

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI SEFOTAKSIM DAN 10 EKSTRAK  
TANAMAN OBAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* RESISTEN DAN  
*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)



Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I  
Fakultas Farmasi

Oleh:

ARY ISNAINI ARIFIN

K 100 120 071

PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2016

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI SEFOTAKSIM DAN 10  
EKSTRAK TANAMAN OBAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*  
RESISTEN DAN *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

**PUBLIKASI ILMIAH**

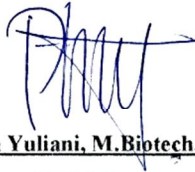
oleh:

**ARY ISNAINI ARIFIN**

**K 100 100 071**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



**Ratna Yuliani, M.Biotech.St**

**NIK.957**

HALAMAN PENGESAHAN

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI SEFOTAKSIM DAN 10  
EKSTRAK TANAMAN OBAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*  
RESISTEN DAN *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

OLEH


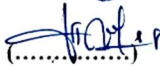

ARY ISNAINI ARIFIN

K 100 120 071

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari Jumat, 29 Juli 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Azis Saifudin Ph.D., Apt  
(Ketua Dewan Penguji)
2. Ambar Yunita Nugraheni, M.Sc., Apt  
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Ratna Yuliani, M.Biotech.St.  
(Anggota II Dewan Penguji)

  
(.....)  
  
(.....)  
  
(.....)

Dekan,



## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

**Surakarta, 29 Juli 2016**

Penulis



**ARY ISNAINI ARIFIN**

**K 100 120 071**

# AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI SEFOTAKSIM DAN 10 EKSTRAK TANAMAN OBAT TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* RESISTEN DAN *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

## Abstrak

Resistensi menyebabkan penurunan khasiat antibakteri pada antibiotik. *Escherichia coli* resisten terhadap antibiotik sefotaksim dengan persentase 90,16% sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten terhadap sefotaksim sebesar 82,69 %. Salah satu upaya untuk mengatasi resistensi adalah dengan mengkombinasikan antibiotik dan ekstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi sefotaksim dan 10 ekstrak tanaman obat terhadap bakteri *E. coli* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) serta mengetahui senyawa penanda dalam ekstrak kayu secang yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Uji aktivitas ekstrak terhadap bakteri dan uji kombinasi antibiotik dan ekstrak dilakukan dengan metode Kirby Bauer. Kontrol pelarut yang digunakan adalah DMSO atau etanol sedangkan kontrol antibiotik adalah sefotaksim. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan menggunakan fase gerak toluen:etil asetat:metanol:asam format (4:6:1:0,5) dan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> nm. Pengamatan hasil dilihat pada sinar tampak, UV 254 nm dan UV 366 nm. Hasil penelitian kombinasi sefotaksim dan 10 ekstrak tanaman menunjukkan tidak adanya peningkatan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada bakteri MRSA peningkatan aktivitas antibakteri terjadi pada kombinasi ekstrak rimpang lengkuas, umbi bawang putih, dan daun pepaya. Hasil KLT menunjukkan senyawa penanda pada ekstrak kayu secang adalah brazilin.

**Kata Kunci:** *Escherichia coli*, MRSA, sefotaksim, ekstrak, antibakteri

## Abstract

Resistance causes a decrease in antibacterial efficacy on antibiotics. *Escherichia coli* has been resistant to cefotaxime with percentage 90.16% whereas *Staphylococcus aureus* resistant to cefotaxime with percentage of 82.69%. One effort that can be done to overcome the resistance is to combine antibiotics and plant extract. The purpose of this research were to investigate the antibacterial activity of the combination of cefotaxime and 10 plant extracts against *E. coli* and *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) and marker in extract that has the highest antibacterial activity. The extraction was done by maceration method. Antibacterial activity of extract against bacteria and combination of antibiotics with extract were performed with Kirby Bauer method. DMSO or ethanol was used as solvent control while the antibiotic control was cefotaxime. Thin Layer Chromatography (TLC) was done using mobile phase of toluene: ethyl acetate: methanol: formic acid (4:6:1:0,5) and silica gel GF<sub>254</sub> nm as stationary phase. The results was observed under visible, UV 254 nm and UV 366 nm light. The result showed that plant extract did not enhance antibacterial activity of cefotaxime against *E. coli* and antibacterial activity against MRSA increased when cefotaxime combined with galangal, garlic, and papaya leaf extract. Antibiotic activity test showed that extract of sappanwood produced the biggest inhibition zone against *E. coli* and MRSA. The results of the TLC showed that marker compound in sappanwood extract is brazilin.

**Keywords:** *Escherichia coli*, MRSA, cefotaxime, extract, antibacterial.

## 1. PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik yang disebabkan oleh bakteri menjadi masalah kesehatan yang serius. Berkembangnya resistensi antibakteri terjadi karena tekanan seleksi yang berkaitan dengan penggunaan antibakteri dan penyebaran bakteri resisten (Menteri Kesehatan RI, 2015). Salah satu antibiotik yang mengalami resistensi adalah sefotaksim. Persentase resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik sefotaksim sebesar 90,16 % sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* resistensi terhadap sefotaksim sebesar 82,69 % (Kumar et al., 2013).

*Escherichia coli* menjadi penyebab paling banyak infeksi pada kasus diare. Terapi antibiotik pada kasus diare berguna untuk mengurangi frekuensi diare. Terapi yang kurang rasional akan menyebabkan bakteri yang semula sensitif menjadi resisten (Jurnalis et al., 2008). *Escherichia coli* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menjadi penyebab infeksi sepsis. Pengobatan sepsis dengan infeksi saluran kemih diatasi dengan antibiotik sefotaksim. Sefotaksim merupakan antibiotik sefalosporin generasi 3 yang memiliki spektrum luas aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Burns et al., 2008).

Sifat antimikroba dari berbagai tanaman banyak diteliti selama bertahun-tahun untuk mengatasi masalah resistensi. Hal ini berguna dalam upaya meningkatkan kualitas hidup serta menghindari resistensi. Pentingnya penentuan komponen kimia dari suatu tanaman membantu dalam mengembangkan obat yang lebih efektif (Ishola, 2009). Beberapa tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri adalah kulit biji jambu mete yang mengandung asam anakardat yang dipercaya memiliki aktivitas antibakteri. Daun pepaya mengandung senyawa tanin dan kayu secang mengandung brazilin bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Daun sirih mengandung sterol yang memiliki aktivitas bakterisida yang luas terhadap berbagai patogen. Biji pala mengandung trimistin, bawang putih mengandung alisin serta bunga cengkeh yang mengandung eugenol mempunyai aktivitas antibakteri yang luas pada Gram positif dan Gram negatif. Daun kemangi mengandung asam linoleat dan rimpang lengkuas mengandung sineol dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* (Baskaran et al., 2012; Elaine et al., 2006; Nirmal et al., 2015; Pattanayak et al., 2010; Simpen, 2008).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam mengatasi resistensi adalah mengkombinasikan antibiotik dengan tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri (Elaine et al., 2006). Tujuan dari kombinasi adalah untuk meningkatkan aktivitas antibakteri dari antibiotik. Tanaman yang digunakan adalah kulit biji jambu mete, daun jambu mete, daun kemangi, daun sirih, daun pepaya, umbi bawang putih, bunga cengkeh, kayu secang, buah pala dan rimpang lengkuas yang dipercaya memiliki aktivitas antibakteri. Kombinasi ini diharapkan mampu meningkatkan aktivitas antibiotik, mencapai efek sinergis. Maka dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri antibiotik sefotaksim yang dikombinasikan dengan ekstrak tanaman obat bakteri *Escherichia coli* resisten dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## **2.METODE**

### **1. 2.1 Alat**

Alat-alat gelas, oven, *spreader glass*, ose bulat, oven (Memmert), *microtube*, bunsen, *waterbath* (Six-well Thermostatic), mikropipet (Socorex), mikroskop (Olympus), neraca analitik (Adventurer), inkubator (Memmert), *incubator shaker* (New Brunswick Scientific), *Laminar Air Flow* (LAF) (CV Srikandi Laboratory), autoklaf (Hirayama), vorteks (Thermolyne Corporation), standart Mc. Farland konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL (Remel) dan *rotary evaporator* (Heidolph).

### **2.2 Bahan**

Kulit biji jambu mete, daun jambu mete diperoleh dari Bulusulur, Wonogiri; daun sirih, biji pala, bunga cengkeh, rimpang lengkuas dan kayu secang diperoleh dari Pasar Gede, Surakarta; daun kemangi dan umbi bawang putih diperoleh dari Pasar Kleco, Surakarta sedangkan daun pepaya diperoleh dari Banyudono, Boyolali. Media Mueller-Hinton Agar (MHA), Brain Heart Infusion (BHI), salin NaCl, etanol 96 %, DMSO, cat Gram A (kristal violet), cat Gram B (iodin gram), cat Gram C (alkohol), cat Gram D (safranin), akuades, *yellow tip*, *blue tip* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Bakteri *Escherichia. coli* resisten, *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), disk kosong (Oxoid), dan disk sefotaksim (Oxoid) didapat dari Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

### **2.3 Ekstraksi**

Masing-masing serbuk simplisia ditimbang sebanyak 100 gram lalu direndam dalam pelarut etanol 96 % dengan perbandingan simplisia : pelarut yaitu 1 : 10 selama 72 jam. Maserat disaring menggunakan kertas Whatman no. 1. Residu dibuang, filtrat diuapkan pada suhu 40°C menggunakan *rotary evaporator*. Pemekatan dilakukan menggunakan penangas air pada suhu 60°C hingga memperoleh ekstrak kental. Ekstraksi yang didapatkan ditimbang.

### **2.4 Uji Sensitivitas Antibiotik**

Suspensi bakteri sebanyak 180 µL dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL ditanam pada media MHA dan diratakan menggunakan *spreader glass*. Disk antibiotik sefotaksim berisi 30 µg ditempelkan pada media bakteri MRSA dan *E.coli* dan disk antibiotik oksasilin berisi 5 µg ditempelkan pada media bakteri MRSA kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Diameter zona hambat di sekitar disk diukur dan sifat bakteri terhadap antibakteri ditentukan yaitu resisten, sensitif atau intemediet.

### **2.5 Uji Aktivitas Ekstrak Terhadap Bakteri**

Masing-masing media MHA ditetesi suspensi bakteri sebanyak 180 µl diratakan menggunakan *spreader glass*. Disk yang sudah diisi dengan masing-masing ekstrak kadar 1 mg dengan volume 10 µl, disk berisi pelarut volume 10 µl sebagai kontrol negatif dan disk berisi antibiotik sefotaksim volume 10 µl sebagai kontrol positif ditempelkan pada media. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-

24 jam. Adanya daya hambat terhadap bakteri ditunjukkan dengan adanya area jernih di sekitar disk. Hasil diameter zona hambat dari ekstrak dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

## **2.6 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Sefotaksim dan Ekstrak**

Pada masing-masing media MHA ditetesi suspensi bakteri sebanyak 180 µl diratakan menggunakan *spreader glass*. Pengujian kombinasi dilakukan dengan meneteskan ekstrak kadar 1 mg volume 10 µl pada disk yang antibiotik sefotaksim kadar 30 µg. Disk yang sudah dikombinasi, disk berisi pelarut volume 10 µl sebagai kontrol negatif dan disk berisi antibiotik sefotaksim volume 10 µl sebagai kontrol positif ditempelkan pada media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Adanya daya hambat terhadap bakteri ditunjukkan dengan adanya area jernih disekitar disk.

## **2.7 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Hasil uji aktivitas ekstrak dan uji kombinasi sefotaksim dan ekstrak menunjukkan ekstrak kayu secang yang menghasilkan zona hambat terbesar. Ekstrak kayu secang yang memiliki diameter zona hambat diuji kromatografi lapis tipis dengan cara menotolkan ekstrak menggunakan pipa kapiler pada silika gel 60 F<sub>254 nm</sub>. Plat KLT dielusi dengan fase gerak toluen :etil asetat : metanol : asam format (4:6:1:0,5). Plat KLT dikeringkan selama 15-20 menit. Plat KLT hasil elusi diamati pada sinar tampak, UV 254 nm dan UV 366 nm.

# **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

## **3.1 Ekstraksi**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96 %. Simplisia yang akan diekstrak dicuci terlebih dahulu guna menghilangkan kotoran atau bahan lain yang melekat pada simplisia. Kemudian simplisia dipotong untuk memperluas permukaan agar proses pengeringan lebih cepat. Setelah itu simplisia dikeringkan untuk menurunkan kadar air dan agar simplisia lebih tahan lama sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur. Hasil simplisia yang sudah kering kemudian diblender untuk memperkecil ukuran sehingga pelarut lebih mudah masuk dalam sel (Sarker et al., 2006).

Hasil ekstraksi (Tabel 1) menunjukkan bahwa bunga cengkeh menghasilkan bobot ekstrak yang paling banyak dengan rendemen 34,04 % sedangkan ekstrak yang paling sedikit yaitu ekstrak rimpang lengkuas dengan rendemen 3,55 %. Pelarut etanol digunakan karena dapat melarutkan hampir semua zat yang bersifat polar, semi polar dan nonpolar serta memiliki kemampuan menghambat kerja enzim dan mengendapkan protein sehingga terhindar dari proses hidrolisis dan oksidasi (Arifin et al., 2006).



Tabel 1. Hasil ekstraksi simplisia dengan pelarut etanol 96 %

No.	Simplisia	Bobot kering (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1	Rimpang lengkuas	100,36	3,56	3,55
2	Biji pala	101,13	4,19	4,14
3	Daun pepaya	101,27	6,05	5,97
4	Daun kemangi	101,92	7,16	7,03
5	Kayu secang	100,22	7,11	7,09
6	Daun sirih	100,08	7,35	7,34
7	Kulit biji jambu mete	102,46	9,16	8,94
8	Umbi bawang putih	100,70	10,23	10,16
9	Daun jambu mete	101,40	10,49	10,35
10	Bunga cengkeh	100,95	34,36	34,04

### 3.2 Uji Sensitivitas Antibiotik

Uji sensitivitas bakteri terhadap antibiotik dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan telah resisten terhadap antibiotik. Hasil uji sensitivitas antibiotik sefotaksim terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 15 mm sedangkan pada *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) diameter yang dihasilkan 8 mm (Tabel 2). Uji sensitivitas oksasilin digunakan untuk mengetahui resistensi bakteri oksasilin terhadap MRSA. Oksasilin merupakan antibiotik pilihan utama untuk bakteri *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan penisilase (Syahrurachman *et al.*, 1994). Hasil uji sensitivitas bakteri kemudian dibandingkan dengan standar kepekaan antibiotik *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) (2011).

Tabel 2. Hasil uji sensitivitas antibiotik

Bakteri	Antibiotik	Standar kepekaan antibiotik (mm)			Hasil Uji	
		S	I	R	Diameter zona hambat (mm)	Interpretasi
<i>E. coli</i>	Sefotaksim	≥ 20	23-25	≤ 22	15	Resisten
MRSA	Sefotaksim	≥ 23	15-22	≤ 14	8	Resisten
MRSA	Oksasilin	≥ 13	11-12	≤ 10	8	Resisten

Keterangan

S : sensitif

I : intermediet

R : radikal

Hasil uji menunjukkan *E. coli* dan MRSA bersifat resisten terhadap sefotaksim dan MRSA juga resisten terhadap antibiotik oksasilin (Tabel 2). Mekanisme resistensi sefotaksim dengan menghambat protein pengikat penisilin (PBP). PBP (*Penicillin-binding protein*) adalah enzim yang terdapat dalam membran plasma bakteri yang berikatan dengan peptidoglikan dinding sel bakteri. Resistensi terjadi karena bakteri dapat memproduksi  $\beta$ -laktamase kemudian menghidrolisis ikatan pada cincin  $\beta$ -laktam dari sefotaksim sehingga menjadi tidak aktif (Pratiwi, 2011). Mekanisme

reistensi pada MRSA terjadi karena produksi protein alami pengikat protein PBP 2a atau PBP 2' yang memiliki afinitas rendah pada pengikatan metisilin. Sifat resistensi dikode oleh gen kromosom bakteri (*mecA*) pada MRSA (Pratiwi, 2011).

### 3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Uji aktivitas ekstrak terhadap bakteri menggunakan metode difusi Kirby Bauer dengan disk antibiotik berdiameter 6 mm. Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui potensi dari masing-masing ekstrak sebagai antibakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah sefotaksim. Sefotaksim merupakan antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yang mempunyai spektrum luas, aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif seperti *E. coli*. Sefotaksim memiliki sifat bakterisid dalam fase pertumbuhan bakteri berdasarkan penghambatan sintesa peptidoglikan anti-laktamase (Tjay and Rahardja, 2013). Kontrol negatif (pelarut) yang digunakan DMSO dan etanol karena dapat melarutkan ekstrak dan tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri dari ekstrak.

Tabel 3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri *Escherichia coli*

No.	Ekstrak	Diameter Zona Hambat ± SD (mm)		Pelarut DMSO/Etanol
		Ekstrak (1 mg)	Sefotaksim (30 µg)	
1	Daun jambu mete	11,25 ± 1,06		
2	Umbi bawang putih	6 ± 0,00	16,5 ± 3,54	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
3	Kulit biji jambu mete	8 ± 0,00		
4	Daun pepaya	6,5 ± 0,00		
5	Rimpang lengkuas	6,5 ± 0,71	15,5 ± 0,71	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
6	Biji pala	8,75 ± 1,06		
7	Bunga cengkeh	11,25 ± 0,35 <sup>R</sup>	17,5 ± 0,71	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
8	Daun sirih	7,5 ± 0,71		
9	Kayu secang	11,5 ± 0,71 <sup>R</sup>	16,5 ± 3,54	6,25 ± 0,35 <sup>E</sup>
10	Daun kemangi	7,5 ± 0,71		

Keterangan :

R : radikal

D : DMSO

E : etanol

Diameter zona hambat termasuk diameter disk 6 mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (Tabel 3) menunjukkan bahwa ekstrak umbi bawang putih menghasilkan diameter 6 mm yang sama dengan diameter kontrol negatif (pelarut DMSO), artinya ekstrak bawang putih tidak dapat menghasilkan aktivitas antibakteri. Ekstrak daun pepaya dan ekstrak rimpang lengkuas menghasilkan diameter yang sama yaitu 6,5 mm. Kemampuan daya hambat kedua ekstrak tersebut sangat kecil. Ekstrak daun sirih dan daun kemangi menghasilkan diameter zona hambat yang sama yaitu 7,5 mm. Ekstrak daun jambu mete menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dari ekstrak kulit biji jambu mete. Tetapi, zona irradikal yang dihasilkan

ekstrak kulit biji jambu mete lebih bening dibanding ekstrak jambu mete. Ekstrak biji pala menghasilkan zona hambat 8,75 mm. Ekstrak bunga cengkeh dan kayu secang menunjukkan zona radikal di sekitar disk. Dari 10 ekstrak yang diujikan, ekstrak kayu secang menghasilkan diameter zona hambat terbesar yaitu 11,5 mm (Tabel 3). Penelitian sebelumnya oleh Srinivasan (2012), ekstrak etanol kayu secang kadar 5 mg diuji pada bakteri *Escherichia coli* menghasilkan diameter zona hambat sebesar  $15 \pm 1,4$  mm. Pada penelitian ini, kadar ekstrak kayu secang yang digunakan 1 mg, sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambatnya semakin besar. Dari hasil penelitian menunjukkan ekstrak kayu secang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

Tabel 4. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

No.	Ekstrak	Diameter Zona Hambat $\pm$ SD (mm)		Pelarut DMSO/Etanol
		Ekstrak (1 mg)	Sefotaksim (30 $\mu$ g)	
1	Daun jambu mete	10,75 $\pm$ 0,35		
2	Bawang putih	7 $\pm$ 0,00	17,5 $\pm$ 0,00	6 $\pm$ 0,00 <sup>D</sup>
3	Kulit biji jambu mete	11,5 $\pm$ 3,54		
4	Daun pepaya	7.75 $\pm$ 1,06		
5	Rimpang lengkuas	18.5 $\pm$ 3.54	19 $\pm$ 0,35	6,25 $\pm$ 0,00 <sup>D</sup>
6	Biji pala	7.5 $\pm$ 0,71		
7	Bunga cengkeh	8.5 $\pm$ 0,71 <sup>R</sup>	18,5 $\pm$ 0,00	6 $\pm$ 0,00 <sup>D</sup>
8	Daun sirih	7.5 $\pm$ 0,71		
9	Kayu secang	12 $\pm$ 0,00 <sup>R</sup>	17,25 $\pm$ 0,06	6,25 $\pm$ 0,35 <sup>E</sup>
10	Daun kemangi	7.5 $\pm$ 0,71		

Keterangan :

R : radikal

D : DMSO

E : etanol

Diameter zona hambat termasuk diameter disk 6 mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menunjukkan bahwa zona hambat semua ekstrak lebih besar dibandingkan dengan kontrol pelarut menghasilkan zona hambat diatas 6 mm. Hal ini menunjukkan semua ekstrak mempunyai aktivitas antibakteri. Ekstrak umbi bawang putih menghasilkan zona hambat terendah 7 mm. Diameter zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak kayu secang sebesar 12 mm (Tabel 4). Ekstrak bunga cengkeh dan kayu secang menunjukkan zona radikal di sekitar disk, artinya tidak ditemukan pertumbuhan bakteri. Penelitian oleh Nirmal (2015) aktivitas antibakteri ekstrak kayu secang dapat menghambat bakteri MRSA dengan diameter 14 mm. Hal ini menunjukkan ekstrak kayu secang memang memiliki aktivitas antibakteri.

### 3.4 Uji Kombinasi Sefotaksim dan Ekstrak

Uji kombinasi antibiotik dengan ekstrak bertujuan untuk mengetahui peningkatan diameter zona hambat antibiotik sefotaksim dikombinasikan dengan ekstrak. Uji dilakukan menggunakan metode difusi Kirby Bauer dengan disk antibiotik berdiameter 6 mm. Analisis dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat disekitar disk. Kombinasi mempunyai efek sinergis jika antibiotik yang dikombinasikan dengan ekstrak dapat meningkatkan diameter zona hambat.

Tabel 5. Hasil uji kombinasi sefotaksim dan ekstrak terhadap bakteri *Escherichia coli* resisten

Ekstrak	Diameter Zona Hambat ± SD (mm)			Pelarut DMSO/Etanol
	Ekstrak (1 mg)	Kombinasi (1 mg + 30 µg)	Sefotaksim (30 µg)	
Daun jambu mete	9,25 ± 0,35	9,25 ± 2,47	15,12 ± 1,24	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
Umbi bawang putih	6,25 ± 0,35	6 ± 0,00		
Daun pepaya	6,25 ± 0,35	6 ± 0,00	15,25 ± 1,06	6 ± 0,35 <sup>D</sup>
Kulit biji jambu mete	7,75 ± 0,35	8,25 ± 0,35		
Rimpang lengkuas	7 ± 0,00	11,75 ± 1,77	14,25 ± 0,35	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
Biji pala	8,5 ± 0,71	12,25 ± 3,89		
Bunga cengkeh	7,75 ± 0,35 <sup>R</sup>	8 ± 0,00 <sup>R</sup>	16,75 ± 0,00	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
Daun sirih	7 ± 0,00	7 ± 0,00		
Kayu secang	9 ± 0,00 <sup>R</sup>	13,25 ± 0,35 <sup>R</sup>	15 ± 1,41	6,25 ± 0,35 <sup>E</sup>
Daun kemangi	6,75 ± 0,35	9 ± 1,41		

Keterangan :

R : radikal

D : DMSO

E : etanol

Diameter zona hambat termasuk diameter disk 6 mm

Berdasarkan hasil penelitian, kombinasi antibiotik sefotaksim dan ekstrak menunjukkan semua ekstrak yang dikombinasi menghasilkan diameter zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik tunggal (Tabel 5). Hal ini menunjukkan kombinasi sefotaksim dan 10 ekstrak tanaman tidak sinergis. Efek sinergis dapat terjadi jika ada interaksi yang menguntungkan antara komponen aktif dari ekstrak tanaman dan antibiotik (Sukandar *et al.*, 2016). Sinergis terjadi ketika kedua obat digabungkan menghasilkan efek antibakteri yang lebih besar dibandingkan diberikan secara tunggal (Gal, 1965). Dari 10 ekstrak, hanya ekstrak bunga cengkeh dan kayu secang saja yang menghasilkan zona radikal baik sebelum dan sesudah kombinasi. Zona radikal menunjukkan tidak ditemukan pertumbuhan bakteri di sekitar disk.

Diameter zona hambat tertinggi pada kombinasi dihasilkan oleh ekstrak kayu secang sebesar 13,25 mm. Kombinasi antibiotik dan ekstrak kayu secang menghasilkan zona radikal lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal serta lebih jernih jika dibandingkan dengan antibiotik tunggal.

Meskipun diameter zona hambatnya lebih kecil dari antibiotik, aktivitas antibakteri ekstrak kayu secang lebih baik dari antibiotik tunggal.

Zona hambat terendah dihasilkan oleh ekstrak bawang putih dan daun pepaya (Tabel 5). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa bawang putih dapat membunuh mempunyai aktivitas antibakteri karena mengandung alisin. Konsentrasi bawang putih diujikan adalah 12,5 % (Nurtjahyani and Hadra, 2016). Kemungkinan pada penelitian ini konsentrasi ekstrak bawang putih terlalu kecil yaitu 10 % sehingga tidak dapat menghambat bakteri.

Hasil uji kombinasi antibiotik dan ekstrak terhadap bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menunjukkan kombinasi antibiotik ekstrak rimpang lengkuas menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan antibiotik tunggal. Zona irradikal yang dihasilkan ekstrak rimpang lengkuas lebih jernih daripada antibiotik atau ekstrak saja. Ekstrak kulit biji jambu dan ekstrak daun mete menghasilkan zona irradikal yang lebih bening disekitar disk tetapi diameternya lebih kecil dibanding antibiotik tunggal (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil uji kombinasi sefotaksim dan ekstrak terhadap bakteri *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Ekstrak	Diameter Zona Hambat ± SD (mm)			Pelarut DMSO/ Etanol
	Ekstrak (1 mg)	Kombinasi (1 mg + 30 µg)	Sefotaksim (30 µg)	
Rimpang lengkuas	10,5 ± 0,00	22,75 ± 0,35	20 ± 0,00	6,25 ± 0,35 <sup>D</sup>
Kulit biji jambu mete	7 ± 0,00	10 ± 0,00		
Daun jambu mete	7,75 ± 0,35	9,5 ± 0,00	21 ± 1,41	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
Umbi bawang putih	6 ± 0,00	23,5 ± 0,35		
Daun pepaya	6,5 ± 0,00	23 ± 1,41	23 ± 1,41	6,5 ± 0,71 <sup>D</sup>
Biji pala	8,25 ± 0,71	9,5 ± 0,71		
Bunga cengkeh	9,75 <sup>R</sup> ± 0,35	10 <sup>R</sup> ± 0,00	22,5 ± 0,71	6 ± 0,00 <sup>D</sup>
Daun sirih	7,5 ± 0,00	11 ± 0,00		
Kayu secang	9 <sup>R</sup> ± 0,00	14,25 <sup>R</sup> ± 0,35	22,5 ± 0,71	6,25 ± 0,35 <sup>E</sup>
Daun kemangi	6,25 ± 0,35	8,5 ± 0,71		

Keterangan :

R : radikal

D : DMSO

E : etanol

Diameter zona hambat termasuk diameter disk 6 mm

Hasil zona hambat ekstrak umbi bawang putih dan ekstrak daun pepaya meningkat setelah dikombinasi. Ekstrak biji pala, daun sirih, dan daun kemangi menghasilkan zona irradikal lebih jernih kecil disekitar disk dan juga terdapat zona irradikal buram yang lebih besar. Hasil kombinasi pada ekstrak biji pala, daun sirih dan daun kemangi lebih baik dari antibiotik tunggal karena terlihat zona yang lebih jernih. Ekstrak bunga cengkeh dan ekstrak kayu secang juga menghasilkan zona hambat

yang lebih rendah setelah dikombinasi terhadap bakteri MRSA, tetapi menghasilkan zona radikal yang lebih besar dibanding ekstrak tunggal.

### 3.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak kayu secang. Uji KLT menggunakan fase normal dimana fase diam bersifat polar dan fase gerak bersifat non polar. Fase gerak yang digunakan toluen:etil asetat:metanol:asam format (4:6:1:0,5). Fase diam yang digunakan silika gel GF<sub>254nm</sub>. Sebelum ditotolkan ekstrak kayu secang diencerkan dari 10 % menjadi 0,2 % agar tidak terjadi *tailing*, kemudian ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler.

Senyawa penanda dalam ekstrak kayu secang adalah brazilin yang termasuk dalam flavonoid yang larut dalam air (Nirmal *et al.*, 2015). Deteksi senyawa flavonoid pada UV 254 nm akan menghasilkan pepadaman sedangkan pengamatan pada UV 366 nm akan menghasilkan fluoresensi warna kuning, biru atau hijau tergantung struktur senyawanya (Wagner and Bladt, 1996). Hasil uji KLT ekstrak kayu secang menghasilkan Rf1 0,61; Rf2 0,5 dan Rf3 0,4. Hasil pengamatan pada sinar tampak menunjukkan ada bercak warna kuning. Hasil pengamatan pada UV 254 nm menunjukkan pepadaman sedangkan pada UV 366 nm menghasilkan warna berpendar biru. Dari hasil uji KLT pengamatan UV 254 nm dan UV 366 nm menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak kayu secang.

Penelitian sebelumnya elusi brazilin menggunakan fase gerak kloroform:metanol (5:1) menghasilkan Rf 0,89 dan pengamatan pada sinar tampak menghasilkan warna merah dan kuning. Warna tersebut akan berpendar berwarna biru pada UV 366 nm (Hangoluan, 2011). Dari hasil pengamatan sinar tampak dan UV 366 nm ekstrak kayu secang diduga mengandung senyawa brazilin. Brazilin merupakan senyawa utama dalam ekstrak kayu secang yang diketahui menghasilkan pewarna merah alami. Aktivitas antibakteri ekstrak kayu secang dihasilkan oleh senyawa brazilin yang melawan MRSA dengan mekanisme menghambat sintesis DNA dan protein (Nirmal *et al.*, 2015).

## 4. KESIMPULAN

1. Kombinasi sefotaksim dan 10 ekstrak tanaman menunjukkan tidak adanya peningkatan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) peningkatan aktivitas antibakteri terjadi pada kombinasi ekstrak rimpang lengkuas, umbi bawang putih dan daun pepaya.
2. Hasil uji aktivitas ekstrak menunjukkan ekstrak kayu secang menghasilkan zona hambat terbesar pada *E. coli* sebesar 13,25 mm dan MRSA sebesar 14,25 mm. Senyawa penanda dalam ekstrak kayu secang diduga adalah brazilin dengan Rf 0,6.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arifin H., Anggraini N., Handayani D. and Rasyid R., 2006, Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr., *Journal Science Teknologi Farmasi*, 11 (2), 88–93.
- Baskaran C., Bai V.R., Velu S. and Kumaran K., 2012, The Efficacy of *Carica papaya* Leaf Extract On Some Bacterial and A Fungal Strain by Well Diffusion Method, *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2 (SUPPL2), S658–S662.
- Burns M.A.C., Wells B.G., T. S.L., Malone P.M., M. K.J., Rotschafer J.C. and Dipiro J.T., 2008, *Pharmacotherapy Principles & Practice*, Medical, New York.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), 2011, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 21th Informational Supplement*, USA.
- Elaine J., Betoni C., Mantovani R.P., Barbosa L.N., Claudio L., Stasi D. and Junior A.F., 2006, Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases, *Antimicrobial Drugs and Plant Synergism*, 101, 387–390.
- Gal K., 1965, Combined Antibiotic Therapy, *Canadian Medical Association journal*, 93, 844–847.
- Hangoluan B.Y.M., 2011, *Pengembangan Metode Isolasi Brazilin dari Kayu Secang (Caesalpinia sappan)*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Ishola R.O., 2009, Evaluation of Antimicrobial Activity of *Anacardium occidentale* (Linn.), *Advances in Medical and Dental Sciences*, 3 (July 2008), 1–3.
- Jurnalis Y.D., Sayoeti Y., Ilmu B. and Anak K., 2008, Pola Resistensi Kuman Penyebab Diare Terhadap Antibiotika, *Majalah Kedokteran*, 33
- Kumar M., Keshri U.P. and Kumar R., 2013, Antimicrobials Sensitivity and Resistance Pattern of Bacterial Isolates at a Tertiary Care Hospital in Jharkhand, India, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4 (1), 388–396.
- Menteri Kesehatan RI, 2015, *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia tentang Program Pengendalian Resistensi Antimikroba di Rumah Sakit*, p. 10, Indonesia.
- Nirmal N.P., Rajput M.S., Prasad R.G.S.V. and Ahmad M., 2015, Brazilin from *Caesalpinia sappan* Heartwood and Its Pharmacological Activities: A Review, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8 (6), 421–430.
- Nurtjahyani S.D. and Hadra F., 2016, Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum*) Againsts Gram-positive Bacteria Isolated From Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*), *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6 (1), 46–48.
- Pattanayak P., Behera P., Das D. and Panda S., 2010, *Ocimum sanctum* Linn. A reservoir plant for therapeutic applications: An overview, *Pharmacognosy Reviews*, 4 (7), 95.
- Pratiwi S.T., 2011, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Erlangga, Yogyakarta.
- Sarker S.D., Latif Z. and Gray A.I., 2006, *Natural Product Isolation*, Second Edition, Humana Press, Totowa.

- Simpem I.N., 2008, Isolasi Cashew Nut Shell Liquid Dari Kulit Biji Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Dan Kajian Beberapa Sifat Fisiko Kimianya, *Jurnal Kimia*, 2, 71–76.
- Srinivasan R., Selvam G.G., Karthik S., Mathivanan K., Baskaran R., Karthikeyan M., Gopi M. and Govindasamy C., 2012, In Vitro Antimicrobial Activity of *Caesalpinia sappan* L., *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (1), 136–139.
- Sukandar E.Y., Kurniati N.F., Anggadiredja K. and Kamil A., 2016, In Vitro Antibacterial Activity Of *Kaempferia Pandurata* Roxb. And *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. Extracts In Combination With Certain Antibiotics Against MSSA And MRSA, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 8 (1), 6–9.
- Syahrurachman A., Chatim A., Soebandrio A., Karuniawati A., Santoso A.U.S., Harun B.M.H., Bela B., Soemarsono F., Rahim H.A., Karsinah H., Isjah L., Moehario L.H., Mardiasuti, Lintong M.S., Triyatni M., Asmono N., *et al.*, 1994, *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta.
- Tjay T.H. and Rahardja K., 2013, *Obat - Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek - Efek Sampingnya*, 6th Edition, PT. Elex Media Komputindo Kelompok Kompas, Jakarta.
- Wagner H. and Bladt S., 1996, *Plant Drug Analysis*, Second Edi., Springer, New York.