

INTERAKSI KOLISTIN DENGAN FRAKSI AIR DAN FRAKSI N-HEKSANA DARI EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) BERSIFAT POTENSIASI PADA BAKTERI *Escherichia coli*

Dian Ramadhani, Arif Yahya, Reza Hakim*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Penambahan senyawa aktif tanaman herbal seperti bawang putih (*Allium sativum L.*) berpotensi membantu kerja antibiotik seperti kolistin. Namun kombinasi kolistin dengan fraksi dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* belum pernah dilakukan sehingga perlu untuk diteliti.

Metode: Penelitian dilakukan secara eksperimental *in vitro* menggunakan ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* yang telah difraksinasi menjadi fraksi air, n-heksana dan etil asetat. Efek antibakteri diuji dengan metode Kirby-Bauer sedangkan analisa interaksi berdasarkan metode Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST). Hasil dianalisa dengan Kruskal Wallis dan $p < 0,05$ dianggap signifikan.

Hasil dan Pembahasan: Fraksi air, n-heksana dan etil asetat tidak membentuk zona hambat terhadap *E. coli* (0 ± 0 mm). Hasil AZDAST didapatkan zona hambat kombinasi kolistin dengan fraksi air ($17,09 \pm 1,21$ mm) dan n-heksana ($17,01 \pm 1,47$ mm) lebih besar daripada kolistin tunggal ($14,72 \pm 0,54$ & $13,90 \pm 0,48$ mm) sehingga bersifat potensiasi. Namun *not distinguishable* atau tidak bisa dibedakan untuk etil asetat (fraksi $14,26 \pm 0,39$ kombinasi $14,44 \pm 1,77$ mm) yang diduga terjadi karena konsentrasi fraksi yang kurang tinggi.

Kesimpulan: Interaksi kolistin dengan fraksi air dan n-heksana bersifat potensiasi, sedangkan dengan fraksi etil asetat bersifat *not distinguishable* terhadap *E. coli*.

Kata Kunci: *Allium sativum L.*, Kolistin, *Escherichia coli*, Daya hambat, Kombinasi antibiotik dan herbal

*Korespondensi:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

INTERACTION OF COLISTIN WITH WATER FRACTION AND N-HEXANE FRACTION FROM ETHANOL EXTRACT OF GARLIC BULBS (*Allium sativum L.*) ARE POTENTIATING ON INHIBITION OF *Escherichia coli*

Dian Ramadhani, Arif Yahya, Reza Hakim*

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: The addition of active compounds from herbs such as *Allium sativum L.* has the potential to help work antibiotics such as colistin. However, the combination of colistin with fractions from the ethanolic extract of *Allium sativum L.* has never been done previously, so this is considered important to have such this kind of research.

Methods: The research was conducted experimentally *in vitro* using the ethanolic extract of *Allium sativum L.* bulb which had been fractionated into water, n-hexane and ethyl acetate fractions. The antibacterial effect was tested using the Kirby-Bauer method while the interaction analysis was based on the Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST) method. The results analyzed were tested with Kruskal Wallis and $p < 0.05$ considered significant.

Results and Discussion: Water, n-hexane and ethyl acetate fractions did not form inhibition zones against *E. coli* (0 ± 0 mm). The results of AZDAST showed that the inhibition zone of the combination of colistin with water (17.09 ± 1.21 mm) and n-hexane (17.01 ± 1.47 mm) fraction was greater than that of single colistin (14.72 ± 0.54 & 13.90 ± 0.48 mm) so that it was potentiation. However not distinguishable for ethyl acetate (fraction 14.26 ± 0.39 combination 14.44 ± 1.77 mm) that presumably due to the low fraction concentration.

Conclusion: The interaction of colistin with water and n-hexane fractions was potentiation, while the ethyl acetate fraction was not distinguishable against *E. coli*.

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

*Correspondence author:

Reza Hakim

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

e-mail: rezahakim@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Penyebab kematian utama yang hampir menewaskan 50.000 orang setiap harinya adalah penyakit infeksi.¹ Salah satu bakteri yang sering menyebabkan penyakit infeksi adalah *Escherichia coli*.² Pada tahun 1982-2002, sejumlah 49 negara melaporkan 350 wabah *E. coli* O157. Kejadian ini terdiri dari 8598 kasus, 1493 kasus (17%) diantaranya harus dirawat inap, 354 kasus (4%) mengalami sindrom hemolitik uremik, dan 40 kasus (0,5%) mengalami kematian.³

Penelitian oleh Cui *et al* tahun 2016 menunjukkan bahwa kolistin merupakan antibakteri yang baik pada *Escherichia coli*.⁴ Namun, Ayandele *et al* tahun 2020 menunjukkan bahwa *E. coli* mengalami resistensi terhadap kolistin hingga 84%.⁵ Oleh sebab itu upaya untuk membantu meningkatkan aktivitas dari kolistin pada *E. coli* perlu dilakukan yakni dengan mengkombinasikannya dengan tanaman herbal yang bersifat antibakteri seperti *Allium sativum L.*^{1,6}

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *Allium sativum L.* mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.^{7,8} Senyawa antibakteri dalam *Allium sativum L.* antara lain allicin, ajoene, tanin, alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.^{9,10,11} Senyawa-senyawa tersebut dapat diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dan dapat dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya dengan melakukan fraksinasi.^{12,13}

Sampai saat ini belum ada data yang menunjukkan interaksi fraksi-fraksi ekstrak etanol *Allium sativum L.* yang dikombinasikan dengan kolistin. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui interaksi antara kombinasi kolistin dengan fraksi dari ekstrak etanol *Allium sativum L.* dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium ini dilakukan secara *in vitro*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni hingga September 2021 yang dilaksanakan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran FK UNISMA dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

Sampel Penelitian

E. coli didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Ekstrak etanol umbi *Allium Sativum L.* didapatkan dari UPT Materia Medica Batu dengan surat keterangan determinasi No.074/321/102.7-A/2021.

Fraksinasi Ekstrak Etanol *Allium sativum L.*

Ekstrak etanol *Allium sativum L.* diambil sebanyak 20 ml lalu dilarutkan dalam 500 ml air. Kemudian larutan ekstrak ditambahkan dengan pelarut 500 ml n-heksana dan dimasukkan kedalam corong pisah lalu dikocok hingga homogen selama 30 menit. Setelah dikocok, larutan didiamkan selama 30-60 menit hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan atas adalah fase n-heksana dan bawah adalah fase residu. Fase n-heksana dipisahkan dengan pipet lalu dimasukkan dalam *beaker glass* kemudian fase tersebut diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga menjadi fraksi kental.

Selanjutnya memasukkan 500 ml etil asetat ke dalam corong pisah, lalu dikocok kurang lebih selama 30 menit hingga homogen. Kemudian selama 30-60 menit larutan didiamkan hingga terlihat ada 2 lapisan, etil asetat merupakan lapisan atas dan bawah adalah fase air. Fase etil asetat dipisahkan dengan pipet lalu ditempatkan ke dalam *beaker glass*. Lapisan bawah fase air dipisahkan juga menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam *beaker glass*. Tahap terakhir adalah masing-masing fraksi etil asetat dan fase etanol-air diuapkan dengan *vacuum evaporator* sampai dihasilkan fraksi kental.^{14,15,16}

Uji Zona Hambat

Tahap awal uji zona hambat yakni menyiapkan cawan petri berukuran 12 cm dan perekat cakram dari larutan agar Mueller-hinton yang telah dibuat sebelumnya. Setelah semua cakram perlakuan sudah tertempel kemudian cawan petri diisi dengan 40ml media agar Mueller-Hinton hangat (dipanaskan dengan water bath pada suhu 46° selama 30 menit) yang sudah diautoklaf dengan kedalaman 3,5 mm. Setelah itu cawan petri didiamkan selama 10 menit hingga memadat dan dilanjutkan inokulasi.¹⁷ Terbentuknya zona bening disekeliling cakram menandakan bahwa sampel uji mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kemudian zona bening tersebut diukur menggunakan aplikasi *Image Raster Optilab Viewer 2.2* dengan satuan mm.

Metode Penentuan Interaksi

Zona hambat kombinasi herbal dan antibiotik diukur berdasarkan metode *Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST)*.¹⁹ seperti pada Tabel 1.

Analisa Data Statistik

Zona hambat kombinasi dianalisa menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*. Karena data yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan tidak homogen sehingga dilakukan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dengan uji lanjut *Mann-Whitney*.¹⁸

Tabel 1. Interpretasi Hasil Metode 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 Ke-1; B= Antibiotik ke-2; AB= Kombinasi antibiotik ke-1 dan ke-2

HASIL PENELITIAN

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Kolistin dengan Fraksi Air Ekstrak Etanol *Allium sativum* L.

Dalam cawan petri fraksi air menunjukkan hasil rerata pengukuran zona hambat kolistin tunggal 14,72 ± 0,54 mm, kolistin ganda 15,31 ± 0,37 mm. Selanjutnya fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. tunggal maupun ganda 0 ± 0 mm. Kemudian kombinasi kolistin dengan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. sebesar 17,09 ± 1,21 mm. Dari data tersebut diperoleh zona hambat pada kombinasi lebih besar daripada zona kolistin tunggal sehingga bersifat potenciasi. Hasil zona hambat ditunjukkan sesuai **Gambar 1A** dan **Tabel 2**.

Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Kolistin dengan Fraksi N-Heksana Ekstrak Etanol *Allium sativum* L.

Rerata zona hambat kolistin tunggal 13,90± 0,48 mm, kolistin ganda 15,24 ± 0,40 mm. Selanjutnya fraksi n-heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. tunggal maupun ganda 0 ± 0 mm. Kemudian kombinasi kolistin dengan fraksi n-Heksana ekstrak

etanol umbi *Allium sativum* L. sebesar 17.01 ± 1,47 mm. Karena Zona hambat kombinasi lebih besar daripada zona hambat kolistin tunggal maka bersifat potenciasi. Hasil pengukuran zona hambat ditunjukkan dalam **Gambar 1B** dan **Tabel 2**.

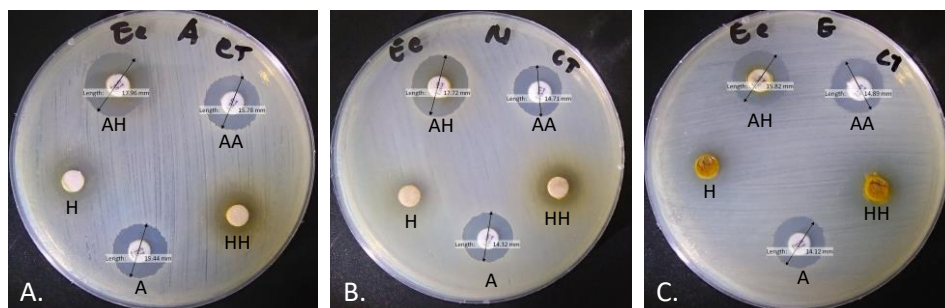
Hasil Uji Zona Hambat Kombinasi Kolistin dengan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol *Allium sativum* L.

Pada perlakuan dalam cawan petri etil asetat menunjukkan hasil rerata pengukuran zona hambat kolistin tunggal 14,26 ± 0,39 mm, kolistin ganda 14,39 ± 0,65 mm. Selanjutnya fraksi etil asetat dosis tunggal maupun ganda tidak memiliki zona hambat yakni 0 ± 0 mm. Kemudian kombinasi kolistin dengan fraksi etil asetat sebesar 14.44 ± 1,77 mm. Tidak ada perbedaan bermakna antara zona hambat kombinasi dengan kolistin tunggal sehingga bersifat not distinguishable. Hasil zona hambat ditunjukkan seperti di **Gambar 1C** dan **Tabel 2**.

Tabel 2. Rerata Hasil Pengukuran Zona Hambat Antar Perlakuan

Fraksi	Sampel	Zona hambat ± SD (mm)	Jenis Interaksi
1A	A	14,72 ± 0,54	Potensiasi
	H	0 ± 0	
	AH	17,09 ± 1,21	
	AA	15,31 ± 0,37	
	HH	0 ± 0	
1B	A	13,90 ± 0,48	Potensiasi
	H	0 ± 0	
	AH	17,01 ± 1,47	
	AA	15,24 ± 0,40	
	HH	0 ± 0	
1C	A	14,26 ± 0,39	Not distinguishable
	H	0 ± 0	
	AH	14,44 ± 1,77	
	AA	14,39 ± 0,65	
	HH	0 ± 0	

Keterangan: 1A= Fraksi air; 1B= Fraksi N-Heksana; 1C= Fraksi Etil asetat; A= kolistin tunggal; H=Herbal (fraksi ekstrak etanol *Allium sativum* L.) tunggal; AH= Kombinasi kolistin dengan fraksi ekstrak etanol *Allium sativum* L.; AA= kolistin ganda; HH= Herbal (fraksi ekstrak etanol *Allium sativum* L.) ganda.



Gambar 1. Zona Hambat Kombinasi Kolistin dengan Fraksi Air, N-Heksana dan Etil Asetat Ekstrak Etanol *Allium sativum* L. dalam menghambat *E. coli*; A: Fraksi Air; B: Fraksi N-Heksana; C: Fraksi Etil Asetat.

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

PEMBAHASAN

Pengaruh Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*

Fraksi n-heksana, etil asetat dan air secara tunggal maupun ganda tidak menunjukkan adanya zona hambat. Sehingga dapat dikatakan fraksi-fraksi tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Sedangkan Penelitian yang dilakukan oleh prihandani tahun 2015 bawang putih efektif menghambat pertumbuhan *E.coli* mulai dari konsentrasi 12,5%, 25% dan 50%. Hal ini menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi bawang putih maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk, artinya aktivitas antibakteri semakin tinggi.¹⁹

Zona hambat yang tidak terbentuk ini bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor. Konsentrasi fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. yang kurang tinggi dapat menyebabkan kerja zat antibakteri *Allium sativum* L. bekerja kurang efektif, penelitian yang dilakukan oleh mustamin tahun 2016 menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dalam menghambat *E. coli* paling efektif pada konsentrasi 80% dan 100%.²⁰ Penentuan dosis yang rendah dapat mempengaruhi kadar zat aktif antibakteri dalam fraksi *Allium sativum* L. Namun, penelitian ini tidak melakukan analisa uji LC-HRMS untuk mengetahui semua kandungan yang terdapat dalam masing-masing fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L.

Pengaruh Kombinasi Kolistin dengan Fraksi Air Etanol Umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*

Zona hambat pada kombinasi kolistin dengan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* memiliki jenis interaksi potensiasi. Potensiasi yakni apabila hasil pengukuran zona hambat kombinasi lebih besar daripada kolistin tunggal, serta bernilai 0 pada fraksi tunggalnya dengan hasil yang signifikan ($p < 0.05$).

Fraksi air bersifat polar, kandungan zat antibakteri fraksi air tersebut antara lain tanin, flavonoid dan alkaloid.^{21,22,23} Fraksi air memiliki titik kerja yang berbeda dengan kolistin sehingga diduga mampu dalam meningkatkan kinerja dari kolistin. Tanin memiliki mekanisme kerja dengan cara mencegah replikasi DNA.²⁴ Selanjutnya Flavonoid memiliki beberapa mekanisme utama. Pertama, flavonoid akan mencegah proses pembentukan RNA, kemudian flavonoid juga bekerja dengan cara mengganggu fungsi membran sel dan menghalangi pembentukan energi di membran sitoplasma.²⁵ Kemudian yang terakhir yakni alkaloid dengan merusak atau peptidoglikan sebagai komponen penyusun dari dinding bakteri itu sendiri. Sehingga, bakteri mengalami kematian dikarenakan lapisan dindingnya tidak terbentuk.²⁶

Pengaruh Kombinasi Kolistin dengan Fraksi n-Heksana Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*

Zona hambat pada kombinasi kolistin dengan fraksi n-heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. pada *E. coli* memiliki jenis interaksi potensiasi. Potensiasi yakni apabila hasil pengukuran zona hambat kombinasi lebih besar dibandingkan dengan kolistin tunggal, kemudian fraksi tunggalnya bernilai 0, serta signifikan ($p < 0.05$).

Secara tunggal maupun ganda fraksi n-heksana tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, akan tetapi saat dikombinasikan dengan kolistin diameter zona hambat yang terbentuk mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan fraksi n-heksana memiliki target yang berbeda dengan kolistin sehingga diduga mampu dalam meningkatkan kinerja dari kolistin. Fraksi n-heksana bersifat nonpolar, dan kandungan zat antibakteri yang bersifat nonpolar dalam fraksi n-heksana diantaranya adalah Alisin dan ajoene.²⁷ Alisin dan ajoene yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis DNA dan RNA.²⁸ Sedangkan target utama polimiksin sendiri adalah membran luar dari bakteri *E. coli*.²⁹

Pengaruh Kombinasi Kolistin dengan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*

Zona hambat kombinasi kolistin dengan fraksi etil asetat ekstrak menunjukkan jenis interaksi *not distinguishable*. *Not distinguishable* yaitu apabila hasil pengukuran zona hambat kombinasi memiliki nilai tidak lebih besar maupun tidak lebih kecil dibandingkan dengan kolistin tunggal dan hasil yang signifikan ($p < 0.05$).

Interaksi *not distinguishable* dapat terjadi dikarenakan kandungan zat aktif triterpenoid sebagai antibakteri dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol *Allium sativum* L. rendah yang menyebabkan kinerja dari zat aktif fraksi tersebut bekerja kurang efektif. Sehingga untuk mengetahui kadar zat aktif dalam fraksi etil asetat dibutuhkan uji analisa LC-HRMS. Dalam menunjang penelitian ini pengamatan zona hambat pada jam ke 12 dan 48 juga dilakukan. Fraksi etil asetat pada jam ke 12 memiliki zona hambat ± 12.48 mm. Namun zona hambat itu hilang saat diaamati pada jam ke 24 dan ke 48. Berdasarkan hasil tersebut kemungkinan menunjukkan bahwa kerja dari zat aktif semipolar pada fraksi etil asetat memiliki waktu kinerja yang pendek sebagai antibakteri.

Mekanisme kerja triterpenoid memiliki target yang berbeda dengan kolistin. Triterpenoid sebagai antibakteri yang bersifat semipolar akan merusak porin pada membran sel yang menjadi alat sebagai tempat keluar masuknya senyawa.³⁰ Kemudian target utama kolistin sendiri adalah membran luar dari bakteri *E. coli*.²⁹ Namun zat aktif ini tidak cukup mampu membantu kinerja kolistin dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* diduga karena

selain zat aktifnya yang rendah dan jangka waktu kerjanya yang pendek.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Interaksi antara kolistin dengan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* bersifat potensiasi
2. Interaksi antara kolistin dengan fraksi n-heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* bersifat potensiasi
3. Interaksi antara kolistin dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* bersifat *not distinguishable* atau tidak dapat dibedakan

SARAN

Demi peningkatan dan pengembangan penelitian lebih lanjut disarankan agar:

1. Uji analisa dengan fitokimia LC-HRMS secara kuantitatif untuk mengetahui kandungan zat aktif pada fraksi air, n-heksana dan etil asetat dari umbi *Allium sativum* L.
2. Menggunakan konsentrasi fraksi yang lebih tinggi fraksi uji kombinasi dengan kolistin dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*.
3. Menggunakan fraksi lain dari ekstrak etanol *Allium sativum* L.
4. Mengganti tanaman herbal selain *Allium sativum* L. yang berpotensi sebagai antibakteri
5. Mengganti bakteri uji selain *Escherichia coli*.
6. Mengganti antibiotik yang dikombinasikan dengan fraksi ekstrak etanol *Allium sativum* L.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA, tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini, serta kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes, PhD sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bhardwaj M, Singh BR, Shinha DK, Kumar V, Prasanna VOR, Varan SS, Nirupama KR, Pruthvishree, Archana SB. *Potential of Herbal Drug and Antibiotic Combination Therapy: A New Approach to Treat Multidrug Resistant Bacteria*. **Pharmaceutica Analitica Acta**. 2016; 7(11)
2. Allocati N, Masulli M, Alexeyev M, Di Ilio CD. *Escherichia coli in Europe: An Overview*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2013; 10(12):6235-6254
3. Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. *Epidemiology of Escherichia coli O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002*. **Emerg Infect Dis**. 2005;11(4): 603-609
4. Cui P, Niu H, Shi W, Zhang S, Zhan H, Margolick J, Zhang W, Zhang Y. *Disruption of Membrane by Colistin Kills Uropathogenic Escherichia coli Persists and Enhances Killing of Other Antibiotics*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2016; 60(11): 6867-6871.
5. Ayandele, Oladipo E, Oyeibisi O, Kak M. *Prevalence of Multi-Antibiotic Resistant Escherichia coli and Klebsiella species Obtained from a Tertiary Medical Institution in Oyo State Nigeria*. **Qatar Medical Journal**. 2020;(1)
6. Moulia MN, Syarief R, Iriani S, Kusumaningrum HD, Suyatma NE. *Antimikroba Ekstrak Bawang Putih*. **Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan**. 2018; 27(1): 55-66.
7. Yadav M, Bohra R, Gupta N. *In Vitro Determination of Antibacterial Effect of Garlic (Allium sativum) on Staphylococcus aureus and E. coli*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. 2019;9(9): 498-506
8. Enejiyon SO, Abdulrahma AA, Adedeji AS, Abdulsalam W, Oyedum MU. *Antibacterial Activities of the Extracts of Allium sativum(Garlic) and Allium cepa (Onion) Against Selected Pathogenic Bacteria*. **Tanzania Journal of Science**. 2020;46(3): 914-922
9. Salima J. *Antibacterial Activity of Garlic (Allium sativum L.)*. **Jurnal Majority**. 2015;4(2):30-39
10. Upa G, Ali A, Arismawat, Purnamasari Y. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang putih (Allium sativum) terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhii dan Shigella dysenteriae*. **Jurnal Medula**. 2017; 4(2): 354-360
11. Prasitiwi R, Siska, 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
12. Mukhriani. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*. **Jurnal Kesehatan**. 2014; 7(2): 361-367.
13. Nugroho A. *Teknologi Bahan Alam. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press*; 2017.
14. Putri SD & Purwati. *Antioxidant Activity Test and Flavonoid Levels Test Ethyl Acetate Fraction Tomato Fruit Extract*. **Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal**. 2019; 3(2).
15. Medisusyanti AS & Haryoto. *Aktivitas Sitototoksik Fraksi Polar Umbi Bawang Putih (Allium sativum L.) Terhadap Sel T47D*. **Surakarta: University Research Colloquium**; 2018.
16. Sinulingga S, Subandrat, Safyudin S. *Uji Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Fraksi Etanol Air Benalu Kersen (Dendrophthoe*

- petandra (L) Miq*). **Jurnal Kedokteran dan Kesehatan**. 2020; 16(1): 76-83.
17. Ziaei-Darounkalaei N, Ameri M, Zahraei-Salehi T, Ziaei-Darounkalaei O, Mohajer-Tabrizi T, Bornaei L. *AZDAST the new horizon in antimicrobial synergism detection*. **MethodsX**. 2016; 3: 43-52.
 18. Susilawati L, Supriyad, Wilani N, Tobing D, Astiti D, Rustik I, Indrawati K, Marheni A, Herdiyanto Y, Vembriati N, Suarya, Lestari M, Wulanyani N, Widiyasavitri P, Budisetyani P. *Bahan Ajar Praktikum Statistik*. Denpasar: **Fakultas Kedokteran Universitas Udayana**; 2017.
 19. Prihandani S. *Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (Allium sativum L) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhirium dan Pseudomonas aeruginosa Dalam meningkatkan Keamanan Pangan*. **Informatika Pertanian**. 2015; 24(1): 53
 20. Mustamin. *Uji Antibakteri Ekstrak Allium sativum Linn Terhadap Pertumbuhan Escherichia Coli Secara In Vitro*. **Mahakam Medical Laboratory Technology Journal**. 2016 ;1(2): 91-100
 21. Zakiah N, Dinn CI, Auliansha 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
 22. Arum YP, Supartono, Sudarmin. *Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (Muntingia calabura)*. **Jurnal MIPA**. 2012; 35(2).
 23. Titis M, Fachriyah E, Kusrini D. *Isolasi Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (Anredera cordifolia(Tenore) Steenis*. **Chem info**. 2013; 1(1):196-201
 24. 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*. **Jurnal Agroekoteknologi**. 2019;12(1):26
 25. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nociantiri KA. *Kandungan Senyawa Flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (Caesalpinia sappan L.) serta aktivitas antibakteri terhadap Vibrio cholerae*. **Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan**. 2019;8(2):216-225
 26. Darsana IGO, Besung INK, Mahatmi H. *Potensi Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore)(Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli secara In Vitro*. **Indonesia Medicus Veterinus**. 2012;1(3):337-351
 27. Morales-González JA, Madrigal-Bujaidar E, Sánchez-Gutiérrez M, Izquierdo-Vega J, Valadez-Vega M, Álvarez-González I, Morales-González Á, Madrigal-Santillán E. *Garlic (Allium sativum L.); A Brief Review of Its Antigenotoxic Effect*. **Foods**. 2019; 8(8)
 28. Londhe VP, Gavasane AT, Nipate SS, Bandawane DD, Chaudhari PD. *Role of Garlic (Allium sativum) in various diseases: an overview*. **Journal of pharmaceutical research and opinion**. 2011; 1(4): 129-134.
 29. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. *Polymixins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes*. **Clin Microbiol Rev**. 2017; 30(2): 557-596
 30. Rizky TA & 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; 3(1)