

INTERAKSI ANTAGONIS KLORAMFENIKOL DENGAN FRAKSI N-HEKSANA DAN FRAKSI AIR UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) TERHADAP *Salmonella thypi*

Yossi ayu purwanto, Zainul Fadli, Reza Hakim*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Salmonella thypi* adalah bakteri penyebab demam thypoid yang masih menjadi masalah utama morbiditas dan mortalitas global. Kloramfenikol masih menjadi *drug of choice* dari pengobatan demam thypoid. Resistensi *S.thypi* terhadap kloramfenikol sebesar 66,8% hingga 72%. Resistensi dapat ditangani dengan mengkombinasi antibiotik dengan tanaman herbal yang memiliki senyawa antibakteri seperti *Allium sativum L.* Senyawa antibakteri dapat dipisahkan dengan metode fraksinasi. Namun belum didapatkan data tentang bentuk interaksi kombinasi kloramfenikol dengan fraksi-fraksi umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi*.

Metode: Penelitian in vitro eksperimental laboratorium dengan metode *Kirby-Bauer Disk Difussion Susceptibility Test* dan dianalisa dengan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)* untuk mengetahui efek antibakteri kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol umbi *Allium Sativum L.* terhadap *S.thypi*

Hasil: Fraksi n-Heksana, etil asetat serta air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dosis tunggal dan ganda tidak dapat menghambat pertumbuhan *S.thypi*. Zona hambat fraksi n-Heksana kombinasi kloramfenikol $20,03 \pm 2,68$. Zona hambat fraksi air kombinasi kloramfenikol $17,37 \pm 4,52$. Zona hambat fraksi etil asetat dosis kombinasi kloramfenikol $19,95 \pm 2,89$.

Kesimpulan: Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana dan air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki bentuk interaksi antagonis. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki bentuk interaksi *not distinguishable*.

Kata Kunci: Antibakteri, Kloramfenikol, *Allium sativum L.*, *Salmonella thypi*, Zona hambat

*Korespondensi:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

ANTAGONISTIC INTERACTION OF CHLORAMPHENICOL WITH ETHYL N-HEXANE FRACTION AND WATER FRACTION OF GARLIC BULBS (*Allium sativum L.*) AGAINST *Salmonella thypi*

Yossi Ayu Purwanto, Zainul Fadli, Reza Hakim*

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Salmonella typhi* is a bacterium that causes typhoid fever which is still a major problem of global morbidity and mortality. Chloramphenicol is still the drug of choice for the treatment of typhoid fever. *S.thypi* resistance to chloramphenicol was 66.8% to 72%. Resistance can be overcome by combining antibiotics with herbal plants that have antibacterial compounds such as *Allium sativum L.* Antibacterial compounds are separated based on the level of polarity by fractionation. However, data on the interaction of the combination of chloramphenicol with the fractions of *Allium sativum L.* tuber against *S. thypi* have not been obtained.

Methods: Laboratory experimental in vitro research using the Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test method and analyzed using the Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST) method to determine the antibacterial effect of the combination of chloramphenicol with n-hexane, ethyl acetate and water fractions from the ethanol extract of *Allium Sativum tubers. L.* against *S. thypi*

Results: The n-hexane, ethyl acetate and water fractions from single and multiple doses of ethanol extract of *Allium sativum L.* tuber could not inhibit the growth of *S. thypi*. The zone of inhibition of the n-hexane fraction combined with chloramphenicol was 20.03 ± 2.68 . The inhibition zone of the water fraction of the chloramphenicol combination was 17.37 ± 4.52 . The zone of inhibition of the ethyl acetate fraction in the combination dose of chloramphenicol was 19.95 ± 2.89 .

Conclusion: The combination of chloramphenicol with n-hexane and water fractions from the ethanolic extract of *Allium sativum L.* tuber has a form of antagonistic interaction. The combination of chloramphenicol with ethyl acetate fraction from the ethanol extract of *Allium sativum L.* tuber has a not distinguishable form of interaction.

Keywords: Antibacterial, Chloramphenicol, *Allium sativum L.*, *Salmonella typhi*, Inhibition test

*Correspondence author:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Salmonella enterica serotype *typhi* (*Salmonella Typhi*) adalah bakteri batang Gram negatif bersifat patogen yang dapat menyebabkan penyakit infeksi demam tifoid.¹ World Health Organization (WHO) pada tahun 2018 melaporkan, angka kejadian demam tifoid secara global adalah 11 juta hingga 20 juta kasus dengan 128.000 hingga 161.000 kematian terkait tifoid setiap tahunnya.² Sebuah studi yang berfokus pada lima negara Asia berdasarkan kasus tifoid tiap tahunnya per 100.000 populasi, diperkirakan angka terjadinya adalah 24,2 di Vietnam, 29,3 di Cina, 180,3 di Indonesia, 412,9 di Pakistan dan 493,5 di India.³ Pengobatan Infeksi karena *S.typhi* pada demam tifoid dapat diobati dengan beberapa pilihan antibiotik seperti ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol dan kloramfenikol.⁴ Kloramfenikol masih menjadi terapi pilihan (*drug of choice*) dan standart pengobatan di Indonesia karena efektif serta memiliki mekanisme yang dapat menghambat sintesis protein dan proliferasi *Salmonella Typhi*.⁵ Namun tingginya angka resistensi kloramfenikol pada pengobatan *Salmonella thypi* telah dilaporkan dan hal ini dibuktikan pada beberapa penelitian dengan tingkat presentase resistensi yaitu sebesar 66,8% hingga 72%.^{6,7}

Resistensi kloramfenikol dapat dikendalikan dengan upaya kombinasi antibiotik atau dengan menemukan antibiotik baru. Selain itu terapi adjuvan perlu dilakukan salah satunya mengkombinasikan antibiotik dengan herbal yang memiliki senyawa antimikroba.⁸ Salah satu herbal yang paling umum digunakan karena memiliki sifat antimikroba dan memiliki toksisitas yang rendah adalah bawang putih (*Allium Sativum L.*).⁹ Hal ini dibuktikan pada penelitian Komala *et al.*, (2014) menunjukkan jika pada umbi bawang putih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi*.¹⁰

Umbi bawang putih (*Allium Sativum L.*) memiliki kandungan antimikroba yang berasal dari senyawa organosulfur dan senyawa metabolit sekunder seperti senyawa *allicin*, *ajoene*, alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.^{11,12} Ekstrak etanol mengandung zat aktif antimikroba yang memiliki efek penghambatan lebih tinggi terhadap *Salmonella typhi* dari pada ekstrak air.⁹ Hal ini dibuktikan pada uji sebelumnya jika ekstrak etanol bawang putih (*Allium Sativum L.*) diketahui memiliki aktivitas antibakteri.¹³ Ekstrak etanol 70% dapat melarutkan senyawa yang bersifat non polar, polar, dan semi polar.¹⁴ Senyawa antibakteri dapat dipisahkan menggunakan berbagai pelarut berdasarkan tingkat kepolaran menggunakan metode fraksinasi.^{15,16} Pelarut n-heksana digunakan pada fraksinasi dapat menarik senyawa yang sifatnya non polar seperti *allicin* dan *ajoene*.¹¹ Pelarut etil asetat dapat menarik senyawa semipolar seperti triterpenoid dan pelarut air dapat menarik

senyawa polar seperti senyawa alkaloid, flavonoid dan tannin.¹⁷

Kombinasi dua zat atau lebih dapat memunculkan berbagai bentuk-bentuk interaksi. Data mengenai Interaksi kloramfenikol kombinasi dengan fraksi-fraksi ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium Sativum L.*) dalam menghambat *Salmonella thypi* belum terdapat data. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menunjukkan bentuk interaksi dari kombinasi tersebut.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *in vitro* yang dilaksanakan secara eksperimental laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang Laboratorium Pusat Riset Kedokteran FK UNISMA. Penelitian ini dilaksanakan Agustus-Desember 2021.

Sampel Penelitian

Salmonella thypi didapat dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) penelitian ini dikeluarkan oleh UPT Materia Medica, Batu, Jawa Timur dengan nomor determinasi 074/321/102.7-A/2021.

Ekstraksi Ekstrak Umbi *Allium sativum L.*

Umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) dikeringkan dengan cara dipotong setebal 2 mm kemudian dioven pada suhu 40°C-50°C selama 30-36 jam. Setelah umbi bawang putih mengering kemudian digiling dan disaring sampai didapatkan bubuk. Ekstrak etanol 70% di gunakan karena bersifat polar dan merupakan penyari yang bersifat universal dan ekstrak yang didapat lebih banyak dibanding dengan pelarut lain.¹⁸ Perbandingan 1:2 ekstrak etanol *Allium sativum L.* dibuat yaitu dengan menimbang 100 gram serbuk bubuk umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) yang selanjutnya akan dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 200 ml menggunakan *shaker* pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah itu untuk memisahkan pelarut dengan larutannya dilanjutkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak. Hasil ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) akan disimpan dengan suhu 4°C.¹⁹

Fraksinasi Ekstrak Umbi *Allium sativum L.*

Ekstrak etanol *Allium sativum L.* 20 gram dilarutkan dalam 500 ml air. Larutan ekstrak akan dipartisi dengan tahap awal memasukkan larutan ekstrak kedalam corong pisah dan ditambahkan 500 ml n-heksana lalu dikocok ± 30 menit hingga tercampur sempurna (homogen). Larutan yang suda homogen di diamkan 30-60 menit sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas (n-Heksana) dan lapisan

bawah (air) . Ambil pipet untuk memisahkan fase n-Heksana dan tempatkan ke dalam beaker glass.

Proses penguapan fase n-Heksana dilakukan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga di dapatkan fraksi n-heksana kental. Lapisan bawah ditambahkan larutan etil asetat 500 ml dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Kocok larutan hingga tercampur sempurna (homogen) selama 30 menit. Kemudian lautan didiamkan 30-60 menit sampai terbentuk lapisan atas (etil asetat) dan lapisan bawah (air).^{20,21} Gunakan pipet untuk memisahkan fase etil asetat dan fase air, kemudian uapkan dengan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga didapatkan fraksi air dan fraksi etil asetat kental.^{9,22}

Uji Zona Hambat

Cakram kertas antibiotic kloramfenikol dengan dosis 30 mcg dilekatkan pada cawan petri steril menggunakan lem yang terbuat dari agar *Mueller Hinton* yang telah di autoklaf. Setelah ditempelkan pada cawan petri dengan posisi yang telah ditentukan, cakram kertas kedua berisi fraksi ekstrak etanol umbi *Allium Sativum L.* dioles lem dan ditempelkan diatas cakram antibiotic pertama. Konsentrasi dosis fraksi yang digunakan adalah 50% (% b/v) dengan komposisi 0,5 gram Tween 80, 0,5 gram fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* dan 0,5 gram akuades. Dosis ditentukan pada studi eksplorasi yang dilakukan sebelumnya yaitu pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%. konsentrasi 50% membentuk zona hambat terbesar. Cawan petri kemudian diisi agar *Mueller-Hinton* hangat yang sudah di autoklaf sebanyak 40 ml dengan kedalaman 3,5 mm. Didiamkan beberapa menit sampai memadat hingga siap untuk diinokulasi.²³

Inokulasi bakteri di lakukan dengan mencampur bakteri dengan 2 ml normal saline menggunakan ose. Standart 0,5 Mc farland digunakan untuk menyesuaikan dari tingkat kekeruhan suspensi yang dibuat. Konsentrasi organisme bisa ditambahkan jika kekeruhan dirasa kurang dan jika terlalu keruh bisa di tambahkan dengan normal saline.²⁴ Suspensi dari kultur bakteri *S.thypi* pada tabung diambil dengan kapas lidi steril. Kapas lidi ditekan kuat dengan menempelkan pada dinding tabung sambil diputar-putar untuk mencegah kelebihan cairan. Bakteri diinokulasi pada permukaan media agar yang sudah berisi cakram dengan menggoreskan secara zigzag (*Streaking*) dan sesekali cawan diputar 60°supaya terdistribusi secara merata. Cawan petri yang sudah di inokulasi selanjutnya diinkubasi padada suhu 35°C selama 24 jam.²¹ Zona hambat ditentukan dengan melihat zona bening yang berada disekitar cakram. Zona hambat yang terbentuk diukur

dengan *Software Image Raster Optilab Viewer 2.2* milimeter (mm).

Metode Penentuan Interaksi

Metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)* merupakan metode yang digunakan untuk interpretasi dari interaksi uji

Tabel 1. Interpretasi Berdasarkan AZDAST

No.	Hasil zona hambat kombinasi	Interpretasi
1	AB>A&B, dan </> dari AA dan atau BB	Sinergis
2	Salah satu A/B=0 dan AB>A&B	Potensiasi
3	AB<A&B	Antagonis
4	AB=AA dan atau BB	Aditif
5	AB=A/B	Not distinguishable

Keterangan: A= Antibiotik 1; B= Antibiotik 2; AB= Kombinasi

ZOI kombinasi ekstrak etanol bawang putih dan antibiotic seperti yang ditunjukkan pada **Table 1.**²³

Analisa Data Statistik

Analisa data hasil penelitian zona hambat kombinasi kloramfenikol dengan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*. Data yang diperoleh dari penelitian ini tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dengan uji lanjut *Mann-Whitney*.^{25,26}

HASIL PENELITIAN

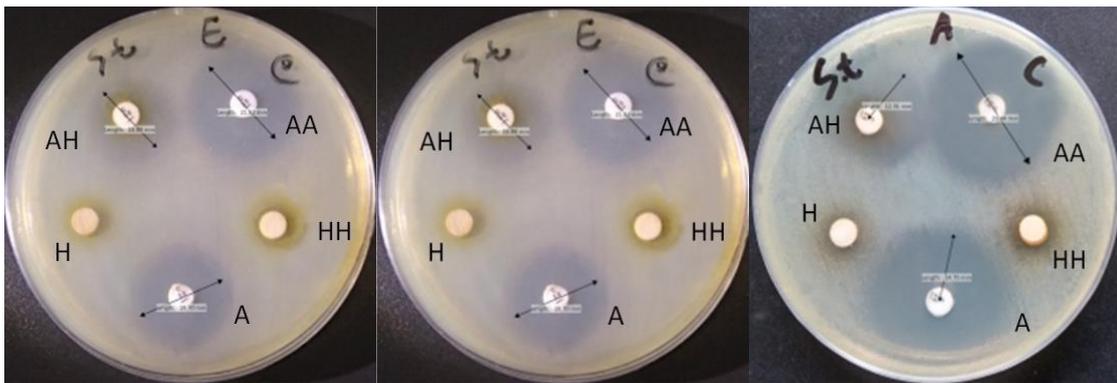
Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi n-Heksana dari Ekstrak Umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi*

Hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk pada fraksi n-Heksana dosis tunggal dan ganda tidak membentuk zona hambat. Kloramfenikol dosis tunggal membentuk zona hambat 25,32±2,68 dan kloramfenikol dosis ganda membentuk zona hambat 27,05±4,97. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana membentuk zona 19,95±2,89. Hal ini menunjukkan jika kloramfenikol dosis tunggal, kloramfenikol dosis ganda dan kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan zona hambat yang terbentuk sedangkan pada fraksi n-Heksana etanol umbi *Allium sativum L.* tunggal dan ganda tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana ekstrak

Tabel 2 Rerata Hasil Ukur Diameter Zona Hambat Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi-Fraksi Umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi*

Fraksi	Zona Hambat±SD (mm)					Interaksi
	H	HH	A	AA	AH	
n-Heksana	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	25,32±2,68*	27,05±4,97*	20,03±2,36*	Antagonis
Etil Asetat	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	20,98±2,35	25,62±3,46*	19,95±2,89	Not distinguishable
Air	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	29,9±1,57*	29,90±1,57*	17,37±4,52*	Antagonis

Keterangan: H= Fraksi Umbi *Allium sativum L.* Tunggal; HH= Fraksi Umbi *Allium sativum L.* Ganda; A= Kloramfenikol Tunggal; AA= Kloramfenikol Ganda; AH= Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi Umbi *Allium sativum L.*; *Kruskal-Wallis test*, dengan tiga kali pengulangan; *= p-value <0,05 (Nilai p signifikan).



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

Keterangan: H= Fraksi Umbi *Allium sativum L.* Tunggal; HH= Fraksi Umbi *Allium sativum L.* Ganda; A= Kloramfenikol Tunggal; AA= Kloramfenikol Ganda; AH= Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi Umbi *Allium sativum L.*

umbi *Allium sativum L.* pada *s.thypi* memiliki jenis interaksi antagonis seperti yang di tunjukan pada Gambar 1 dan Tabel 2.

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi*

Hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk pada fraksi etil asetat dosis tunggal dan ganda tidak membentuk zona hambat. Kloramfenikol tunggal membentuk zona hambat 25,32±2,68 dan kloramfenikol ganda membentuk zona hambat 27,05±4,97. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat membentuk zona 20,03±2,68. Hal ini menunjukkan jika kloramfenikol tunggal, ganda dan kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan zona hambat yang terbentuk sedangkan pada fraksi etil asetat ekstrak umbi *Allium sativum* tunggal dan ganda tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* pada *s.thypi* memiliki jenis interaksi *not distinguishable* seperti pada Gambar 1 dan Tabel 2.

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi*

Hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk pada fraksi air dosis tunggal dan ganda tidak membentuk zona hambat. Kloramfenikol dosis tunggal membentuk zona hambat 29,94±1,57 dan kloramfenikol dosis ganda membentuk zona hambat 29,90±1,24. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi air membentuk zona 17,37±4,52. Hal ini menunjukkan jika kloramfenikol dosis tunggal, kloramfenikol dosis ganda dan kombinasi kloramfenikol dengan fraksi air dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan zona hambat yang terbentuk sedangkan pada fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* tunggal dan ganda tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* pada *s.thypi* memiliki jenis interaksi antagonis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 2.

PEMBAHASAN

Efek Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* Terhadap *S.thypi*

Pada penelitian ini fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak umbi *Allium sativum L.* tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.thypi*. Hal tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Upa *et al.*, (2017) yang menunjukkan bahwa ekstrak umbi *Allium sativum L.* dengan konsentrasi sebanyak 100% tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *S.thypi*.²⁷ Kemungkinan penyebab yang dapat terjadi yaitu ekstrak dari umbi *Allium sativum L.* telah kehilangan senyawa aktif antibakteri seperti *allicin*, *titerpenoid*, *alkaloid*, *flavonoid*, maupun *tannin*.²⁸ Selain itu dapat disebabkan oleh terjadinya penghambatan terhadap mekanisme kerja senyawa yang memiliki aktivitas anti bakteri tersebut.²⁹ Pada penelitian ini tidak dilakukan analisa kandungan kadar zat aktif pada tiap fraksi yang dapat menjadi salah satu penyebab tidak terbentuknya zona hambat apabila kadarnya kurang atau bahkan tidak ada.

Dugaan lain yang dapat terjadi yaitu dipengaruhi oleh beberapa factor dalam proses pembuatan ekstrak seperti penyimpanan, suhu, dan ekstrak yang terlalu kental.³⁰ Hal ini dibuktikan pada penelitian Riwanti *et al.*, (2020) jika ekstraksi pada maserasi ekstraksi *Sargassum polycystum* etanol 70% dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:4 mampu membentuk ekstrak kental dan menari senyawa aktifnya.³¹ Pada penelitian ini perbandingan sampel dan pelarut yang digunakan pada ekstraksi yaitu 1:2 sehingga diduga ekstrak yang didapat terlalu kental. Namun hal ini sejalan pada penelitian zakiah *et al* (2011) pada ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:2 ekstrak etanol umbi bawang putih dengan mengekstrak 250 gram simplisa mampu didapat maserat ekstrak etanol sebanyak 350 mL yang kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan didapat ekstrak kental yang didalamnya terdapat senyawa aktif.³²

Pada penelitian ini didapatkan hasil fraksinasi sebanyak 50 ml dari fraksi n-heksana, 5 ml dari fraksi etil asetat dan 20 ml pada fraksi air dari 50 ml ekstrak umbi *Allium sativum L.* Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa kimia yang tidak diinginkan dan senyawa aktif yang terkandung pada umbi *Allium sativum L.* berdasarkan tingkat kepolarannya. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi proses fraksinasi adalah pemilihan jenis pelarut, yang didalamnya mencakup tingkat kepolaritasannya.³³ Kepolaran suatu pelarut berpengaruh karena senyawa yang terkandung dalam suatu ekstrak akan cenderung larut dengan pelarut yang memiliki persamaan kepolaritasan.³⁴ Faktor lain yang berpengaruh adalah waktu, semakin lama proses fraksinasi itu berlangsung maka akan didapatkan persentase rendemen yang semakin kecil pula.³⁵

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa pemanasan dapat menginaktivasi enzim *allinase* pada suhu diatas 60°C.³⁶ Enzim *allinase* adalah

salah satu enzim yang berperan dalam pembentukan *allicin*. Sehingga apabila enzim tersebut terinaktivasi, maka proses pembentukan *allicin* akan terhambat. Penelitian tersebut didukung oleh penelitian Adebolu (2011) yaitu dengan menghaluskan umbi *Allium sativum L.* tanpa pemanasan dan memeras ekstraknya dalam keadaan steril dapat menghasilkan zona bening di sekitar disk.³⁷ Selain itu, *allicin* sebagai antibakteri memiliki sifat mudah menguap (*volatile*).³⁸ Peneliti menduga jika dalam proses persiapan sampel, sampel terlalu lama disimpan sehingga komponen *allicin* yang terkandung kadarnya berkurang atau menghilang karena sifat *allicin* yang mudah menguap.

Dalam penelitian Mikaili (2013) secara *in vitro* pada proses ekstraksi *Allium sativum L.* yang digunakan sebagai antibakteri pada bakteri *E.coli* dan *S.typhi* didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol memiliki efek penghambatan lebih tinggi, daripada penggunaan ekstrak dengan pelarut air yang menunjukkan sedikit atau tidak ada efek penghambatan.¹⁵ Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa penambahan methanol dan etanol dapat membantu menginaktivasi enzim pada umbi *Allium sativum L.*³⁹ Namun, aktivitas antibakteri ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* pada bakteri Gram positif lebih berpotensi dibandingkan bakteri Gram negatif.²¹ Hal ini dapat terjadi karena bakteri Gram negatif memiliki enzim yang dapat menginaktivasi komponen-komponen bioaktif pada ekstrak umbi *Allium sativum L.*⁴⁰

Hasil penelitian ini berkebalikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Komala *et al.*, (2014) jika menunjukkan bahwa umbi *Allium sativum L.* dapat menghambat pertumbuhan *S.thypi*.¹⁰ Pada penelitian Pasaribu *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa ekstrak umbi *Allium sativum L.* dengan konsentrasi 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi* dengan diameter zona hambat 45,3 mm.⁴¹ Semakin tinggi konsentrasi ekstrak umbi *Allium sativum L.* maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk.⁴⁰ Hal tersebut dibuktikan pada penelitian Vinenthy *et al.*, (2019) zona hambat yang terbentuk dari pemberian ekstrak umbi *Allium sativum L.* dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% yaitu sebesar 14 mm, 17 mm, 20 mm, dan 22 mm. Penghambatan tersebut terjadi disebabkan oleh karena adanya kandungan zat aktif pada ekstrak umbi *Allium sativum L.*⁴²

Efek Aktivitas Antibakteri Kombinasi Kloramfenikol dengan Fraksi n-Heksana, Etil asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* Terhadap *S.thypi*

Kloramfenikol pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding. Kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein dengan cara mengikat secara reversibel subunit 50S ribosom dan menghambat pembentukan ikatan peptida.⁴³ Pada tingkat molekuler kloramfenikol menghambat

perlekatan RNA transfer pada situs A di ribosom 50S.⁴⁴ Pada penelitian ini, zona hambat yang terbentuk dari kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana dan fraksi air dari ekstrak umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi* didapatkan jenis interaksi *antagonis*. Jenis interaksi tersebut ditunjukkan dari zona hambat yang terbentuk pada kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana maupun fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi* lebih kecil dibandingkan dengan kloramfenikol tunggal maupun ganda dan didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Interaksi kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana maupun fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi* sesuai dengan H0 yaitu tidak memiliki interaksi sinergis.

Fraksi n-Heksana dari ekstrak umbi *Allium sativum L.* memiliki sifat non polar yang dapat melarutkan senyawa non polar seperti *allicin* dan *ajoene*.⁴⁵ Sebagai antibakteri *allicin* bekerja dengan meningkatkan permeabilitas dinding bakteri yang mengakibatkan rusaknya gugus SH (sulfhidril dan disulfide) pada asam amino sistin dan sistein hal ini memicu penghambatan sintesis dari enzim protease yang dapat merusak sitoplasma dinding bakteri dan mengganggu metabolisme asam nukleat serta protein yang menyebabkan bakteri tidak dapat mengalami proliferasi.⁴⁶ Mekanisme *allicin* sebagai antibakteri juga dapat terjadi melalui penyerangan DNA, RNA dan sintesis protein dengan target utama pada RNA.⁴⁷ *Ajoene* bekerjasama bersama *allicin* sebagai penghambat sintesis dinding sel, menghambat membran sel, menghambat biosintesis (seperti produksi purin, pirimidin, menghambat sintesis protein), dan menghambat produksi energi (menghambat respirasi atau dengan memisahkan fosforilasi oksidatif.⁴⁸

Fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki sifat polar, sehingga senyawa yang terlarut juga bersifat polar seperti tanin, alkaloid, dan flavonoid.⁴⁹ Tanin tergolong bakterisida karena dapat bereaksi dengan protein secara ireversibel dengan membentuk ikatan kompleks didalam membran bakteri yang dapat menetralkan aktivitasnya.²⁷ Tanin dapat membentuk ikatan ion logam yang mengakibatkan terjadinya toksisitas dan mengkerutkan membran sel atau dinding sel yang dapat mengganggu permeabilitas sel bakteri.²⁷ Tanin juga dapat menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, sehingga pembentukan sel bakteri akan terganggu.⁵⁰ Mekanisme kerja lainnya adalah mengaktifasi adhesin sel bakteri dengan menghambat transport protein dan menginaktivasi kerja enzim.⁵¹

Alkaloid memiliki kemampuan antimikroba karena tersusun dari gugus basa yang mengandung nitrogen dan akan berinteraksi dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel bakteri serta DNA bakteri.^{51,52} Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan susunan asam amino yang

menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada asam DNA bakteri sehingga akan mengalami kerusakan DNA pada inti sel serta mendorong terjadinya lisis sel bakteri dan menimbulkan kematian sel pada bakteri.⁵² Selain itu, alkaloid dapat mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel tidak terbentuk sempurna.⁵² Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri Gram positif dan Gram negatif dengan menghambat beberapa target seluler bakteri. Mekanisme yang pertama yaitu dengan menghambat pembentukan *gyrase* DNA.⁵³ Pembentukan DNA dihambat melalui pembentukan kompleks protein nonspesifik dengan membentuk ikatan hydrogen. Cincin B flavonoid dapat menginterkalasi atau membentuk ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat dan selanjutnya menyebabkan penghambatan sintesis DNA dan RNA pada bakteri.⁵⁴ Mekanisme kedua yaitu dengan menghambat pembentukan metabolisme energi bakteri ketika proses respirasi bakteri sehingga akan menghambat pembentukan energi di membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri. Mekanisme selanjutnya yaitu flavonoid dapat menghambat fungsi membran sel yang di tandai melalui perusakan membran sel bakteri dan keluarnya senyawa intraseluler. Hal ini disebabkan oleh terbentuknya senyawa kompleks dari protein ekstraseluler.⁵⁵

Interaksi *antagonis* pada kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana dan fraksi air ekstrak umbi *Allium sativum L.* diduga terjadi akibat kurangnya kadar zat aktif yang memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi tersebut sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan *S.thypi*. Selain itu beberapa senyawa dari fraksi seperti *ajoene* dan alkaloid memiliki mekanisme kerja yang sama yaitu dengan menghambat sintesis protein. Hal ini diduga dapat menanggung kerja dari kloramfenikol dalam menghambat *S.thypi*.

Zona hambat yang terbentuk dari kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi* didapatkan jenis interaksi *not distinguishable*. Jenis interaksi tersebut disimpulkan dari zona hambat yang terbentuk pada kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *S.thypi* dibandingkan dengan kloramfenikol tunggal maupun ganda tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

Ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki sifat semipolar, sehingga dapat melarutkan senyawa semipolar *Allium sativum L.* seperti triterpenoid.¹¹ Senyawa triterpenoid sebagai antibakteri melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Triterpenoid berinteraksi melalui porin (protein trans membran) di membran luar dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga dapat merusak porin dan permeabilitas dinding sel bakteri menjadi berkurang. Akibatnya sel bakteri pertumbuhannya akan terhambat atau mati karena kekurangan nutrisi

⁴¹ Hasil interaksi *not distinguishable* diduga terjadi oleh adanya senyawa semi polar lain seperti saponin, polifenol, dan steroid yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat tersebut.²² Senyawa-senyawa tersebut mungkin dapat mengganggu kerja kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan *S.thypi*. Dugaan lain karena tidak didapatkan interaksi yang saling membantu antara antibiotik dengan herbal, hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening (*clear zone*) pada saat uji zona hambat secara tunggal maupun ganda. Selain itu akibat senyawa yang bersifat antibakteri konsentrasinya kurang sehingga tidak dapat menghambat pertumbuhan *S.thypi*. Keterbatasan pada penelitian ini adalah proses fraksinasi yang belum diketahuinya efek lama penyimpanan ekstrak terhadap kandungan dan efektivitas zat aktif dalam ekstrak. Sehingga untuk mengetahui kadarnya perlu dilakukan uji analisa senyawa aktif.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki bentuk interaksi antagonis
2. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki bentuk interaksi *not distinguishable*
3. Kombinasi kloramfenikol dengan fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* memiliki bentuk interaksi antagonis

SARAN

Saran untuk penelitian selanjutnya guna meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini lebih baik adalah:

1. Penggunaan dosis fraksi dengan konsentrasi yang berbeda atau lebih tinggi
2. Menggunakan metode ekstraksi lain dan menggunakan pelarut lain.
3. Melakukan uji fitokimia untuk mengetahui dengan pasti kandungan dan konsentrasi senyawa yang bersifat antibakteri yang terkandung di dalam masing-masing fraksi
4. Melakukan uji LC-HRMS pada masing-masing fraksi untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung secara kualitatif dan kuantitatif

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada drh. K. H. M. Zainul Fadli, M. Kes selaku Pembimbing I, dr. Reza Hakim, M. Biomed selaku Pembimbing II, Ikatan Orang Tua Mahasiswa Fakultas Kedokteran, tim kelompok penelitian dan DR. dr. Dini Sri Damayanti, M. Kes selaku *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kurtz, J. R., Goggins, J. A. and McLachlan, J. B. Salmonella infection: interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology letters* . 2017; 264–291
2. World Health Organization. Vaccine Preventable-Disease: Surveillance Standards 2nd ed. 2018.[online]. [Diakses pada 14 oktober 2020]. Tersedia di: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/275754/9789241513920-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Das, J. K. Hasan, R., Zafar, A., Ahmed. I., Ikram. A., Nizamuddin. S., Fatima. S., Akbar. N., Sultan. F., Bhutta. Z. A.. Trends, Associations, and Antimicrobial Resistance of Salmonella Typhi and Paratyphi in Pakistan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2018; 99(3), pp. 48–54.
4. Klemm, E. J., Shakoob, S., Page, A. J., Qamar, F. N., Judge, K., Saeed, D. K., & Hasan, R. 2018. Emergence of an Extensively Drug-Resistant Salmonella Enterica Serovar Typhi Clone Harboring a Promiscuous Plasmid Encoding Resistance to Fluoroquinolones and Third-Generation Cephalosporins. *mBio*. 2018; 9(1): 1–10.
5. Fajar, J. K., Puspitasari, R. A., Dewi, A. R., Yahya, A., & Anand, J. R. Sodium Benzoate is Associated with Salmonella typhi Resistant to Chloramphenicol. *Makara Journal of Health Research*. 2016;1-5.
6. Mutai, W. C., Muigai, A. W., Waiyaki, P., & Kariuki, S. Multi-drug resistant Salmonella enterica serovar Typhi isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin in Kenya. *BMC microbiology*, 2018; 18(1), 1-5.
7. Qamar, F. N, Azmatullah, A., Kazi, A. M., Zaidi A. K. M. A three-year review of antimicrobial resistance of Salmonella enterica serovars Typhi and Paratyphi A in Pakistan. *Journal of Infection in Developing Countries*, 2014; 8(8), pp. 981–986.
8. Hacioglu, M., Dosler, S., Tan, A. S. B., & Otuk, G. Antimicrobial activities of widely consumed herbal teas, alone or in combination with antibiotics: an in vitro study. *PeerJ*. 2017;5: 3467.
9. Batiha, E.G., Beshbishy, M.A., Elewa, H.A., A. Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., & Prasad Devkota, H. Chemical Constituents and Pharmacological. *Nutrients*. 2020;12(3):872.
10. Komala, O., Asmara, H. I., & Wiendarlina, I. Y. Uji efektivitas antibakteri perasan segar dan serbuk umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) terhadap bakteri *Salmonella typhi*. *Ekologia*. 2014;14(2), pp 34-39.
11. Audi, S., Yahya, A., & Hakim, R. aktivitas antibakteri kombinasi vankomisin dengan fraksi n-heksana, etil asetat, air dari ekstrak etanol umbi bawang putih (*allium sativum L.*)

- dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. 2021;8(2).
12. Prastiwi, R., Siska, S., & Marlita, N. Parameter Fisikokimia dan Analisis Kadar Allyl Disulfide dalam Ekstrak Etanol 70% Bawang Putih (*Allium sativum L.*) dengan Perbandingan Daerah Tempat Tumbuh. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017;4(1): 32-47.
 13. Adhuri, I. K., Kristina, T. N., & Antari, A. L. Perbedaan Potensi Antibakteri Bawang Putih Tunggal Dengan Bawang Putih Majemuk Terhadap *Salmonella Typhi*. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 2018;7(2), 415-423.
 14. Suharsanti, R., & Wibowo, F. 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).
 15. Mikaili, P., Maadirad, S., Moloudizargari, M., Aghajanshakeri, S., Sarahrodi, S., Therapeutic Uses and Pharmacological Properties of Garlic, Shallot, and Their Biologically Active Compounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2013;16(10): 1031-48.
 16. Wewengkang, D. S, Sumilat, D. A. & Rotinsuhu, H. Karakterisasi dan bioaktif antibakteri senyawa spons *Haliclona sp.* dari teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 2014;1(1):71-85
 17. Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., Mustikaningtyas, D. Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students*, 2016;1(1):1-9.
 18. Candra, L. M. M., Andayani, Y., & Wirasisya, D. G. 2021. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*). *Jurnal Pijar Mipa*, 16(3), 397-405.
 19. 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 Resistance Pathogenic Bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2012;11(8)
 20. Putri, S. D., & Purwati. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum Mill.*). *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. 2019;3(2): 83-94
 21. Rahayuningsih, N., Pratama, A., & Suhendy, H. Aktivitas Antidiabetika Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*) Pada Tikus Putih Jantan Dengan Induksi Alokasan. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 2020;20(1).
 22. 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;374-378
 23. 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
 24. Hudzicki, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society For Microbiology*. 2016;1-23
 25. Muhson, A. Pedoman Praktikum Analisis Statistik. Yogyakarta: Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Yogyakarta; 2016
 26. Susilawati, L., Supriyadi., Wilani, N., Tobing, D., Astiti, D., Rustika, I., Indrawati, K., Marheni, A., Herdiyanto, Y., Vembriati, N., Suarya, L., Lestari, M., Wulanyani, N., Widiyasavitri, P., & Budisetyani, P. **Bahan Ajar Praktikum Statistik**. Denpasar: Fakultas Kedokteran Universitas Udayana; 2017
 27. Upa, G., Ali, A., Arimaswati, Purnamasari, Y.. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Perumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* dan *Shigella dysenteriae*. *Medula*. 2017;4(2): 354-360.
 28. Kristiananda, D., Allo, J. L., Widayrahma, V. A., Lusiana, L., Noverita, J. M., Riswanto, F. D. O., & Setyaningsih, D. (2022). Aktivitas Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Sebagai Agen Antibakteri. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 19(1), 46-53.
 29. Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2014;19(8): 12591-12618.
 30. Novitasari, N., & Jubaidah, S. 2018. Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambai laut (*Sonneratia caseolaris L.* Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79-83.
 31. Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, 2(2), 82-95.
 32. Zakiah, N. 2010. Effectiveness Of Watery Extract And Ethanolic Extract Of Garlic Bulbs (*Allium sativum L.*) For Second Degree Burns Healing On Mice (*Mus musculus*). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2(2), 90-101.
 33. Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. 2021. Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris L.*) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 2(1), 32-37.
 34. Ariyani, F., Setiawan, L. E., & Soetaredjo, F. E. 2017. Ekstraksi minyak atsiri dari tanaman

- sereh dengan menggunakan pelarut metanol, aseton, dan n-heksana. *Widya teknik*, 7(2), 124-133.
35. Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. 2020. Rendemen ekstrak air rebusan daun tua mangrove *Sonneratia alba*. *Perikan dan Kelaut Trop*, 11(1), 9-15
 36. Wallock-Richards, D., Doherty, C. J., Doherty, L., Clarke, D. J., Place, M., Govan, J. R., & Campopiano, D. J. *PloS one*. 2014;9(12)
 37. Adebolu, T., Adeoye., & Oyetayo, V. Effect of garlic (*Allium sativum*) on *Salmonella typhi* infection, gastrointestinal flora and hematological parameters of albino rats. *African journal of biotechnology*. 2011;10(35), 6804-6808.
 38. Prihandani, S. S. Uji daya antibakteri bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam meningkatkan keamanan pangan. *Informatika Pertanian*. 2015;24(1): 53-58.
 39. Santhosha, S. G., Jamuna, P., & Prabhavathi, S. N. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food bioscience*. 2013;3: 59-74.
 40. Moulia, M. N., Syarief, R., Iriari, E., Kusumaningrum, H. & Suyatma, N. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Pangan*. 2018; 27(1): 55-66.
 41. Pasaribu, O., Simaremare, A., & Sibarani, J. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Air Perasan Bawang Putih Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*. *Nommensen Journal of Medicine*. 2020;6(1): 9-12.
 42. Vinenty, L.P.I.V., Habibah, N., Dhyana Putri, I.G.A.S. Uji Daya Hambat Perasan Bawang Putih terhadap Pertumbuhan *Salmonella thypi*. *Jurnal Kesehatan* : Denpasar.2019;10(3): 354-359.
 43. Katzung, B. G., & Trevor, A. J. *Basic & Clinical Pharmacology 13th Edition*. USA: McGraw-Hill. 2018.
 44. Oong GC & Tadi P. *Chloramphenicol*. Newcastle University: Treasure Island (FL): StatPearls [Online]. 2021. [Diakses pada 20 April 2021]. Tersedia di: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555966/>
 45. Farizal, J. Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap *Salmonella thypi*. *JNPH*. 2018;46-49
 46. Pajan, S. A., Waworuntu, O., & Leman, M. A. Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacoon*. 2016; 5(4): 77-89
 47. Pujoraharjo, P., & Herdiyati, Y. Efektivitas antibakteri tanaman herbal terhadap *Streptococcus mutans* pada karies anak. *Indonesian Journal of Paediatric Dentistry*. 2018; 1(1): 51-56.
 48. Rehman, F., Mairaj, S.. Antimicrobial studies of allicin and ajoene. *Pharma and Bio Science*. 2013;4(2): 1095-1105.
 49. Savitri, N.H., Indistuti, D.N., Wahyunitasari, M.R.. Inhibitory Activity of *Allium sativum* L. Extract Against *Streptococcus Pyogenes* and *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal of Vocational Health Studies*. 2013;03: 72-77.
 50. Pizzi, A. Tannins: Prospectives and actual industrial applications. *Biomolecules*. 2019;9(8).
 51. Sundu, R., & Handayani, F. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol umbi paku atai merah (*Angiopteris ferox* Copel) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*.2018;2(2): 75-82.
 52. Saidi, N., Ginting, B., Murniana & Mustanir. Analisis Metabolit Sekunder. Darussalam-Banda Aceh. **Syiah Kuala University Press**; 2018.
 53. Barbieri., *et al*. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research*. Elsevier GmbH. 2017;196:44-68.
 54. Kumar, S., & Pandey, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*;2013
 55. Nadifah F, Prasetyaningsih Y, Masithah RA.. Aktivitas antibakteri perasan umbi bawang putih (*Allium sativum* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* secara in vitro. *Biomedika*. 2018; 9(1).