

AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI AMOKSISILIN DENGAN FRAKSI-FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

Laksmi Anggarani, Arif Yahya, Reza Hakim*
*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* diketahui resisten terhadap amoksisilin. Potensi kombinasi amoksisilin dan senyawa antibakteri pada *Allium sativum L.* dapat dijadikan metode terbaru dalam menangani resistensi *S.aureus*, namun efek kombinasi dengan amoksisilin belum diketahui sehingga perlu diteliti.

Metode: Penelitian dilakukan secara *in vitro* menggunakan *S.aureus* non patogen dengan kombinasi amoksisilin dan fraksi Air, n-Heksana dan etil Asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* pada konsentrasi 50%b/b dalam kelompok A/AA/H/HH/AH. Analisa zona hambat diukur dengan metode cakram dan interaksi kombinasi dinilai dengan metode AZDAST.

Hasil dan Pembahasan: Zona hambat fraksi Air; A=36,33±2,43 mm, AH=36,13±4,51 mm ($p<0,05$), fraksi n-Heksana; A=36,36±1,76 mm, AH=34,76±1,76 mm ($p<0,05$), fraksi Etil Asetat; A=38,73±2,61, AH=38,85±1,92 mm ($p<0,05$). Kombinasi amoksisilin dengan fraksi Air dan fraksi Etil Asetat bersifat *not distinguishable*, sedangkan kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-Heksana bersifat *antagonist*. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* memiliki efek mengganggu kerja amoksisilin.

Kesimpulan: Efek kombinasi amoksisilin dengan fraksi dalam ekstrak etanol *Allium sativum L.* tidak menambah efek antibakteri amoksisilin pada *S.aureus* non patogen.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*; Amoksisilin, Fraksi Air, Fraksi n-Heksana, Fraksi Etil Asetat, *Allium sativum L.*

*Korespondensi:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COMBINATION OF AMOXICILLIN WITH FRACTIONS FROM GARLIC (*Allium sativum L.*) ETHANOL EXTRACT IN INHIBITING THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus*

Laksmi Anggarani, Arif Yahya, Reza Hakim*
*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is known to be resistant to amoxicillin. The potential combination of amoxicillin and antibacterial compounds of *Allium sativum L.* can be used as a new method to treat *S. aureus* resistance, but the effect of its combination with amoxicillin is unknown., so it needs to be investigated.

Methods: The study was conducted *In vitro* using non-pathogenic *S.aureus* with a combination of amoxicillin and Water, n-Hexane and Ethyl Acetate fractions from the ethanol extract of *Allium sativum L.* at a concentration of 50%w/w in group A/AA/H/HH/AH. Inhibition zone analysis was measured by disc method and combination interaction was assessed by AZDAST method.

Results and Discussion: Zone of inhibition of Water fraction; A=36.33±2.43 mm, AH=36.13± 4.51 mm ($p<0.05$), n-Hexane fraction; A=36.36±1.76 mm, AH=34,76±1, 76 mm ($p<0.05$), Ethyl Acetate fraction; A=38.73±2.61 mm, AH=38.85± 1.92 mm ($p<0.05$). The combination of amoxicillin with Water and Ethyl Acetate fractions is *not distinguishable*, while the combination of amoxicillin with n-Hexane fraction is antagonistic. This indicates that the ethanol extract fraction of *Allium sativum L.* has the effect of interfering with the action of amoxicillin.

Conclusion: The combined effect of amoxicillin with the fraction in the ethanolic extract of *Allium sativum L.* did not increase the antibacterial effect of amoxicillin on non pathogenic *S.aureus*.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Amoxicillin, Water Fraction, n-Hexane Fraction, Ethyl Acetate Fraction, *Allium sativum L.*

*Correspondence author:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial. Infeksi *S.aureus* terus meningkat di berbagai negara. Pada Asia sendiri, prevalensi infeksi akibat *S.aureus* mencapai 70%, sedangkan di Indonesia mencapai 23,5%.¹ Pada tahun 1961, *United Kingdom* melaporkan kasus pertama strain *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai patogen nosokomial utama di dunia yang meningkatkan angka mortalitas dan morbiditas.² Studi *cross-sectional* kasus karier *S. aureus* menunjukkan sekitar 20% individu nasal karier persisten, 30% karier intermiten dan 50% *non-carrier*. Infeksi *S. aureus* dapat diterapi dengan antibiotik golongan penisilin seperti amoksisilin.³ Namun, *S. aureus* memiliki tingkat resistensi dengan prosentase 93.75% terhadap amoksisilin.⁴ Potensi kombinasi dari antibiotik dan senyawa antibakteri pada herbal dapat dijadikan metode terbaru dalam menangani resistensi *S. aureus*. Terapi kombinasi memiliki banyak manfaat seperti dapat meningkatkan aktivitas antimikroba dan juga mencegah munculnya bakteri multidrug resisten. Metode kombinasi dapat diketahui dengan adanya zona hambat yang dianalisa dengan melihat interaksi antara kombinasi zat aktif herbal dengan antibiotik.⁵ Salah satu herbal yang memiliki efek antibakteri yaitu *Allium sativum L.*

Bawang putih atau *Allium sativum L.* merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan masyarakat sebagai bumbu masakan. Selain itu, *Allium sativum L.* terbukti memiliki efek pengobatan seperti meningkatkan daya tahan tubuh, sebagai antijamur dan juga sebagai antibakteri.⁶ Ekstrak etanol *Allium sativum L.* terbukti dapat menurunkan laju pertumbuhan *S.aureus*.^{6,7,8,9} Penggunaan etanol 70% dapat melarutkan hampir semua zat yang bersifat polar, non polar dan juga semipolar karena sifat etanol yang universal.¹⁰ *Allium sativum L.* memiliki zat aktif antibakteri seperti *allicin*, *adjoene*, triterpenoid, flavonoid, tanin, dan alkaloid.^{11,12,13,14,15}

Zat aktif dari ekstrak etanol *Allium sativum L.* dapat dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya dengan melakukan fraksinasi. Pelarut yang digunakan sebagai fraksinasi dapat melarutkan zat aktif pada herbal sesuai dengan sifat pelarutnya. Fraksi air dengan sifat polar dapat melarutkan flavonoid, tanin, dan alkaloid.^{16,17} Fraksi n-Heksana memiliki sifat nonpolar yang dapat melarutkan senyawa *Allium sativum L.* seperti *allicin* dan turunannya.^{15,18,19} Fraksi etil asetat dengan sifat semipolar dapat melarutkan senyawa triterpenoid.^{15,16} Sedangkan, Namun, sampai saat ini masih belum ada data interaksi dari amoksisilin dengan fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* Kombinasi dari amoksisilin dan fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* merupakan alasan utama dilakukan penelitian dengan melihat adanya interaksi guna membantu kerja dari amoksisilin.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian *in vitro* eksperimental laboratorium untuk mengukur zona hambat dengan menganalisis suatu interaksi berdasarkan metode AZDAST. Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang (FK UMM) pada bulan Juni – September 2021.

Sampel Penelitian

Staphylococcus aureus didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium Sativum L*) didapatkan dari UPT Materia Medica Batu. Sedangkan Fraksi-fraksi berasal proses fraksinasi dari ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium Sativum L*).

Ekstraksi dan Fraksinasi *Allium sativum L.*

Serbuk *Allium sativum L.* dimaserasi dengan pelarut etanol 70% menggunakan *shaker* pada suhu kamar selama 24 jam. Larutan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.^{16,17} Ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) kemudian diambil sebanyak 20 ml dan dilarutkan dalam 500 ml air.¹⁹ Larutan dipartisi menggunakan 500 ml larutan n-Heksana kemudian dikocok dan didiamkan 30-60 menit hingga terbentuk 2 lapisan atau fase yaitu lapisan atas (fraksi pelarut (fase n-heksana)) dan lapisan bawah (residu (air)). Selanjutnya lapisan bawah yang tersisa ditambahkan 500 mL larutan etil asetat dan dilakukan hal yang sama dengan fraksi n-Heksana.^{20,21} Masing-masing fase yang terkumpul kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi n-heksana kental, fraksi etil asetat kental dan fraksi air kental.²² Setelah dilakukan eksplorasi dosis dengan konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% pada setiap fraksi, didapatkan bahwa pada konsentrasi 50% zona hambat pada setiap fraksi lebih besar. Sehingga pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 50% (%b/b) dengan komposisi 0,5 g fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* ditambah 0,5 g tween 80 dan 0,5 g akuades.

Uji Zona Hambat

Cawan petri steril diameter 12 cm disiapkan, kemudian cakram kertas antibiotik diletakkan pada dasar cawan petri yang sudah ditandai. Cakram kertas fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* diletakkan di atas cakram kertas antibiotik yang sudah tertempel pada dasar cawan petri. Untuk membuat media agar, *Oxoid Mueller Hinton* ditimbang sebanyak 21 gr dan dicampur dalam 1 liter akuades. Kemudian dipanaskan sambil diaduk

hingga mendidih selama 1 menit hingga semua komponen tercampur rata. Setelah itu larutan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.²³ Kemudian cawan petri diisi dengan 40 ml media agar *Mueller-Hinton* hangat yang telah diautoklaf dengan kedalaman 3,5 mm. Kemudian didiamkan kurang lebih 10 menit hingga memadat dan siap untuk diinokulasi.²⁴

Satu koloni *Staphylococcus aureus* diambil dari kultur dengan menggunakan ose dan dicampurkan dalam 2 ml normal saline. Kemudian melihat kekeruhan suspensi dengan *standard 0,5 Mc Farland inoculum*.²³ Bakteri diambil menggunakan lidi kapas steril yang kemudian diusapkan dan diratakan pada media agar. Cawan petri diinkubasi dengan suhu 35°C selama 24jam.²³ Diameter zona hambat atau zona bening disekitar cakram kertas dapat diukur menggunakan *Software Image Raster*

Optilab Viewer 2.2 dalam satuan mm.

Metode Penentuan Interaksi

Interprestasi hasil dari uji ZOI kombinasi ekstrak etanol *Allium sativum L.* dan antibiotik diukur berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)*. Apabila A adalah antibiotik dan B adalah ekstrak etanol *Allium sativum L.*, maka kombinasi dikatakan *sinergism* apabila $AB > A$ dan B atau AA dan atau BB , potensiasi jika $AB > A$ dan B atau AA dan atau BB , aditif jika $AB = AA$ dan atau BB atau A dan B , *antagonist* jika $AB < A$ dan B atau AA dan atau BB , serta *not distinguishable* jika $AB = A$ atau B , $A+B$ lebih besar dari A dan B dan lebih besar atau kecil dari $A+A$ atau $B+B$.²⁴ Penentuan interaksi berdasarkan metode AZDAST dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. *Azdast method guideline (Ziaei-Daroukalei et al, 2016).*

Hasil Kombinasi dari Cawan Petri	Jenis Interaksi	Contoh	
		Antibiotik	Hasil (mm)
AB > A dan B atau AA dan atau BB	Sinergis	Pen	45
		Gen	30
		Pen+Gen	46
		Pen+Pen	50
		Gen-Gen	33
		Pen	0
AB > A dan B atau AA dan atau BB	Potensiasi	Gen	25
		Pen+Gen	26
		Pen+Pen	0
		Gen-Gen	27
		Gen	25
		Tet	25
AB = AA dan atau BB atau A dan B	Aditif	Gen+Tet	27
		Gen+Gen	28
		Tet-Tet	27
		Eri	32
		Klin	40
		AB < A dan B atau AA dan atau BB	Antagonis
Eri+Eri	34		
Klin-Klin	43		
Amp	10		
Tet	25		
AB = A atau B, A+B lebih besar dari A dan B dan lebih besar atau kecil dari A+A atau B+B	<i>not distinguishable</i>		
		Amp+Amp	15
		Tet-Tet	27

Keterangan: Jika mempertimbangkan dua obat, sebagai a dan b dengan zona penghambatan pertumbuhan masing-masing sebagai A dan B bersama dengan AB untuk posisi kombinasi AA dan BB untuk posisi akumulasi a dan b pada cawan petri AZDAST. Pen=Pensilin; Gen=Gentamisin; Eri=Eritromisin; Klin=Klindamisin; Tet=Tetrasiklin, Amp=Ampisilin

Analisis Data

Data yang didapat diuji normalitas dan homogenitasnya. Apabila data memenuhi syarat maka dilakukan uji *One Way ANOVA* dan uji lanjut dengan *post hoc* menggunakan *Least Significant Difference (LSD)*. Apabila data tidak memenuhi syarat maka dilanjutkan uji *Kruskal Wallis*. Data dapat dinyatakan signifikan jika $p < 0,05$.²⁵

HASIL PENELITIAN

Zona Hambat Kombinasi Amoksisilin dengan Fraksi Air Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus*.

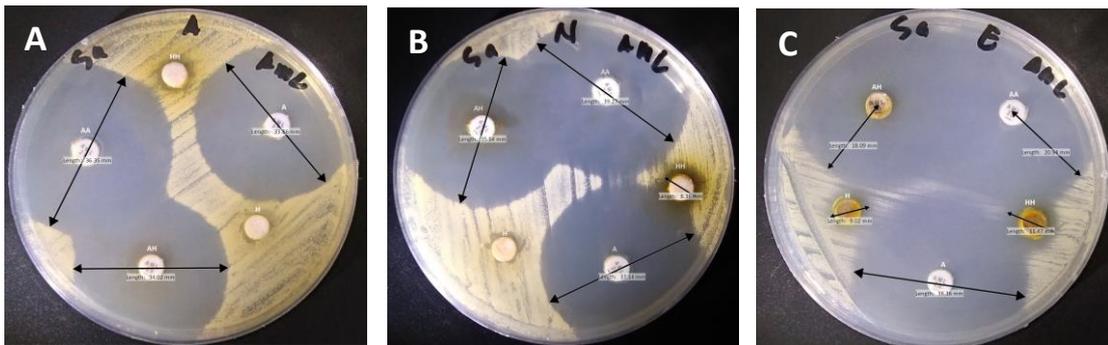
Zona hambat yang terbentuk dari amoksisilin tunggal $36,33 \pm 2,43$ mm, dan amoksisilin ganda $37,81 \pm 3,06$ mm. Pada fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* tunggal maupun ganda tidak memiliki daya hambat. Sedangkan pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* bahwa zona hambat dari yang terbentuk adalah $36,13 \pm 4,51$ mm. Dengan hasil tersebut, menunjukkan kombinasi antara amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* setara dengan zona hambat amoksisilin tunggal. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi $p\text{-value} < 0,05$ sehingga dinyatakan terdapat perbedaan signifikan terhadap fraksi Air dengan berbagai perlakuan. Hasil zona hambat tersebut ditunjukkan pada **Gambar 1A** dan **Tabel 2**.

Zona Hambat dan Analisa Zona Hambat Kombinasi Amoksisilin dengan Fraksi n-Heksana Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus*

Hasil zona hambat yang terbentuk dari amoksisilin tunggal $36,36 \pm 1,76$ mm, sedangkan pada amoksisilin ganda $38,21 \pm 1,30$ mm. Pada fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* tunggal tidak memiliki daya hambat, sedangkan zona hambat pada fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* ganda $8,07 \pm 0,74$ mm. Pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* bahwa zona hambat yang terbentuk adalah $34,76 \pm 1,76$ mm. Hal ini menunjukkan bahwa secara kombinasi antara amoksisilin dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* lebih kecil daripada zona hambat amoksisilin tunggal. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi beberapa perlakuan $p < 0,05$ dan pada hasil uji homogenitas ragam juga menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05. Pengujian dengan *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,002 sehingga dinyatakan terdapat perbedaan signifikan terhadap fraksi n-Heksana dengan berbagai perlakuan. Hasil zona hambat ditunjukkan pada **Gambar 1B** dan **Tabel 2**.

Zona Hambat dan Analisa Zona Hambat Kombinasi Amoksisilin dengan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus*.

Amoksisilin tunggal memiliki zona hambat sebesar $38,73 \pm 2,61$ mm sedangkan zona hambat pada amoksisilin ganda $41,45 \pm 2,49$ mm. Pada fraksi



Gambar 1. Zona Hambat Kombinasi Amoksisilin dengan Fraksi-fraksi dari Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus*; A: Fraksi Air; B: Fraksi n-Heksana; C: Fraksi Etil Asetat.

Keterangan: AH= Kombinasi Amoksisilin dan Herbal (Fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.*); AA= Amoksisilin Ganda, HH= Herbal (Fraksi Etanol *Allium sativum L.*) Ganda; A= Amoksisilin Tunggal, H= Herbal (Fraksi Ekstrak Etanol *Allium sativum L.*) Tunggal.

Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* tunggal $9,90 \pm 1,24$ mm, sedangkan pada fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* ganda $12,12 \pm 0,99$ mm. Kombinasi amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* bahwa zona hambat yang terbentuk adalah $38,85 \pm 1,92$ mm. Hasil tersebut menunjukkan secara kombinasi antara amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* dapat dikatakan setara dengan zona hambat amoksisilin tunggal. Uji normalitas dan homogenitas ragam menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$ sehingga dilanjutkan dengan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA diperoleh nilai signifikansi p -value $< 0,05$ sehingga dinyatakan pada berbagai perlakuan terdapat perbedaan signifikan terhadap fraksi Etil Asetat. Hasil zona hambat dapat ditunjukkan pada **Gambar 1C** dan **Tabel 2**.

Hasil Interaksi Berdasarkan Metode AZDAST

Interaksi amoksisilin dengan fraksi-fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* dibuat berdasarkan metode AZDAST, yaitu dengan membandingkan diameter zona hambat tunggal dan ganda (dosis ganda, dan gabungan).²⁴ Kombinasi amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* pada *S. aureus* memiliki interaksi *not distinguishable*. Sedangkan pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* pada *S. aureus* memiliki interaksi *antagonist*. Pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* pada *S. aureus* memiliki jenis interaksi yang sama dengan fraksi Air yaitu *not distinguishable*.

Tabel 2. Rerata Hasil Pengukuran Zona Hambat Kombinasi Amoksisilin dengan Fraksi dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus*

Fraksi	Zona Hambat±SD (mm)					Interaksi
	AH	A	H	AA	HH	
1A	36,13±4,51	36,33±2,43	0,00±0,00	37,81±3,06	0,00±0,00	<i>not distinguishable</i>
1B	34,76±1,76	36,36±0,88	0,00±0,00	38,21±1,30	8,07±0,74	<i>Antagonist</i>
1C	38,85±1,92	38,73±2,61	9,90±1,24	41,45±2,49	12,12±0,99	<i>not distinguishable</i>

Keterangan: 1A= fraksi Air; 1B=fraksi n-Heksana; 1C=fraksi Etil Asetat; SD=Standar Deviasi; AH= Kombinasi amoksisilin dengan fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.*; A= amoksisilin tunggal; H=Herbal (fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.*; AA= amoksisilin ganda; HH= Herbal (fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.*) ganda.

PEMBAHASAN

Peran Fraksi Air Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* dengan Amoksisilin terhadap *S.aureus*

Hasil pada pengukuran ZOI pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus* menunjukkan bahwa interaksi dari kombinasi memiliki interaksi *not distinguishable*. Pada penelitian sebelumnya, terbukti bahwa fraksi Air yang bersifat polar dapat menarik zat aktif yang bersifat polar juga pada *Allium sativum L.* seperti flavonoid, tanin dan juga alkaloid.^{18,19} Interaksi *not distinguishable* kombinasi amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* ini kemungkinan dapat disebabkan karena pada flavonoid dan alkaloid memiliki mekanisme kerja yang sama dengan amoksisilin.

Amoksisilin merupakan antibiotik yang bekerja

dengan menghambat protein pengikat penisilin (PBP) sehingga proses transpeptidase terhambat dan pembentukan dinding sel bakteri tidak terbentuk.³⁰ Flavonoid memiliki mekanisme kerja yaitu merusak permeabilitas dinding sel, menyebabkan membran sel rusak dan dapat menghambat metabolisme melalui pencegahan pada membran sitoplasma untuk membentuk energy serta menghambat pergerakan bakteri pada aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler.³¹ Alkaloid dapat menyebabkan kematian pada sel bakteri dengan cara menghambat proses pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak terbentuk.³² Hal ini kemungkinan pada zat aktif dari fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* titik penghambatan pada dinding sel *S.aureus* lemah dibandingkan amoksisilin, sehingga perlu adanya dilakukan

analisa *docking* untuk mengetahui apakah flavonoid dan alkaloid pada fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* dapat mengganggu kinerja dari amoksisilin. Pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* terdapat perbedaan signifikan $p < 0,05$ terhadap perlakuan lainnya. Perbedaan signifikan dengan angka positif dapat dikatakan bahwa pada penelitian ini terdapat sedikit penambahan pada zona hambat kombinasi dibandingkan perlakuan lainnya.

Peran Fraksi n-Heksana Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* dengan Amoksisilin terhadap *S.aureus*

Pengukuran ZOI pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus* memiliki jenis interaksi *antagonist*. Interaksi *antagonist* pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* dapat terjadi karena adanya kandungan senyawa antibakteri pada fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* dengan kadar yang sedikit. Pada penelitian sebelumnya, ditunjukkan bahwa pada fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* yang bersifat non polar terbukti dapat menarik zat aktif yang juga bersifat non polar pada *Allium sativum L.* seperti alisin dan adjoene.^{15,16,17} Namun, pada penelitian ini tidak dilakukan analisa uji LC-HRMS untuk mengetahui kadar dari alisin dan adjoene. Sehingga dapat terjadi kemungkinan bahwa zat aktif alisin dan adjoene tidak memiliki cukup kadarnya dalam menghambat pertumbuhan dari *S.aureus*.

Adanya interaksi *antagonist* juga dapat dikatakan bahwa konsentrasi 50% yang dipakai kurang tinggi, karena pada riset penelitian yang lain, Dr. Hiromichi Sumiyoshi dari Universitas Texas berpendapat bahwa bawang putih dapat merusak jaringan dan menyebabkan rasa terbakar pada bakteri dalam dosis yang tinggi. Alisin yang terkandung pada bawang putih dalam dosis tinggi mampu menjadi racun bagi sel bakteri.²⁶ Hal ini bertentangan pada penelitian sebelumnya telah teruji bahwa ekstrak bawang putih (*Allium sativum L.*) dengan konsentrasi 12,5% dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.²⁷ Adanya $p < 0,05$ pada penelitian ini menandakan adanya perbedaan signifikan pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap perlakuan lainnya. Perbedaan signifikan dengan angka positif pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa terdapat adanya penambahan sedikit pada zona hambat kombinasi dibandingkan perlakuan lainnya.

Peran Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol *Allium sativum L.* dengan Amoksisilin terhadap *S.aureus*

Kombinasi amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S.aureus* memiliki interaksi *not distinguishable*. Interaksi *not distinguishable* pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* dapat terjadi karena kandungan

senyawa antibakteri pada fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* sedikit sehingga kerja dari senyawa tersebut tidak dapat membantu secara efektif terhadap kerja dari amoksisilin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi Etil Asetat yang bersifat semipolar terbukti dapat menarik senyawa aktif semipolar pada *Allium sativum L.* seperti triterpenoid.^{15,18} Pada penelitian ini juga dilakukan uji pengamatan zona hambat pada jam ke 12 dan 48. Hasil zona hambat pada jam ke 12 menunjukkan adanya interaksi *antagonist*, sedangkan pada jam ke 48 menunjukkan interaksi *potensiasi*. Adanya hasil analisa Azdast tersebut kemungkinan kerja dari senyawa semipolar yang ada pada fraksi Etil Asetat memiliki puncak kerja sebagai antibakteri yang lama.

Adanya interaksi *not distinguishable* juga dapat disebabkan karena adanya jenis senyawa semipolar lainnya yang mempengaruhi kerja *Allium sativum L.* sebagai antibakteri pada fraksi seperti saponin, triterpen sebenarnya, steroid, dan tetrasiklis triterpenoid lanosterol.^{28,29} Zat-zat tersebut kemungkinan dapat mengganggu kerja dari amoksisilin atau bahkan kadar dari zat aktif semipolar yang ada pada fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* memiliki kadar yang kurang. Untuk mengetahui zat aktif apa saja dan jumlah kadarnya perlu dilakukan uji analisa LC-HRMS. Pada penelitian ini $p < 0,05$ menandakan adanya perbedaan signifikan pada kombinasi amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap perlakuan lainnya. Adanya perbedaan signifikan yang ditunjukkan dengan angka positif dapat dikatakan bahwa terdapat adanya sedikit penambahan pada zona hambat kombinasi dibandingkan perlakuan lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Zona hambat kombinasi antara amoksisilin dengan fraksi Air ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* memiliki daya hambat yang sama dengan amoksisilin tunggal sehingga bersifat *not distinguishable*.
2. Zona hambat kombinasi amoksisilin dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* lebih kecil dibandingkan amoksisilin tunggal sehingga bersifat *antagonist*.
3. Zona hambat kombinasi antara amoksisilin dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* memiliki daya hambat yang sama dengan amoksisilin tunggal sehingga bersifat *not distinguishable*.

SARAN

Adapun saran untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini lebih lanjut adalah:

1. Melakukan analisa *docking* pada zat aktif fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* untuk

membandingkan interaksi zat aktif fraksi air dengan amoksisilin pada dinding sel.

2. Melakukan uji fitokimia LC-HRMS secara kuantitatif serta mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Air dari *Allium sativum L.*
3. Melakukan penelitian serupa dengan menggunakan dosis fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* yang beragam.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM FK UNISMA, kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini dan dr. Rahma Triliana, M.Kes, PhD sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Apriliana, E., Ramadhan, M.R., Warganegara, E., Hasibuan, S.A. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas Linn*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* secara *In Vitro*. *J Agromedicine Unila*. 2018;5(2).
2. Liana, P. Gambaran Kuman *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) Periode Januari-Desember 2010. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*. 2014;46(3).
3. Setiawati, A.. Peningkatan Resistensi Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin Menggunakan Metode Adaptif Gradual. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2015;7(3).
4. Chudlori, B., Kuswandi, M., Indrayudha, P. Pola Kuman Dan Resistensinya Terhadap Antibiotika Dari Spesimen Pus Di RSUD Dr. Moewardi Tahun 2012. *Jurnal Farmasi Indonesia Pharmacon*. 2012;13(2).
5. Bhardwaj *et al.* Potential of Herbal Drug and Antibiotic Combination Therapy: A New Approach to Treat Multidrug Resistant Bacteria. *Pharm Anal Acta*. 2016;7(11). doi:10.4172/2153-2435.1000523
6. Dwei, I.P., Orde, I.M., Verawaty. Efektivitas Gel Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2020;2(2).
7. Dewi, I., Orde, I., & Verawaty, V. Efektivitas Gel Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2020;2(2):105-112. <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i2.84>
8. Prihandani, S.S., Poeloengan, M., Noor, S.M., Andriani. Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa* Dalam Meningkatkan Keamanan Pangan. *Informatika Pertanian*. 2015;24(1).
9. Pajan, S.A., Waworuntu, O., Leman, M.A. Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2016;5(4).
10. Suharsanti, R., Wibowo, FX.S. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Som Jawa Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* untuk Menjamin Mutu Penggunaan Sebagai Obat Herbal Antikeputihan. *Media Farmasi Indonesia*. 2016;11(2).
11. Romadanu, Rachmawati, S.H., Lestari, S.S. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Fishtech*. 2014;3(1).
12. Ilic, D. *et al.* Transformation of Synthetic Allicin: The Influence of Ultrasound, Microwaves, Different Solvents and Temperatures, and the Products Isolation. *The Scientific World Journal*. 2012. Article ID 561823. doi:10.1100/2012/561823.
13. Wijanarko, B. & Putri, L.D. Ekstraksi Lipid Dari Mikroalga (*Nanochloropsis sp.*) Dengan Solven Methanol Dan Chloroform. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2012;1(1) : 130-138.
14. Saidi, N., Ginting, B., Murniana & Mustanir. *Analisis Metabolit Sekunder*. Darussalam-Banda Aceh : Syiah Kuala University Press. 2018.
15. Marnoto, T., Haryono, G., Gustinah, D., dan Putra, F.A. Ekstraksi Tannin Sebagai Bahan Pewarna Alami Dari Tanaman Putrimalu (*Mimosa pudica*) Menggunakan Pelarut Organik. *Reaktor*. 2012;14(1): 39-45.
16. Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S.M., Samra, Z.Q., Athar, A.M. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2012;11(8).
17. Medisusyanti, A.S., Haryoto. Aktivitas Sitotoksik Fraksi Polar Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Sel T47D. *Proceeding of The 7th University Research Colloquium*. 2018.
18. Zakiah, N., Dinna, C.I., Aulianshah, V., Vonna, A., Yanuarman, Rasidah. Efek Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Pada Mencit (*Mus musculus*). *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 2017;02.
19. Safithri, M., Bintang, M., Poeloengan. Antibacterial Activity of Garlic Extract Against some Pathogenic Animal Bacteria. *Media Peternakan*. 2011;34(3): 155-158.

20. Rahayuningsih, N., Pratama, A., Suhendy, H. Aktivitas Antidiabetika Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americanna Mill*) Pada Tikus Putih Jantan Dengan Induksi Aloksan. **Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada**. 2020;20(1).
21. Putri, S.D., Purwati. Uji Aktivitas Dan Uji Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum MILL.*). **Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal**. 2019;3(2).
22. Sinulingga, S., Subandrate, Safyudin. Uji Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Fraksi Etanol Air Daun Benalu Kersen (*Dendrophloe petandra (L) Miq*). **Jurnal Kedokteran dan Kesehatan**. 2020;16(1).
23. Hudzicki, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. **American Society For Microbiology**. 2016.
24. P 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**. 2016;7(3):43-52. doi: 10.1016/j.mex.2016.01.002.
25. Muhid, A. **Analisis Statistik 5 Langkah Praktis Analisis Statistik dengan SPSS for Windows**. Sidoarjo : Zifatama Jawara. 2019.
26. Liu, B. **Terapi Bawang Putih Hidup Sehat Secara Alami**. Jakarta: Prestasi Pustaka Raya. 2006;Hal. 93-96.
27. Rubiatik, S., Sartini, Lubis, R. Skrining Fitokimia dan Uji Antimikroba Ekstrak Kasar Bawang Batak (*Allium cinense*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **BioLink**. 2015;2(1).
28. Heliawati, L. **Kimia Organik Bahan Alam**. Bogor : Pascasarjana-UNPAK. 2018.
29. Agustina, W., Nurhamidah, Handayani, D. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). **Alotrop Jurnal pendidikan dan Ilmu Kimia**. 2017;1(2):117-122.
30. Indijah, S.W., Fajri, P. **Farmakologi**. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2016.
31. Nomer, N.M.G.R., Duniaji, A.S., Nocianitri, K.A. Kandungan Senyawa Flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. **Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)**. 2019;8(2), 216-225
32. Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., Mahatmi, H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. **Indonesia Medicus Veterinus**. 2012;1(3): 337-351.