

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*

Salwa Audi Syahdana Hardyanti, Arif Yahya, Reza Hakim*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Penurunan angka sensitivitas antibiotik terhadap bakteri memerlukan alternatif yang memiliki potensi besar sebagai agen antibakteri yaitu kombinasi antibiotik dengan bahan aktif herbal yang memiliki efek sinergis. Bawang putih (*Allium sativum L.*) memiliki sejumlah bahan aktif yang berpotensi menghambat pertumbuhan dari *S. aureus* sehingga perlu dilakukan metode fraksinasi melalui proses partisi untuk memisahkan senyawa aktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bentuk interaksi pada kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dalam menghambat *S. aureus*.

Metode: Untuk mengetahui bentuk interaksi dilakukan uji *Zone of Inhibition* (ZOI) pada kombinasi antibiotik dengan herbal dalam menghambat *S. aureus*. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan mm menurut Kirby-Bauer of Susceptibility, dianalisa menggunakan SPSS dan diinterpretasikan berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST).

Hasil: Hasil uji ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana yaitu $25,33 \pm 1,95$ mm. Hasil uji ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi etil asetat yaitu $33,15 \pm 2,41$ mm. Hasil uji ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi air yaitu $23,98 \pm 0,75$ mm. Hasil uji ZOI vankomisin dosis tunggal yaitu $20,75 \pm 0,82$ mm – $24,33 \pm 0,97$ mm. Hasil uji ZOI vankomisin dosis ganda yaitu $24,00 \pm 1,15$ mm – $26,18 \pm 0,50$ mm.

Kesimpulan: Kombinasi vankomisin dengan fraksi etil asetat memiliki bentuk interaksi sinergis.

Kata Kunci: *Allium sativum L.*, Vankomisin, *Staphylococcus aureus*, *Zone of Inhibition* (ZOI), Kombinasi Antibiotik dan Herbal

*Korespondensi:

dr. Reza Hakim, M.Biomed.

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

rezahakim@unisma.ac.id

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF VANCOMYCIN COMBINATION WITH N-HEXANE, ETHYL ACETATE, WATER FRACTION FROM ETHANOL EXTRACT OF GARLIC BULBS (*Allium sativum L.*) IN INHIBITING *Staphylococcus aureus* GROWTH

Salwa Audi Syahdana Hardyanti, Arif Yahya, Reza Hakim*
Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: The decrease of antibiotic sensitivity to bacteria requires an alternative that has potential as an antibacterial agent which is the combination of antibiotics with herb active compound that have a synergistic effect. Garlic (*Allium sativum L.*) has some active compound that potentially can inhibit the growth of *S. aureus*, so that its necessary to use a fractionation method through a partition process to separate the active compounds. This study aims to determine the interaction of vancomycin combine with n-Hexane fraction, ethyl acetate and water from ethanol extract of *Allium sativum L.* to inhibit the growth of *S. aureus*.

Method: To find out the interaction, the herb combination with vancomycin was measured with the *Zone of Inhibition* (ZOI). The clear zone formed was measured with a ruler in mm units according to the Kirby-Bauer of Susceptibility, analyzed using the SPSS and the results interpreted based on the *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) method.

Results: The results of the ZOI test combination of vancomycin with n-Hexane fraction was $25,33 \pm 1,95$ mm. The results of the ZOI test combination of vancomycin with ethyl acetate fraction was $33,15 \pm 2,41$ mm. The results of the ZOI test combination of vancomycin with water fraction was $23,98 \pm 0,75$ mm. The results of the ZOI test single dose of vancomycin was $20,75 \pm 0,82$ mm – $24,33 \pm 0,97$ mm. The results of the ZOI test double dose of vancomycin was $24,00 \pm 1,15$ mm – $26,18 \pm 0,50$ mm.

Conclusion: The combination of vancomycin and ethyl acetate fraction had a synergistic interaction.

Keyword: *Allium sativum L.*, Vancomycin, *Staphylococcus aureus*, *Zone of Inhibition* (ZOI), Combination of Antibiotics and Herbs

*Correspondence:

dr. Reza Hakim, M.Biomed.

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65145

rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dan salah satu agen infeksi yang paling penting pada manusia serta menjadi masalah kesehatan masyarakat utamanya di rumah sakit. Data prevalensi di 14 negara berkembang didapatkan rata-rata 8,7% pasien rumah sakit menderita infeksi nosokomial¹. Angka kejadian infeksi nosokomial di Indonesia didapatkan sebesar 15,74%, dimana angka tersebut jauh diatas negara maju². Menurut Yanuar (2016) angka sensitivitas antibiotik >80% dapat direkomendasikan sebagai terapi empiris untuk bakteri Gram positif, vankomisin memiliki angka sensitivitas 89%³.

Vankomisin merupakan antibiotik bakterisidal golongan glikopeptida trisiklik yang aktif terhadap bakteri Gram positif⁴. Ketidaktepatan penggunaan vankomisin dapat menyebabkan terjadinya proses adaptasi dan penurunan sensitivitas vankomisin terhadap *S. aureus*⁵. Angka resistensi *S. aureus* terhadap vankomisin sebesar 1,7% dan angka sensitivitas sebesar 98,2%⁵. Penurunan angka sensitivitas antibiotik terhadap bakteri memerlukan alternatif yang memiliki potensi besar sebagai agen antibakteri yaitu kombinasi antibiotik dengan herbal yang memiliki efek sinergis⁶.

Indonesia memiliki banyak sekali bahan baku obat tradisional salah satunya bawang putih (*Allium sativum L.*). Serbuk *Allium sativum L.* memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan daya hambat yang terbentuk 13,78 mm⁷. Hasil skrining fitokimia menggunakan KLT pada ekstrak etanol 70% *Allium sativum L.* mengandung sejumlah bahan aktif seperti alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid⁸. Penelitian Hamza (2016), menunjukkan bentuk sinergis pada kombinasi vankomisin dengan senyawa triterpenoid yang bersifat semipolar⁹. Sifat kepolaran yang berbeda pada tiap senyawa memerlukan metode fraksinasi melalui proses partisi untuk memisahkan kelompok-kelompok senyawa aktif dari ekstrak yang telah dihasilkan berdasarkan kepolarannya^{10,11,12}. Pada penelitian ini menggunakan pelarut n-Heksana yang dapat memisahkan senyawa bersifat nonpolar. Begitu juga dengan pelarut etil asetat yang dapat memisahkan senyawa bersifat semipolar dan pelarut air yang dapat memisahkan senyawa polar¹³.

Kombinasi antara antibiotik dan herbal telah dilakukan pada beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian Magrys (2021) menunjukkan kombinasi siprofloksasin dengan *Allium sativum L.* memiliki bentuk interaksi sinergis terhadap *S. aureus*¹⁴. Namun belum ada penelitian terhadap aktivitas antibakteri

kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) dalam menghambat *S. aureus*. Oleh karena itu perlunya penelitian lebih lanjut dengan tujuan untuk mengetahui bentuk interaksi kombinasi keduanya sebagai antibakteri dengan melihat zona hambat pada uji ZOI.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain penelitian *in vitro*. Rancangan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bentuk interaksi kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* dengan melihat *Zone of Inhibition* (ZOI). *S. aureus* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari pasien. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni – Oktober 2021 di Laboratorium Pusat Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA).

Pembuatan Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) dengan Metode Maserasi

Allium sativum L. diiris dengan ketebalan 2 mm dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40-50°C selama 30-36 jam. Ekstrak etanol *Allium sativum L.* dibuat dengan menggunakan 100gram bubuk yang selanjutnya akan dilakukan proses maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml selama 24 jam pada suhu kamar menggunakan *shaker*. Setelah proses perendaman, ekstrak dipisahkan dari residunya dengan kertas saring. Filtrat akan diuapkan dengan *Vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol *Allium sativum L.* disimpan pada suhu 4°C^{15,16,17}.

Metode Fraksinasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*)

Fraksinasi dilakukan bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif dari ekstrak etanol *Allium sativum L.* Ekstrak etanol *Allium sativum L.* sebanyak 20 ml dilarutkan dengan 500 ml air. Larutan dipartisi menggunakan 500 ml larutan n-Heksana hingga diperoleh 2 lapisan yang akan dipisahkan, yaitu lapisan atas merupakan fraksi n-Heksana dan lapisan bawah adalah fraksi air. Lapisan bawah yang tersisa dipartisi kembali menggunakan larutan etil asetat 500 ml hingga diperoleh 2 lapisan yang akan dipisahkan, yaitu lapisan

atas fraksi etil asetat dan lapisan bawah adalah air. Sehingga akan diperoleh tiga fraksi dari ekstrak etanol *Allium sativum L.* yaitu fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air yang akan diuapkan dengan *Vacum rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental^{18,19,20}.

Metode Pembuatan Media *Mueller Hinton*

Metode pembuatan media *Mueller Hinton* ini mencampurkan komponen 38gram kedalam 1liter akuades. Selanjutnya, disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit^{21,22}.

Metode Inokulasi Bakteri

Metode inokulasi bakteri menurut Hudzicki (2009) hal yang pertama dilakukan untuk persiapan inokulasi adalah menanggihkan bakteri kedalam 2 ml normal salin dengan menggunakan ose yang sudah disterilkan. Kemudian menyesuaikan kekeruhan suspensi tersebut dengan standard 0,5 *Mc Farland*. Jika kurang keruh bisa ditambah dengan konsentrasi organisme, jika terlalu keruh bisa ditambah dengan normal salin. Penanggihan ini digunakan dalam waktu 15 menit setelah persiapan²¹.

Proses inokulasi pada MH plate dimulai dengan menyelupkan kapas lidi steril kedalam tabung yang berisi suspensi bakteri. Kemudian melakukan inokulasi pada permukaan MH plate dengan menggoreskan tiga kali ke seluruh permukaan dengan gerakan zigzag (*streaking*), MH plate diputar sekitar 60° untuk memastikan inokulasinya merata. Selanjutnya kapas lidi digoreskan dengan membentuk lingkaran di tepi MH plate dengan tujuan untuk mengambil cairan yang berlebih. Tutup agar plate dibiarkan terbuka pada suhu kamar minimal 3-5 menit dan tidak boleh lebih dari 15 menit agar permukaan MH plate kering sebelum dilanjutkan langkah berikutnya. MH plate ini akan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam²¹.

Zone of Inhibition (ZOI)

Uji *Zone of Inhibition* (ZOI) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*) dengan bakteri uji *S. aureus*. Konsentrasi herbal yang digunakan adalah 50% (b/b) dengan komposisi 50gram dalam 25gram tween 80, dan 25gram akuades dengan empat kali pengulangan^{23,24}.

Metode uji ZOI menurut Hudzicki (2009) yaitu cawan petri steril disiapkan dengan diameter 9 cm, kemudian kertas cakram vankomisin dilekatkan pada cawan petri dengan perekat, perekat ini terdiri dari agar *Mueller-Hinton* yang diautoklaf dengan konsentrasi 1,5 kali konsentrasi cair dan agar *Mueller-Hinton* ini diletakkan pada pemanas untuk menghindari pemadatan²¹.

Kertas cakram vankomisin (A) diolesi perekat *Mueller-Hinton* agar yang berbentuk semisolid kemudian di tempelkan pada cawan petri yang sudah ditandai. Cakram kertas yang berisi masing-masing fraksi dari ekstrak etanol *Allium sativum L.* (B) diolesi dengan perekat *Mueller-Hinton* agar yang berbentuk semisolid, kemudian ditempelkan pada cawan petri yang sudah

ditentukan (ditumpuk). Sesudah ditempelkan kertas cakram selanjutnya cawan petri diisi dengan 40 mL *Liquid Mueller-Hinton* agar yang telah diautoklaf dengan kedalaman agar 3,5 mm. Kemudian di tunggu hingga padat dan siap untuk diinokulasi.

Menilai diameter ZOI dengan memeriksa ada atau tidaknya ZOI berwarna bening. Zona bening yang diukur menggunakan jangka sorong menurut *Kirby-Bauer of Susceptibility* dalam satuan mm²⁵.

Metode Penentuan Interaksi

Interpretasi hasil uji ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* diukur berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test* (AZDAST) dengan metode cakram untuk menilai kombinasi keduanya dengan dosis yang sudah ditentukan. Apabila A adalah antibiotik dan B adalah herbal, maka kombinasi dikatakan sinergis apabila AB lebih besar dari A dan B, dan lebih kecil atau lebih besar dari AA dan BB. Potensi jika salah satu dari A dan B sama dengan nol, AB lebih besar dari A dan B, dan lebih kecil atau lebih besar dari AA dan atau BB. Additif jika AB sama dengan AA dan atau BB. Antagonis jika AB lebih kecil dari A atau B. Serta *not distinguishable* jika AB sama dengan salah satu dari A atau B²⁵.

Analisa Data Statistik

Hasil uji ZOI kombinasi diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan mm dan dianalisa menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapatkan rata-rata dan standar deviasi. Uji statistik menggunakan uji non parametrik Kruskal Wallis dengan *post test Mann Whitney* ($p < 0,05$) untuk melihat perbedaan yang signifikan²⁶.

HASIL DAN ANALISA DATA

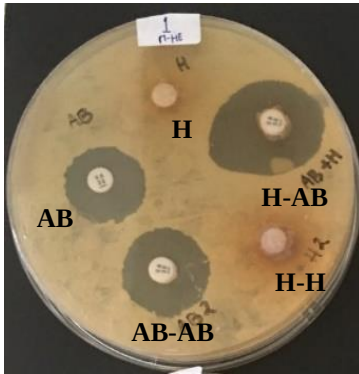
Hasil Maserasi Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*)

Maserasi *Allium sativum L.* menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml yang diletakkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Setelah proses perendaman, ekstrak dipisahkan dari residunya dengan kertas saring. Filtrat diuapkan dengan *Vacum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental berwarna kecokelatan sebanyak 240gram.

Hasil Pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi n-Heksana Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Pengukuran ZOI fraksi n-Heksana dosis tunggal dan ganda dengan konsentrasi 50%, vankomisin dosis tunggal dan ganda dengan dosis 30 mcg, dan kombinasi keduanya yang masing-masing cakram kertasnya dilekatkan pada cawan petri dengan *liquid Mueller-Hinton* dan diperlakukan pada *S. aureus* selama 24jam. Sensitivitas suatu bakteri terhadap sampel uji

ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menandakan adanya penghambatan pertumbuhan dari bakteri. Hasil pengukuran ZOI dengan empat kali pengulangan dapat dilihat pada **gambar 1**, dan **tabel 1**.



Gambar 1: Hasil Pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi n-Heksana Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *S. aureus*.

Keterangan: (AB) Vankomisin Dosis Tunggal, (AB-AB) Vankomisin Dosis Ganda, (H) Fraksi n-Heksana Dosis Tunggal, (HH) Fraksi n-Heksana Dosis Ganda, (H-AB) Kombinasi Vankomisin dengan Fraksi n-Heksana.

Gambar 1 menunjukkan tidak terbentuknya ZOI pada fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. dosis tunggal dan ganda terhadap *S. aureus*, vankomisin dosis tunggal dan ganda mampu menghambat *S. aureus* dengan terbentuknya ZOI berwarna bening, sedangkan kombinasi keduanya menunjukkan terbentuknya ZOI.

Tabel 1. Rata-rata Empat Kali Pengulangan Hasil *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi n-Heksana Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *Staphylococcus aureus*

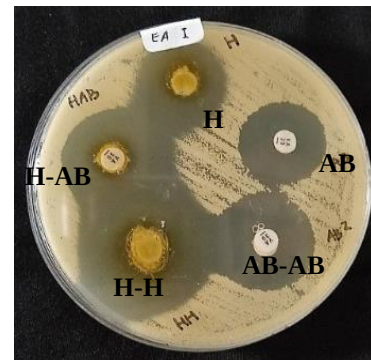
Fraksi	Sampel	Rerata (mm) ± SD	Bentuk Interaksi
n-Heksana	H	0,00 ± 0,00 ^a	Additif
	H-H	0,00 ± 0,00 ^a	
	H-AB	25,33 ± 1,95	
	AB-AB	24,00 ± 1,15 ^b	
	AB	20,75 ± 0,82 ^a	

Keterangan: SD= standar deviasi, H= herbal tunggal, H-H= herbal ganda, H-AB= kombinasi herbal-antibiotik, AB-AB= antibiotik ganda, AB= antibiotik tunggal, a= signifikan ($p < 0,05$) terhadap H-AB, b= tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap H-AB.

Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran ZOI pada fraksi n-Heksana dosis tunggal dan ganda memiliki $0,00 \pm 0,00$ mm, ZOI vankomisin dosis tunggal dan ganda masing-masing memiliki $20,75 \pm 0,82$ mm dan $24,00 \pm 1,15$ mm, sedangkan ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana memiliki $25,33 \pm 1,95$ mm. Melalui uji non parametrik Kruskal Wallis dengan *post test Mann Whitney* didapatkan bentuk interaksi additif yaitu hasil yang signifikan ($p < 0,05$) antara H-AB dengan H, H-H, dan AB serta didapatkan pula hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$) antara H-AB dengan AB-AB.

Hasil Pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi Etil Asetat Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Pengukuran ZOI fraksi etil asetat dosis tunggal dan ganda dengan konsentrasi 50%, vankomisin dosis tunggal dan ganda dengan dosis 30 mcg, dan kombinasi keduanya yang masing-masing cakram kertasnya dilekatkan pada cawan petri dengan *liquid Mueller-Hinton* dan diperlakukan pada *S. aureus* selama 24jam. Sensitivitas suatu bakteri terhadap sampel uji ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menandakan adanya penghambatan pertumbuhan dari bakteri. Hasil pengukuran ZOI dengan empat kali pengulangan dapat dilihat pada **gambar 2**, dan **tabel 2**.



Gambar 2: Hasil Pengukuran *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi Etil Asetat Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *S. aureus*.

Keterangan: (AB) Vankomisin Dosis Tunggal, (AB-AB) Vankomisin Dosis Ganda, (H) Fraksi Etil Asetat Dosis Tunggal, (HH) Fraksi Etil Asetat Dosis Ganda, (H-AB) Kombinasi Vankomisin dengan Fraksi Etil Asetat.

Gambar 2 menunjukkan terbentuknya ZOI pada fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. dosis tunggal dan ganda, vankomisin dosis tunggal dan ganda, dan kombinasi keduanya terhadap *S. aureus*.

Tabel 2. Rata-rata Empat Kali Pengulangan Hasil *Zone of Inhibition* (ZOI) Fraksi Etil Asetat Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Fraksi	Sampel	Rerata (mm) ± SD	Bentuk Interaksi
Etil Asetat	H	28,03 ± 2,01 ^a	Sinergis
	H-H	39,18 ± 3,77 ^b	
	H-AB	33,15 ± 2,41	
	AB-AB	26,18 ± 0,50 ^a	
	AB	23,48 ± 0,86 ^a	

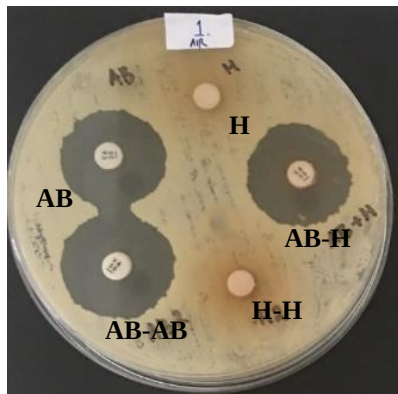
Keterangan: SD= standar deviasi, H= herbal tunggal, H-H= herbal ganda, H-AB= kombinasi herbal-antibiotik, AB-AB= antibiotik ganda, AB= antibiotik tunggal, a= signifikan ($p < 0,05$) terhadap H-AB, b= tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap H-AB.

Tabel 2 menunjukkan hasil pengukuran ZOI pada fraksi etil asetat dosis tunggal dan ganda masing-masing memiliki $28,03 \pm 2,01$ mm dan $38,18 \pm 3,77$ mm,

ZOI vankomisin dosis tunggal dan ganda masing-masing memiliki $23,48 \pm 0,86$ mm dan $26,18 \pm 0,50$ mm, sedangkan ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi etil asetat memiliki $33,15 \pm 2,41$ mm. Melalui uji non parametrik Kruskal Wallis dengan *post test Mann Whitney* didapatkan bentuk interaksi sinergis yaitu hasil yang signifikan ($p < 0,05$) antara H-AB dengan H, AB-AB, dan AB serta didapatkan pula hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$) antara H-AB dengan H-H.

Hasil Pengukuran Zone of Inhibition (ZOI) Fraksi Air Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Pengukuran ZOI fraksi air dosis tunggal dan ganda dengan konsentrasi 50%, vankomisin dosis tunggal dan ganda dengan dosis 30 mcg, dan kombinasi keduanya yang masing-masing cakram kertasnya dilekatkan pada cawan petri dengan *liquid Mueller-Hinton* dan diperlakukan pada *S. aureus* selama 24jam. Sensitivitas suatu bakteri terhadap sampel uji ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menandakan adanya penghambatan pertumbuhan dari bakteri. Hasil pengukuran ZOI dengan empat kali pengulangan dapat dilihat pada **gambar 3**, dan **tabel 3**.



Gambar 3: Hasil Pengukuran Zone of Inhibition (ZOI) Fraksi Air Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *S. aureus*.

Keterangan: (AB) Vankomisin Dosis Tunggal, (AB-AB) Vankomisin Dosis Ganda, (H) Fraksi Air Dosis Tunggal, (HH) Fraksi Air Dosis Ganda, (H-AB) Kombinasi Vankomisin dengan Fraksi Air.

Gambar 3 menunjukkan tidak terbentuknya ZOI pada fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dosis tunggal dan ganda terhadap *S. aureus*, vankomisin dosis tunggal dan ganda mampu menghambat *S. aureus* dengan terbentuknya ZOI berwarna bening, sedangkan kombinasi keduanya menunjukkan terbentuknya ZOI.

Tabel 3. Rata-rata Empat Kali Pengulangan Hasil Zone of Inhibition (ZOI) Fraksi Air Dosis Tunggal dan Ganda, Vankomisin Dosis Tunggal dan Ganda, dan Kombinasi Keduanya Terhadap *Staphylococcus aureus*

Fraksi	Sampel	Rerata (mm) ± SD	Bentuk Interaksi
Air	H	$0,00 \pm 0,00^a$	Not
	H-H	$0,00 \pm 0,00^a$	Distinguishable
	H-AB	$23,98 \pm 0,75$	
	AB-AB	$25,75 \pm 0,55^a$	
	AB	$24,33 \pm 0,97^b$	

Keterangan: SD= standar deviasi, H= herbal tunggal, H-H= herbal ganda, H-AB= kombinasi herbal-antibiotik, AB-AB= antibiotik ganda, AB= antibiotik tunggal, a= signifikan ($p < 0,05$) terhadap H-AB, b= tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap H-AB.

Tabel 3 menunjukkan hasil pengukuran ZOI pada fraksi air dosis tunggal dan ganda memiliki $0,00 \pm 0,00$ mm, ZOI vankomisin dosis tunggal dan ganda masing-masing memiliki $24,33 \pm 0,97$ mm dan $26,00 \pm 0,60$ mm, sedangkan ZOI kombinasi vankomisin dengan fraksi air memiliki $23,98 \pm 0,75$ mm. Melalui uji non parametrik Kruskal Wallis dengan *post test Mann Whitney* didapatkan bentuk interaksi *not distinguishable* yaitu hasil yang signifikan ($p < 0,05$) antara H-AB dengan H, H-H, dan AB-AB serta didapatkan pula hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$) antara H-AB dengan AB.

PEMBAHASAN

Pengaruh Kombinasi Vankomisin dengan Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil skrining fitokimia menggunakan KLT pada ekstrak etanol 70% *Allium sativum L.* mengandung sejumlah bahan aktif⁸. Senyawa aktif yang terkandung dapat bersifat nonpolar, semipolar, dan polar sehingga perlu dilakukan metode fraksinasi dengan teknik *liquid-liquid extraction* pada penelitian ini untuk memisahkan senyawa-senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak berdasarkan sifat kepolarannya¹³. Berdasarkan sifat kepolarannya penggunaan pelarut n-Heksana dalam fraksinasi ekstrak etanol *Allium sativum L.* diduga akan mendapatkan senyawa yang bersifat non polar seperti *allicin* dan turunannya yaitu *ajoene*, Diallyl Disulfida (DADS), Diallyl Trisulfida (DATS), dan Diallyl Sulfida (DAS)^{13,27,28}. *Allicin* merupakan senyawa utama yang menjadi prekursor dalam pembentukan senyawa turunannya dimana memiliki sifat yang larut dalam minyak sehingga membutuhkan pelarut n-Heksana dalam fraksinasi^{23,24}. Penggunaan pelarut etil asetat diduga akan mendapatkan senyawa yang bersifat semipolar seperti triterpenoid^{8,9,13}. Sedangkan pada penggunaan pelarut air diduga akan mendapatkan senyawa yang bersifat polar seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin^{11,12,13,29}.

Vankomisin pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding. Vankomisin merupakan antibiotik golongan glikopeptida trisiklik yang berspektrum

sempit (*narrow spectrum*) dan aktif terhadap bakteri Gram positif khususnya golongan kokus yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada cawan. Vankomisin menghambat bakteri pada tahap awal sintesis peptidoglikan dinding sel, dimana dinding sel bakteri Gram positif mengandung lapisan peptidoglikan yang tebal dan memiliki struktur terikat dimana terdiri dari polimer panjang asam yaitu N-asetilmuramat (NAM) dan N-asetilglukosamin (NAG). Antibiotik vankomisin akan berikatan dengan D-alanyl D-alanine, yang dapat menghambat glukosiltransferase (sintesis peptidoglikan) dan pembawa P-fosfolipid, sehingga mencegah sintesis dan polimerisasi dari NAM dan NAG di dalam lapisan peptidoglikan^{4,30}.

Hasil sinergis pada kombinasi vankomisin dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* didapatkan karena keduanya memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus* namun memiliki mekanisme kerja yang berbeda. Fraksi etil asetat yang diduga mendapatkan senyawa triterpenoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin dan protein transmembran pada membran luar dari dinding sel bakteri sehingga membentuk ikatan polimer yang kuat dan mengakibatkan rusaknya porin. Apabila terjadi kerusakan pada porin maka dapat mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya menjadi terhambat³¹. Mekanisme kerja yang berbeda antara vankomisin dengan kandungan senyawa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* diduga membantu kerja dari vankomisin. Sejalan dengan penelitian Esimone (2006) bahwa mekanisme kerja yang berbeda antara antibiotik dengan bahan aktif herbal dapat menyebabkan terjadinya interaksi sinergis dan aditif³². Menurut penelitian Hamza (2016) senyawa triterpenoid dan turunannya seperti *oleanolic acid*, *ursolat acid*, *beta-boswellic acid*, dan *cycloastragenol*, dimana jika dikombinasikan dengan vankomisin memiliki bentuk interaksi sinergis terhadap *S. aureus*⁹. Kandungan senyawa fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* dapat bekerja sendiri dalam menghambat *S. aureus* ditandai dengan terbentuknya zona bening (*clear zone*) pada saat uji ZOI fraksi etil asetat secara dosis tunggal dan ganda. Oleh karena itu diperlukan uji LCMS sebagai uji pendahuluan secara kualitatif dan kuantitatif untuk dapat mengetahui kandungan senyawa aktif dalam fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* Sejalan dengan penelitian Prihandani (2015) penggunaan konsentrasi 50% serbuk *Allium sativum L.* terhadap *S. aureus* didapatkan diameter daya hambat sebesar 27,00 mm⁷. Kombinasi vankomisin dengan fraksi etil asetat memiliki potensi besar sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus* dibandingkan dengan penggunaan vankomisin dosis tunggal dan ganda.

Hasil aditif pada kombinasi vankomisin dengan fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* didapatkan karena keduanya memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus* namun memiliki

mekanisme kerja yang berbeda. Kandungan senyawa fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* tidak dapat bekerja sendiri dalam menghambat *S. aureus* ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening (*clear zone*) pada saat uji ZOI fraksi n-Heksana secara dosis tunggal dan ganda. Fraksi n-Heksana yang diduga mendapatkan senyawa *allicin* dan *ajoene* memiliki mekanisme yang sama yaitu dengan menghambat produksi RNA dan sintesis lipid pada dinding sel. Penghambatan ini dapat menyebabkan asam amino dan protein tidak dapat diproduksi dan bilayer fosfolipid tidak dapat terbentuk, sehingga pertumbuhan dan perkembangan dari bakteri tidak akan terjadi^{28,33}. Sedangkan DADS, DATS, dan DAS pada tubuh bakteri akan mereduksi sistein sehingga mengganggu ikatan disulfida dalam protein bakteri²⁷. Mekanisme kerja yang berbeda antara vankomisin dengan kandungan senyawa fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* diduga membantu kerja dari vankomisin. Sejalan dengan penelitian Esimone (2006) bahwa didapatkan bentuk interaksi sinergis dan aditif disebabkan oleh mekanisme kerja yang berbeda antara antibiotik dengan bahan aktif herbal³². Penggunaan vankomisin dosis ganda memiliki potensi yang sama besar dengan kombinasi vankomisin dan fraksi n-Heksana sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus*.

Tidak adanya zona bening yang terbentuk pada fraksi n-Heksana dari ekstrak etanol *Allium sativum L.* diduga dikarenakan senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai antibakteri menurun. Hal ini disebabkan senyawa *allicin* memiliki sifat yang tidak stabil, sehingga pada beberapa jam dalam suhu ruangan senyawa *allicin* akan mengalami metabolisme kembali dan menjadi senyawa *ajoene*. Senyawa *ajoene* memiliki mekanisme kerja yang sama dengan *allicin* namun memiliki potensi yang lebih kecil dibandingkan senyawa *allicin*³³.

Hasil *not distinguishable* pada kombinasi vankomisin dengan fraksi air dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* didapatkan karena keduanya memiliki efek antibakteri terhadap *S. aureus*. Namun, senyawa-senyawa tersebut tidak dapat bekerja sendiri dalam menghambat *S. aureus* ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening (*clear zone*) pada saat uji ZOI fraksi air secara dosis tunggal dan ganda. Fraksi air yang diduga mendapatkan senyawa flavonoid memiliki dua mekanisme kerja yaitu pertama, menghambat metabolisme energi dengan mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri yang memiliki peran dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler. Kedua, menghambat fungsi dari membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga terjadi kerusakan pada membran sel dan senyawa intraseluler akan keluar³⁴. Selain itu fraksi air diduga juga mendapatkan senyawa tanin, dimana senyawa ini memiliki mekanisme kerja dengan menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel

bakteri tidak akan terbentuk³⁵. Sedangkan pada senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja yang sama dengan vankomisin yaitu dengan mencegah terbentuknya peptidoglikan pada lapisan sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak akan terbentuk secara sempurna dan akan menyebabkan kematian sel³⁶. Menurut Kurniawan (2019) bentuk interaksi *not distinguishable* didapatkan karena tidak memiliki interaksi yang saling membantu atau mengganggu antara antibiotik dengan bahan aktif herbal³⁷. Menurut Abouelfetouh (2012) banyak penelitian yang membuktikan bahwa tidak semua kombinasi herbal dengan antibiotik dapat memberikan efek, strain bakteri dapat mempengaruhi dari hasil kombinasi keduanya³⁸. Sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus* vankomisin dosis tunggal memiliki potensi yang sama besar dengan penggunaan kombinasi vankomisin dan fraksi air.

Tidak adanya zona bening yang terbentuk pada fraksi air dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. dosis tunggal dan ganda diduga dikarenakan senyawa alkaloid yang sukar larut dalam air. Hal ini sesuai dengan peneliti Awuchi (2019) & Salamah (2017) bahwa air merupakan pelarut yang kurang baik untuk menarik senyawa alkaloid, namun pelarut yang baik untuk menarik senyawa alkaloid adalah pelarut organik seperti kloroform, eter, alkohol, dan benzena^{39,40}. Selain itu lamanya waktu ekstraksi diduga juga dapat menyebabkan hilangnya senyawa tanin dan flavonoid. Sesuai dengan penelitian Dewi (2019) dimana senyawa tanin memiliki waktu optimal dalam ekstraksi yaitu 60 menit, sedangkan senyawa flavonoid memiliki waktu optimal 40 menit. Pada penelitian ini melakukan metode ekstraksi selama 24 jam⁴¹.

Kontrol Bias

Kontrol bias ini dilakukan pada lima pelarut, yaitu pelarut etanol 70%, pelarut n-Heksana, pelarut etil asetat, pelarut air, dan tween 80 dimana tidak menunjukkan terbentuknya ZOI. Pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa kelima pelarut yang digunakan untuk partisi ekstrak dan pengencerannya tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa bentuk interaksi sinergis didapatkan dari kombinasi vankomisin dengan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Adapun saran untuk mengembangkan dan meningkatkan penelitian ini kedepannya adalah dengan melakukan uji pendahuluan yaitu uji LCMS pada fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung secara kualitatif dan kuantitatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti ucapkan terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah mendanai penelitian, serta tim kelompok penelitian yang telah bekerjasama dalam membantu jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Linda T. *Panduan Pencegahan Infeksi untuk Fasilitas Pelayanan Kesehatan dengan Sumber Daya Terbatas*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka, 2004.
2. Kemenkes RI. *Riset Kesehatan Dasar, RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
3. Yanuar W, Puspitasari I, Nuryastuti T. Evaluasi Kesesuaian Antibiotik Definitif Terhadap Clinical Outcome Pada Pasien dengan meningitis Bakterial di Bangsal Rawat Inap Rumah Sakit Umum Pusat. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*. 2016;6(3).
4. Goodman & Gilman. *Dasar Farmakologi Terapi*. 10th. ed. Joel G. Hardman., Lee E. Limbird., & Alfred Goodman Gilman (editor). Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB (Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2012. 1237-1239p.
5. Afifurrahman A, Samadin K, Aziz S. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik *Vancomycin* di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*. 2014;46(4):266–270. doi: 10.36706/mks.v46i4.2716.
6. Bhardwaj BR, Sing DK, Sinha, Kumar V, Vadhana P, Singh VKR, Nirupama, Pruthivishree, Saraf A. Potential of Herbal Drug and Antibiotic Combination Therapy: A New Approach to Treat Multidrug Resistant Bacteria. *Pharmaceutica Analytica Acta*. 2016;7(11). doi: 10.4172/2153-2435.1000523.
7. Prihandani S, Poeloengan M, Noor S, Andriani. Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dalam Meningkatkan Keamanan Pangan. *Informatika Pertanian*. 2015;24(1):53-58.
8. 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. doi: 10.7454/psr.v4i1.3660.
9. Hamza M, Nadir M, Mehmood N, Farooq A. In Vitro Effectiveness of Triterpenoids and Their Synergistic Effect with Antibiotics Againsts *Staphylococcus aureus* Strains. *Indian Journal of Pharmacology*. 2016;48(6):710-714. doi: 10.4103/0253-7613.194851

10. 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. doi: 10.35799/cp.6.2.2013.3495.
11. Saidi N, Ginting B, Murniana, Mustanir. Analisis Metabolit Sekunder. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press. 2018
12. Marwoko MT, Fachriyah E, Kusriani D. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). **Chem Info Journal**. 2013;1(1):196–201. Available at: <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/kimia/article/view/1875>.
13. Aliwu I, Rorong JA, Suryanto E. Skrining Fitokimia dan Uji Efek Sedatif Pelarut dari Daun Takokak (*Solanum turvum swartz*) pada Tikus Putih Galur Wistar. **Chemistry Progress**. 2020;13(1):6–10. doi: 10.35799/cp.13.1.2020.28795
14. Magrys, A., Olender, A. & Tchórzewska, D. Antibacterial Properties of *Allium sativum* L. Againsts The Most Emerging Multidrug-Resistant Bacteria and Its Synergy with Antibiotics. **Archives of Microbiology**. 2021;203:2257–2268.
15. Safithri M, Bintang M, Poeloengan M. Antibacterial Activity of Garlic Extract Against some Pathogenic Animal Bacteria. **Media Peternakan**. 2011;34(3):155–158. doi: 10.5398/medpet.2011.34.3.155.
16. Zakiah N. Efek Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Derajat II Pada Mencit (*Mus musculus*). **JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research**. 2017;2(02):90.
17. Gull I, Saeed M, Shaukat H, Aslam S, Samra Z, Athar A. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**. 2012;11:1–6. doi: 10.1186/1476-0711-11-8.
18. Rahayuningsih N, Pratama A, Suhendy H. Aktivitas Antidiabetik Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) Pada Tikus Putih Jantan Dengan Induksi Aloksan. **Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi**. 2020;20(1):43–51.
19. Sinulingga S, Subandrate S, Safyudin S. Uji Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Fraksi Etanol Air Benalu Kersen (*Dendrothoe petandra* (L) Miq). **Jurnal Kedokteran dan Kesehatan**. 2020;16(1):76. doi: 10.24853/jkk.16.1.76-83.
20. Putri S, 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):83–92.
21. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. **American Society For Microbiology**. 2009:1–13. Available at: <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>.
22. HiMedia Laboratories. *Mueller Hinton Broth*. [Internet]. 2019. [cited 2021 March 16]. Available at: <https://www.himedialabs.com/intl/en/products/Clinical-Microbiology/Susceptibility-Testing-Media/Mueller-Hinton-Broth-M391>.
23. Rubiatik S, Sartini, Lubis R. Skrining Fitokimia dan Uji Antimikroba Ekstrak Kasar Bawang Batak (*Allium cinense*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **BioLink**. 2015;2(1).
24. Widiyatno I, Muniroh L. Dampak Pemberian Minyak Goreng Mengandung Residu Plastik Isopropyl Terhadap Blood Urea Nitrogen-creatinine Tikus Putih Galur Wistar. **Agroveteriner**. 2018;7(1).
25. Ziaei-Daroukalei N, Ameri M, Salehi T, Daroukalei O, Tabrizi T, Bornaei L. AZDAST The New Horizon in Antimicrobial Synergism Detection. **MethodsX. Elsevier B.V**. 2016;3(232):43–52. doi: 10.1016/j.mex.2016.01.002.
26. Dahlan MS. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, Multivariat. Jakarta: Epidemiologi Indonesia, 2014.
27. Hernawan UE, Setyawan AD. Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Aktivitas Biologinya. **Biofarmasi**. 2003;1(2):65–76.
28. Moulia MN, Syarif R, Iriani E, Kusumaningrum H, Suyatna N. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. **Jurnal Pangan**. 2018;27(1):5–66.
29. Poernomo H, Ma'ruf MT. Pengaruh Gel Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Pada Penyembuhan Luka Insisi Gingiva Marmut (*Cavia Porcellus*). **Interdental Jurnal Kedokteran Gigi (IJKG)**. 2020;16(2):34–39. doi: 10.46862/interdental.v16i2.1065.
30. Katzung BG, Trevor AJ. *Basic & Clinical Pharmacology*. Edisi 13. United States: McGraw-Hill Education. 2015
31. Rizky T, Sogandi. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis* Linn.F) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. **Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal**. 2018.
32. Esimone C, Iroha I, Ibezim E, Okeh C, Okpana E. In Vitro Evaluation of The Interaction Between Tea Extracts and Penicillin G Againsts *Staphylococcus aureus*. **African Journal of Biotechnology**. 2006;5(11):1082–1086.
33. Purwantiningsih TI, Rusae A, Freitas Z. Uji In Vitro Antibakteri Ekstrak Bawang Putih sebagai Bahan Alami untuk Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Sains Peternakan**. 2019;17(1):1–4.

34. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nocianitri KA. 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. doi: 10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12.
35. 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: **Jurnal Agroekoteknologi**. 2019;12(1):26. doi: 10.21107/agrovigor.v12i1.5143.
36. Kurniawan B, Aryana WF, Binahong (*Cassia Alata L.*) As Inhibitor Of *Escherichia coli* Growth. **J Majority**. 2015;4(4):100–104.
37. Kurniawan D, Sulistyowati E, Hakim R. Efek Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanolik atau Dekokta Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Amoksisilin pada *Staphylococcus aureus* atau *Escherichia coli* secara in vitro. **Journal Bio Komplementer Medicine**. 2019;7(1):1–8.
38. Abouelfetouh A, Moussa N. Enhancement of Antimicrobial Activity of Four Classes of Antibiotics Combined with Garlic. **Asian Journal of Plant Sciences**. 2012;11(3):148-152.
39. Awuchi C. The Biochemistry, Toxicology, and Uses of the Pharmacologically Active Phytochemicals: Alkaloids, Terpenes, Polyphenols, and Glycosides. **Journal of Food and Pharmaceutical Sciences**. 2019;7(3):131-150.
40. Salamah N, Ningsih D. Total Alkaloid Content in Various Fractions of *Tabernaemontana sphaerocarpa* Bl. (Jembirit) Leaves. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. 2017.
41. Dewi A, Siregar V, Kusumayanti. Effect of Extraction Time on Tannin Antioxidant Level and Flavonoid on Pandan Wangi Leaf (*Pandanus amaryllifolius Roxb*) Using Hydrothermal Extractor. **Journal of Physics**. 2019.