

INTERAKSI ANTAGONIS SIPROFLOKSASIN DENGAN FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) TERHADAP *Escherichia coli*

Fatma Kartika Aryanti Mursid, Zainul Fadli, Reza Hakim*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Escherichia coli* adalah salah satu flora normal yang dapat berubah menjadi patogen yang dapat menyebabkan penyakit infeksi. Dilaporkan bahwa *E. coli* mengalami resistensi terhadap siprofloksasin dengan kasus tertinggi di Italia sebesar 40,5%. Penggunaan kombinasi antibiotik dan tanaman herbal dapat digunakan sebagai metode penanganan resistensi. Namun, belum tersedia data yang cukup tentang interaksi kombinasi siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli*.

Metode: Penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* menggunakan kombinasi siprofloksasin dengan fraksi-fraksi dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli*. Pengujian dilakukan menggunakan metode *Kirby-Bauer Disk Difussion Susceptibility Test* dan hasil interaksinya dianalisa berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST). Hasil analisa diuji dengan *Kruskall Wallis*

Hasil: Fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air tunggal maupun ganda tidak mampu menghambat *E. coli*. Zona hambat kombinasi siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana $24,92 \pm 1,88$ mm dan tidak didapatkan perbedaan signifikan dengan siprofloksasin tunggal ataupun ganda. Zona hambat kombinasi siprofloksasin dengan fraksi etil asetat dan fraksi air masing-masing $25,40 \pm 0,52$ mm dan $24,33 \pm 1,15$ mm. Zona hambat tersebut lebih kecil dibandingkan dengan siprofloksasin tunggal ataupun ganda serta didapatkan perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan: Interaksi kombinasi siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana bersifat *not distinguishable*, sedangkan dengan fraksi etil asetat dan air bersifat antagonis.

Kata kunci: Siprofloksasin, *Escherichia coli*, Kombinasi antibiotik dan fraksi *Allium sativum L.*, Daya hambat

*Korespondensi:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

ANTAGONISTIC INTERACTION OF CIPROFLOXACIN WITH ETHYL ACETATE FRACTION AND WATER FRACTION OF GARLIC BULBS (*Allium sativum L.*) AGAINST *Escherichia coli*

Fatma Kartika Aryanti Mursid, Zainul Fadli, Reza Hakim*

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *Escherichia coli* is a normal flora that can turn into pathogens that can cause infectious diseases. It was reported that *E. coli* experienced resistance to ciprofloxacin with the highest cases in Italy at 40.5%. The combination of antibiotics and herbal plants can be used as a method of handling resistance. However, there is no enough data available about interaction of combination ciprofloxacin with fractions of n-Hexane, ethyl acetate, and water from *Allium sativum L.* bulbs against *E. coli*.

Methods: *In vitro* laboratory experimental research used a combination of ciprofloxacin with fractions of ethanol extract of *Allium sativum L.* bulbs against *E. coli*. The test was conducted using the *Kirby-Bauer Disk Difussion Susceptibility Test* and the results of the interaction were analyzed based on the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method. The results of the analysis were tested with *Kruskall Wallis*

Results: The n-Hexane, ethyl acetate, and water fractions on a single or double dose are unable to inhibit *E. coli*. The zone of inhibition of combination ciprofloxacin and n-Hexane fraction is 24.92 ± 1.88 mm and does not make a significant difference with single or double dose ciprofloxacin. The zone of inhibition of combinations ciprofloxacin with ethyl acetate and water fractions is 25.40 ± 0.52 mm and 24.33 ± 1.15 mm. The zone of inhibition is smaller than single or double dose ciprofloxacin and there is a significant difference.

Conclusion: The interaction of the combination of ciprofloxacin with the n-Hexane fraction is not distinguishable, while with ethyl acetate and water fraction is antagonistic.

Keywords: Ciprofloxacin, *Escherichia coli*, Combination of Antibiotics and Fraction of *Allium sativum L.*, Inhibition test

*Correspondence author:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Escherichia coli adalah bakteri Gram negatif yang merupakan bakteri flora normal yang dapat hidup dan bertahan di dalam saluran pencernaan. Namun pada kelompok tertentu, *E. coli* dapat menjadi bakteri patogen yang dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti diare.¹ Selain itu, *E. coli* juga dapat menyebabkan penyakit infeksi saluran kemih dan penyakit ekstraintestinal seperti pneumonia, peritonitis, dan bakteremia.² Sekitar 50% penyakit diare akut pada pasien yang dirawat di RSUP. Manado disebabkan oleh *E. coli*.³ Penyakit infeksi yang disebabkan oleh *E. coli* dapat diterapi menggunakan antibiotik siprofloksasin.⁴ Namun, di Italia telah dilaporkan sebanyak 40,5% *E. coli* mengalami resistensi terhadap siprofloksasin. Resistensi *E. coli* terhadap obat golongan fluorokuinolon seperti siprofloksasin dapat terjadi akibat adanya mutasi kromosom dan plasmid yang memfasilitasi terjadinya resistensi.⁵

Angka kejadian resistensi antibiotik semakin meningkat terutama di negara-negara yang tidak memiliki pedoman standar pengobatan.⁶ Sebanyak 86,1% penduduk Indonesia menyimpan antibiotik yang diperoleh tanpa resep.⁷ Hal ini menyebabkan masyarakat dapat mengkonsumsi antibiotik secara bebas dan tidak rasional, sehingga bakteri yang awalnya tidak resisten dapat berkembang menjadi bakteri yang resisten terhadap beberapa antibiotik dan menyebabkan infeksi yang mengancam jiwa.⁸ Pada penelitian sebelumnya, kombinasi antibiotik dengan ekstrak air dan metanol dari *S. chorassanica* dan *A. khorassanica* terhadap *Acinobacter* yang resisten terhadap beberapa obat memiliki interaksi sinergis. Sehingga penggunaan kombinasi antibiotik dan tanaman herbal dapat digunakan sebagai metode penanganan resistensi.⁹

Penggunaan obat tradisional seperti jamu dan obat-obatan herbal sangat disarankan sebagai upaya pemeliharaan kesehatan dan pencegahan penyakit.¹⁰ Pada penelitian sebelumnya, *Allium sativum L.* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif.¹¹ Senyawa organosulfur merupakan komponen aktif utama pada *Allium sativum L.*, yang meliputi *diallyl thiosulfonate (allicin)*, *diallyl sulfide (DAS)*, *diallyl disulfide (DADS)*, *E/Z-ajoene*, *S-allyl-cysteine (SAC)*, *diallyl trisulfide (DATS)*, dan *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)*.¹² Ekstrak etanol *Allium sativum L.* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.^{13,14}

Etanol merupakan penyari yang bersifat universal, sehingga dapat menyari senyawa non polar sampai polar.¹⁵ Penggunaan fraksi dalam uji aktivitas herbal dinilai lebih baik dibandingkan dengan bentuk ekstrak.¹⁶ Senyawa yang bersifat non polar akan difraksinasi menggunakan n-Heksana, senyawa semi polar akan difraksinasi menggunakan etil asetat, dan senyawa yang tidak larut dalam fraksi etil asetat merupakan senyawa polar (fraksi air).^{17,18}

Namun, belum ada data tentang interaksi pada kombinasi siprofloksasin dan fraksi n-Heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli*. Sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui interaksi tersebut.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain penelitian *in vitro*. 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 Agustus hingga Desember 2021.

Sampel Penelitian

E. coli didapatkan dari Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* diperoleh dari UPT. Materia Medica Batu dengan surat determinasi No. 074/321/102.7-A/2021.

Ekstraksi dan Fraksinasi Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.*

Umbi *Allium sativum L.* segar dikupas dan dicuci bersih. Kemudian diiris tipis dengan ketebalan sekitar 2 mm dan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40^o-50^oC dalam waktu 30-36 jam. Setelah kering, umbi *Allium sativum L.* diblender halus hingga diperoleh serbuk simplisia. 100 gram serbuk simplisia kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 200 ml. Maserasi dilakukan menggunakan *shaker*, dan disimpan pada suhu ruangan selama 24 jam. Setelah 24 jam, larutan lalu dipanaskan hingga menguap dengan *vacuum rotary evaporator* pada temperatur 50 °C sampai didapatkan ekstrak kental.^{19,20} Kemudian ekstrak etanol *Allium sativum L.* disimpan pada suhu 4^oC.²¹

Ekstrak etanol *Allium sativum L.* sebanyak 20 gr dilarutkan dengan 500 ml air. Kemudian ekstrak dipartisi dengan beberapa pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda.²² Larutan kemudian dipartisi dengan pelarut n-Heksana sebanyak 500 ml yang dimasukkan ke dalam corong pisah dan dikocok selama kurang lebih 30 menit sampai homogen. Setelah itu, larutan didiamkan selama 30-60 menit sampai terbentuk dua lapisan yaitu fraksi n-Heksana (lapisan atas) dan fraksi etanol-air atau residu (lapisan bawah). Kemudian fraksi n-Heksana dipisahkan dan dipindah ke dalam *beaker glass*. Selanjutnya, fraksi residu yang tersisa ditambahkan 500 ml pelarut etil asetat dan dimasukkan ke dalam corong pisah dan dikocok selama kurang lebih 30 menit sampai homogen. Setelah itu, larutan didiamkan selama 30-60 menit sampai terbentuk dua

lapisan yaitu fraksi etil asetat (lapisan atas) dan fraksi etanol-air (lapisan bawah). Kemudian fraksi etil asetat dipisahkan dan dipindah ke dalam *beaker glass*.^{23,24} Kemudian dilakukan penguapan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada masing-masing fraksi hingga diperoleh fraksi n-Heksana kental, fraksi etil asetat kental, dan fraksi air kental.^{23,25}

Uji Zona Hambat

Cawan petri steril dengan diameter 12 cm yang telah disiapkan, diberi cakram kertas antibiotik siprofloksasin dengan dosis 5 mcg direkatkan pada area dasar cawan yang telah ditandai menggunakan sedikit agar *Mueller-Hinton*. Cakram kertas yang berisi fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dengan dosis 50% (b/v) direkatkan di atas cakram kertas antibiotik yang sebelumnya sudah ditempel. Masing-masing fraksi yang digunakan diukur dosisnya dengan menggunakan rumus %b/v, dengan komposisi 2 gr fraksi dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.*, 1 ml *aquades*, dan 1 ml tween 80. Setelah keduanya direkatkan, cawan petri kemudian diisi dengan media agar *Mueller Hinton* yang telah diautoklaf sebanyak 40 ml hingga mencapai kedalaman 3,5 mm. Kemudian diamkan beberapa menit sampai media memadat.²⁶

Satu koloni *Escherichia coli* dari media kultur diambil menggunakan ose steril dan dicampurkan dengan 2 ml normal saline yang telah disiapkan di dalam tabung reaksi. Kemudian tabung tersebut dimasukkan ke dalam mesin *vortex* agar suspensi menjadi halus. Setelah itu, kekeruhan suspensi disesuaikan dengan *standard 0,5 McFarland*. Selanjutnya, bakteri diambil menggunakan kapas lidi steril dan kemudian diusapkan ke permukaan media agar yang sudah diberi cakram kertas yang berisi antibiotik dan fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* Kapas lidi diusapkan secara zig-zag sambil diputar 60° sampai rata di seluruh permukaan media agar. Media agar yang telah diinokulasi kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu 35°C selama 24 jam.²⁷ Diameter zona hambat yang terbentuk kemudian diukur dengan bantuan *Software Image Raster Optilab Viewer 2.2* dengan satuan milimeter.

Metode Penentuan Interaksi

Interprestasi hasil uji zona hambat dari kombinasi ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dan antibiotik diukur berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)*²⁶ seperti pada **Tabel 1**.

Analisa Data Statistik

Analisa data hasil penelitian zona hambat kombinasi siprofloksasin 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*.^{28,29}

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 A; B= Antibiotik B; AB= Kombinasi antibiotik A dan B

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi n-Heksana terhadap *E. coli*

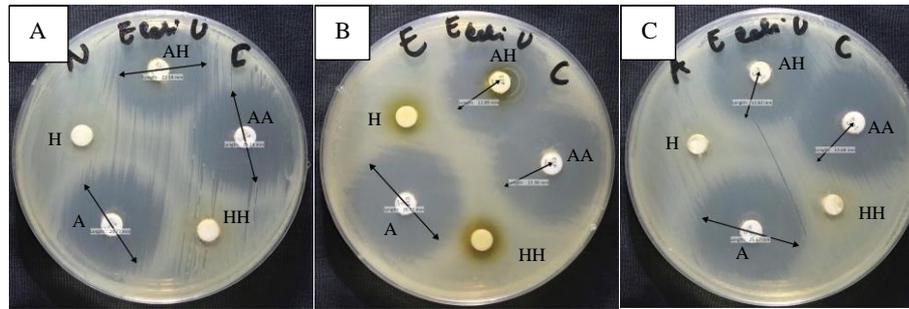
Hasil pengukuran zona hambat pada cakram yang berisi fraksi n-Heksana tunggal maupun ganda tidak didapatkan zona hambat. Zona hambat yang diukur pada cakram antibiotik siprofloksasin tunggal dan ganda didapatkan hasil masing-masing adalah 25,89±1,95 mm dan 25,41±0,63 mm. Sedangkan zona hambat yang diukur pada kombinasi cakram antibiotik siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* didapatkan hasil 24,92±1,88 mm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa zona hambat yang terbentuk pada kombinasi tidak memiliki perbedaan, sehingga bersifat *not distinguishable*. Hasil dari pengukuran zona hambat ditunjukkan pada **Gambar 1A** dan **Tabel 2**

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli*

Hasil pengukuran zona hambat pada cakram yang berisi fraksi etil asetat tunggal maupun ganda tidak didapatkan zona hambat. Zona hambat yang diukur pada cakram antibiotik siprofloksasin tunggal dan ganda didapatkan hasil masing-masing adalah 26,95±0,66 mm dan 28,00±0,88 mm. Sedangkan zona hambat yang diukur pada kombinasi cakram antibiotik siprofloksasin dan fraksi etil asetat didapatkan hasil 25,40±0,52 mm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan dengan siprofloksasin tunggal, sehingga bersifat antagonis. Hasil dari pengukuran zona hambat ditunjukkan pada **Gambar 1B** dan **Tabel 2**.

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi Air terhadap *E. coli*

Hasil pengukuran zona hambat pada cakram yang berisi fraksi air tunggal dan ganda tidak didapat



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

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

Tabel 1 Rata-rata Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli*

Fraksi	Zona Hambat \pm SD (mm)					Interaksi
	H	HH	A	AA	AH	
n-Heksana	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	25,89 \pm 1,95	25,41 \pm 0,63	24,92 \pm 1,88	<i>Not distinguishable</i>
Etil Asetat	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	26,95 \pm 0,66*	28,00 \pm 0,88*	25,40 \pm 0,52*	Antagonis
Air	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	26,67 \pm 1,03*	27,97 \pm 0,79*	24,33 \pm 1,15*	Antagonis

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

zona hambat yang terbentuk. Pada pengukuran zona hambat pada cakram antibiotik siprofloksasin tunggal dan ganda didapatkan zona hambat yang terbentuk masing-masing adalah 26,67 \pm 1,03 mm dan 27,97 \pm 0,79 mm. Sedangkan pada hasil pengukuran zona hambat pada kombinasi cakram antibiotik siprofloksasin dan fraksi air didapatkan zona hambat sebesar 24,33 \pm 1,15 mm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa zona hambat yang terbentuk pada kombinasi lebih kecil dibandingkan siprofloksasin tunggal, sehingga bersifat antagonis. Hasil dari pengukuran zona hambat ditunjukkan pada **Gambar 1C** dan **Tabel 2**

PEMBAHASAN

Efek Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* Terhadap *E. coli*

Fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dengan konsentrasi 50% tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Hasil tersebut tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya.³⁰ Pada penelitian Mustamin tahun 2016 yang menggunakan ekstrak etanol *Allium sativum L.* dengan konsentrasi 80% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*.³¹ Diduga, dosis konsentrasi pada fraksi yang digunakan pada penelitian ini masih kurang.

Tidak terbentuknya zona hambat pada fraksi-fraksi tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa hal. Tidak adanya senyawa aktif yang

memiliki aktivitas antibakteri yang terkandung di dalam setiap fraksi dapat menjadi salah satu penyebab tidak adanya zona hambat. Pada penelitian ini, tidak dilakukan analisa senyawa aktif untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang bersifat antibakteri pada masing-masing fraksi. Sehingga ada atau tidaknya senyawa aktif di dalam masing-masing fraksi tidak dapat dipastikan.

Faktor lain yang mungkin menjadi penyebab tidak terbentuknya zona hambat pada fraksi-fraksi tersebut adalah tidak aktifnya senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut dalam proses ekstraksi pada penelitian ini diduga dapat mempengaruhi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstrak umbi *Allium sativum L.* Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Santhosa *et al.*, (2013), bahwa penggunaan etanol dapat menginaktivasi kerja enzim pada umbi *Allium sativum L.* Salah satu enzim yang berperan dalam pembentukan *allicin* adalah enzim *allinase*. Sehingga apa apabila enzim tersebut terinaktivasi, maka proses pembentukan *allicin* akan terhambat.³² Menurut Borlinghaus *et al.*, (2014) aktivitas antibakteri umbi *Allium sativum L.* berhubungan dengan adanya senyawa *allicin*. Sehingga apabila pembentukan *allicin* selama proses ekstraksi terhambat, maka ekstrak umbi *Allium sativum L.* juga akan kehilangan aktivitas antibakterinya.³³ Namun, hasil tersebut bertolak belakang dengan penelitian sebelumnya, dimana pada penggunaan pelarut etanol 70% didapatkan

senyawa allicin lebih banyak dibandingkan dengan pelarut lain.³⁴

Pada penelitian Moulia *et al.*, (2018) aktivitas antibakteri umbi *Allium sativum L.* lebih berpotensi pada bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal ini dapat terjadi karena bakteri Gram negatif memiliki enzim yang dapat menginaktivasi komponen-komponen bioaktif pada ekstrak umbi *Allium sativum L.* Selain itu dinding sel *E. coli* memiliki lapisan yang lebih kompleks, yang terdiri dari kapsul, lipopolisakarida, lipoprotein, peptidoglikan, ruang periplasma, dan membran sitoplasma. Dinding sel *E. coli* juga mengandung lipid yang cukup tinggi.^{35,36} Hal ini dapat menyebabkan senyawa aktif yang bersifat antibakteri tidak mampu menembus dinding sel *E. coli*, sehingga zona hambat tidak dapat terbentuk.

Efek Aktivitas Antibakteri Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi n-Heksana dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* Terhadap *E. coli*

Zona hambat yang terbentuk dari kombinasi siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli* didapatkan jenis interaksi *not distinguishable*. Jenis interaksi tersebut disimpulkan dari zona hambat yang terbentuk pada kombinasi siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana dibandingkan dengan siprofloksasin tunggal maupun ganda tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

Fraksi n-Heksana memiliki sifat non polar, sehingga dapat melarutkan senyawa yang non polar seperti *allicin* dan *adjoene*.^{17,37,38} Senyawa *allicin* dapat menyebabkan hancurnya gugus sulfhidril dan disulfide melalui peningkatan permeabilitas sel bakteri. Hal ini akan menyebabkan proses metabolisme protein dan asam nukleat terhambat, sehingga proses proliferasi bakteri juga akan terhambat.³⁹ Senyawa *adjoene* akan menghambat sintesis RNA bakteri secara total, dan menghambat sebagian sintesis protein dan DNA bakteri.⁴⁰ Siprofloksasin bekerja dengan cara menghambat replikasi DNA melalui penghambatan DNA topoisomerase IV dan DNA-*gyrase* (topoisomerase II).⁴¹ Interaksi *not distinguishable* pada kombinasi siprofloksasin dengan fraksi n-Heksana diduga terjadi akibat tidak adanya senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi tersebut. Kemungkinan lain yang menyebabkan interaksi tersebut terjadi adalah akibat senyawa *adjoene* memiliki tempat kerja yang sama dengan siprofloksasin yaitu di inti sel. Sehingga, dua hal tersebut menyebabkan fraksi n-Heksana tidak memiliki efek dan tidak dapat membantu siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Efek Aktivitas Antibakteri Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* Terhadap *E. coli*

Pada zona hambat yang terbentuk dari kombinasi siprofloksasin dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli* didapatkan jenis interaksi antagonis. Jenis interaksi tersebut disimpulkan dari zona hambat yang terbentuk pada kombinasi siprofloksasin dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli* lebih kecil dibandingkan dengan siprofloksasin tunggal maupun ganda dan didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Fraksi etil asetat memiliki sifat semipolar, sehingga dapat melarutkan senyawa semipolar seperti triterpenoid.^{17,37} Senyawa triterpenoid akan berikatan dengan protein trans membran (porin) yang terletak di membran luar dinding sel bakteri, dan kemudian membentuk ikatan polimer yang dapat merusak protein trans membran.⁴² Interaksi antagonis pada kombinasi siprofloksasin dengan fraksi etil asetat diduga terjadi akibat senyawa yang bersifat antibakteri kadarnya terlalu sedikit, sehingga tidak dapat membantu kerja siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*. Interaksi tersebut juga dapat disebabkan oleh adanya senyawa semi polar lain seperti saponin, polifenol, dan steroid yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat tersebut.¹⁸ Senyawa-senyawa tersebut mungkin dapat mengganggu kerja siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Efek Aktivitas Antibakteri Kombinasi Siprofloksasin dengan Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum L.* Terhadap *E. coli*

Zona hambat yang terbentuk dari kombinasi siprofloksasin dengan fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *E. coli* didapatkan jenis interaksi antagonis. Jenis interaksi tersebut disimpulkan dari zona hambat yang terbentuk pada kombinasi siprofloksasin dengan fraksi air terhadap *E. coli* lebih kecil dibandingkan dengan siprofloksasin tunggal maupun ganda dan didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Fraksi air memiliki sifat polar, sehingga senyawa-senyawa yang terlarut juga bersifat polar seperti tanin, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa tanin sebagai antibakteri akan menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, sehingga pembentukan sel bakteri akan terganggu.⁴³ Alkaloid akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga proses pembentukan dinding sel terganggu dan mengakibatkan kematian sel.⁴⁴ Sedangkan senyawa flavonoid memiliki efek antibakteri melalui beberapa mekanisme kerja, yang pertama, menghambat sintesis asam nukleat sehingga proses sintesis DNA dan RNA juga terhambat. Yang kedua, flavonoid akan merusak membran sel dengan cara menghasilkan senyawa kompleks dari protein ekstrasel. Dan yang terakhir, flavonoid akan menghambat proses metabolisme energi dengan cara menghambat pemakaian oksigen oleh bakteri, sehingga proses pembentukan energi di

sitoplasma tidak akan terjadi.^{45,46} Interaksi antagonis pada kombinasi siprofloksasin dengan fraksi air diduga terjadi akibat kurangnya kadar senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi tersebut, sehingga tidak dapat membantu kerja siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*. Selain itu, interaksi tersebut juga dapat terjadi akibat senyawa tanin dan siprofloksasin memiliki mekanisme kerja yang sama yaitu menghambat DNA topoisomerase. Sehingga perlu dilakukan analisa *docking* untuk mengetahui secara pasti apakah tanin pada fraksi air dapat mengganggu kerja siprofloksasin.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

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

SARAN

Melihat keterbatasan yang ada pada penelitian ini, peneliti memberi saran guna mengembangkan penelitian selanjutnya agar lebih baik melalui:

1. Melakukan uji analisa senyawa menggunakan fitokimia untuk mengetahui dengan pasti kandungan senyawa yang bersifat antibakteri yang terkandung di dalam masing-masing fraksi.
2. Menggunakan dosis konsentrasi fraksi yang lebih tinggi.
3. Melakukan uji pendahuluan untuk menentukan pelarut yang sesuai untuk digunakan dalam proses ekstraksi
4. Melakukan analisa *docking* pada senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri untuk mengetahui interaksi senyawa aktif pada masing-masing fraksi dengan siprofloksasin

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih 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 (IOM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan tim kelompok penelitian yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini, serta DR. dr. Dini Sri Damayanti, M. Kes selaku *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. *Escherichia Coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko*. Bogor: IPB Press; 2018.
2. Mueller M., Tainter C. R. *Escherichia coli*. In: StatPearls [Internet]. 2021 Jan [Diakses pada 12 Oktober 2021]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/> .
3. Halim, F., Warouw, S. M., Rampengan, N. H., Salendu, P. Hubungan Jumlah Koloni *Escherichia coli* dengan Derajat Dehidrasi pada Diare Akut. *Sari Pediatri*. 2017;19(2):81–5.
4. Joel, G. H., Lee, E. L., & Alfred, G. G., editor. Dasar Farmakologi Terapi. Edisi 10. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2012.
5. Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. *Escherichia coli* in Europe: An overview. *International Journal of Environmental Research Public Health*. 2013;10(12):6235–54.
6. World Health Organization. Antibiotic Resistance. [online]. 2020 Juli [Diakses pada 11 September 2020]. Tersedia di: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> .
7. Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2013.
8. Musharraf, M., & Parmanik, M. A.. Impact of Overuse of Antibiotics on Human Health. *ResearchGate*. 2016;6(3):1-9.
9. Fatemi, N., Sharifmoghadam, M. R., Bahreini, M., Khameneh, B., & Shadifar, H. Antibacterial and Synergistic Effects of Herbal Extracts in Combination with Amikacin and Imipenem Against Multidrug-Resistant Isolates of Acinetobacter. *Current Microbiology*. 2020;77(9):1959–67.
10. Kemenkes RI. Kemenkes Sarankan Masyarakat Manfaatkan Obat Tradisional. [online] [Diakses pada 02 Maret 2021] Tersedia di : <https://www.kemkes.go.id/article/view/20052100005/kemenkes-sarankan-masyarakat-manfaatkan-obat-tradisional.html> .
11. Prihandani, S. S., Poeloengan, M., Noor, S. M., & Andriani. 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):53–8.
12. Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Tang, G. Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H. B.. Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum L.*). *Foods*. 2019;8(7):1–31.

13. 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.
14. Hovana, E. I. K., James U. S., James E., Egbobor, E. M., Egba, A. G., & Eta, E. S. Antibacterial and Phytochemical Studies of *Allium sativum*. **New York Sci**. 2011;4:123-8
15. Saifudin, A., Rahayu, & Teruna. Standarisasi Bahan Obat Alam. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2011.
16. Valeri, S., Soegianto, L., & Wijaya, S. Perbandingan Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Tanaman Ceguk (*Quisqualis indica L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Journal Of Pharmaceutical Science And Pharmacy Practice** 2015;2(2): 37-40.
17. Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). **Alotrop**. 2017;1(2):117–22.
18. Amin, S. Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Lanang (*Allium sativum*) Terhadap Radikal Bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil). **Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada**. 2015;13(1):124–9.
19. Safithri, M., Bintang. M., & Poeloengan. Antibacterial Activity of Garlic Extract Against Some Pathogenic Animal Bacteria. **Media Peternakan**. 2011;34(3):155-158
20. 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;2:90-101
21. 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)
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. 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).
24. Putri, S. D., & Purwati. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum Mill.*). **Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal**. 2019;3(2), 83–94
25. Sinulingga, S., Subandrate, & Safyudin. Uji Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Fraksi Etanol Air Daun Benalu Kersen (*Dendrophthoe petandra (L) Miq.*) **Jurnal Kedokteran dan Kesehatan**. 2020;16(1):76-83
26. Ziaei-Daroukalaei, N., Ameri, M., Zahraei-Salehi, T., Ziaei-Daroukalaei, O., Mohajertabrizi, T., & Bornaei L. AZDAST The New Horizon in Antimicrobial Synergism Detection. **MethodsX**. 2016;7(3): 43-52
27. Hudzicki, J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. **American Society For Microbiology**. 2016;1-23
28. Muhson, A. Pedoman Praktikum Analisis Statistik. Yogyakarta: Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Yogyakarta; 2016.
29. 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., Wideasavitri, P., & Budisetyani, P. Bahan Ajar Praktikum Statistik. Denpasar: Fakultas Kedokteran Universitas Udayana; 2017
30. Yadav, M., Bohra, R., & Gupta, N. *In vitro* Determination of Antibacterial Effect of Garlic (*Allium sativum L.*) on *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. 2019;8(9):498-506
31. Mustamin. Uji Antibakteri Ekstrak *Allium sativum* Linn Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. **Mahakam Medical Laboratory Technology Journal**. 2016; 1(2): 91-100.
32. Santhosa, S. G., Jamuna, S., & Prabhavathi, S. N. Bioactive Components of Garlic and Their Physiological Role in Health Maintenance: A Review. **Elsevier**. 2013;13: 59-74
33. Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Slusarenko, A. J. 2014. Allicin: Chemistry and Biological Properties. **Molecules**, 19, pp. 12591-12618
34. Juniawati, & Miskiyah. Aktivitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. **Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner**. 2014; pp. 733-740
35. Moulia, M. N., Syarief, R., Iriani, E. S., Kusumaningrum, H. D., & Suyatma, N. E. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. **Pangan**. 2018; 27(1): 55-66
36. Boleng, D. T. Bakteriologi : Konsep-Konsep Dasar. Malang: UMM Press; 2015.
37. Romadanu, Rachmawati, S. H., & Lestari, S. S. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). **Fishtech**. 2014;3(1):1-7

38. Ilic, D. P., Nikolic, V. D., Nikolic, L. B., Stankovic, M. Z., Stanojevic, L. P., & Cacic, M. D. Allicin and Related Compounds: Biosynthesis, Synthesis, and Pharmacological Activity. *Facta Universitatis – Series: Physics, Chemistry, and Technology*. 2011;9(1):9-20
39. Pajan, S. A., Waworuntu, O., & Leman, M. A. Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 2016;5(4):77-89
40. Salima, J. Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum L.*). *J Majority*, 2015;4(2):30-39
41. Katzung, B. G., & Trevor, A. J. Basic & Clinical Pharmacology. 13th edition. United States: McGraw-Hill Education; 2015.
42. Supriatno, & Rini, A. A. Uji Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia acidissima L.*) Pada Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi*. 2018;236-241
43. Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal FMIPA UNSRAT*. 2013;2(2):128-132
44. Rahman, F. A., Haniastuti, T., & Utami, T. W. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2017;3(1):1-7
45. Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*. 2014;22(1):132-149.
46. 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.