 564–569. 2017.
13. Ramli, S., Radu, S., Shaari, K. and Rukayadi, Y., 2017. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of *Syzygium polyanthum* L. (Salam) Leaves against Foodborne Pathogens and Application as Food Sanitizer.
 14. Maulidina, J., Hakim, R. Sulistyowati, E. 2019. Efek Antibakteri Kombinasi Dekokta atau Ekstrak Metanol Daun Salam dengan Amoksisilin terhadap Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* secara *in vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.
 15. Wahidatul, D., Hakim, R. Sulistyowati, E. 2019. Efek Antibakteri Kombinasi Dekokta atau Ekstrak Metanol Daun Teh Hijau dengan Kotrimoksazol terhadap Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* secara *in vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.
 16. Meloan, CE. Chemical Separation. New York : J. Willey, 1999.
 17. Harborne, J. B. Metode Fitokimia. Cara modern menganalisa Tumbuhan. Terjemahan Kosasih Patmawinata dan Iwang Soediro. Edisi ke 3. Bandung. Penerbit ITB. 1996.
 18. Irwanto. Ekstraksi Menggunakan Proses Infudasi, Maserasi dan Perkolasi. Jakarta. 2010.
 19. Kusumaningrum, A., P. Widyaningrum, I. Mubarak. Penurunan Total Bakteri Daging Ayam dengan Perlakuan Perendaman Infusa Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *Jurnal MIPA*. Universitas Negeri Semarang.36: 14-19. 2013.
 20. Pratiwi, ST. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Airlangga. 2008.
 21. Risandiansyah, Rio. Induction of Secondary Metabolism Across Actinobacterial Genera. South Australia: Flinders University. 2016.
 22. Balouiri M., Sadiki M., Ibsounda S.K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal Elsevier*. 6:71-9. 2016
 23. Yunensa, Khorina Sari. Pengaruh Kombinasi Antibiotik Ampisilin dan Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) terhadap *Staphylococcus aureus* Multiresisten. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2018
 24. Daswi, Dwi Rachmawati. Aktivitas Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* W.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Karies Gigi. Program Pasca Sarjana. Universitas Hasanuddin Makassar. 2012.
 25. Pratama, M.A.M., Airlangga, H., Arfarita Novi. 2016. Aktivitas Hambatan Dekokta Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Bakteri Oportunistik Penyebab Diare: *Escherichia coli* dan *Salmonella spp* secara *in vitro*. *Jurnal Bio Complementer Medicine*. 3(1)
 26. Dewanti, S. and M.T. Wahyudi. 2011. Antibacteri activity of bay leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum* Wight) to *Escherichia coli* *in-vitro*. *J. Med. Planta*. 1:78-81.
 27. Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 –37. 2009.
 28. Evendi, Agus. Uji Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Mahakam Medical Laboratory Technology Journal*. hlm. 1-9. 2017.
 29. Siswanto, Y.W. Penanganan Hasil Panen Tanaman Obat Komersial. Penebar Swadaya, Jakarta. 2004.
 30. Davis, W. W., & Stout, T. R. 1971. Disk plate method of microbiological antibiotic assay. *American Society for Microbiology*. 4(22).
 31. Taufiq, A., Risandiansyah, R. Fadli, Z. 2018. Efek Kombinasi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dengan Antibiotik Amoxicillin, Chloramphenicol, Cotrimoxazole terhadap Pertumbuhan Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* secara *in vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.
 32. Setianegara, B. Karneli, Yusneli. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dan Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* *in vitro* dan Perbandingannya dengan Kotrimoksazol. Politeknik Kemenkes Palembang.
 33. Sari, F.P. dan S. M. Sari. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
 34. Setiawan, H.K., Penetapan Kadar Sulfametoksazol dan Trimetoprim dalam Suspensi Cotrimoxazole dengan Spektrofotometri Metode Kurva Turunan Pertama (Derivatif). Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. 2014
 35. Vandepitte, J. 2011. Prosedur Laboratorium Dasar untuk Bakteriologis Klinis, Edisi ke- 2. Jakarta : EGC
 36. Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. Goodman & Gillman's the pharmacological basis of theurapeutics. New York: McGraw Hill. 2006.
 37. Li, X-Z. & Nikaido, H. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update, *Drugs*. 1555–1623. 2009.
 38. Best, GK. Antibacterial Chemotherapy. Yang diakses dari sumber <http://pharminto.com/publ/msb/news.drugs.html>. 1999
 39. Purnamaningsih, Nur Aini, Kalor, H., Atun, S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan

- Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Penelitian Saintek*. Vol. 22. hlm. 140-147. 2017.
40. Winarto W. P. *Memfaatkan Bumbu Dapur untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2004.
41. Friambodo, Bambang, Purnomo, Y., Dewi, Ariani R. Efek Kombinasi Amoksisilin dan Kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. *Journal of Islamic Medicine Research*. Vol. 1. p.12-20. 2017.

Pembuatan, pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, pengemasan, dan penyimpanan

