

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI GENTAMISIN DENGAN FRAKSI N-HEKSANA, ETIL ASETAT, AIR DARI EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Escherichia coli*

Yuanita Indra Pratiwi, Arif Yahya, Reza Hakim\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Salah satu cara untuk mengatasi resistensi adalah mengkombinasikan antibiotik dengan herbal yang bersifat antimikroba. *Allium sativum* L. terbukti memiliki efek antibakteri untuk Gram positif dan Gram negatif dengan kandungan organosulfur dan senyawa metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk melihat bentuk interaksi dari kombinasi Gentamisin dengan fraksi n-Heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*.

**Metode:** Melihat bentuk interaksi dari kombinasi antibiotik dengan herbal terhadap bakteri menggunakan uji *Zone of Inhibition* (ZOI). ZOI yang sudah terbentuk diukur menggunakan jangka sorong menurut metode *Kirby-baurier of Susceptibility Testing* dalam satuan mm dan dibandingkan dengan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST).

**Hasil:** Gentamisin dosis tunggal memiliki ZOI sebesar  $21,70 \pm 0,67$  mm –  $23,88 \pm 5,47$  mm. Gentamisin dosis ganda memiliki ZOI sebesar  $24,40 \pm 0,85$  mm -  $25,53 \pm 2,02$  mm. Kombinasi Gentamisin dengan fraksi n-Heksana memiliki ZOI sebesar  $22,53 \pm 2,82$  mm. Kombinasi Gentamisin dengan fraksi etil asetat memiliki ZOI sebesar  $26,18 \pm 0,79$  mm. Kombinasi Gentamisin dengan fraksi air memiliki ZOI sebesar  $20,42 \pm 1,73$  mm.

**Kesimpulan:** Kombinasi Gentamisin dengan fraksi etil asetat memiliki bentuk interaksi aditif.

**Kata kunci:** *Allium sativum* L.; Gentamisin; *Zone of Inhibition*; Kombinasi Antibiotik dan Herbal; *Escherichia coli*

\*Korespondensi:

dr. Reza Hakim, M.Biomed

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

[rezahakim@unisma.ac.id](mailto:rezahakim@unisma.ac.id)

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF GENTAMICIN COMBINATION WITH N-HEXANE, ETHIL ACETATE, WATER FRACTION FROM ETHANOL EXTRACT OF GARLIC BULBS (*Allium sativum* L.) IN INHIBITING *Escherichia coli* GROWTH

Yuanita Indra Pratiwi, Arif Yahya, Reza Hakim\*  
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

### ABSTRACT

**Introduction:** One of alternative treatments to overcome resistance is by combining antibiotics with herbs that are antimicrobial. *Allium sativum* L. was shown to have antibacterial effects for Gram positive and Gram negative with organosulfur content and secondary metabolite compounds. The study aim to observe the interaction of gentamicin combined with fractions of n-Hexane, ethyl acetate and water from ethanol extract *Allium sativum* L. against *E. coli*.

**Methods:** To find out the effects and types of interactions that is formed from the combination of antibiotics with herbs against bacteria using the *Zone of Inhibition* (ZOI) test. The diameter of ZOI can be measured using a vernier caliper with mm units using *Kirby-baurier of Susceptibility Testing* method and see the type of interaction using the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method.

**Results:** Gentamicin with single dose had ZOI  $21,70 \pm 0,67$  mm –  $23,88 \pm 5,47$  mm. Gentamicin with double dose had ZOI  $24,40 \pm 0,85$  mm -  $25,53 \pm 2,02$  mm. The combination of gentamicin with n-Hexane fraction had ZOI  $22,53 \pm 2,82$  mm. The combination of gentamicin with ethyl acetate fraction had ZOI  $26,18 \pm 0,79$  mm. The combination of gentamicin with water fraction had ZOI  $20,42 \pm 1,73$  mm.

**Conclusion:** The combination of Gentamicin with ethyl acetate fraction has a form of additive interaction.

**Keyword :** *Allium sativum* L.; Gentamicin; *Zone of Inhibition*; *Combination of Antibiotics and Herbs*; *Escherichia coli*

\*Correspondence:

dr. Reza Hakim, M.Biomed

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

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

[rezahakim@unisma.ac.id](mailto:rezahakim@unisma.ac.id)

## PENDAHULUAN

*Escherichia coli* dapat bersifat pathogen yang menyebabkan terjadinya penyakit infeksi seperti diare (4%), ISK (Infeksi Saluran Kemih) (50% wanita pernah mengalami ISK), pneumonia, bakteremia, peritonitis dan penyakit saluran usus lainnya. Selain itu, *E. coli* juga dapat menyebabkan infeksi nosokomial (12-50%)<sup>1,2,3</sup>. Terapi pilihan infeksi *E. coli* diantaranya siprofloksasin, aminoglikosida dan trimethoprim-sulfametoksazol<sup>4</sup>.

Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang memiliki efek bakterisidal terhadap *E. coli*. Saat ini *E. coli* sudah mengalami resistensi terhadap Gentamisin mulai dari 2,15% hingga 44,44%<sup>5,6</sup>. Mekanisme resistensi yang paling sering terjadi adalah dengan cara inaktivasi obat<sup>4</sup>. Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2011) resistensi antibiotik merupakan salah satu perhatian dalam pengobatan saat ini. Salah satu penyebab resistensi antibiotik adalah banyaknya penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Penelitian di beberapa Rumah Sakit ditemukan 32% penggunaan antibiotik di rumah sakit tidak sesuai indikasi<sup>7</sup>. Resistensi ini jika berlangsung terus-menerus dapat menimbulkan bahaya yaitu terjadinya *multidrug resistant* dimana akan semakin sulit dalam pengobatan penyakit infeksi<sup>8</sup>. Salah satu cara yang efektif untuk mengatasi resistensi adalah dengan mengkombinasikan antibiotik dengan tanaman herbal yang bersifat antimikroba.

*Allium sativum* L. (Bawang putih) terbukti memiliki efek antibakteri untuk Gram positif dan Gram negatif dengan kandungan organosulfur dan senyawa metabolit sekunder lainnya<sup>9,10,11,12</sup>. Penelitian oleh Karuppiah (2012) didapatkan hasil ekstrak etanol *Allium sativum* L. dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* yang resisten terhadap beberapa obat dengan diameter yang terbentuk 18,50 mm (sensitif jika > 18 mm)<sup>13,14</sup>. Maserasi bawang putih segar dengan pelarut etanol 70% terdeteksi dapat menarik sejumlah komponen zat aktif yang bersifat antibakteri<sup>12</sup>. Untuk memisahkan zat aktif dari ekstrak yang dihasilkan berdasarkan kepolarannya dapat menggunakan metode fraksinasi dengan menggunakan beberapa pelarut. Pelarut n-Heksana akan mengambil zat aktif yang bersifat non polar, pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dan pelarut air yang bersifat polar<sup>15,16</sup>.

Belum ada data tentang aktivitas antibakteri pada kombinasi Gentamisin dengan fraksi n-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* sehingga peneliti ingin mengetahui aktivitas antibakteri tersebut dan bentuk interaksinya apakah sinergis, potensiasi, aditif, *not distinguishable* atau antagonis.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain penelitian *in vitro* untuk mengetahui bentuk interaksi kombinasi Gentamisin

dengan fraksi n-heksana, etil asetat, air dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. terhadap *Escherichia coli* dengan melihat zona hambat (*Zone of Inhibition*, ZOI). *E. coli* didapatkan dari Lab Mikrobiologi UB yang didapatkan dari sampel pasien. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Oktober 2021 di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA).

### Ekstrak Etanol *Allium sativum* L. dengan Metode Maserasi

*Allium sativum* L. diiris dan dikeringkan dalam oven selama 30-36 jam pada suhu 40°C-50°C. Selanjutnya, digiling dan disaring sehingga didapatkan bubuk. 100 gram bubuk ditimbang kemudian dimaserasi dengan 1000 ml pelarut etanol 70% menggunakan *shaker* selama 24 jam suhu kamar. Kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental dan disimpan pada suhu 4°C<sup>17,18,19</sup>.

### Fraksinasi Ekstrak Etanol *Allium sativum* L.

Ekstrak etanol *Allium sativum* L. ditimbang sebanyak 20 ml, ekstrak dilarutkan dalam 500 ml air<sup>20</sup>. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 500 mL n-Heksana lalu dikocok hingga homogen ± 30 menit. Kemudian didiamkan selama 30-60 menit hingga terdapat 2 lapisan. Lapisan atas merupakan (fraksi pelarut — fase n-heksana) dan lapisan bawah (fase residu). Fase n-heksana dipisahkan dengan membuka klep corong pisah, ditempatkan ke dalam *beaker glass*. Fase n-heksana diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental. Kemudian, lapisan bawah yang tersisa ditambahkan 500 mL larutan etil asetat dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian dikocok beberapa kali hingga homogen ± 30 menit. Larutan didiamkan selama 30-60 menit hingga terdapat 2 lapisan. Lapisan atas (fraksi pelarut — fase etil asetat) dan lapisan bawah adalah fase air<sup>21,22</sup>. Fase etil asetat dan air dipisahkan dengan membuka klep corong pisah, dan ditempatkan ke *beaker glass*. Masing-masing fraksi diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental<sup>23</sup>.

Fraksi n-Heksana, etil asetat dan air dilakukan pengenceran untuk memperoleh konsentrasi 50% (b/b) dengan komposisi 50g dalam 25g tween 80 dan 25g aquades. Kertas cakram dimasukkan ke dalam masing-masing fraksi ini dengan cara direndam selama kurang lebih 15 menit.

### Pembuatan Media *Mueller Hinton*

Sebelum melakukan metode ini area kerja di sterilisasi. *Himedia Mueller Hinton* ditimbang sebanyak 38 gram kemudian dicampur dalam 1 liter aquades dimasukkan ke dalam *bottle shoot*. Komponen disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit<sup>24,25</sup>.

### Inokulasi Bakteri

Persiapan inokulasi dengan bakteri dicampurkan dalam 2 ml normal saline dengan menggunakan ose. Kemudian kekeruhan suspensi tersebut disesuaikan dengan standard 0,5 Mc Farland inokulum. Jika kurang keruh bisa ditambah untuk konsentrasi bakteri, jika terlalu keruh bisa ditambah dengan normal salin<sup>24</sup>.

Menurut Hudzicki (2016) proses inokulasi pada MH plate dimulai dari kapas lidi steril dimasukkan kedalam tabung yang berisi suspensi bakteri. Kapas lidi ditempelkan dan diputar ke dinding tabung (diatas permukaan cairan) dengan ditekan secara kuat agar tidak kelebihan cairan. Permukaan agar MH yang kering diinokulasi dengan kapas lidi digoreskan sebanyak tiga kali ke seluruh permukaan agar dengan gerakan zigzag (*Streaking*). Cawan diputar sekitar 60 derajat setiap kali agar distribusinya merata. Pinggiran cawan digoreskan melingkar menggunakan kapas lidi untuk menghilangkan cairan berlebih. Kapas lidi dibuang ke dalam wadah yang sesuai. Cawan didiamkan dengan tutup terbuka pada suhu kamar sekitar 3-5 menit dan tidak boleh lebih dari 15 menit agar permukaan cawan dapat mengering. Cawan petri akan diinkubasi dengan suhu 35°C. Hasil dapat dilihat setelah 18-24 jam<sup>24</sup>.

### Uji Zone of Inhibition (ZOI)

Menurut Hudzicki (2016) cawan petri steril disiapkan dengan diameter 9 cm, kemudian cakram kertas Gentamisin 10 mcg (A) dilekatkan dengan lem/perekat menggunakan sedikit agar *Mueller-Hinton* pada dasar cawan petri yang sudah ditandai. Cakram kertas yang berisi masing-masing fraksi dari ekstrak etanol dengan konsentrasi 50% (B) diolesi dengan lem (agar *Mueller-Hinton*), kemudian ditempelkan diatas cakram kertas Gentamisin (A) (ditumpuk). Selanjutnya cawan petri diisi dengan 40 mL media agar *Mueller-Hinton* hangat yang telah diautoklaf dengan kedalaman agar harus 3,5 mm. Kemudian di tunggu hingga keras dan siap untuk diinokulasi<sup>24</sup>.

Adanya zona bening disekitar ekstrak etanol bawang putih dengan kombinasi antibiotik menunjukkan adanya potensi sebagai antimikroba. ZOI yang sudah terbentuk diukur menggunakan jangka sorong menurut metode *Kirby-baurier of Susceptibility Testing* dalam satuan mm.

### Metode Penentuan Interaksi

Interprestasi hasil uji ZOI kombinasi ekstrak etanol bawang putih dan antibiotik diukur berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) dengan metode cakram untuk menilai kombinasi keduanya dengan dosis yang sudah ditentukan. Apabila AB adalah antibiotik dan H adalah herbal, maka kombinasi dikatakan sinergis apabila  $AB+H > AB$  dan  $H$  dan  $AB+AB$  dan/atau  $H+H$ , potensiasi jika salah satu AB atau H = 0 dan  $AB+H > AB$  dan  $H$  dan  $AB+AB$  dan/atau  $H+H$ , aditif jika  $AB+H=AB+AB$  dan/atau  $H+H$  (salah satunya  $> AB$

dan H), antagonis jika  $AB+H < AB$  atau H (atau hanya lebih kecil pada salah satunya), serta *not distinguishable* jika  $AB+H =$  salah satu AB atau H (sama dengan yang paling besar dari AB atau H)<sup>26</sup>.

### Analisis Data Statistik

Setelah dilakukan interprestasi menggunakan AZDAST Uji data ZOI yang diperoleh diolah menggunakan *Statistical Package for the Social Scienes* (SPSS) untuk mendapatkan nilai rata-rata dan nilai deviasi. Uji parametrik menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan ke uji *post hoc Tamhane's* ( $\text{sig} < 0,05$ ) untuk melihat perbandingan hasil ZOI kombinasi dengan ZOI tunggalnya<sup>27</sup>.

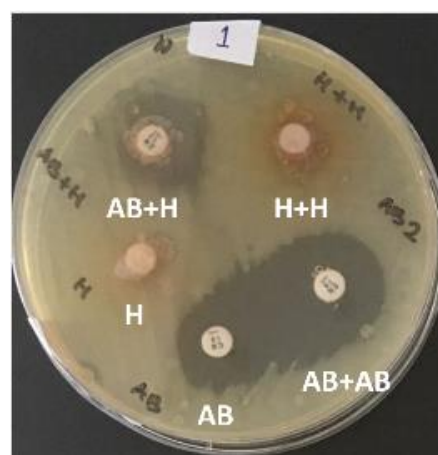
### HASIL PENELITIAN

#### Hasil maserasi ekstrak etanol 70% *Allium sativum* L.

Proses ekstraksi *Allium sativum* L. dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi untuk menarik senyawa aktif. Maserasi ini dilakukan dengan cara merendam 100 gram bubuk dengan 1000 ml pelarut etanol 70% selama 24 jam suhu kamar kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang didapatkan sebanyak 240 gram berwarna kecokelatan.

#### Hasil Pengukuran ZOI Fraksi n-Heksana Tunggal dan Ganda, Fraksi n-Heksana Kombinasi dengan Gentamisin, dan Gentamisin dosis Tunggal dan Ganda terhadap *E. coli*

Cakram berisi Fraksi n-Heksana dosis tunggal dan ganda, fraksi n-Heksana kombinasi dengan Gentamisin, dan Gentamisin dosis tunggal dan ganda dilakukan pengujian terhadap *E. coli* dengan empat kali pengulangan. Hasil pengukuran ZOI yang terbentuk terdapat pada gambar 1 dan tabel 1.



**Gambar 1:** Hasil ZOI Fraksi n-Heksana Tunggal dan Ganda, Fraksi n-Heksana Kombinasi dengan Gentamisin, Gentamisin Tunggal dan Ganda terhadap *E. coli*;

Hasil pengukuran ZOI yang terbentuk pada fraksi n-Heksana dosis tunggal dan ganda menunjukkan tidak adanya zona bening yang terbentuk. Kombinasi Gentamisin dengan fraksi n-Heksana dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya ZOI yang terbentuk. Gentamisin dosis tunggal dan ganda dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya ZOI yang terbentuk.

**Tabel 1. Hasil Pengukuran Rata-rata Empat Kali Pengulangan ZOI Kombinasi Gentamisin dengan Fraksi n-Heksana dari Ekstrak Etanol *Allium sativum* L. terhadap *E. coli***

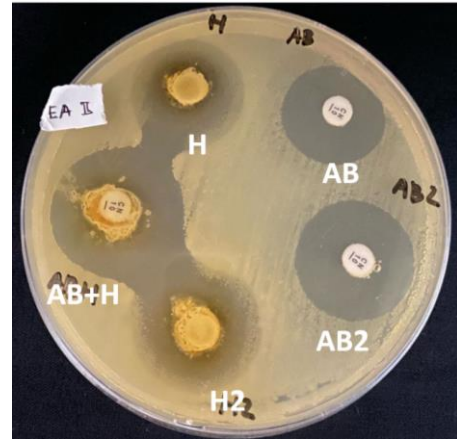
| Fraksi    | Sampel | Rata-Rata (mm) $\pm$ SD | Bentuk Interaksi    |
|-----------|--------|-------------------------|---------------------|
| n-Heksana | H      | $0,00 \pm 0,00^S$       | Not Distinguishable |
|           | H+H    | $0,00 \pm 0,00^S$       |                     |
|           | AB+H   | $22,53 \pm 2,82$        |                     |
|           | AB     | $21,70 \pm 0,67^{TS}$   |                     |
|           | AB+AB  | $24,40 \pm 0,85^{TS}$   |                     |

**Keterangan:** SD = Standar Deviasi, H = herbal, AB = antibiotik, H+H = herbal+herbal, AB+AB = antibiotik+antibiotik, AB+H = antibiotik+herbal, <sup>S</sup> = signifikan terhadap AB+H, <sup>TS</sup> = tidak signifikan terhadap AB+H.

Kombinasi Gentamisin dengan Fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. memiliki bentuk interaksi *not distinguishable* dilihat dari hasil yang tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) antara AB+H dengan AB dan AB+AB sedangkan signifikan ( $P < 0,05$ ) antara AB+H dengan H dan H+H pada uji statistik *One Way Anova* dengan *post hoc Tamhane's*.

#### Hasil Pengukuran ZOI Fraksi Etil asetat Tunggal dan Ganda, Fraksi Etil asetat Kombinasi dengan Gentamisin, dan Gentamisin dosis Tunggal dan Ganda terhadap *E. coli*

Cakram berisi Fraksi etil asetat dosis tunggal dan ganda, fraksi etil asetat kombinasi dengan Gentamisin, dan Gentamisin dosis tunggal dan ganda dilakukan pengujian terhadap *E. coli* dengan empat kali pengulangan. Hasil pengukuran ZOI yang terbentuk terdapat pada gambar 2 dan tabel 2.



**Gambar 2:** Hasil ZOI fraksi etil asetat Tunggal dan ganda, fraksi etil asetat kombinasi dengan Gentamisin, Gentamisin tunggal dan ganda terhadap *E. coli*

Fraksi etil asetat dosis tunggal maupun ganda dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya ZOI. Kombinasi Gentamisin dengan fraksi etil asetat dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan terbentuknya ZOI. Gentamisin dosis tunggal dan ganda dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan terbentuknya ZOI.

**Tabel 2. Hasil Pengukuran Rata-rata Empat Kali Pengulangan ZOI Kombinasi Gentamisin dengan Fraksi Etil asetat dari Ekstrak Etanol *Allium sativum* L. terhadap *E. coli***

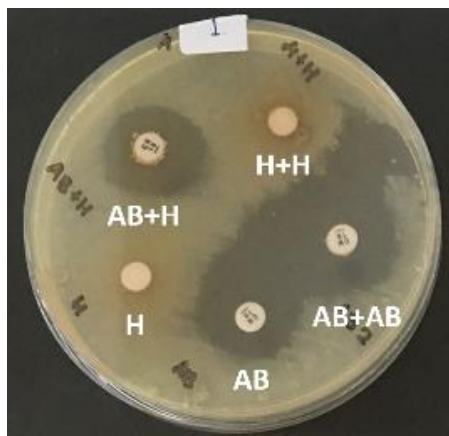
| Fraksi      | Sampel | Rata-Rata (mm) $\pm$ SD | Bentuk Interaksi |
|-------------|--------|-------------------------|------------------|
| Etil asetat | H      | $11,50 \pm 7,78^S$      | Aditif           |
|             | H+H    | $25,23 \pm 4,05^{TS}$   |                  |
|             | AB+H   | $26,18 \pm 0,79$        |                  |
|             | AB     | $22,60 \pm 0,79^{TS}$   |                  |
|             | AB+AB  | $24,58 \pm 0,82^{TS}$   |                  |

**Keterangan:** SD = Standar Deviasi, H = herbal, AB = antibiotik, H+H = herbal+herbal, AB+AB = antibiotik+antibiotik, AB+H = antibiotik+herbal, <sup>S</sup> = signifikan terhadap AB+H, <sup>TS</sup> = tidak signifikan terhadap AB+H.

Kombinasi Gentamisin dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. memiliki bentuk interaksi aditif dilihat dari hasil yang signifikan ( $P < 0,05$ ) antara AB+H dengan H serta hasil yang tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) antara AB+H dengan H+H, AB dan AB+AB pada uji statistik *One Way Anova* dengan *post hoc Tamhane's*.

### Hasil Pengukuran ZOI Fraksi Air Tunggal dan Ganda, Fraksi Air Kombinasi dengan Gentamisin, dan Gentamisin dosis Tunggal dan Ganda terhadap *E. coli*

Cakram berisi Fraksi Air dosis tunggal dan ganda, fraksi air kombinasi dengan Gentamisin, dan Gentamisin dosis tunggal dan ganda dilakukan pengujian terhadap *E. coli* dengan empat kali pengulangan. Hasil pengukuran ZOI yang terbentuk terdapat pada gambar 3 dan tabel 3.



**Gambar 3:** Hasil ZOI fraksi air tunggal dan ganda, fraksi air kombinasi dengan Gentamisin, Gentamisin tunggal dan ganda terhadap *E. coli*

Hasil pengukuran ZOI yang terbentuk pada fraksi air dosis tunggal dan ganda menunjukkan tidak adanya zona bening yang terbentuk. Kombinasi Gentamisin dengan fraksi air dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya ZOI. Gentamisin tunggal maupun ganda dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya ZOI.

**Tabel 3. Hasil Pengukuran Rata-rata Empat Kali Pengulangan ZOI Kombinasi Gentamisin dengan Fraksi Air dari Ekstrak Etanol *Allium sativum* L. terhadap *E. coli***

| Fraksi | Sampel | Rata-Rata (mm) $\pm$ SD | Bentuk Interaksi    |
|--------|--------|-------------------------|---------------------|
| Air    | H      | $0,00 \pm 0,00^S$       | Not Distinguishable |
|        | H+H    | $0,00 \pm 0,00^S$       |                     |
|        | AB+H   | $20,42 \pm 1,73$        |                     |
|        | AB     | $23,88 \pm 5,47^{TS}$   |                     |
|        | AB+AB  | $25,53 \pm 2,02^S$      |                     |

**Keterangan:** SD = Standar Deviasi, H = herbal, AB = antibiotik, H+H = herbal+herbal, AB+AB = antibiotik+antibiotik, AB+H = antibiotik+herbal, <sup>S</sup> = signifikan terhadap AB+H, <sup>TS</sup> = tidak signifikan terhadap AB+H.

Kombinasi Gentamisin dengan Fraksi air dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. memiliki bentuk interaksi *not distinguishable* dilihat dari hasil yang tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) antara AB+H dengan AB sedangkan signifikan ( $P < 0,05$ ) antara AB+H dengan H,

H+H dan AB+AB pada uji statistik *One Way Anova* dengan *post hoc Tamhane's*.

### PEMBAHASAN

#### Aktivitas Antibakteri Kombinasi Gentamisin dengan Fraksi n-Heksana, Etil asetat dan Air dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap *E. coli*

Pada penelitian ini dilakukan metode ekstraksi namun kandungan dari hasil ekstrak tersebut masih berisikan campuran dari berbagai senyawa yang sulit dipisahkan jika hanya dengan teknik pemisahan tunggal. Oleh karena itu, dilakukan fraksinasi dengan tujuan untuk memisahkan senyawa metabolit berdasarkan tingkat kemiripan kepolarannya dan ukuran molekul yang sama<sup>28,29</sup>. Fraksinasi menggunakan pelarut n-Heksana merupakan pelarut yang bersifat nonpolar<sup>30</sup>. Fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat sebagai pelarut semipolar. Fraksinasi menggunakan pelarut air yang bersifat polar<sup>31,32</sup>. Penelitian oleh Pakpahan (2020) didapatkan hasil fitokimia dari fraksi n-Heksana, etil asetat dan butanol daun petai cina menunjukkan adanya senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri seperti alkaloid, tanin, flavonoid dan triterpenoid dan berhasil menghambat pertumbuhan bakteri<sup>33</sup>.

Fraksi n-Heksana yang diduga menarik senyawa Allisin dan turunannya yaitu ajoene, diallil disulfida (DADS), diallil trisulfida (DATS) dan diallil sulfida (DAS)<sup>30</sup>. Allisin dan ajoene memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel dengan meningkatkan permeabilitas yang mengakibatkan sintesis enzim protease terhambat sehingga membran sitoplasma pada dinding bakteri rusak. Selain itu, allisin dan ajoene dapat menghambat sintesis protein bakteri<sup>34,35</sup>. DADS, DATS dan DAS memiliki efek antibakteri dengan mengganggu ikatan disulfida pada protein dengan mereduksi sistein mikroba pada proses sintesis protein<sup>34</sup>.

Fraksi etil asetat diduga menarik senyawa triterpenoid<sup>36</sup>. Senyawa ini dapat bereaksi dengan porin pada dinding sel bakteri. Triterpenoid akan membentuk ikatan polimer yang akan merusak porin sehingga permeabilitas menurun, senyawa tidak bisa masuk akibatnya bakteri kekurangan nutrisi<sup>11</sup>.

Fraksi air diduga menarik senyawa flavonoid, tannin dan alkaloid<sup>31</sup>. Flavonoid memiliki efek antibakteri dengan menghambat fungsi membran dalam sitoplasma, menghambat sintesis protein dan menghambat metabolisme energi pada bakteri<sup>37</sup>. Tanin memiliki mekanisme kerja dengan menghambat DNA topoisomerase pada proses replikasi DNA<sup>38</sup>. Alkaloid dapat menghambat penyusunan peptidoglikan yang mengakibatkan lapisan dinding sel tidak utuh<sup>39</sup>.

Pada penelitian ini, Gentamisin digunakan sebagai pembanding dengan kerja herbal yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Gentamisin memiliki mekanisme kerja yaitu berikatan dengan 16S rRNA di ribosom sub unit 30S sehingga akan mengganggu proses translasi dengan cara pemanjangan rantai

peptida, membentuk protein yang terpotong sehingga tidak berfungsi, pemblokiran ribosom A site, menyebabkan kesalahan pembacaan kode genetik yang dapat mengakibatkan proses sintesis protein terhambat sehingga memiliki efek bakterisidal<sup>40</sup>.

Fraksi etil asetat diduga dapat membantu kerja dari Gentamisin karena senyawa triterpenoid memiliki mekanisme kerja yang berbeda dari Gentamisin sehingga didapatkan bentuk interaksi aditif. Sejalan dengan penelitian oleh Esimone (2006) didapatkan bentuk interaksi aditif dan sinergis pada senyawa yang memiliki mekanisme kerja yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri<sup>41</sup>. Pada penelitian oleh Penduka (2014) kombinasi Gentamisin dengan triterpenoid memiliki bentuk interaksi sinergis hingga aditif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *L. grayi*<sup>42</sup>. Pada penelitian ini perlu dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui secara pasti senyawa yang terkandung didalam fraksi etil asetat dengan uji LCMS.

Hal ini juga mungkin dikarenakan oleh fraksi etil asetat dosis tunggal maupun ganda dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* ditandai dengan terbentuknya ZOI. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yadav (2019) dimana *Allium sativum* L. dengan konsentrasi 50% dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan ZOI sebesar 27 mm<sup>43</sup>.

Kombinasi Gentamisin dengan fraksi n-Heksana dan fraksi air memiliki bentuk interaksi *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan diduga karena tidak didapatkan interaksi yang saling membantu antara antibiotik dengan herbal<sup>43</sup>. Menurut Abouelfetouh (2012) beberapa penelitian tentang kombinasi antibiotik dan herbal terhadap bakteri tidak efektif. Hal ini tergantung dari strain bakteri yang digunakan<sup>44</sup>.

Kemungkinan lain juga karena Fraksi n-Heksana dan fraksi air dari Ekstrak Etanol *Allium sativum* L. diduga tidak dapat menghambat dari pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat dilihat dari ZOI yang tidak terbentuk pada cakram fraksi n-Heksana dan fraksi air dosis tunggal maupun ganda dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Fraksi n-Heksana dosis tunggal maupun ganda tidak terbentuk ZOI diduga karena konsentrasi senyawa allisin sedikit sehingga tidak mampu menembus dinding sel *E. coli* karena memiliki lipid dengan kandungan yang tinggi. Hal ini dapat menjadi penyebab susah nya zat antibakteri masuk ke dalam dinding sel bakteri Gram negatif<sup>45,46</sup>. *E. coli* juga dapat merusak senyawa antibakteri dari *Allium sativum* L. karena dapat menghasilkan *antibiotic-destroying enzymes* seperti *acetylase*, *adenylase* dan *phosphorylase*<sup>47</sup>. Penyebab lain diduga karena senyawa allisin tidak tertarik saat proses fraksinasi. Penggunaan pelarut etanol, aseton, *ammonium sulfate* adalah senyawa yang baik untuk ekstraksi senyawa allisin sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut n-heksana<sup>48</sup>.

Pada fraksi air, untuk melarutkan senyawa alkaloid diperlukan pelarut yang baik seperti pelarut

organik yaitu eter, *benzene*, alkohol dan kloroform dikarenakan alkaloid sukar larut jika menggunakan pelarut air<sup>49,50</sup>. Ada tidaknya senyawa tanin dan flavonoid dipengaruhi oleh lamanya waktu ekstraksi. Seperti pada penelitian oleh Dewi (2019) waktu optimal ekstraksi senyawa flavonoid adalah 40 menit dan pada tanin adalah 60 menit sedangkan pada penelitian ini dilakukan ekstraksi selama 24 jam<sup>51</sup>.

### Kontrol Bias

Pada penelitian ini bias yang mungkin mampu menghambat pertumbuhan bakteri adalah pelarut etanol 70%, n-Heksana, etil asetat, air ataupun tween 80. Setelah dilakukan uji ternyata tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri dengan tidak adanya ZOI sehingga bias tersebut telah terkontrol dan dapat dibuktikan faktor bias tersebut tidak ada. Hal ini dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui apakah masing-masing fraksi dapat menghambat bakteri karena kandungan senyawa aktifnya atau terpengaruh oleh pelarut tersebut.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan diatas dapat didapatkan kesimpulan bahwa kombinasi Gentamisin dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. memiliki bentuk interaksi aditif.

### SARAN

Adapun saran yang dapat dilakukan untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini agar lebih baik yaitu melakukan uji LCMS untuk mengetahui kandungan dan konsentrasi senyawa yang ada didalam fraksi etil asetat.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada IOM (Ikatan Orang Tua Mahasiswa) yang telah mendanai penelitian ini dan teman-teman yang telah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Centers for Disease Control and Prevention. *Escherichia coli* (*E. coli*). [Internet]. CDC. 2014 [cited 2020 June 16]. Available from: <http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>
- [2] Mueller M, Tainter CR. *Escherichia coli*. [Internet]. 2020. [cited 2021 March 3]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/?report=reader#NBK564298\\_pubdet](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/?report=reader#NBK564298_pubdet)
- [3] Madappa T, *Escherichia coli* (*E coli*) Infections. [Internet]. 2019. [cited 2021 May 10] Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/217485-overview#a6>
- [4] Goodman & Gilman. *Dasar Farmakologi Terapi*. 10<sup>th</sup>. ed. Joel G. Hardman., Lee E. Limbird., & Alfred Goodman Gilman (editor). Tim Alih

- Bahasa Sekolah Farmasi ITB (Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2012. 1237-1239 p.
- [5] Endriani R, Andriani F, Alfina D. Pola Resistensi Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK) Terhadap Antibakteri di Pekanbaru. *Jurnal Natur Indonesia*. 2010;12(2):130–5.
  - [6] Vranic S, Uzunovic A. Antimicrobial Resistance of *Escherichia Coli* Strains Isolated from Urine at Outpatient Population: a Single Laboratory Experience. *Mater Socio Medica*. 2016;28(2):121–4.
  - [7] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta. 2011. 4-5 p.
  - [8] Mohammed NA. Effect of *Nigella Sativa* L. Extracts Against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus mitis* in Vitro. *J Baghdad Coll Dent*. 2012;24(3):154–7.
  - [9] Gulfraz M, Imran M, Khadam S, Ahmed D, Asad MJ, Abassi KS, et al. A comparative Study of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Garlic (*Allium sativum* L.) Extracts in Various Localities of Pakistan. *African J Plant Sci*. 2014;8(6):298–306.
  - [10] Bin C, Al-Dhabi NA, Esmail GA, Arokiyaraj S, Arasu MV. Potential effect of *Allium sativum* bulb for The Treatment of Biofilm Forming Clinical Pathogens Recovered from Periodontal and Dental Caries. *Saudi Journal Biological Sciences* [Internet]. 2020;27:1428–34.
  - [11] Rizky TA, Sogandi. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Jati (*Tectona Grandiss* Linn.F) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. 2018;3(1):93–105.
  - [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 Parameter. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017;4(1):32–47.
  - [13] Karuppiyah P, Rajaram S. Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*. 2012;2(8):597–601.
  - [14] Fahmi YI, Andriana A, Hidayati DS. Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Terhadap Bakteri (*Staphylococcus Aureus*). *Jurnal Kedokteran*. 2019;4(2):82–90.
  - [15] Gazali M, Nafus H, Nurjnah, Zuriat. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Nipah (*Nypa Fruticans Wurmb*) Asal Pesisir Aceh Barat Sebagai Antioksidan. *JPHPI*. 2019;22(1):155–63.
  - [16] Sharp KA. Water: Structure and properties. *Encyclopedia of Life Sciences*. 2001;1–7.
  - [17] Zakiah N, Dinna CI, 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 Pharmaceutical Science Clinical Research*. 2017;(2):90–101.
  - [18] Safithri M, Bintang M, Poeloengan M. Antibacterial Activity of Garlic Extract Against some Pathogenic Animal Bacteria. *Media Peternakan*. 2011;34(3):155–8.
  - [19] Gull I, Saeed M, Shaukat H, Aslam SM, Samra ZQ, Athar AM. 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):1–6.
  - [20] Medisusyanti AS, Haryoto. Aktivitas Sitototoksik Fraksi Polar Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Sel T47D. In: *URECOL*. 2018. p. 374–8.
  - [21] Rahayuningsih N, Pratama A, Suhendy H. Aktivitas Antidiabetik Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americanna Mill*) Pada Tikus Putih Jantan Dengan Induksi Aloksan. *Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 2020;20(1):43–51.
  - [22] Putri SD, Purwati. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicum Esculentum Mill.*). 2019;3(2):83–94.
  - [23] 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):76–83.
  - [24] Hudzicki J, Kirby-Bauer *DISK Diffusion Susceptibility Test Protocol*. [Internet]. 2016. [cited 2021 March 17] Available from: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>
  - [25] HiMedia Laboratories, *Mueller Hinton Broth*. [Internet]. 2019. [cited 2021 March 16]. Available from: <https://www.himedialabs.com/intl/en/products/Clinical-Microbiology/Susceptibility-Testing-Media/Mueller-Hinton-Broth-M391>
  - [26] 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;3:43–52.
  - [27] Dahlan MS. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, Multivariat. Jakarta: Epidemiologi Indonesia, 2014.
  - [28] Nugroho A. Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. Lambung Mangkurat University Press. 2017.
  - [29] Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 2014;7(2):361–7.

- [30] Moulia MN, Syarief R, Iriani ES, Kusumaningrum HD, Suyatma NE. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Pangan*. 2018;27(1):55–66.
- [31] Saidi N, Ginting B, Murniana, Mustanir. Analisis Metabolit Sekunder. Syiah Kaula University Press. 2018.
- [32] Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 2014;7(2):361–7.
- [33] Pajan SA, Waworuntu O, Leman MA. Potensi Antibakteri Air Perasan Bawang Putih (*Allium Sativum* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacol*. 2016;5(4):77–89.
- [34] Salima J. Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum* L.). *J Majority* [Internet]. 2015;4(2):30–9.
- [35] Balafif RAR, Andayani Y, Gunawan R. Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). *Chemistry Progress*. 2013;6(2):56–61.
- [36] Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12:3422–31.
- [37] Egra S, Mardhiana, Rofin M, Adiwena M, Jannah N, Kuspradini H, Mitsunaga T. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor*. 2019;12(1):26–31.
- [38] Kurniawan B, Aryana WF, Binahong (Cassia Alata L) As Inhibitor Of *Escherichia coli* Growth. *J Majority*. 2015;4(4):100–4.
- [39] National Center for Biotechnology Information, *Pubchem Compound Summary, Gentamicin*. [Internet]. 2021. [cited 2021 March 17]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/gentamicin>
- [40] Esimone CO, Iroha IR, Ibezim EC, Okeh CO, Okpana EM. In vitro evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against *staphylococcus aureus*. *African J Biotechnol*. 2006;5(11):1082–6.
- [41] Penduka D, Mosa R, Simelane M, Basson A, Okoh A, Opoku A. Evaluation of the anti-*Listeria* potentials of some plant-derived triterpenes. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014;13(37):1–7.
- [42] Yadav M, Bohra R, Gupta N. In vitro Determination of Antibacterial Effect of Garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus* and *E.coli*. *International Journal Current Microbiology Applied Sciences*. 2019;8(9):498–506.
- [43] Kurniawan D, Sulistyowati E, Hakim R. Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanolik atau Dekokta Daun Sirsak (*Annona muricata* L) dengan Amoksisilin pada Bakteri *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* secara in vitro. *J Bio Komplementer Med*. 2019;6(3):262–71.
- [44] Abouelfetouh AY, Moussa NK. Enhancement of Antimicrobial Activity of Four Classes of Antibiotics Combined with Garlic. *Asian J Plant Sci*. 2012;11(3):148–52.
- [45] Murwani S, *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Edisi 1. Malang: Universitas Brawijaya Press, 2015.
- [46] Prihandani SS, Poeloengan M, Noor SM, 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.
- [47] Anggraini AL, Dwiyantri RD, Thuraidah A. Garlic Extract (*Allium sativum* L.) Effectively Inhibits *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by Invitro Test. *Trop Heal Med Res*. 2020;2(2):61–8.
- [48] Bhatwalkar SB, Mondal R, Krishna SBN, Adam JK, Govender P, Anupam R. Antibacterial Properties of Organosulfur Compounds of Garlic (*Allium sativum*). *Front Microbiol*. 2021;12(613077):1–20.
- [49] Salamah N, Ningsih DS. Total alkaloid content in various fractions of *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl. (Jembirit) leaves. *Mater Sci Eng*. 2017;259:1–6.
- [50] Awuchi CG. The Biochemistry, Toxicology, and Uses of the Pharmacologically Active Phytochemicals: Alkaloids, Terpenes, Polyphenols, and Glycosides. *J Food Pharm Sci*. 2019;7(3):131–50.
- [51] Dewi AL, Siregar VD, Kusumayanti H. Effect of Extraction Time on Tannin Antioxidant Level and Flavonoid on Pandan Wangi Leaf (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Using Hydrothermal Extractor. *J Phys Conf Ser*. 2019;1295:1–7.