

EFEK PAPARAN JAMU TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber L.*) PADA EFEKTIVITAS KLORAMFENIKOL TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Nina Oktavia, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) diketahui memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Kombinasi ekstrak tapak liman dengan kloramfenikol didapatkan hasil antagonis dan not distinguishable. Namun, belum diketahui apakah hasil yang sama akan didapatkan bila menggunakan jamu yang terjual secara bebas dan dapat dikonsumsi langsung oleh masyarakat. Penelitian ini bertujuan mengetahui interaksi kombinasi jamu tapak liman dengan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus*.

Metode: Dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa aktif jamu tapak liman. Untuk mengetahui daya hambat dilakukan pengukuran *zone of inhibition* antara kombinasi tapak liman dan kloramfenikol, dengan konsentrasi jamu tapak liman sesuai dengan dosis tinggi dan dosis rendah dari dosis yang dianjurkan. Dilakukan pengukuran zona bening untuk mengetahui daya hambat antibiotik menggunakan jangka sorong. Interaksi antibiotik dengan jamu tapak liman diinterpretasikan menggunakan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)* dan berdasarkan data statistik ($p < 0.05$).

Hasil: Kombinasi jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dengan antibiotik kloramfenikol dosis 30 µg menghasilkan ZOI $14,78 \pm 0,61$ mm lebih besar dibandingkan konsentrasi 83,33 ppm yang menghasilkan ZOI $14,20 \pm 0,14$ mm. Interaksi kombinasi jamu tapak liman pada konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm dengan antibiotik kloramfenikol dosis 30 µg tidak dapat dibedakan (not distinguishable).

Kesimpulan: Interaksi kombinasi jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm dengan antibiotik kloramfenikol 30µg tidak dapat dibedakan (not distinguishable).

Kata Kunci: *Elephantopus scaber L.*, Kloramfenikol, Kombinasi Herbal dan Antibiotik, *Zone of inhibition*.
Korespondensi:

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., Ph.D

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

e-mail: riosandiansyah@unisma.ac.id, telepon: (0341) 558959

THE EFFECTS OF EXPOSURE TAPAK LIMAN HERB (*Elephantopus scaber L.*) ON EFFECTIVENESS OF CHLORAMPHENICOL AGAINST *Staphylococcus aureus*

Nina Oktavia, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah
Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Introduction: Tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) is known to have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The combination of tapak liman extract with chloramphenicol was found to be antagonistic and not distinguishable. However, it is not yet known whether the same results will be obtained when using herbs that are sold freely and can be consumed directly by the public. This study aims to determine the interaction of the combination of tapak liman herbal medicine with chloramphenicol against *Staphylococcus aureus*.

Methods: Phytochemical tests were carried out to determine the active compound content of the tapak liman herbal medicine. To determine the inhibition, the zone of inhibition was measured between the combination of tapak liman and chloramphenicol, with the concentration of herbal tapak liman in accordance with high and low doses of the recommended dose. Measurement of the clear zone was carried out to determine the inhibitory power of antibiotics using a caliper. The interaction of antibiotics with herbal medicine tapak liman was interpreted using the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)* method and based on statistical data ($p < 0.05$).

Results: The combination of herbal medicine tapak liman with a concentration of 166.67 ppm with a dose of 30 µg of chloramphenicol gave a ZOI of 14.78 ± 0.61 mm, which was greater than the concentration of 83.33 ppm which produced a ZOI of 14.20 ± 0.14 mm. The interaction of the combination of tapak liman herbs at concentrations of 166.67 ppm and 83.33 ppm with the antibiotic chloramphenicol at a dose of 30 µg was indistinguishable (not distinguishable).

Conclusion: The interaction of the combination of herbal tapak liman at concentrations of 166.67 ppm and 83.33 ppm with the antibiotic chloramphenicol 30 µg can not be distinguished (not distinguishable).

Keyword: *Elephantopus scaber L.*, Chloramphenicol, Combination of Herbs and Antibiotics, *Zone of inhibition*.

Corresponding Author:

Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., Ph.D

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

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

PENDAHULUAN

Sejak dulu masyarakat Indonesia telah menggunakan ramuan obat tradisional Indonesia sebagai upaya pemeliharaan kesehatan, pencegahan penyakit, dan perawatan kesehatan.¹ Tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang telah dikenal selama berabad-abad. Tapak liman mengandung *epifrielinol*, *lupeol*, *stigmaterol*, *triacontan-1-ol*, *dotriacontan-1-ol*, *lupeol acetate*, *deoxyelephan-topin*, *isodeoxyel elephantopin*, *flavonoid*, *polyphe-nol luteolin-7*, dan *glukosida*. Tapak liman digunakan sebagai obat tradisional dalam bentuk segar, dikeringkan, atau diekstraksi dan dimasukkan kedalam kapsul.² Di Indonesia, masyarakat memakai tapak liman untuk mengobati demam, sariawan, radang rahim, pneumonia, disentri, diare, cacar air, nyeri haid, radang tenggorokan, anemia, keputihan, batuk, dan peradangan pada ginjal.³

Antibiotik merupakan terapi yang paling umum digunakan untuk mengobati infeksi. Salah satu antibiotik yang dapat digunakan untuk terapi infeksi adalah kloramfenikol. Kloramfenikol adalah antibiotik spektrum luas yang dapat digunakan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 50S dan secara langsung mencegah pembentukan protein bakteri.⁴ Kloramfenikol terbukti sangat baik terhadap kerentanan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro* dan kemungkinan memiliki peran penting dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).⁵

Terapi kombinasi antibiotik dan obat herbal dapat digunakan untuk memperluas spektrum antimikroba, mencegah terjadinya resistensi, meminimalkan toksisitas, dan menurunkan dosis obat sehingga memiliki aktivitas antimikroba yang lebih besar daripada penggunaan masing-masing obat antimikroba secara individual.⁶ Pada penelitian sebelumnya, kombinasi ekstrak tapak liman dengan kloramfenikol didapatkan hasil antagonis dan not distinguishable. Namun, belum diketahui apakah hasil yang sama akan didapatkan menggunakan jamu yang terjual secara bebas dan dapat dikonsumsi langsung oleh masyarakat. Penelitian ini bertujuan mengetahui interaksi kombinasi jamu tapak liman dengan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental secara *in vitro* yang bersifat analitik laboratorik. Penelitian ini menggunakan jamu tapak liman merek Griya Annur diproduksi oleh CV. GRIYA ANNUR dengan nomor POM TR. 133 372 991 dan nomor batch 8071141. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa dari jamu tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) pada dosis konsumsi, mengetahui pengaruh jamu tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap zona hambat atau zona bening kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai April 2020 di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Universitas Islam Malang.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam jamu tapak liman, sebagai uji pengendalian kualitas jamu tapak liman untuk dibandingkan dengan dengan literatur lain. Uji fitokimia yang pertama adalah uji saponin yaitu dilakukan dengan cara 0,1 gram jamu tapak liman ditambah air panas kemudian dididihkan selama 5 menit. Kemudian disaring dan hasil filtratnya dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1mL HCL 2M dan dikocok selama 10 menit. Positif saponin apabila masih terdapat buih. Uji fenolik dilakukan dengan cara 0,1 gram jamu tapak liman diekstrak dengan 20 mL metanol 70%. Kemudian diambil 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Positif fenolik apabila terbentuk warna biru sampai biru keunguan.²⁵

Pada uji flavonoid 0,1 gram jamu tapak liman ditambah 10 mL aquades kemudian dididihkan selama 5 menit kemudian disaring, hasil filtratnya dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambah beberapa tetes pereaksi NaOH 10%, positif flavonoid apabila terjadi perubahan warna orange/jingga.²⁷ Pada Uji Alkaloid 0,1 gram jamu tapak liman dimasukkan kedalam gelas ukur yang berisi 10 mL CHCl₃ (kloroform) dan 4 tetes NH₄OH kemudian disaring dan filtratnya dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup. Kemudian ditambah 10 tetes H₂SO₄ 2 M lalu dikocok sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam yang berada di atas dipindah kedalam tabung reaksi lain dan ditambahkan pereaksi meyer dan pereaksi dragendorff. Positif alkaloid apabila terdapat endapan warna putih pada penambahan pereaksi

meyer dan terdapat endapan warna merah jingga pada penambahan pereaksi dragendorff. Pada uji tanin 0,1 gram jamu tapak liman ditambahkan dengan 10 mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit dan disaring. Kemudian filtratnya ditambahkan larutan FeCl₃ 1%. Positif tanin apabila terbentuk warna hijau kehitaman.²⁵

Penentuan Konsentrasi

Penelitian ini menggunakan jamu tapak liman merek Griya Annur diproduksi oleh CV. GRIYA ANNUR dengan nomor POM TR. 133 372 991 dan nomor batch 8071141. Pembuatan cakram herbal dilakukan dengan melarutkan 2 kapsul jamu tapak liman (500 mg) kedalam 6L aquadest. Dosis disesuaikan dengan dosis anjuran minum pada jamu karena tidak ditemukannya zona bening yang terbentuk pada saat eksplorasi dosis, dan jumlah pelarut yang digunakan menggambarkan volume darah manusia.

2 kapsul tapak liman yaitu 1000 mg dibagi 6L menghasilkan 166,67 mg/L, kemudian kapsul ditimbang sebesar 166,67 mg dan 83,33 mg (sebagai dosis rendah), kemudian diencerkan dengan 1L aquades sehingga mendapatkan konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm. Penelitian ini menggunakan pengenceran air sebesar 6L yang mengacu pada volume darah manusia. Setelah didapatkan konsentrasi uji, larutan dipindah kedalam tabung ependorf dan dilakukan perendaman cakram selama \pm 20 menit agar cairan jamu dapat meresap kedalam cakram, kemudian dapat dilanjutkan pengujian ZOI.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu atau dua koloni suspensi bakteri diambil dari penyimpanan agar, kemudian dicelupkan kedalam 10mL Nutrient Broth (NB), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Nilai absorbansi dihitung pada panjang gelombang 625 nm, dan bakteri diencerkan dengan NS hingga mencapai nilai absorbansi 0,2 nm. Dilanjutkan penggoresan pada media NA baru dengan menggunakan oshe kolong, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam sehingga didapatkan persediaan bakteri baru.

Pembuatan Media dan Pemiakan Bakteri dengan Metode Spread Plate

Pembuatan media uji dilakukan dengan cara mencampur 10,5 gram MHA dan 7,5 gram Agar yang dilarutkan kedalam 500 mL aquadest dengan menggunakan *schott bottle*. Kemudian *schott bottle* dimasukkan kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit untuk dilakukan pemanasan. Kemudian cakram jamu tapak liman dan cakram antibiotik kloramfenikol disusun kedalam cawan petri dengan ketentuan metode AZDAST. Cakram

ditetesi media agar menggunakan mikropipet agar cakram melekat pada cawan petri, kemudian media agar dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 3-4 mm dan diamkan media hingga solid.

Setelah media agar solid bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media agar dengan metode *spread plate*. Spreader dicelupkan kedalam alkohol kemudian ujung spreader dibakar menggunakan api bunsen \pm 1-2 menit, bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diinokulasi diambil menggunakan mikropipet sebanyak 0.25 mL dan diletakkan ditengah cawan petri, kemudian inokulum bakteri disebarakan pada permukaan media menggunakan spreader dengan gerakan memutar 180° sebanyak 4 putaran. Kemudian inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam.

Pengukuran ZOI

Pengukuran zona hambat atau zona inhibisi (*Zone of inhibition*, ZOI) dilakukan menggunakan metode *Kirby-Bauer*, mengikuti pedoman dari *American Society of Microbiology* (ASM). Pengukuran ZOI dilakukan dengan mengukur diameter zona bening pada sekitar cakram menggunakan jangka sorong. Dengan ditemukannya zona bening pada sekitar cakram menandakan adanya aktivitas antibakteri. Pengukuran ZOI dilakukan sebanyak 3 kali dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian mm.

Penentuan Interaksi

Interpretasi hasil ZOI kombinasi menggunakan metode AZDAST, yaitu untuk mengetahui interaksi antibakteri yang diuji antar antibiotik kloramfenikol (A) dan jamu tapak liman (B). Interaksi Sinergis apabila terbentuk zona bening pada kombinasi kloramfenikol dan jamu tapak liman (A+B) lebih besar dari kloramfenikol tunggal (A) dan jamu tunggal (B), dan lebih kecil atau lebih besar dari kloramfenikol kombinasi (AA) dan atau jamu kombinasi (BB). Potensiasi apabila salah satu dari (A) atau (B) sama dengan nol, dan (A+B) lebih besar dari (A) dan (B), dan lebih kecil atau lebih besar dari (AA) dan atau (BB). Antagonis apabila (A+B) lebih kecil dari (A) atau (B). Aditif terjadi apabila (A+B) sama dengan (AA) dan atau (BB). Sedangkan interaksi not distinguishable apabila (A+B) sama dengan salah satu (A) atau (B).²⁴

Analisa Data Statistik

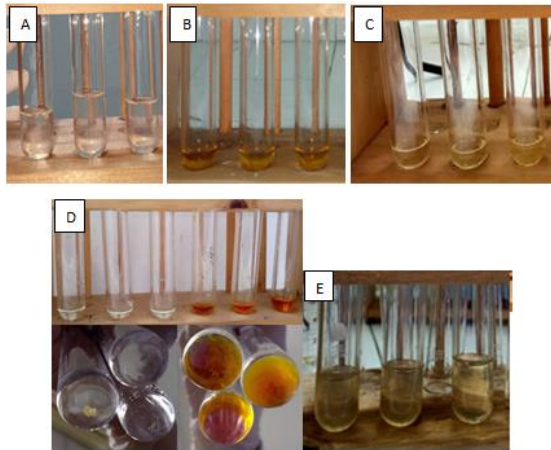
Hasil ZOI dikur dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian mm dan menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapatkan rata-rata dan standar deviasi. Uji statistik yang digunakan apabila persebaran data normal yaitu menggunakan *one way ANOVA*. Apabila hipotesis 0 ditolak dilakukan

analisis pasca anova (*post hoc*). Fungsinya adalah untuk mencari kelompok berbeda.

HASIL

Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yaitu saponin, fenolik, flavonoid, alkaloid dan tanin yang terkandung dalam larutan jamu tapak liman. Pada gambar 1 dan tabel 1 didapatkan hasil uji fitokimia jamu tapak liman dimana tidak terdeteksi adanya senyawa saponin, fenolik, flavonoid, alkaloid dan tanin pada larutan jamu tapak liman.



Gambar 1: Hasil Uji Fitokimia

Keterangan: Uji skrining fitokimia. A: Uji *saponin*; B: Uji *fenolik*; C: Uji *flavonoid*; D: Uji *alkaloid* E: Uji *tanin*. Larutan jamu tapak liman tidak menghasilkan busa permanen pada uji *saponin*, tidak terdapat perubahan warna menjadi biru keunguan pada uji *fenolik*, tidak terdapat perubahan warna menjadi kuning pada uji *flavonoid*, tidak timbul endapan pada uji *alkaloid*, tidak terdapat perubahan warna hijau kehitaman pada uji *tanin*.

Tabel 1: Hasil Uji Fitokimia Larutan Jamu Tapak Liman

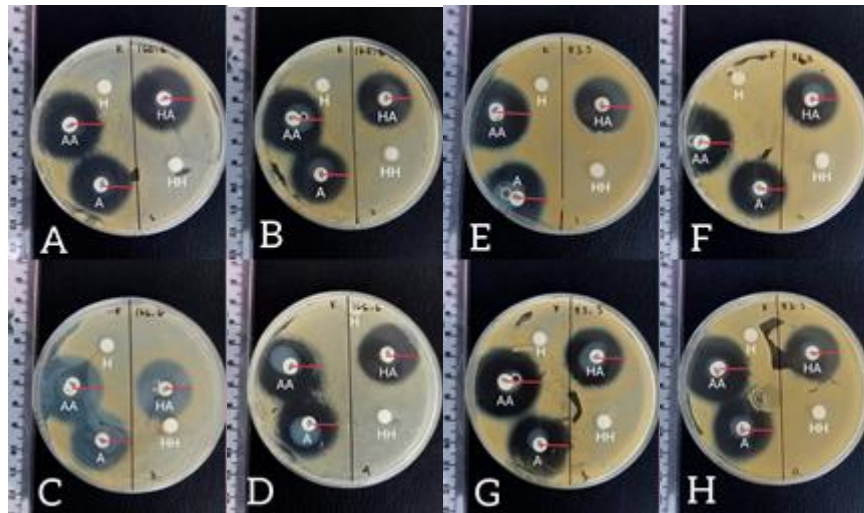
Senyawa yang Diuji	Hasil Uji Fitokimia					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
<i>Saponin</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Fenolik</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Flavonoid</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Alkaloid</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tanin</i>	-	-	-	-	-	-

Keterangan: P: pengamat. Hasil uji fitokimia diamati oleh 6 pengamat. Hasil uji fitokimia menunjukkan tidak terdeteksi adanya senyawa saponin, fenolik, flavonoid, alkaloid dan tanin.

Hasil Pengukuran Zona Hambat (ZOI) Tunggal Larutan Jamu Tapak Liman dan Kloramfenikol Terhadap *Staphylococcus aureus*

ZOI diukur dengan cara mengukur diameter zona bening pada sekitar cakram menggunakan jangka sorong. Dengan ditemukannya zona bening pada sekitar cakram menandakan adanya aktivitas antibakteri. Hasil pengukuran ZOI larutan tapak liman konsentrasi 166,67 ppm *single disk* (H) dan *double disk* (HH) tidak didapatkan ZOI ($00,00 \pm 00,00$ mm) terhadap *Staphylococcus aureus* pada semua kelompok. Pada Kloramfenikol *single disk* (A) didapatkan ZOI sebesar $27,56 \pm 1,87$ mm terhadap *Staphylococcus aureus* sedangkan pada kloramfenikol *double disk* (AA) didapatkan ZOI sebesar $29,78 \pm 1,27$ mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Hasil pengukuran ZOI larutan tapak liman konsentrasi 83,33 ppm *single disk* (H) dan *double disk* (HH) tidak didapatkan ZOI ($00,00 \pm 00,00$ mm) terhadap *Staphylococcus aureus* pada semua kelompok. Pada Kloramfenikol *single disk* (A) didapatkan ZOI sebesar $28,32 \pm 0,62$ mm sedangkan pada kloramfenikol *double disk* (AA) didapatkan ZOI sebesar $29,78 \pm 1,27$ mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran ZOI larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 dan konsentrasi 83,33 dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 2.



Gambar 2: Hasil Pengukuran Zona Hambat (ZOI)

Keterangan: ZOI diukur dalam diameter zona bening (garis merah). A: Kelompok 1 tapak liman konsentrasi 166,67 ppm; B: Kelompok 2 tapak liman konsentrasi 166,67 ppm; C: Kelompok 3 tapak liman konsentrasi 166,67 ppm; D: Kelompok 4 tapak liman konsentrasi 166,67 ppm; E: Kelompok 1 tapak liman konsentrasi 83,33 ppm; F: Kelompok 2 tapak liman konsentrasi 83,33 ppm; G: Kelompok 3 tapak liman konsentrasi 83,33 ppm; H: Kelompok 4 tapak liman konsentrasi 83,33 ppm; HH: Larutan jamu tapak liman double disk; H: Larutan jamu tapak liman single disk; HA: Kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol; AA: Kloramfenikol double disk; A: Kloramfenikol single disk.

Tabel 2: Hasil Pengukuran Zona Hambat (ZOI)

Konsentrasi Tapak Liman	Sampel	Rerata \pm SD (mm)	Signifikansi	Jenis Interaksi AZDAST
83,33 ppm	HH	0,00 \pm 0,00	0,00	Not Distinguishable
	H	0,00 \pm 0,00	0,00	
	HA	28,40 \pm 0,27		
	A	28,32 \pm 0,62	0,30	
	AA	32,48 \pm 4,64	0,89	
166,67 ppm	HH	0,00 \pm 0,00	0,00	Not Distinguishable
	H	0,00 \pm 0,00	0,00	
	HA	29,56 \pm 1,22		
	A	27,56 \pm 1,87	0,10	
	AA	29,78 \pm 1,27	0,86	

Keterangan: HH: Larutan jamu tapak liman *double disk*; H: Larutan jamu tapak liman *single disk*; HA: Kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol; A: Kloramfenikol *single disk*; AA: Kloramfenikol *double disk*.

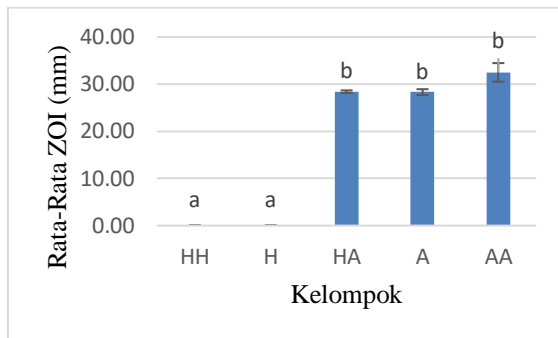
Hasil Pengukuran Zona Hambat (ZOI) Kombinasi Larutan Jamu Tapak Liman dan Kloramfenikol Terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengamatan ZOI kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 2, gambar 3 dan gambar 4. Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa ZOI kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 166,67 pmm menghasilkan ZOI sebesar 29,56 \pm 1,22 mm. Sedangkan ZOI kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol

terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 83,33 ppm menghasilkan ZOI sebesar 28,40 \pm 0,27 mm.

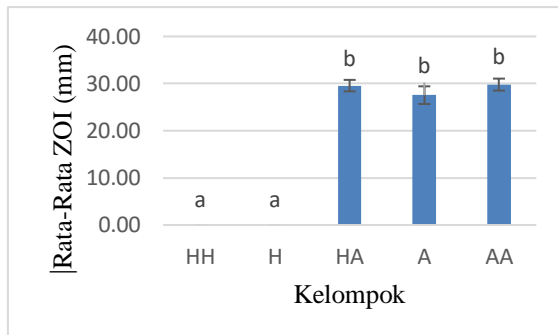
Pada gambar 3 dapat dilihat bahwa ZOI kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 166,67 pmm lebih besar dari pada ZOI kloramfenikol *single disk* (27,56 \pm 1,87 mm) dan lebih kecil dari pada ZOI kloramfenikol *double disk* (29,78 \pm 1,27 mm). Sedangkan pada gambar 4 dapat dilihat bahwa ZOI kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 83,33 pmm lebih besar dari

pada ZOI kloramfenikol *single disk* ($28,32 \pm 0,62$ mm) dan lebih kecil dari pada ZOI kloramfenikol *double disk* ($32,48 \pm 4,64$ mm).



Gambar 3: Histogram Zona Hambat (ZOI) Larutan Jamu Tapak Liman Konsentrasi 83,33 ppm

Keterangan: Uji statistik menggunakan One Way ANOVA dan Post Hoc LSD Test. : HH: Larutan jamu tapak liman *double disk*; H: Larutan jamu tapak liman *single disk*; HA: Kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol; A: Kloramfenikol *single disk*; AA: Kloramfenikol *double disk*; a,b: Notasi berbeda. Menunjukkan Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 4: Histogramam Zona Hambat (ZOI) Larutan Jamu Tapak Liman Konsentrasi 166,67 ppm

Keterangan: Uji statistik menggunakan One Way ANOVA dan Post Hoc LSD Test. : HH: Larutan jamu tapak liman *double disk*; H: Larutan jamu tapak liman *single disk*; HA: Kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol; A: Kloramfenikol *single disk*; AA: Kloramfenikol *double disk*; a,b: Notasi berbeda. Menunjukkan Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Interaksi Kombinasi Larutan Tapak Liman dengan Kloramfenikol Berdasarkan Metode AZDAST

Pada table 2 dapat dilihat bahwa kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 166,67 ppm menghasilkan ZOI ($29,56 \pm 1,22$ mm) lebih besar daripada ZOI kloramfenikol *single disk* ($27,56 \pm 1,87$ mm) dan tapak liman *single disk* ($00,00 \pm 00,00$ mm). Pada uji statistik one way ANOVA kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 166,67 ppm didapatkan adanya peningkatan rata-rata ZOI dengan hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$) pada HA dan A sedangkan pada HA dan H didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$).

Sedangkan pada kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 83,33 ppm menghasilkan ZOI ($28,40 \pm 0,27$ mm) lebih besar daripada ZOI kloramfenikol *single disk* ($28,32 \pm 0,62$ mm) dan tapak liman *single disk* ($00,00 \pm 00,00$ mm). Pada uji statistik one way ANOVA kombinasi larutan tapak liman dan kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 83,33 ppm didapatkan adanya peningkatan rata-rata ZOI dengan hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$) pada HA dan A sedangkan pada HA dan H didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Analisa Kandungan Senyawa Aktif Jamu Tapak liman

Pada uji fitokimia larutan jamu tapak liman tidak menghasilkan busa permanen pada uji saponin, tidak terdapat perubahan warna menjadi biru keunguan pada uji fenolik, tidak terdapat perubahan warna menjadi kuning pada uji flavonoid, tidak timbul endapan pada uji alkaloid, tidak terdapat perubahan warna hijau kehitaman pada uji tanin. Sehingga pada penelitian ini larutan jamu tapak liman tidak terdeteksi mengandung senyawa antibakteri. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian sebelumnya dimana ekstrak tapak liman mengandung alkaloid dan fenol.⁸ Pada penelitian lain uji fitokimia pada jamu tapak liman dengan merk yang sama tidak ditemukan senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, dan saponin.²⁸

Penelitian ini menggunakan jamu tapak liman yang sudah dalam bentuk kapsul, sehingga tidak dapat diketahui pasti komposisi dari tapak liman. Kemungkinan jamu tapak liman tersebut tercampur zat lain atau dicampur dengan ekstrak lain sehingga kandungan senyawa tapak liman tidak dapat terdeteksi. Tidak terdeteksi senyawa juga dapat disebabkan uji yang digunakan mungkin kurang sensitif, pengenceran jamu berbeda atau kurang tepat, dosis jamu terlalu sedikit. Penelitian ini menggunakan 2 kapsul jamu tapak timan, yang mana seharusnya menggunakan 6 kapsul karena anjuran minum jamu tapak liman 3 kali sehari sekali minum 2 kapsul.

Penelitian ini menggunakan dosis anjuran minum dan setengah dosis anjuran minum yang mana apabila menggunakan dosis tersebut sebaiknya ditambah sedikit dosis tersebut karena kemungkinan dapat terjadi perubahan massa. Variabilitas senyawa aktif dapat muncul pada kondisi penanaman yang berbeda. Faktor genetik pada tanaman, tahap perkembangan tanaman memiliki kandungan metabolit yang berbeda, hal tersebut dikarenakan perbedaan tingkat diferensiasi sel menentukan tingkat sintesis senyawa tersebut. Faktor lain adalah iklim (cahaya, suhu, kelembaban), interaksi dengan organisme lain dan kondisi geografi dapat mengubah komposisi metabolit sekunder pada tanaman tapak liman.²⁶

Pada penelitian ini terdapat bias berupa tidak diketahui dengan pasti komposisi dan proses pembuatan jamu tapak timan karena tidak tercantum dalam kemasan jamu tapak liman. Kekurangan penelitian ini adalah pada saat penentuan konsentrasi penelitian ini menggunakan 2 kapsul jamu tapak liman yang mana seharusnya menggunakan 6 kapsul karena anjuran minum 3 kali sehari sekali minum 2 kapsul.

Analisa Daya Hambat Jamu Tapak Liman dan Kloramfenikol secara Tunggal Terhadap *Staphylococcus aureus*

Pada hasil pengukuran ZOI larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan konsentrasi 83,33 ppm *single disk* maupun *double disk* tidak ditemukan adanya zona bening yang terbentuk. Sehingga dapat diketahui larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm tidak memiliki aktifitas antibakteri. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena konsentrasi larutan yang terlalu kecil diduga akibat metode pengenceran kurang tepat yaitu menggunakan 2 kapsul yang mana seharusnya 6 kapsul, sehingga tidak terbentuk ZOI. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 166,67 ppm dan 83,33 ppm, sedangkan konsentrasi yang dibutuhkan ekstrak tapak liman untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebesar 3×10^5 ppm.²⁹ Bagian tumbuhan dari sampel jamu tapak liman pada penelitian ini adalah bagian daun. Bagian tumbuhan jamu tapak liman yang digunakan juga mempengaruhi efek penghambatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dimana bagian akar memiliki zona yang lebih besar daripada bagian daun dari tapak liman.²⁹

Tidak ditemukannya zona bening tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm pada penelitian ini berlawanan dengan penelitian Yaumi dkk (2018) yang menyatakan bahwa tapak liman memiliki aktifitas antibakteri, uji zona hambat *crude extract* tapak liman secara tunggal terhadap *Staphylococcus aureus* pada penelitian tersebut didapatkan zona bening $12,33 \pm 1,53$ mm, tapak liman yang digunakan pada penelitian tersebut adalah ekstrak simplisia halus yang dikeringkan kemudian dicairkan menggunakan methanol 96%.⁷ Pada penelitian lain, uji zona hambat fraksi 1-8 tapak liman secara tunggal terhadap *Staphylococcus aureus* didapatkan zona bening pada fraksi 5, 6, 7 dan 8 dengan dosis 15 μ l (Fx) menggunakan metode ekstraksi maserasi dari simplisia tapak liman.⁸ Pada penelitian uji zona hambat fraksi 9-14 tapak liman secara tunggal terhadap *Staphylococcus aureus* didapatkan zona bening pada fraksi 9, 10, 11, 12, 13 dan 14 dengan dosis 15 μ l (Fx) menggunakan metode ekstraksi maserasi yang dimodifikasi dari simplisia tapak liman.⁹

Penelitian ini menggunakan antibiotik kloramfenikol 30 μ g *single disk* dan *double disk*. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 50S dan secara langsung mencegah pembentukan protein bakteri.⁴ Kloramfenikol terbukti sangat baik terhadap kerentanan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro* dan kemungkinan memiliki peran penting dalam pengobatan infeksi yang disebabkan oleh Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).⁵

Tidak ditemukannya zona bening pada larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan konsentrasi 83,33 ppm *single disk* maupun *double disk* diduga karena tidak terdeteksi adanya senyawa saponin, fenolik, flavonoid, alkaloid dan tanin pada larutan jamu tapak liman yang mana senyawa tersebut diketahui memiliki aktifitas antibakteri.

Analisa Daya Hambat dan Interaksi Kombinasi Berdasarkan Metode AZDAZT Jamu Tapak Liman dan Kloramfenikol Terhadap *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil uji dengan menggunakan metode ASDAZT dan pengolahan data statistik didapatkan hasil kombinasi larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dengan kloramfenikol 30 μ g didapatkan zona bening lebih besar dari larutan jamu tapak liman *single disk* dan *double disk* akan tetapi tidak berbeda signifikan ($p>0.05$). Sedangkan pada kloramfenikol *single disk* zona bening lebih besar namun lebih kecil dari kloramfenikol *double disk* dengan data yang signifikan ($p<0.05$). Hasil yang diperoleh dari kombinasi larutan jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dengan kloramfenikol 30 μ g adalah *Not distinguishable* (tidak dapat dibedakan).

Sedangkan pada kombinasi larutan tapak liman konsentrasi 83,33 ppm dan kloramfenikol 30 μ g didapatkan zona bening lebih besar dari larutan jamu tapak liman *single disk* akan tetapi tidak berbeda signifikan ($p>0.05$) dan lebih besar dari pada larutan jamu tapak liman *double disk* dengan data yang signifikan ($p<0.05$). Sedangkan pada kloramfenikol *single disk* zona bening lebih besar namun lebih kecil dari kloramfenikol *double disk* dengan data yang signifikan ($p<0.05$). Hasil yang diperoleh dari kombinasi larutan jamu tapak liman dengan kloramfenikol konsentrasi 83,33 ppm adalah *Not distinguishable* (tidak dapat dibedakan).

Interaksi kombinasi *Not distinguishable* (tidak dapat dibedakan) pada penelitian ini terjadi karena tidak terjadi perbedaan signifikan pada kombinasi dengan salah satu *single disk* herbal atau antibiotik. Hal tersebut terjadi karena tidak ada interaksi saling menguatkan atau melemahkan pada kombinasi tapak liman dengan kloramfenikol.²⁸ Apabila ZOI kombinasi sama dengan salah satu *single disk* herbal atau antibiotik maka interaksi kombinasi antibiotik dengan kloramfenikol adalah *Not distinguishable* (tidak dapat dibedakan).²⁴

Alasan yang mengakibatkan hasil *not distinguishable* karena tidak ada senyawa aktif dalam herbal; mungkin didapatkan senyawa aktif dalam jumlah yang kecil, namun tidak berinteraksi dengan antibiotik; mungkin didapatkan senyawa aktif dalam jumlah kecil dan berinteraksi dengan antibiotik, namun, terdapat senyawa-senyawa lain yang menjadikan interaksinya saling meniadakan.

KESIMPULAN

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

1. Jamu tapak liman tidak teridentifikasi mengandung senyawa metabolit aktif
2. Jamu tapak liman tidak memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*
3. Kombinasi jamu tapak liman konsentrasi 166,67 ppm dan 83,33 ppm dengan antibiotik kloramfenikol adalah *not distinguishable*.

SARAN

Adapun saran untuk mengembangkan dan meningkatkan penelitian selanjutnya adalah:

1. Melakukan penelitian dengan menggunakan dosis yang lebih besar dan menggunakan pelarut lain
2. Melakukan penelitian untuk mengetahui komposisi jamu tapak liman
3. Melakukan penelitian *in-silico* herbal tapak liman sebagai antibakteri
4. Menguji kandungan zat aktif tapak liman dengan uji fitokimia yang lebih sensitif.
5. Melakukan penelitian lanjutan secara *in-vivo*

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah mendanai penelitian, Laboratorium LHB dan Mikrobiologi FK UNISMA dan teman-teman yang telah bekerjasama dalam penelitian dari awal hingga akhir.

DAFTAR PUSTAKA

1. The Indonesian Ministry of Health. 2017. Indonesian Traditional Medicine Herb Formulary. Jakarta: Minister of Health of the Republic of Indonesia
2. Djati M. Sasmito, Hindun Habibu, Nabilah A. Jatiatmaja, Muhaimin Rifai. 2015. Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) Extract Induced CD4+ and CD8+ Differentiation from Hematopoietic Stem Cell/Progenitor Cell Proliferation of Mice (*Mus musculus*). Malang: University of Brawijaya Malang. Vol. 5 No. 2
3. Nonci Faridha Yenny, Rusli, Atqiyah Abidah. 2014. Antimicrobial Ethanol Extract of Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L.) Leaf Extract Using Bioautogrammatic TLC Method. Makassar: Alauddin State Islamic University Makassar. Vol.2 No.4
4. Taylor, Tracey A. and Chandrashekhar G. Unakal. 2019. *Staphylococcus Aureus*. National Center for Biotechnology Information, U.S: National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
5. Fayyaz Muhammad , Irfan Ali Mirza, Zaheer

- Ahmed, Shahid Ahmad Abbasi, Aamir Hussain and Shamshad Ali. 2013. *In vitro* Susceptibility of Chloramphenicol Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Pakistan: Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan. Vol. 23 (9): 637-640
6. Cahyono Wulan. 2013. Antibacterial Activity of Combination of Red Betel Leaf Extract (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) and Chloramphenicol Against *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, AND *Staphylococcus aureus* and their bioautograms. Surakarta: Faculty of Pharmacy, Muhammadiyah University, Surakarta
 7. Yaumi A.M, Verryana, Rio Risandiansyah., Faisal., 2018. Effects of Combination of Tapak Liman (*Elephantopus Scaber* L.) with Antibiotics Amoxicillin, Chloramphenicol and Cotrimoxazole on Growth Power of *S. aureus* and *E. coli* bacteria *in vitro*. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang
 8. Pitaloka Rizka Eliya, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah. 2019. Effect of Combination of Ethyl Acetate Fraction (F1-F8) Methanolic Extract of Tapak Liman (*Elephantopus scaber* Linn) With Amoxicillin or Chloramphenicol Against the Zone of Inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang. Vol 7 No. 1
 9. Boesary, M. H. A, Faisal, Rio Risandiansyah. 2019. Effect of Addition of Semi-Polar Fraction (F9-F14) *Elephantopus scaber* L. Methanolic Extract on the Inhibitory Power of Amoxicillin or Chloramphenicol on *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli*. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang. Vol. 6 No. 3
 10. Rakhma Nurma Alifia, Zainul Fadli, Rio Risandiansyah. 2019. Effect of Addition of Semi Polar Fraction (F15-F19) Tapak Liman Methanol Extract on Inhibitory Power of Amoxicillin and Chloramphenicol Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang. Vol 8 No. 1
 11. Dwary Azura Fransisca, Faisal Faisal, Rio Risandiansyah. 2019. Effect of Addition of Semi-Polar Fraction (F20-F26) of Tapak Liman Methanolic Extract on Inhibitory Power of Amoxicillin or Chloramphenicol on *Staphylococcus Aureus* or *Escherichia Coli*. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang. Vol. 7 No. 1
 12. Dewi Fitri Rizqiyana, Rio Risandiansyah, Zainul Fadli. 2019. Effect of Combination of Polar Fraction F27-F32 *Elephantopus scaber* Linn with Amoxicilin and Chloramphenicol on Inhibitory Power in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang. Vol 8 No. 1
 13. Balasubramanian Divya , Lamia Harper, Bo Shopsin, and Victor J. Torres. 2017. *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments. National Center for Biotechnology Information, U.S: National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5353994/>
 14. Syahrurachman, et al. 2010. Textbook of Medical Microbiology. Lecturer at the Faculty of Medicine, University of Indonesia. Revised Edition. Jakarta : Binarupa Script
 15. Princess, Hanna Shofiana. 2017. The sensitivity of *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from mastitis milk to several antibiotics. Surabaya: Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University
 16. Oong, Ginny C and PrasannaTadi . 2020. Chloramphenicol. National Library of Medicine, US: National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555966/>
 17. Hasan et al. 2014. Plant Atlas of South Sulawesi. Makassar: Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Makassar State University
 18. Dewi, Nur Alfi Kusumah and Anas Subarnas. 2018. The Effectiveness of Several Types of Plants as Avian Influenza (Avian Influenza) Antivirus. Bandung: The Effectiveness of Several Types of Plants as Avian Influenza (Avian Influenza) Antivirus. Vol. 16 No. 1
 19. Dharma, Surya, Adirman, Elisma. 2013. Analgesic Effects of Ethanol Extract of Tapak Liman Leaves (*Elephantopus scaber* L.) on Male White Mice. Padang: Faculty of Pharmacy, Andalas University (UNAND) Padang College of Pharmacy (STIFARM). Vol. 5 No. 1
 20. Zuraida, Sulistiyani, Dondin, Sajuthi, Irma Herawati Suparto. 2017. Phenols, Flavonoids and Antioxidant Activities in Pulain (R.Br) Bark Extract. Bandung: Bogor Agricultural University. Vol. 35 No. 3
 21. Arifin, Bustanul and Sanusi Ibrahim. 2018. Structure, Bioactivity And Antioxidants Of Flavonoids Structure, Bioactivity And Antioxidants Of Flavonoids. Padang: Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Andalas University. Vol. 6 No. 1
 22. Faizah, Nurul and Muhammad Sasmito Djati. 2014. Effect of Leaf Extract of *Elephantopus scaber* L. and *Polyscias obtusa* on T Cell Modulation of CD8+ and CD8+CD62L+ Mice Balb/c. Malang: Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Brawijaya. Vol. 2 No. 3
 23. Ningramum Retno, Elly Purwanti, Sukarsono. 2016. Alkaloid Compound Identification of *Rhodomyrtus tomentosa* Stem as Biology Instructional
 24. Ziaei-Darounkalaei Navid, Mehrdad Ameri, Taghi Zahraei-Salehi, Omid Ziaei-Darounkalaei, Tahereh Mohajer-Tabrizi, and Lotfollah Bornaeif. 2016. AZDAST The New Horizon In

- Sntimicrobial Synergism Detection. U.S. National Library of Medicine: National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4929268/>
25. Nugramahani Rizki, Yayuk Andayani, Aliefman Hakim. 2016. Phytochemical Screening of Bean Extract (*Phaseolus vulgaris*) in Powder Preparation. Mataram: University of Mataram. Vol.2 No.1
 26. Rachmawati, Diah. 2020. Dynamics of Environmental Factors and Their Implications on Growth and Biosynthesis of Secondary Metabolites. Yogyakarta: Faculty of Biology UGM
 27. Ikalinus Robertino, Sri Kayati Widyastuti, Ni Luh Eka Setiasih. 2015. Phytochemical Screening of the Ethanol Extract of Moringa (*Moringa oleifera*) Stem Bark. Denpasar: Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University. Vol.4 No.1
 28. Hanifati Shabrina Yasyfi, Noer Aini, Rio Risandiansyah. 2021. Effect of Combination of Herbal Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) with Amoxicillin on the Growth Inhibition of *Staphylococcus aureus*. Malang: Faculty of Medicine, Islamic University of Malang
 29. Wiegand, I., Hilpert, K. and Hancock, R.E., Agar and Broth Dilution Methods to Determine The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances. *Nature protocols*. 2008. 3(2): 163- 175

