

**Efek Kombinasi Fraksi Akuades, Metanol, dan Etil Asetat Senyawa Fenolik Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* terhadap Daya Hambat pada Pertumbuhan *Staphylococcus aureus***

Isna Aulia Zamzamy, Arif Yahya, Rio Risandiansyah\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Kombinasi herbal-antibiotik adalah salah satu upaya untuk mengatasi infeksi. Ekstrak kasar meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang diduga mengandung fenolik diketahui dapat meningkatkan efektivitas antibiotik pada bakteri *S. aureus*, sehingga berpotensi digunakan sebagai adjuvan terhadap antibiotik. Namun, isolasi kelompok senyawa fenolik tersebut belum dilakukan. Penelitian ini melakukan fraksinasi ekstrak fenolik dari meniran dan melihat interaksi kombinasi dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* terhadap bakteri *S. aureus*.

**Metode:** Isolasi fenolik meniran melalui maserasi menggunakan metanol, kemudian dilakukan pemisahan ekstraksi cair-cair dengan heksana dan mengumpulkan residunya. Residu diuapkan pada 55°C lalu dioven sampai menjadi pasta. Hasil ekstraksi difraksinasi dengan dilarutkan menggunakan akuades, metanol, dan etil asetat untuk mendapatkan tiga fraksi. Kemurnian dari hasil fraksi tersebut dilakukan uji fitokimia secara kualitatif. Untuk mengukur daya hambat terhadap *S. aureus* dilakukan menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Sedangkan interaksi diukur dengan metode AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Sinergism Test*).

**Hasil:** Isolasi fenolik dari meniran menunjukkan adanya senyawa fenolik dan tidak terdeteksi kelompok senyawa lain yang diuji (alkaloid, terpenoid, dan steroid). Setelah fraksinasi, fenolik ditemukan pada fraksi akuades dan metanol, namun tidak ditemukan pada fraksi etil asetat. Uji daya hambat tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada semua fraksi dengan konsentrasi 1000 ppm (0±0 mm). Penambahan fraksi akuades (F1), metanol (F2), etil asetat (F3) dengan *Amoxicillin* menunjukkan diameter zona hambat sebesar 18,45±0,80; 17,89±2,62; 17,62±3,10. Sedangkan dengan *Chloramphenicol* sebesar 31,33±0,58; 29,58±0,54; 26,24±1,49. Zona hambat *Amoxicillin* adalah 19,54±0,81 dan pada *Chloramphenicol* adalah 28,16±1,59.

**Kesimpulan:** Interaksi fraksi akuades dari ekstrak fenolik dengan *Chloramphenicol* menunjukkan interaksi potensiasi.

**Kata Kunci:** Fenolik *Phyllanthus niruri L.*, *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, *Staphylococcus aureus*.

**Combination Effect of Water, Methanol, and Ethyl Acetate Fractions of Phenolic Compounds from Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) with *Amoxicillin* or *Chloramphenicol* on Inhibitory Power on the Growth of *Staphylococcus aureus***

Isna Aulia Zamzamy, Arif Yahya, Rio Risandiansyah\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**ABSTRACT**

**Introduction:** The combination of herbal-antibiotics is one of the efforts to treat infection. Meniran crude extract (*Phyllanthus niruri L.*) which is suspected to contain phenolic is known to increase the effectiveness of antibiotics on *S. aureus* bacteria, so it has the potential to be used as an adjuvant to antibiotics. However, the isolation of this group of phenolic compounds has not been carried out. This study fractionated phenolic extract from meniran and looked at its interaction with *Amoxicillin* and *Chloramphenicol* against *S. aureus* bacteria.

**Methods:** Isolation of phenolics from meniran through maceration using methanol, then a liquid-liquid extraction with hexane was done, and the residue were collected. The residue was evaporated at 55°C and then baked until it became a paste. Extraction results were fractionated by dissolving using distilled water, methanol, and ethyl acetate to get three fractions. The purity of the resulting fraction was carried out by qualitative phytochemical tests. The Kirby-Bauer method was used to measure the inhibition against *S. aureus*. While the interaction was measured by the AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Sinergism Test*) method.

**Results:** Isolation of phenolic from meniran showed the presence of phenolic compounds and no other groups of compounds were tested (alkaloids, terpenoids, and steroids). After fractionation, phenolics were found in the distilled water and methanol fractions, but not in the ethyl acetate fraction. The inhibition test did not show any antibacterial activity in all fractions with a concentration of 1000 ppm (0±0 mm). Addition of aquadest (F1), methanol (F2), ethyl acetate (F3) fractions with *Amoxicillin* showed the inhibition zone diameter was 18.45±0.80; 17.89±2.62; 17.62±3.10. Meanwhile, with *Chloramphenicol* 31.33±0.58; 29.58±0.54; 26.24±1.49. The zone of inhibition for *Amoxicillin* was 19.54±0.81 and for *Chloramphenicol* it was 28.16±1.59.

**Conclusion:** The interaction of the distilled water fraction of the phenolic extract with *Chloramphenicol* showed a potentiating interaction.

**Keywords:** Fenolik *Phyllanthus niruri L.*, *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, *Staphylococcus aureus*.

\*Correspondence author:

Rio Risandiansyah

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

e-mail: riorisandiansyah@unisma.ac.id

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, dimana terdapat sekitar 3.800 jenis tumbuhan yang hidup di Indonesia<sup>(1)</sup>. Meniran merupakan salah satu dari banyak variasi tanaman yang dapat ditemukan di daerah subtropis dan tropis seperti Indonesia<sup>(2)</sup>. Tanaman ini telah digunakan berabad-abad oleh masyarakat karena dinilai kaya akan berbagai senyawa yang berguna sebagai obat. Senyawa yang terkandung seperti flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, tanin, dan fenolik<sup>(3)</sup>. Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) memiliki kandungan senyawa fenolik yang keberadaannya dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Fenolik bekerja dengan melignifikasi dinding sel bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat<sup>(4)</sup>. Selain itu, fenolik juga berperan penting dalam presipitasi protein dan menghambat enzim dari mikroorganisme<sup>(5)</sup>.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Putri (2018) menunjukkan bahwa herba meniran (*Phyllanthus niruri L.*) memiliki efek dalam menghambat *S. aureus*. Ketika meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dalam bentuk ekstrak kasar dikombinasikan dengan *Amoxicillin*, hasilnya bersifat sinergis. Daya hambat kombinasi *amoxicillin* dengan meniran meningkat lebih kuat dibanding dengan uji tunggalnya. Hal tersebut dikarenakan aktivasi antibiotik pada *amoxicillin* yang didukung oleh kerja meniran (*Phyllanthus niruri L.*), sehingga antibiotik dapat aktif bekerja pada dinding bakteri<sup>(6)</sup>.

Penelitian ini dilanjutkan oleh peneliti yang lain dengan berupaya mengisolasi senyawa aktif menggunakan metode fraksinasi. Beberapa fraksi menunjukkan adanya aktivitas daya hambat pada bakteri *S. aureus*. Disebutkan bahwa kombinasi dua antibiotik *amoxicillin* dan *chloramphenicol* dengan fraksi herba meniran (*Phyllanthus niruri L.*) menunjukkan hanya 1 fraksi yang memiliki interaksi sinergis. Hasil fraksi yang lain menunjukkan nilai rata-rata ZOI yang sama antara kombinasi antibiotik dan herbal dengan antibiotik tunggal sehingga tidak dapat dibedakan atau *Not Distinguishable*. Hal tersebut dikarenakan adanya bias yakni antibiotik yang tidak stabil karena dilarutkan menggunakan air, bukan menggunakan dapar<sup>(7,8,9)</sup>.

Fraksi yang berinteraksi tersebut dilakukan uji fitokimia, dimana ditemukan perubahan warna menjadi biru kehitaman sehingga disimpulkan mengandung fenol<sup>(8)</sup>. Hasil uji fitokimia menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$  juga menunjukkan hasil positif dengan warna biru baik tua maupun muda pada fraksi 21-fraksi 23<sup>(7)</sup>. Akan tetapi, pada kedua penelitian ini tidak dilakukan isolasi senyawa yang lebih spesifik, dikarenakan hasil fraksi yang sedikit<sup>(7,8)</sup>.

Penggunaan *Amoxicillin* dalam penelitian digunakan sebagai antibiotik yang pada dinding sel, sehingga berakibat lisisnya bakteri. Di sisi lain, *Chloramphenicol* bekerja dengan menghambat sintesis protein pada bakteri. Maka, *Amoxicillin* dapat digunakan sebagai perwakilan antibiotik yang bekerja pada permukaan sel bakteri. Sedangkan,

*Chloramphenicol* adalah perwakilan antibiotik yang bekerja secara pada intraseluler.

Penelitian ini melakukan isolasi lebih lanjut dengan melarutkan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dalam 3 pelarut dengan polarisasi yang berbeda. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan isolat senyawa aktif poten yang akan berinteraksi. Fraksi yang terbentuk akan dilakukan pengecekan senyawa yang dikandung. Kombinasi antibiotik *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol* dengan fraksinasi senyawa fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) akan diuji dengan metode yang berbeda dengan peneliti sebelumnya, diuji menggunakan metode AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism*). Metode ini digunakan untuk menentukan interaksi hasil ZOI dengan mengevaluasi sinergisme antimikroba tersebut<sup>(10)</sup>.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental yang bersifat analitik laboratorik. Efek kombinasi fraksi fenolik meniran dengan *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* terhadap ZOI (*Zone of Inhibition*) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, dapat diketahui melalui uji *in vitro*. Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Juli 2020 yang dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

### Ekstraksi dan Isolasi Senyawa Fenolik *Phyllanthus niruri L.*

Pembuatan ekstrak fenolik dilakukan menggunakan simplisia tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang didapatkan dari Materia Medica Batu dengan nomer determinasi 074/650A/102.7/2019. Metode maserasi digunakan pada ekstraksi fenolik tahap pertama menggunakan metanol 96% dengan perbandingan 1/10 (m/V), dilakukan selama 24 jam. Selanjutnya, hasil ekstraksi dilakukan pemisahan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan heksana dengan perbandingan 1/1 (V/V), dikocok selama 30 menit. Setelah 30 menit heksana dibuang. Tahap ini dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstrak yang telah dilakukan pemisahan cair-cair kemudian diuapkan menggunakan alat *Rotatory vacuum evaporator* pada suhu 55°C. Hasil dari penguapan *Rotatory vacuum evaporator* di masukkan oven sampai menjadi pasta pada suhu 40°C selama 3-5 hari.

### Fraksinasi Senyawa Fenolik Meniran (*Phyllanthus niruri L.*)

Fraksinasi dilakukan dengan mengencerkan ekstrak fenolik meniran (berupa pasta yang dikeluarkan dari oven di metode sebelumnya) menggunakan tiga macam pelarut yakni aquades, metanol, dan etil asetat. Perhitungan setiap fraksi dengan masing-masing pelarut yakni 1000 ppm (yang didapatkan dari 1000 mg pasta yang dicampurkan dengan 1000 mL pelarut). Kemudian sebanyak 2 ml masing-masing fraksi diambil untuk

tahap pengamatan daya hambat atau ZOI (*Zone of Inhibition*) dan uji fitokimia.

#### Uji Fitokimia Fraksi Fenolik Meniran (*Phyllanthus niruri L.*)

Uji fitokimia dilakukan dengan mengambil sampel fraksinasi ekstrak meniran menggunakan air, fraksinasi ekstrak meniran menggunakan metanol, maupun fraksinasi ekstrak meniran menggunakan etil asetat. Kemudian ekstrak yang telah di fraksinasi tersebut, masing-masing ditambahkan beberapa tetes larutan  $\text{FeCl}_3^{(13)}$ . Jika hasil dari pewarnaan menunjukkan warna biru atau biru gelap, maka uji fenolik dikatakan positif<sup>(12)</sup>.

#### Metode Pembuatan Inokulum *Staphylococcus aureus*

Inokulum bakteri didapatkan dari koloni *Staphylococcus aureus* yang tersedia di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA). Koloni bakteri diambil dari media padat menggunakan oshe steril, kemudian ditumbuhkan pada media NB (*Nutrient Broth*). *Nutrient Broth* kemudian di masukkan inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

Bakteri dari *Nutrient Broth* kemudian dilarutkan pada larutan steril NaCl 0,9% 10 ml diaduk perlahan hingga warna menjadi keruh. Agar nilai absorbansi sesuai standar Mcfarland, bakteri yang dilarutkan NaCl diambil sebanyak 1 ml dan dilihat pada panjang gelombang ( $\lambda=600 \text{ nm}$ ) menggunakan spektrofotometri kemudian diencerkan sesuai nilai absorbansi menggunakan NaCl 0,9% steril.

#### Menentukan Zone of Inhibition Tunggal dan Kombinasi

Uji ZOI (*Zone of Inhibition*) menggunakan metode Kirby-Bauer atau difusi cakram. Cakram terdiri dari herba tunggal, antibiotik tunggal, dan kombinasi herba dengan antibiotik. Cakram herba terdiri dari 3 pelarut fraksi, fraksi 1 akuades, fraksi 2 metanol, fraksi 3 etil asetat. Sedangkan antibiotik terdiri dari *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol*. Cakram ditanam pada dasar cawan petri, kemudian dituang dengan Media agar *Muller Hinton Agar* (MHA). Saat media agar telah memadat, bakteri di ratakan menggunakan teknik *Spread plate* dengan spreader. Kemudian dimasukkan dalam inkubator selama 18-24 jam. Setelah 24 jam, zona bening di ukur menggunakan jangka sorong.

#### Metode Penentuan Interaksi

Uji *Zone of Inhibition* (ZOI) menggunakan penentuan interaksi dilihat 18-24 jam setelah media uji dimasukkan ke dalam inkubator. Interpretasi hasil ZOI atau penentuan interaksi pada penelitian ini menggunakan metode AZDAST seperti pada **tabel 1**.

**Tabel 1. Pedoman Interpretasi Metode AZDAST**

No	Hasil Kombinasi dari Cawan Petri	Interpretasi AZDAST pada Kombinasi
1	Jika $XY > X \& Y$ , dan $XY >/< XX$ dan/atau $YY$	Sinergis
2	Jika $X$ atau $Y = 0$ , dan $XY > X \& Y$ , dan $XY </> XX$ dan/atau $YY$	Potensiasi (Peningkatan)
3	Jika $XY < X/Y$	Antagonis
4	Jika $XY = XX$ dan/atau $YY$	Aditif
5	Jika $XY = X/Y$ (sama atau lebih besar)	Not Distinguishable (ND)

**Keterangan:** X = Antibiotik 1 (*Amoxicillin* atau *Chloramphenicol*); Y= Antibiotik 2 (Fenolik herba meniran); XY = Kombinasi Antibiotik 1 (*Amoxicillin* atau *Chloramphenicol*) dengan Antibiotik 2 (Fenolik herba meniran)

#### Analisa Data Statistik

Analisa data statistik pada penelitian menggunakan uji statistik One-Way ANOVA. P-value menunjukkan signifikansi ( $p\text{-value}$ ) > 0,05, maka menggunakan One-Way ANOVA karena data terdistribusi normal dan homogen. Kemudian, dilanjutkan dengan post hoc LSD.

## HASIL DAN ANALISA DATA

#### Hasil Uji Fitokimia

Hasil rendeman dari hasil ekstraksi dengan bentuk pasta dilakukan uji fitokimia. Ekstrak meniran mengandung fenolik dan flavonoid.

Interpretasi **gambar 1** dan **tabel 2** memperlihatkan pada uji fenolik secara kualitatif, fraksi-fraksi meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ , menunjukkan hasil positif pada fraksi 1 dan fraksi 2 yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru gelap. Pada uji flavonoid, didapatkan hasil positif pada fraksi 1 dan fraksi 2 dengan perubahan warna membentuk warna kuning ketika ditambahkan dengan larutan HCl pekat dan dikocok.

#### Hasil Pengukuran ZOI (*Zone of Inhibition*) Fraksi-fraksi Fenolik Meniran Tunggal terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran ZOI fraksi-fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) tunggal terhadap bakteri *S. aureus* seperti pada **gambar 2** dan **tabel 3**.

**Tabel 2. Rerata hasil pengukuran ZOI fraksi-fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) tunggal terhadap bakteri *S. aureus***

Sampel	Rata-rata $\pm$ SD (mm)		
	F1	F2	F3
Fx	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
FxFx	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

**Keterangan:** Fx = Fraksi tunggal; FxFx = Fraksi ganda; F1 = Fraksi 1 (dengan pelarut aquades); F2 = Fraksi 2 (dengan pelarut metanol); F3=Fraksi 3 (dengan pelarut etil asetat); SD = Standart Deviasi; Dosis yang digunakan adalah 1000 ppm

Berdasarkan **gambar 2** dan **tabel 3**, hasil uji fraksi-fraksi fenolik meniran terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan tidak terdapat zona inhibisi yang terbentuk pada semua fraksi yang uji. Hal ini diartikan bahwa fraksi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara tunggal.

#### Hasil Pengukuran ZOI Antibiotik Tunggal Amoxicillin dan Chloramphenicol terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

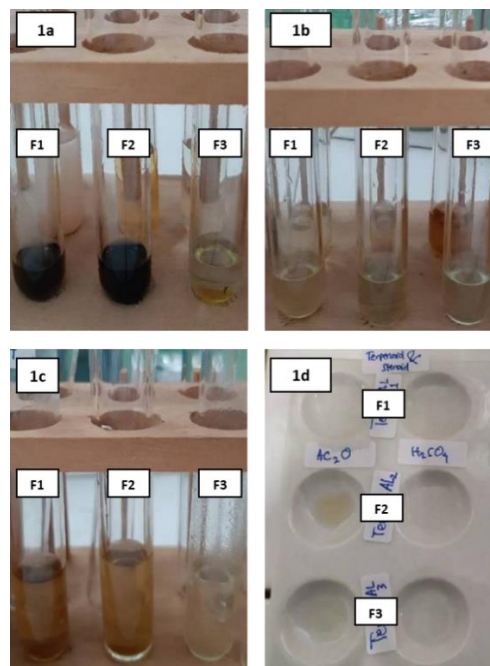
Hasil pengukuran ZOI (*Zone of Inhibition*) antibiotik tunggal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* seperti pada **gambar 2** dan **tabel 4**. Berdasarkan **gambar 2**, dan **tabel 4**, dapat diketahui bahwa rata-rata ZOI dari 3 kali pengulangan yang terbentuk dari Amoxicillin tunggal yakni  $19,54 \pm 0,81$ ; sedangkan rata-rata ZOI dari 3 kali pengulangan yang terbentuk dari

*Chloramphenicol* tunggal yakni  $28,16 \pm 1,59$ . Dari data tersebut, ZOI yang dibentuk oleh *Chloramphenicol* tunggal lebih besar daripada ZOI yang dibentuk oleh Amoxicillin tunggal terhadap bakteri *S. aureus*. Begitu pula pada uji antibiotik ganda, ZOI yang dibentuk oleh *Chloramphenicol* ganda lebih besar daripada ZOI yang dibentuk oleh Amoxicillin ganda terhadap bakteri *S. aureus*.

**Tabel 3. Rerata hasil pengukuran ZOI Amoxicillin tunggal dan Chloramphenicol tunggal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus***

Sampel	Rata-rata $\pm$ SD (mm)	
	AMX	CHL
Antibiotik tunggal	$19,54 \pm 0,81$	$28,16 \pm 1,59$
Antibiotik ganda	$22,17 \pm 1,70$	$30,60 \pm 2,67$

**Keterangan:** A = Amoxicillin tunggal; AA = Amoxicillin ganda; C = Chloramphenicol tunggal; CC = Chloramphenicol ganda; SD = Standart Deviasi



**Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia**

**Keterangan:** 1a) Uji fitokimia fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) secara kualitatif; 1b) Uji fitokimia alkaloid meniran (*Phyllanthus niruri L.*) secara kualitatif; 1c) Uji fitokimia flavonoid meniran (*Phyllanthus niruri L.*) secara kualitatif; 1d) Uji fitokimia terpenoid dan steroid meniran (*Phyllanthus niruri L.*) secara kualitatif; F1 = Fraksi 1 (akuades); F2 = Fraksi 2 (metanol); F3 = Fraksi 3 (etil asetat)

**Tabel 4. Hasil uji fitokimia fraksi meniran secara kualitatif**

Uji Fitokimia	Reagen/ Metode	Hasil Positif	Hasil Uji Fitokimia					
			F1		F2		F3	
			1	2	1	2	1	2
Fenolik	Ditambahkan FeCl <sub>3</sub>	Warna biru atau biru gelap	+	+	+	+	-	-
Alkaloid	Dengan pereaksi mayer	Membentuk endapan putih	-	-	-	-	-	-
	Dengan pereaksi dragendorff	Membentuk endapan jingga hingga merah	-	-	-	-	-	-
Flavonoid	Ditambahkan HCl pekat	Membentuk warna merah, kuning, atau jingga	+	+	+	+	-	-
Terpenoid	Ditambahkan Ac <sub>2</sub> O dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Warna merah hingga violet	-	-	-	-	-	-
Steroid	Ditambahkan Ac <sub>2</sub> O dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Warna hijau hingga hijau kebiruan	-	-	-	-	-	-

**Keterangan:** F1 = Fraksi 1 (menggunakan pelarut aquades); F2 = Fraksi 2 (menggunakan pelarut metanol); F3 = Fraksi 3 (menggunakan pelarut etil asetat); 1 = Pengamat 1; 2 = Pengamat 2

### Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi Fraksi Fenolik Meniran dengan Amoxicillin terhadap *S. aureus*

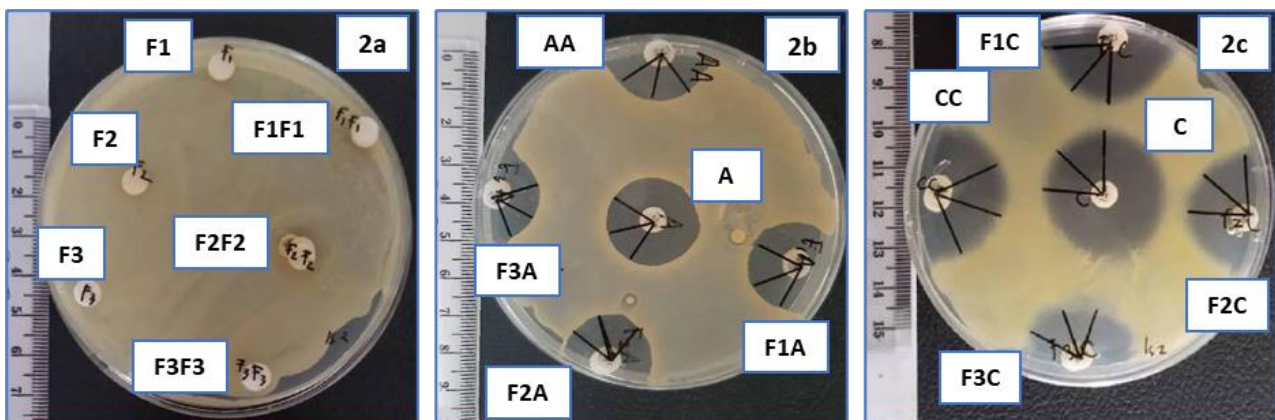
Hasil pengukuran ZOI kombinasi fraksi-fraksi fenolik meniran dengan Amoxicillin terhadap *S. aureus* seperti pada gambar 2 dan tabel 5. Hasil memperlihatkan bahwa kombinasi fraksi-fraksi fenolik meniran dengan Amoxicillin terhadap *S. aureus* lebih kecil daripada ZOI Amoxicillin tunggal. Hal ini menunjukkan tidak ditemukan adanya peningkatan diameter zona inhibisi pada *Staphylococcus aureus* secara kombinasi.

### Hasil Pengukuran ZOI Kombinasi Fraksi Fenolik Meniran dengan Chloramphenicol terhadap *S. aureus*

Pengukuran ZOI kombinasi fraksi-fraksi fenolik meniran dengan Chloramphenicol terhadap bakteri *S.*

*aureus* menunjukkan hasil seperti pada gambar 2 dan tabel 6.

Berdasarkan gambar 2 dan tabel 6, diperoleh hasil kombinasi fraksi-fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan Chloramphenicol terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan bahwa daya hambat pada kombinasi F1C ( $31,33 \pm 0,58$  mm) lebih besar daripada Zone of Inhibition (ZOI) Chloramphenicol tunggal ( $28,16 \pm 1,59$  mm). Sedangkan pada kombinasi F2C ( $29,58 \pm 0,54$  mm) dan F3C ( $26,24 \pm 1,49$  mm) tidak memperlihatkan adanya kenaikan diameter zona hambat yang terbentuk jika dibandingkan dengan Zone of Inhibition Chloramphenicol tunggal. Hal tersebut memperlihatkan bahwa kombinasi F1C memiliki daya hambat yang lebih besar daripada Chloramphenicol tunggal terhadap *Staphylococcus aureus*.



**Gambar 2.** Hasil Zone of Inhibition (ZOI)

**Keterangan:** 2a) Hasil ZOI tunggal fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap *S. aureus*; 2b) Hasil ZOI Amoxicillin tunggal, Amoxicillin ganda, kombinasi fraksi fenolik meniran dengan antibiotik Amoxicillin terhadap bakteri *S. aureus*; 2c) Hasil ZOI Chloramphenicol tunggal, Chloramphenicol ganda, dan kombinasi fraksi fenolik meniran dengan Chloramphenicol terhadap bakteri *S. aureus*; F1 = Fraksi 1 tunggal (menggunakan pelarut aquades), F2 = Fraksi 2 tunggal (menggunakan pelarut metanol), F3 = Fraksi 3 tunggal (menggunakan pelarut etil asetat), FxFx = Fraksi ganda; A = Amoxicillin tunggal; AA = Amoxicillin ganda; FxA = Kombinasi Fraksi meniran dengan Amoxicillin; C = Chloramphenicol tunggal; CC = Chloramphenicol ganda; FxC = Kombinasi Fraksi meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan Chloramphenicol; Masing-masing diulang 3 kali.

**Tabel 5.** Hasil interaksi ZOI (Zone of Inhibition) kombinasi fraksi-fraksi fenolik meniran dengan antibiotik Amoxicillin terhadap *S. aureus* berdasarkan metode AZDAST

Sampel		Rata-rata $\pm$ SD (mm)	Signifikasi	Jenis Interaksi
18,45 $\pm$ 0,80	F1 <sup>c,d</sup>	0 $\pm$ 0	0,00	Not distinguishable
	F1F1 <sup>c,d</sup>	0 $\pm$ 0	0,00	
	A <sup>a,b</sup>	19,54 $\pm$ 0,81	0,995	
	AA <sup>a,b</sup>	22,17 $\pm$ 1,70	0,082	
17,89 $\pm$ 2,62	F2 <sup>c,d</sup>	0 $\pm$ 0	0,00	Not distinguishable
	F2F2 <sup>c,d</sup>	0 $\pm$ 0	0,00	
	A <sup>a,b</sup>	19,54 $\pm$ 0,81	0,913	
	AA <sup>a,b</sup>	22,17 $\pm$ 1,70	0,029	
17,62 $\pm$ 3,10	F3 <sup>c,d</sup>	0 $\pm$ 0	0,00	Not distinguishable
	F3F3 <sup>c,d</sup>	0 $\pm$ 0	0,00	
	A <sup>a,b</sup>	19,54 $\pm$ 0,81	0,815	
	AA <sup>a,b</sup>	22,17 $\pm$ 1,70	0,017	

**Keterangan:** Fx = Uji ZOI Zone of Inhibition tunggal fraksi fenolik meniran; FxFx = Uji ZOI ganda fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*); A = Amoxicillin tunggal; AA = Amoxicillin ganda; FxA = Kombinasi fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan amoxicillin; SD = Standart Deviasi; a = berbeda signifikan terhadap fraksi tunggal; b = berbeda signifikan terhadap fraksi ganda; c = berbeda signifikan terhadap antibiotik tunggal; d = berbeda signifikan terhadap antibiotik ganda.

**Tabel 6. Hasil interaksi ZOI (Zone of Inhibition) kombinasi fraksi-fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan *Chloramphenicol* terhadap *S. aureus* berdasarkan metode AZDAST**

Sampel		Rata-rata ± SD (mm)	Signifikasi	Jenis Interaksi
F1C 31,33 ± 0,58	F1 <sup>c,d</sup>	0 ± 0	0,00	Potensiasi
	F1F1 <sup>c,d</sup>	0 ± 0	0,00	
	C <sup>a,b</sup>	28,16 ± 1,59	0,043	
	CC <sup>a,b</sup>	30,60 ± 2,67	0,998	
F2C 29,58 ± 0,54	F2 <sup>c,d</sup>	0 ± 0	0,00	Not distinguishable
	F2F2 <sup>c,d</sup>	0 ± 0	0,00	
	C <sup>a,b</sup>	28,16 ± 1,59	0,853	
	CC <sup>a,b</sup>	30,60 ± 2,67	0,979	
F3C 26,24 ± 1,49	F3 <sup>c,d</sup>	0 ± 0	0,00	Not distinguishable
	F3F3 <sup>c,d</sup>	0 ± 0	0,00	
	C <sup>a,b</sup>	28,16 ± 1,59	0,528	
	CC <sup>a,b</sup>	30,60 ± 2,67	0,002	

**Keterangan:** Fx = Uji ZOI (*Zone of Inhibition*) tunggal fraksi fenolik meniran ; FxFx = Uji ZOI ganda fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*); C = *Chloramphenicol* tunggal; CC = *Chloramphenicol* ganda; FxC = Kombinasi fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan *chloramphenicol*; SD = Standart Deviasi; a = berbeda signifikan terhadap fraksi tunggal; b = berbeda signifikan terhadap fraksi ganda; c = berbeda signifikan terhadap antibiotik tunggal; d = berbeda signifikan terhadap antibiotik ganda

### Hasil Interpretasi Jenis Interaksi ZOI (*Zone of Inhibition*) Berdasarkan Metode AZDAST

Jenis interaksi *Zone of Inhibition* (ZOI) kombinasi antibiotik *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* dengan fraksi-fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) diinterpretasikan menggunakan metode AZDAST (*Ameri-Ziaei Double Antibiotic Sinergism Test*), yakni dengan membandingkan diameter antara *Zone of Inhibition* (ZOI) tunggal dan ganda (dosis ganda, dan gabungan)<sup>(10)</sup>.

Berdasarkan **tabel 5**, merupakan jenis interaksi berdasarkan metode AZDAST yang di amati dengan membandingkan diameter masing-masing sampel. Pada hasil *Zone of Inhibition* (ZOI) kombinasi fraksi 1 fenolik meniran dengan *Amoxicillin* menunjukkan hasil *not distinguishable* karena ZOI kombinasi (F1A) hamper sama dengan ZOI tunggal (*amoxicillin* tunggal). Sedangkan pada F2A dan F3A menunjukkan jenis interaksi antagonis karena ZOI kombinasi (F2A dan F3A) lebih kecil dari ZOI tunggal (*amoxicillin* tunggal).

Berdasarkan **tabel 6**, merupakan jenis interaksi berdasarkan metode AZDAST yang di amati dengan membandingkan diameter masing-masing sampel. Pada hasil ZOI kombinasi fraksi 1 fenolik meniran dengan *Chloramphenicol* menunjukkan hasil *potensiasi* karena ZOI kombinasi (F1A) lebih besar daripada ZOI tunggal (*Chloramphenicol*). Sedangkan pada hasil *Zone of Inhibition* (ZOI) kombinasi fraksi 2 dan fraksi 3 fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan *chloramphenicol* menunjukkan hasil *not distinguishable*, karena ZOI kombinasi sama dengan ZOI tunggal (*chloramphenicol* tunggal).

Pada uji interaksi *Zone of Inhibition* (ZOI) pelarut fraksi tunggal terhadap *Staphylococcus aureus*, pelarut metanol dan etil asetat memiliki rata-rata 0 ± 0 (rata-rata ± standart deviasi) yang mana diartikan bahwa pelarut yang digunakan untuk fraksinasi fenolik meniran tidak dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

## PEMBAHASAN

### Uji Fitokimia Kandungan Senyawa Aktif dari Hasil Fraksi Ekstrak Fenolik Meniran

Hasil uji fitokimia secara kualitatif pada fraksi 1 dan fraksi 2 fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) menunjukkan bahwa terdapat kandungan fenolik yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru atau biru gelap setelah ditambahkan dengan FeCl<sub>3</sub>. Selain itu, pada fraksi 1 dan fraksi 2 juga ditemukan kandungan flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna kuning atau jingga ketika ditambahkan dengan HCl pekat. Sedangkan uji fitokimia yang lain tidak ditemukan hasil positif<sup>(16)</sup>.

Pada senyawa fenolik, gugus hidroksi yang tersubstitusi pada cincin benzen berperan pada kemampuan senyawa fenolik melepaskan atom hidrogen dan terlibat reaksi redoks dengan *Folin-ciocalteu*<sup>(18)</sup>. Hasil positif berupa warna biru inilah yang menandakan bahwa senyawa fenol bereaksi dengan reagen redoks yang spesifik, yakni *Folin-ciocalteu*<sup>(19)</sup>.

Senyawa fenolik memiliki sifat cenderung mudah larut dalam pelarut polar<sup>(16)</sup>. Oleh karena itu, pada fraksi 1 dan fraksi 2, fenolik teridentifikasi, karena pada fraksi 1 menggunakan pelarut aquades dan pada fraksi 2 menggunakan pelarut metanol. Sedangkan pada fraksi 3, fenolik tidak teridentifikasi, kemungkinan karena pada fraksi 3 menggunakan pelarut etil asetat. Hal ini dikuatkan oleh penelitian Savitri (2017), menunjukkan bahwa senyawa fenol yang ditemukan pada ekstrak *Sargassum polycystum* dengan pelarut metanol menunjukkan rata-rata tertinggi, sedangkan pelarut etil asetat menunjukkan total fenol terendah daripada pelarut lain. Tingkat kepolaran pelarut mampu melarutkan fenol dengan baik sehingga didapatkan kadar yang lebih tinggi pada ekstrak.<sup>(17)</sup> Eskin, *et al* (2000) berpendapat bahwa fenol dapat terekstrak dengan baik menggunakan pelarut metanol<sup>(18)</sup>.

Proses fraksinasi senyawa fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang dilakukan berhasil dilakukan. Proses awal melalui metode maserasi, yakni simplisia meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dibiarkan mengalami kontak erat dengan pelarut metanol dalam wadah yang tertutup oleh aluminium foil disertai dengan pengadukan hingga komponen sampel meniran (*Phyllanthus niruri L.*) ada yang larut (selama  $\pm 24$  jam)<sup>(16)</sup>. Menurut penelitian Verdiana, *et al* (2018), pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa lebih baik. Hal tersebut disebabkan karena perolehan suatu senyawa didasari oleh kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut<sup>(21)</sup>.

#### **Daya Hambat Uji Fraksi Fenolik Meniran secara Tunggal terhadap bakteri *S. aureus***

Uji fraksi fenolik meniran tunggal menunjukkan rerata nilai 0 pada hasil pengukuran ZOI (*Zone of Inhibition*). Secara tunggal, fraksi fenolik meniran pada konsentrasi 1000 ppm belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Dosis yang digunakan cenderung rendah untuk *Zone of Inhibition* (ZOI), dimana pada penelitian lain, dosis yang digunakan antara 500-100.000 ppm<sup>(22,23)</sup>. Namun, dosis 1000 ppm terkadang bisa menghasilkan *Zone of Inhibition* (ZOI)<sup>(24)</sup>.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Desfita, dkk (2011) menyebutkan bahwa hasil uji aktivitas ekstrak metanol herba meniran dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona bening sebesar 21,29 mm. Konsentrasi uji yang digunakan pada penelitian Desfita, dkk (2011) sebesar 10%<sup>(23)</sup>. Konsentrasi fraksi fenolik yang rendah bisa menjadi penyebab zona bening tidak terbentuk di area cakram. Senyawa fenolik menurut Tjay dan Rahardja (2007), berkhasiat sebagai bakterisida dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri<sup>(24)</sup>, akan tetapi fraksi fenolik dengan konsentrasi 1000 ppm pada penelitian ini belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan pada fraksi tersebut tidak diketahui komposisi senyawa secara kuantitatif.

Senyawa dalam herba yang memiliki aktivitas antibakteri yakni fenolik, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa fenolik bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sel dan denaturasi protein. Menurut Dwicahyani (2018), senyawa fenol mampu merusak dinding sel dengan cara menginaktivasi enzim, mendenaturasi protein sehingga terjadi penurunan permeabilitas dan kerusakan pada membran sel. Perubahan permeabilitas pada membran dapat mengakibatkan terganggunya transportasi ion ke dalam sel, sehingga pertumbuhan sel terhambat, bahkan terjadi kematian sel<sup>(27)</sup>. Pada penelitian ini ditemukan senyawa fenolik dan flavonoid melalui uji fitokimia. Konsentrasi dosis yang rendah bisa jadi merupakan penyebab tidak adanya *Zone of Inhibition* (ZOI) pada daerah cakram.

#### **Daya Hambat Uji Fraksi Fenolik Meniran dengan Amoxicillin dan Chloramphenicol terhadap *Staphylococcus aureus***

Daya hambat pada kombinasi fenolik meniran dengan *Amoxicillin* menunjukkan interaksi *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan pada semua fraksi, baik fraksi 1 (pelarut aquades), fraksi 2 (pelarut metanol), dan fraksi 3 (pelarut etil asetat). Sedangkan pada *Chloramphenicol* menunjukkan interaksi *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan pada fraksi 2 dan fraksi 3. *Not distinguishable* memiliki arti apabila hasil ZOI kombinasi fenolik meniran dengan antibiotik *Amoxicillin* atau *Chloramphenicol* memiliki rata-rata yang sama dengan ZOI antibiotik tunggal dan signifikansi  $p > 0.05$  (tidak signifikan). Meskipun senyawa fenolik dan flavonoid terdeteksi pada fraksi 1 dan 2, keduanya tidak memiliki efek antibakteri yang terdeteksi. Hal ini dapat dikarenakan konsentrasi kandungan atau jenis fenolik dan/atau flavonoid kurang tinggi, sehingga interaksi antara 2 senyawa dengan kemampuan antibiotik tidak terjadi.

Hasil yang diperoleh dapat pula tidak terjadi karena faktor penelitian. Ketebalan media agar *Muller Hinton Agar* (MHA) juga bisa menjadi penyebab *Zone of Inhibition* (ZOI) tidak terbentuk<sup>(26)</sup>. Ketebalan bakteri yang diinokulum pada media juga dapat mempengaruhi tidak terbentuknya ZOI<sup>(10)</sup>. Selain itu, kelarutan ke dalam cakram juga dapat berengaruh terhadap ZOI. Pada penelitian ini, kelarutan pada cakram menggunakan metode celup. Pada penelitian lain, kelarutan cakram dengan metode diteteskan pada cakram ditemukan adanya aktivitas sebagai antimikroba dengan hasil statistic yang signifikan ( $p < 0,05$ )<sup>(26)</sup>. Namun, hal ini sudah distandarkan pada penelitian ini. Pada media, ketebalan yang digunakan sebesar setengah dari tinggi cawan (0,5-0,6 cm). Bakteri *S. aureus* yang digunakan sudah distandarkan sesuai standar McFarland.

Pada daya hambat hasil kombinasi fenolik meniran fraksi 1 dengan *Chloramphenicol* menunjukkan interaksi potensiasi. Potensiasi diartikan ketika fraksi fenolik meniran tunggal bernilai 0, dan rata-rata kombinasi fenolik meniran dengan *Chloramphenicol* lebih besar daripada rata-rata *Chloramphenicol* tunggal. Proses fraksinasi pada fraksi 1 menggunakan pelarut aquades, dimana air bersifat polar. Pada uji fitokimia meniran, ditemukan senyawa fenolik dan flavonoid dinamakan fenolik juga memiliki sifat polar.

Antibiotik *Chloramphenicol* yang digunakan pada penelitian ini memiliki mekanisme kerja secara intra sel, yakni dengan menghambat sintesis protein yang berikatan dengan sub unit 50S ribosom serta mencegah pembentukan protein bakteri secara langsung<sup>(27)</sup>. Hal ini dapat mengganggu ikatan asam amino baru ke rantai peptida, terutama karena *Chloramphenicol* menghambat enzim peptidiltransferase. Dari hasil kombinasi fenolik meniran fraksi 1 dengan *Chloramphenicol* mampu meningkatkan kinerja dari *Chloramphenicol*.

*Chloramphenicol* diketahui berinteraksi dengan beberapa jenis senyawa dengan nilai interaksi positif atau sinergis, namun mekanisme interaksi pasti belum diketahui. Seperti pada penelitian Sanhueza, *et al* (2017) menyebutkan bahwa *Chloramphenicol* memiliki efek sinergis ketika berinteraksi dengan senyawa fenol dari ekstrak buah anggur pomace terhadap *Staphylococcus aureus*. Senyawa fenol dari ekstrak buah anggur pomace menunjukkan sinergi yang secara signifikan mengurangi konsentrasi hambat minimum (*Minimal Inhibitory Concentration/MIC*) pada *Staphylococcus aureus*<sup>(28)</sup>.

Komponen senyawa fenolik yang larut dalam air yakni asam fenolik, flavonoid, asam galat, asam protocatechuic, asam gentisic dan asam resorcylic<sup>(29,30)</sup>. Senyawa fenolik yang teridentifikasi melimpah pada buah anggur yakni asam galat sebagai komponen paling banyak, asam protocatechuic, quercetin, dan luteolin<sup>(28)</sup>. Pada meniran, terdapat beberapa kesamaan mengenai senyawa fenolik yang digunakan yakni p-asam kumarin, asam vanilla, asam siringat, asam ferulic, kaempferol, epicatechin, dan hesperidin. Meskipun pada penelitian ini tidak dilakukan identifikasi spesifik fenolik, namun pada beberapa literatur disebutkan bahwa meniran diketahui mengandung beberapa senyawa yang sama, sehingga kemungkinan interaksi sama.

Senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antibakteri seperti fenolik sederhana, kumarin, flavonoid<sup>(31)</sup>. Mekanisme kerja fenolik sebagai antibakteri yakni dengan merusak membran sel, mendenaturasi protein, dan menginaktivkan enzim sehingga dinding sel bakteri mengalami penurunan permeabilitas dan mengakibatkan kerusakan<sup>(32)</sup>. Cara kerja fenolik tersebut dapat membantu *chloramphenicol* dalam meningkatkan aktivitasnya sebagai antibakteri. Dengan rusaknya membran sel oleh senyawa fenolik akan memfasilitasi masuknya antibiotik ke sitoplasma sel, sehingga memfasilitasi masuknya *Chloramphenicol* masuk ke dalam bakteri. Meskipun secara klinis *Chloramphenicol* tidak digunakan untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, akan tetapi secara laboratoris, *Chloramphenicol* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menjelaskan mekanisme interaksi yang terjadi.

## KESIMPULAN

1. Metode isolasi fenolik pada meniran memperoleh senyawa fenolik dan flavonoid pada fraksi akuades dan metanol;
2. Fraksi-fraksi senyawa fenolik dari meniran tidak mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara tunggal;
3. Kombinasi fraksi fenolik meniran dengan *Amoxicillin* terhadap *S. aureus* menunjukkan interaksi *Not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan;
4. Kombinasi fraksi akuades fenolik meniran dengan *Chloramphenicol* menunjukkan interaksi potensiasi terhadap *S. aureus*.

## SARAN

1. Melakukan uji kadar fenolik secara kuantitatif untuk memastikan secara objektif kandungan senyawa yang ada;
2. Meningkatkan konsentrasi fraksi fenolik meniran (*Phyllanthus niruri L.*) diatas 1000 ppm;
3. Melakukan uji interaksi fenolik spesifik yang mengandung antibakteri dengan *Amoxicillin* dan *Chloramphenicol*
4. Menggunakan teknik tetesan untuk kelarutan pada cakram.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan FK UNISMA yang telah mendanai penelitian dan kepada dr. Hj. Noer Aini, M.Kes., Ph.D. sebagai peer reviewer jurnal.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Supriatna J. Melestarikan alam Indonesia - Jatna Supriatna - Google Books [Internet]. Pertama. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia; 2008 [cited 2021 Feb 20]. 15 p. Available from: [https://books.google.co.id/books?id=VX0crY5PkFYC&pg=PA17&dq=indonesia+menjadi+negara+keanekaragaman+hayati&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwi3j7eBw\\_fuAhUA63MBHRqEAJ8Q6AEwA3oECAyQAg#v=onepage&q=indonesia+menjadi+negara+keanekaragaman+hayati&f=false](https://books.google.co.id/books?id=VX0crY5PkFYC&pg=PA17&dq=indonesia+menjadi+negara+keanekaragaman+hayati&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwi3j7eBw_fuAhUA63MBHRqEAJ8Q6AEwA3oECAyQAg#v=onepage&q=indonesia+menjadi+negara+keanekaragaman+hayati&f=false)
2. Fatmawati S. Bioaktivitas Dan Konstituen Kimia Tanaman Obat Indonesia - Sri Fatmawati - Google Books [Internet]. Pertama. Deepublish Publisher. Yogyakarta: Penerbit Deepublish; 2019 [cited 2021 Feb 20]. 67 p. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=ojHDwAAQBAJ&pg=PA66&dq=morfologi+meniran&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjBneee2PfuAhVOWX0KHZmWAF4Q6AEwAHoECAEQAg#v=onepage&q=morfologi+meniran&f=false>
3. Rivai H, Septika R, Boestari A. Karakterisasi Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) dengan Analisa Fluoresensi. Vol. 5, Jurnal Farmasi Higea. Padang; 2013.
4. Yasni S. Teknologi Pengolahan dan Pemanfaatan Produk Ekstraktif Rempah - Sedarnawati Yasni - Google Books [Internet]. Bogor: IPB Press; 2013 [cited 2021 Sep 15]. 58, 118 p. Available from: [https://books.google.co.id/books?id=Jeb8DwAAQBAJ&pg=PA58&dq=fenolik+antibakteri&hl=en&newbks=1&newbks\\_redir=0&sa=X&ved=2ahUKEwj7wa-bnYHzAhXYfX0KHwC1CjMQ6AF6BAGGAI#v=onepage&q=fenolik+antibakteri&f=false](https://books.google.co.id/books?id=Jeb8DwAAQBAJ&pg=PA58&dq=fenolik+antibakteri&hl=en&newbks=1&newbks_redir=0&sa=X&ved=2ahUKEwj7wa-bnYHzAhXYfX0KHwC1CjMQ6AF6BAGGAI#v=onepage&q=fenolik+antibakteri&f=false)
5. Pratiwi AR. Pangan Untuk Sistem Imun [Internet]. Al-Baarri AN, Hasdar M, Nurhidajah, Nurrahman, Rohadi, Sumardi, editors. SCU Knowledge Media; 2020 [cited 2021 Jun 22]. Available from:



- [https://books.google.co.id/books?id=A633DwAAQBAJ&newbks=1&newbks\\_redir=0&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.id/books?id=A633DwAAQBAJ&newbks=1&newbks_redir=0&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
6. Putri IA, Risandiansyah R, Faisal. Efek Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) dengan Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol dan Kotrimoksazol terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Kedokt Komunitas*. 2018;6.
  7. Afsiyura F, Fadli Z, Risandiansyah R. Efek Penambahan Fraksi Semi Polar ( F19-23 ) Ekstrak Metanolik Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Daya Hambat Amoxicillin dan Chloramphenicol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Fac Med Univ Islam Malang*. 2019;1-9.
  8. Susilo WA, Fadli MZ, Risandiansyah R. Efek Penambahan Fraksi Semi Polar Ekstrak Metanolik Herba *Phyllanthus niruri*, L. terhadap Daya Hambat Amoxicillin dan Chloramphenicol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Kedokt Komunitas*. 2019;7.
  9. Yasmin F, Risandiansyah R, Aini N. Efek Penambahan Fraksi Polar F29-F32 Ekstrak Metanolik Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap daya hambat Chloramphenicol DAN Amoxicillin pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Bio Komplementer Med*. 2020;7(1):1-9.
  10. Ziaei-Daroukalei N, Ameri M, Zahraei-Salehi T, Ziaei-Daroukalei O, Mohajer-Tabrizi T, Bornaei L. AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection. *MethodsX* [Internet]. 2016;3(232):43-52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mex.2016.01.002>
  11. Nugrahani R, Andayani Y, Hakim A. Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *J Penelit Pendidik IPA*. 2016;2(1).
  12. Shanmugam B, Kondeti R, Shanmugam, Ravi S, Subbaiah VG, Mallikarjuna K, et al. Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Phyllanthus niruri* in Ethanolic, Methanolic and Aqueous Extracts. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2014;27(2):85-9.
  13. Illing I, Safitri W, Erfiana. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen. *J Din*. 2017;8(1):66-84.
  14. Manongko PS, Sangi MS, Momuat LI. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *J MIPA*. 2020;9(2):64.
  15. Syafitri NE, Bintang M, Falah S. Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Curr Biochem*. 2014;1(3):105-15.
  16. Julianto TS. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Kampus Terpadu UII; 2019. 46, 30 p.
  17. Savitri I, Suhendra L, Made Wartini N. PENGARUH JENIS PELARUT PADA METODE MASERASI TERHADAP KARAKTERISTIK EKSTRAK *Sargassum polycystum*. *J REKAYASA DAN Manaj AGROINDUSTRI*. 2017;5(3):93-101.
  18. Eskin M, Przybylski R. Antioxidants and shelf life of foods. In: *Food Shelf Life Stability: Chemical, Biochemical, and Microbiological Changes*. 2000. p. 175-209.
  19. Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2018;7(4):213.
  20. Purnamaningsih N 'Aini, Kalor H, Atun S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) terhadap Bakteri *Escherichia Coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *J Penelit Saintek*. 2017;22(No. 2).
  21. Desfita V, Suryanto D, Munir E. Meningkatkan Peran Biologi dalam Mewujudkan National Achievement with Global Reach. In: *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L) terhadap Bakteri dan Khamir Patogen (Antimicrobial Activity of Meniran (*Phyllanthus niruri* L) on Pathogenic Bacteria and Yeast)*. Medan: USU Press; 2011. p. 150.
  22. Muhammad Furqan. Isolasi Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Fenolik Total dari Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli*. L). [Medan]: Universitas Sumatera Utara; 2018.
  23. Tan Hoan Tjay, Kirana Rahardja. Obat-obat penting: khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya - Google Books [Internet]. Vi. Jakarta: PT Gramedia Jakarta; 2007 [cited 2022 Feb 8]. Available from: [https://books.google.co.id/books?id=TN8QxBMHW6IC&pg=PA247&dq=khasiat+fenolik&hl=en&newbks=1&newbks\\_redir=0&sa=X&ved=2ahUK Ewi91NX1sfD1AhVzIbcAHZJoA4QQ6AF6BAGCEAI#v=onepage&q=khasiat fenolik&f=false](https://books.google.co.id/books?id=TN8QxBMHW6IC&pg=PA247&dq=khasiat+fenolik&hl=en&newbks=1&newbks_redir=0&sa=X&ved=2ahUK Ewi91NX1sfD1AhVzIbcAHZJoA4QQ6AF6BAGCEAI#v=onepage&q=khasiat fenolik&f=false)
  24. Dwicahyani T, Sumardianto, Rianingsih L. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Peng Biotek Has Pi*. <http://www.ejournal->

- s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp [Internet]. 2018 [cited 2022 Mar 18];7(No. 1). Available from: <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jpbhp/article/view/20384/19216>
25. Davis WW, Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I. Factors Influencing Variability and Error1. *Appl Microbiol.* 1971;659–65.
  26. Octaviani M, Fadhli H, Yuneistya E, Tinggi S, Riau IF, Kunci K. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of Shallot (*Allium cepa* L.) Peels Using the Disc Diffusion Method. *Pharm Sci Res.* 2019;6(1):62–8.
  27. Oong GC, Tadi P. Chloramphenicol. *Encycl Toxicol Third Ed* [Internet]. 2021 Jan 31 [cited 2021 Jul 13];837–40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555966/>
  28. Sanhueza L, Melo R, Montero R, Maisey K, Mendoza L, Wilkens M. Synergistic interactions between phenolic compounds identified in grape pomace extract with antibiotics of different classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *PLoS One.* 2017 Feb 1;12(2).
  29. Diniyah N, Lee S-H. Komposisi Senyawa Fenol Dan Potensi Antioksidan Dari Kacang-Kacangan: Review. *J Agroteknologi.* 2020;14(01):91.
  30. Mendes SA, Boas V, Pedro S, Pinho A, Amorim MO, Ferreira S, et al. Studies on the Solubility of Phenolic Compounds. 2017 [cited 2022 May 25]; Available from: [https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/14601/1/Vilas Boas\\_Sérgio.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/14601/1/Vilas%20Boas_S%C3%A9rgio.pdf)
  31. Putra INK. *Substansi Nutrasetikal Sumber Dan Manfaat Kesehatan - I Nengah Kencana Putra - Google Books* [Internet]. Yogyakarta: Deepublish Publisher; 2020 [cited 2022 Jan 5]. 13–18 p. Available from: [https://books.google.co.id/books?id=VovXDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=manfaat+fenolik&hl=en&newbks=1&newbks\\_redir=0&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=manfaat fenolik&f=false](https://books.google.co.id/books?id=VovXDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=manfaat+fenolik&hl=en&newbks=1&newbks_redir=0&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=manfaat%20fenolik&f=false)
  32. Purwantiningsih TI, Suranindyah YY, Widodo. Aktivitas Senyawa Fenol dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Antibakteri Alami untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Bul Peternak* [Internet]. 2014;38(1):59. Available from: <file:///C:/Users/HP/Downloads/4618-7790-1-SM.pdf>