

INTERAKSI ANTAGONIS KOMBINASI KOTRIMOKSAZOL DENGAN FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL UMBI BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*) PADA *Escherichia coli* RESISTEN KOTRIMOKSAZOL

Muhammad Luthfi Rusydi, Arif Yahya, Reza Hakim*

*Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *E.coli* memiliki resistensi terhadap kotrimoksazol sebesar 81% yang dapat ditanggulangi dengan mengkombinasi antibiotik dengan herbal seperti *Allium sativum L.*. Ekstrak etanol *Allium sativum L.* memiliki potensi antibakteri. Namun interaksi fraksi fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* belum diketahui sehingga perlu diteliti.

Metode: Penelitian dilakukan secara *in vitro* laboratorium pada *E. coli* resisten kotrimoksazol menggunakan ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.* yang telah difraksinasi dengan air (FA), n-heksana (FNH) dan etil asetat (FEA). Efek antibakteri diuji dengan metode Kirby-Bauer sedangkan interaksi antibiotik dan herbal menggunakan metode Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST). Hasil analisa diuji dengan Kruskal Wallis dengan nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan.

Hasil: Kotrimoksazol dosis tunggal dan ganda tidak menghasilkan zona hambat yang menunjukkan sifat resistensi kotrimoksazol *E.coli*. FA dan FNH tunggal tidak menghasilkan zona hambat sedangkan FEA tunggal sebesar $11,21 \pm 1,15$ mm ($p=0.013$). Zona hambat FA, FNH, FEA ganda berturut turut sebesar $9,92 \pm 0,19$ mm, $11,04 \pm 1,13$ mm, $13,23 \pm 1,74$ mm ($p=0.014$). Zona hambat kombinasi kotrimoksazol dengan FA dan FNH sebesar 0 mm dan FEA $11,21 \pm 1,15$ mm ($p=0.014$). hasil AZDAST menunjukkan FA, FNH *not distinguishable* dan FEA antagonis. Hal ini diduga terjadi karena resistensi kotrimoksazol dan kurangnya dosis masing masing fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum L.*

Kesimpulan: Interaksi kotrimoksazol dengan FEA bersifat antagonis, sedangkan dengan FA dan FNH bersifat *not distinguishable* terhadap *E. coli*.

Kata Kunci: *Allium sativum L.*, Kotrimoksazol, *E. 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

ANTAGONISTIC INTERACTION COMBINATION COTRIMOXAZOL WITH ETHIL ACETATE FRACTION FROM GARLIC (*Allium sativum L.*) IN COTRIMOXAZOL-RESISTANT *Escherichia coli*

Muhammad Luthfi Rusydi, Arif Yahya, Reza Hakim*

*Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction: *E.coli* has 81% resistance to cotrimoxazole which can be overcome by combining antibiotics with herbs such as *Allium sativum L.*. The ethanolic extract of *Allium sativum L.* has antibacterial potential. However, the interaction between the fractions of the ethanolic extract of *Allium sativum L.* is not yet known.

Methods: The study was conducted *in vitro* on cotrimoxazole-resistant *E. coli* using ethanol extract of *Allium sativum L.* bulb which had been fractionated with water (FA), n-hexane (FNH) and ethyl acetate (FEA). The antibacterial effect was tested using the Kirby-Bauer method while the interaction of antibiotics and herbs was tested using the Ameri-Ziaei Double Antibiotic Synergism Test (AZDAST) method. The results of the analysis were tested by Kruskal Wallis with a p value of < 0.05 considered significant.

Results: Cotrimoxazole single and multiple doses did not produce an inhibition zone that indicated the nature of cotrimoxazole resistance of *E. coli*. FA and single FNH did not produce an inhibition zone while single FEA was 11.21 ± 1.15 mm ($p=0.013$). The inhibition zones for FA, FNH, and double FEA were 9.92 ± 0.19 mm, 11.04 ± 1.13 mm, 13.23 ± 1.74 mm ($p=0.014$). The inhibition zones for the combination of cotrimoxazole with FA and FNH were 0 mm and FEA 11.21 ± 1.15 mm ($p=0.014$). AZDAST results show FA, FNH *not distinguishable* and FEA antagonist, this is thought to be caused by resistance and lack of dose in each fraction.

Conclusion: The interaction of cotrimoxazole with FEA is antagonistic, whereas with FA and FNH it is *not distinguishable* against *E. coli*.

Keywords: *Allium sativum L.*, Cotrimoxazole, *E. 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

Infeksi merupakan penyakit dengan angka morbiditas dan mortalitas tertinggi di Indonesia¹. Bakteri yang sering menyebabkan infeksi adalah *Escherichia coli* dengan perkiraan angka lebih dari 100 kasus per 100.000 penduduk, serta kasus kematian akibat infeksi *E. coli* di Indonesia diperkirakan sekitar 162.000 per tahun^{2,3,4}. Kotrimoksazol merupakan terapi lini pertama untuk infeksi akibat *E. coli*⁵. Namun, seiring meningkatnya infeksi dan penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat mengakibatkan peningkatan resistensi. Pada tahun 2011 didapatkan 81% *E. coli* resisten terhadap kotrimoksazol⁶. Penelitian oleh Sari *et al* (2015) menunjukkan persentase resistensi yang lebih tinggi⁵.

Usaha yang dapat dilakukan untuk menanggulangi peningkatan resistensi ialah dengan mengkombinasi antibiotik dengan herbal yang berpotensi sebagai antibakteri seperti *Allium sativum* L.^{7,8}. Ekstrak etanol *Allium sativum* L. memiliki daya hambat yang baik terhadap *E. coli* dan efek penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya^{9,10}. Senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dalam *Allium sativum* L. antara lain allicin, tanin, alkaloid, flavonoid dan triterpenoid^{8,10,11}.

Allicin bekerja dengan cara menghambat DNA gyrase pada sub unit A sehingga terjadi penghambatan total sintesis RNA dan DNA^{12,13,14}. Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga pembentukan lapisan dinding sel terganggu¹⁵. Tanin bekerja dengan cara mengganggu metabolisme sel bakteri dengan cara menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga replikasi DNA sel bakteri tidak dapat terbentuk¹⁶. Flavonoid menghambat pembentukan asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma sehingga fungsi membran sel akan terganggu dan menghambat metabolisme energi^{17,18}. Triterpenoid bekerja dengan cara menurunkan permeabilitas dinding sel dan penghambatan asam amino^{15,19}. Senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi antibakteri dan tingkat kepolaran yang berbeda beda, sehingga dapat dipisahkan melalui proses ekstraksi dengan metode fraksinasi²⁰.

Namun sampai saat ini belum ada data penelitian tentang jenis interaksi pada kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi fraksi dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui interaksi antara kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi air, n-heksana dan etil asetat dari ekstrak etanol *Allium sativum* L. dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA) dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang (FK UMM) secara eksperimental *in vitro* pada bulan Juni hingga Oktober 2021.

Sampel Penelitian

E. coli didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Ekstrak etanol umbi bawang putih (*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.

Fraksinasi ekstrak etanol *Allium sativum* L. menggunakan tiga pelarut yaitu pelarut air, n Heksana dan etil asetat. Ekstrak etanol *Allium sativum* L sebanyak 20 ml dilarutkan dalam 500 ml air. Kemudian larutan dipartisi menggunakan pelarut n-heksana sebanyak 500 ml, lalu dikocok menggunakan corong pisah selama 30 menit hingga tercampur rata. Kemudian larutan didiamkan selama 30-60 menit hingga terbentuk 2 lapisan (fase), lapisan n-heksana pada bagian atas dan lapisan air pada bagian bawah. Fase n-heksana dipisahkan dengan pipet dan dipindahkan ke dalam *beaker glass* lalu dilakukan penguapan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga terbentuk fraksi n heksana kental. Selanjutnya larutan etil asetat dimasukkan kedalam corong pisah dan dilakukan hal yang sama seperti fase n-heksana hingga terbentuk fraksi air dan etil asetat kental^{21,22,23}.

Uji Zona Hambat

Tahap awal persiapan, cawan petri steril dengan ukuran diameter 12 cm ditandai dan diletakkan cakram kertas antibiotik dengan menggunakan sedikit agar *Mueller-Hinton* sebagai perekat pada dasar cawan petri, lalu cakram kertas yang berisi fraksi ekstrak etanol *Allium sativum* L. diletakkan di atas cakram kertas antibiotik. Setelah kedua cakram tersebut menempel selanjutnya cawan petri diisi dengan media agar *Mueller-Hinton* yang telah dihangatkan menggunakan *water bath* dengan suhu 46°C selama 30 menit dan telah diautoklaf sebanyak 40 ml. Selanjutnya didinginkan sekitar 10 menit, setelah memadat cawan petri tersebut siap diinokulasi²⁴. Uji zona hambat dilakukan menggunakan kertas cakram dengan konsentrasi

Tabel 1. Interpretasi Hasil Metode AZDAST¹⁵.

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

Keterangan: A = Antibiotik 1; B = Antibiotik 2; AB = Kombinasi antibiotik 1 dan 2. Dimodifikasi dari Ziaei-Daroukalei N., *et al.* 2016.

herbal 50% (b/b) dengan komposisi 50gram dalam 25gram tween 80, dan 25gram akuades²⁵. Jika sampel yang diuji membentuk zona hambat disekitar cakram (clear zone). Zona bening diukur dengan 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). seperti pada **tabel 1**.

Analisa Data Statistik

Hasil zona hambat kombinasi diukur dengan satuan mm dan diolah menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) edisi 6. Karena data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dengan uji lanjut *Mann-Whitney*²⁶.

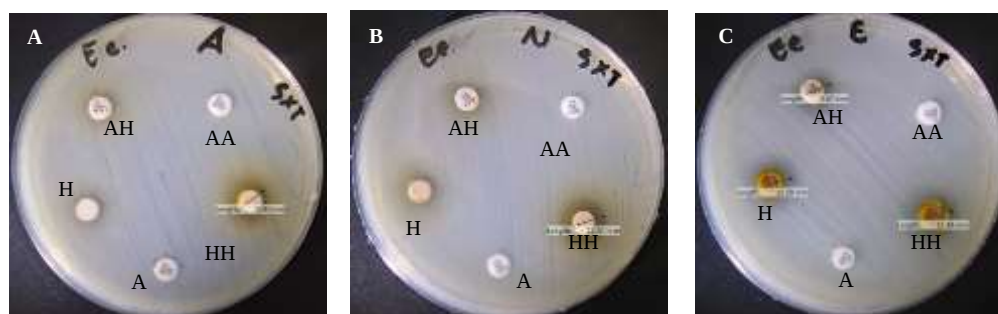
HASIL PENELITIAN

Uji zona hambat antar perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan. Hasil perlakuan pada masing masing fraksi air, n-heksana, dan etil asetat

yang ditunjukan pada **Gambar 1** dan dianalisa menghasilkan data yang tercantum dalam **Tabel 2**.

Fraksi Air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. dosis tunggal tidak mampu menghambat *E. coli* akan tetapi pada dosis ganda didapatkan bentukan rerata zona hambat sebesar 9.92 ± 0.19 mm. Kotrimoksazol dosis tunggal maupun ganda tidak mampu membentuk zona hambat. Pada kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi Air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* tidak didapatkan bentukan zona hambat. Tidak ada perbedaan bermakna antara zona hambat kombinasi dengan kotrimoksazol tunggal sehingga jenis interaksi bersifat *not distinguishable*.

Selanjutnya, fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. tunggal didapatkan bentukan rerata zona hambat sebesar 11.21 ± 0.15 mm dan pada fraksi Etil Asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. ganda didapatkan bentukan rerata zona hambat sebesar 13.23 ± 1.74 mm. Kotrimoksazol dosis tunggal maupun ganda tidak mampu membentuk zona hambat. Sedangkan pada kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi Etil Asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* didapatkan bentukan rerata zona hambat sebesar 10.02 ± 0.23 mm. Dari data tersebut diperoleh zona hambat pada herbal dosis tunggal lebih besar daripada kombinasi sehingga jenis interaksi bersifat Antagonis.



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

Keterangan: A= kotrimoksazol tunggal; H=Herbal (fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L.) tunggal; AH= Kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L.; AA= kotrimoksazol ganda; HH= Herbal (fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L.) ganda. Garis menunjukan adanya zona hambat pada fraksi ganda Air, N-heksana dan Etil Asetat. Serta pada zona hambat pada fraksi Etil Asetat tunggal dan kombinasi Kotrimoksazol dengan fraksi Etil asetat.

Tabel 2. Rerata Hasil Pengukuran Zona Hambat Antar Perlakuan

Fraksi	Sampel	Zona hambat ± SD (mm) (n=3)	Nilai Signifikansi					Jenis Interaksi
			A	AA	H	HH	AH	
Air	A	0 ± 0	-	1.00	1.00	0.014	1.00	<i>Not distinguishable</i>
	AA	0 ± 0	1.00	-	1.00	0.014	1.00	
	H	0 ± 0	1.00	1.00	-	0.014	1.00	
	HH	9,92 ± 0,19	0.014	0.014	0.014	-	1.00	
	AH	0 ± 0	1.00	1.00	1.00	0.014	-	
Etil asetat	A	0 ± 0	-	1.00	0.013	0.014	0.014	Antagonis
	AA	0 ± 0	1.00	-	0.013	0.014	0.014	
	H	11,21 ± 1,15	0.013	0.013	-	0.020	0.020	
	HH	13,23 ± 1,74	0.014	0.014	0.020	-	0.021	
	AH	10,02 ± 0,32	0.014	0.014	0.020	0.021	-	
N-Heksana	A	0 ± 0	-	1.00	1.00	0.014	1.00	<i>Not distinguishable</i>
	AA	0 ± 0	1.00	-	1.00	0.014	1.00	
	H	0 ± 0	1.00	1.00	-	0.014	1.00	
	HH	11,04 ± 1,13	0.014	0.014	0.014	-	1.00	
	AH	0 ± 0	1.00	1.00	1.00	0.014	-	

Kemudian fraksi n-Heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. dosis tunggal tidak mampu menghambat pertumbuhan *E.coli* akan tetapi pada dosis ganda didapatkan rerata zona hambat sebesar 11.04±1.13 mm. Kotrimoksazol dosis tunggal maupun ganda tidak mampu membentuk zona hambat. Pada kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi n-Heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* tidak didapatkan bentukan zona hambat. Tidak ada perbedaan bermakna antara zona hambat kombinasi dengan kotrimoksazol tunggal sehingga jenis interaksi bersifat *not distinguishable*.

PEMBAHASAN

Resistensi *E. coli* terhadap kotrimoksazol

Pada penelitian ini kotrimoksazol dosis tunggal maupun ganda tidak mampu membentuk zona hambat. Diduga hal tersebut disebabkan oleh bakteri yang mengalami resisten terhadap kotrimoksazol. Pada penelitian pendukung yang dilakukan, didapatkan kotrimoksazol yang digunakan mampu menghambat *S. aureus* dan *S. thypi*. Hal ini membuktikan bahwa kotrimoksazol yang digunakan tidak mengalami kerusakan atau masih dalam kondisi yang baik. Penelitian Kartika 2021 (*unpublished data*) menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* yang digunakan juga mengalami resistensi terhadap siprofloksasin. Hal ini memperkuat dugaan bahwa *E. coli* yang digunakan pada penelitian ini telah mengalami resistensi yaitu pada kotrimoksazol dan siprofloksasin.

Menurut kriteria Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kotrimoksazol dikatakan resisten jika menghasilkan diameter ZOI ≤ 10 mm²⁷. AMRINStudy menyebutkan tingkat resistensi *E. coli* di Indonesia terhadap kotrimoksazol sebesar 56%,

dan pada penelitian lain menyebutkan sebesar 89,47%^{4,5}. Mekanisme resistensi bakteri terhadap kotrimoksazol dihubungkan dengan 5 mekanisme utama; 1) Hambatan pada permeabilitas dan *efflux pumps*, 2) target enzim tidak spesifik secara alami, 3) perubahan regulasi pada enzim target, 4) perubahan mutasi atau rekombinasi pada target enzim dan, 5) resistensi yang didapatkan dari resistensi obat terhadap enzim target²⁸.

Mekanisme utama resistensi *E. coli* terhadap kotrimoksazol yang sering ditemukan disebabkan karena adanya modifikasi mutasi pada gen yang mengkode enzim target, yaitu dihidropteroat sintase atau dihidrofolat reduktase, atau akuisisi gen *sul* yang mengkode dihidropteroat sintase yang tidak sensitif terhadap sulfonamid dan gen *dfr* yang mengkode dihidrofolat reduktase yang tidak peka terhadap kotrimoksazol²⁹. Mekanisme lain resistensi *E. coli* terhadap antibiotik golongan quinolon seperti siprofloksasin biasanya disebabkan oleh mutasi target obat yang tersering pada gen DNA gyrase dan topoisomerase IV, dan terdapat mekanisme lain seperti mengurangi permeabilitas membran luar sel bakteri, perlindungan terhadap struktur target dan meningkatkan *efflux pump*²⁹.

Efek antibakteri Fraksi Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*

Hasil penelitian ini fraksi air dan n-heksana tunggal dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. dengan konsentrasi 50% tidak dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak yang kurang dan bakteri yang digunakan telah mengalami resistensi sehingga lebih sulit untuk menghambat pertumbuhannya. Dibuktikan dengan munculnya zona hambat pada

fraksi air dan n-heksana ganda. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Allium sativum* L. maka semakin besar juga zona hambat yang terbentuk³⁰. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Mustamin (2016) konsentrasi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. yang dapat menghasilkan zona hambat pada *E. coli* yaitu pada konsentrasi 80% dan 100%³¹. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini (50%) kurang untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Akan tetapi pada fraksi etil asetat tunggal ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. dengan konsentrasi yang sama didapatkan bentukan zona hambat kategori kuat. Kami menduga senyawa utama antibakteri *Allium sativum* L. dalam hal ini alicin, tertarik dalam fraksi etil asetat. Hal tersebut diperkirakan karena etil asetat sebagai pelarut semi polar dapat menarik senyawa anti bakteri yang bersifat semi polar. Menurut Ilić (2011) alisin termasuk kedalam senyawa semi polar³².

Sedangkan pada fraksi n-heksana dan etil asetat ganda dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. didapatkan bentukan zona hambat yang termasuk dalam kategori kuat. Namun pada fraksi air ganda dari ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. menunjukkan bentukan zona hambat yang sedang. Pengklasifikasian zona hambat dibagi dalam empat kategori dimana zona hambat >20 mm, sangat kuat; 10-20 mm, kuat; 5-10 mm, sedang; dan <5 mm, tidak ada respon³³.

Berdasarkan penelitian penndukung juga terbukti bahwa tween sebagai emulgator fraksi tidak membentuk zona hambat pada *E. coli*, sehingga menambah keyakinan tidak terbentuknya zona hambat akibat pengaruh dari konsentrasi zat aktif *Allium sativum* L. itu sendiri. 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. Sehingga belum bisa dipastikan kebenarannya apakah kadar zat aktif dalam fraksi sangat rendah atau bahkan zat aktif dalam fraksi tersebut sudah tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Efek Kombinasi Kotrimoksazol dengan Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Air Ekstrak Etanol Umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli*

Zona hambat pada kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* memiliki jenis interaksi antagonis. Interaksi antagonis diduga terjadi akibat bakteri yang telah mengalami resistensi serta kandungan yang terdapat pada antibiotik resisten menghambat kerja zat aktif pada herbal. Fraksi etil asetat diduga dapat menarik senyawa triterpenoid³⁴. Triterpenoid bekerja dengan cara bereaksi dengan

porin pada membran luar dinding sel dan membentuk ikatan polimer kuat yang menyebabkan kerusakan pada porin sehingga menurunkan permeabilitas dinding sel, senyawa tidak bisa masuk sehingga mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi¹⁶.

Mekanisme lain dari triterpenoid yaitu berkaitan dengan penghambatan glikolisis, sintesis asam lemak, sintesis asam amino dan di sintesis peptidoglikan²⁰. Dimana kotrimoksazol juga memiliki mekanisme dalam menghambat sintesis asam amino dengan cara menghalangi masuknya molekul PABA dan penghambatan enzim dihidrofolat reduktase secara selektif^{35,36}. Interaksi antagonis tersebut diduga akibat *E. coli* mengalami resistensi dan adanya mutasi gen pada bakteri tersebut sehingga tidak sensitif terhadap kotrimoksazol dan menghalangi zat aktif triterpenoid pada jalur sintesis asam amino.

Hasil zona hambat pada kombinasi kotrimoksazol dengan fraksi n-heksana dan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* menunjukkan jenis interaksi *not distinguishable*. Interaksi *not distinguishable* pada kombinasi fraksi n-heksana dan fraksi air dengan kotrimoksazol diduga diakibatkan oleh *E. coli* yang telah mengalami resistensi, serta kurangnya konsentrasi fraksi n-heksana dan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat pada fraksi n-heksana ganda, sejalan dengan penelitian Mustamin pada tahun 2016 yang menyatakan konsentrasi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. yang dapat menghasilkan zona hambat pada *E. coli* yaitu pada konsentrasi 80% dan 100%³¹.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Keberadaan *E. coli* resisten kotrimoksazol ditemukan pada penelitian ini.
2. Efek fraksi air, etil asetat, n heksana pada dosis ganda dan fraksi tunggal etil asetat dapat menghambat *E. coli* resisten kotrimoksazol.
3. Interaksi antara kotrimoksazol dengan fraksi air ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* bersifat *not distinguishable*
4. Interaksi antara kotrimoksazol dengan fraksi n-heksana ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* bersifat antagonis
5. Interaksi antara kotrimoksazol dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. terhadap *E. coli* bersifat *not distinguishable*

SARAN

Untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini lebih lanjut disarankan agar:

1. Standarisasi bakteri terkait dengan tingkat kekuatan resistensi.

- Melakukan penelitian ulang menilai tingkat resistensi kotrimoksazol dengan menggunakan standar inokulasi mcfarland 0,5.
- Melakukan pengulangan penelitian yang sama di tiga waktu yang berbeda dengan tiga kali pengulangan.
- Menggunakan konsentrasi fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L. yang lebih tinggi.
- Menguji pada kombinasi antar fraksi yang lain.
- Menggunakan fraksi dengan jenis pelarut lain.
- Melakukan uji analisa fitokimia LC-HRMS secara kuantitatif untuk mengetahui kandungan dan konsentrasi senyawa yang ada didalam masing-masing fraksi ekstrak etanol umbi *Allium sativum* L.
- Menguji senyawa tunggal dan menguji antar interaksinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

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

DAFTAR PUSTAKA

- Darmadi, *Infeksi Nosokomial problematika dan Pengendaliannya*, Jakarta: Salemba Medika. 2011.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen A.M. Jawetz, Melnick and Adelbergs, *Mikrobiologi Kedokteran*, Jakarta : Salemba Medika. 2001.
- WHO (World Health Organization), *Penyakit Bawaan Makanan Fokus pendidikan kesehatan*, Jakarta : Penerbit buku kedokteran EGC. 2006.
- Hanny, E. L. L., Mustopa, A. Z., Budiarti, S., Darusman, H. S., Ningrum, R. A., & Fatimah. *Efficacy, toxicity study and antioxidant properties of plantaricin E and F recombinants against enteropathogenic Escherichia coli K1.1 (EPEC K1.1)*. **Molecular Biology**. 2019.
- Sari. P. A., Erly, Arisanty D. *Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Kotrimoksazol Generik dan Paten terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli sebagai Penyebab Infeksi Saluran Kemih secara In Vitro*. **Jurnal Kesehatan Andalas**. 2015; 3(1).
- Kemenkes RI. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*, Jakarta : Kementrian Kesehatan RI 2011. 2011.
- Hwang, J. H., Choi, H., Woo, E. and Lee, D. G. *Antibacterial Effect of Amentoflavone and Its Synergistic Effect with Antibiotics*. **Journal of Microbiology and Biotechnolgy**. 2013; 23: 953–958.
- Shang, A., Cao, S.Y., Xu, X.Y., Gan, R.Y., Tang, G.Y., Corke, H., Mavumengwana, V. and Li, H.B., *Bioactive compounds and biological functions of garlic (Allium sativum L.)*. **Foods**, 2019; 8(7) 246.
- Hovana E.I.K., James U.S., James E., Egbobor E.M., Egba A.G., Eta E.S., et al. *Antibacterial and phytochemical studies of Allium sativum*. **New York Sci. J**. 2011; 4:123–8
- Lingga, M.E., Rustama, M.M. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Air dan Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif yang Diisolasi dari Udang Dogol (*Metapenaeus monoceros*), Udang Lobster (*Panulirus* sp), dan Udang Rebon (*Mysis* dan *Acetes*). **Jurnal Biotika**. 2005; 5(2).
- Muchtaromah, B., Mujahidin, A., Koestanti S. E., Ma'rifatul A. Y., Labone A. V. *Phytochemicals, Antioxidant and Antifungal Properties of Acorus calamus, Curcuma mangga, and Allium sativum in The Veterinary Medicine International Conference 2017*. **KnE Life Sciences**. 2017; 93-104.
- Reiter, J., Hübbers, A. M., Albrecht, F., Leichert, L. I. O., & Slusarenko, A. J. *Allicin, a natural antimicrobial defence substance from garlic, inhibits DNA gyrase activity in bacteria*. **International Journal of Medical Microbiology**. 2019; 151359.
- Londhe VP, Gavasane AT, Nipate SS, Bandawane DD, Chaudhari PD. *Role of garlic (Allium sativum) in various disease: An overview*. **Journal of Pharmaceutical Research and Opinion**. 2011; 1(4):129-134.
- Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke M, Nwachukwu I, Slusarenko A. *Allicin: chemistry and biological properties*. **Molecules**. 2014; 19(8):591-618.
- Pertiwi,Y.U.P., Prajitno, A., Fadjar. M. *Analysis of Metabolit And Antibacterial Control of Mengkudu Leaf Extract (Morinda citrifolia) on the Bacteria of Aeromonas hydrophila*. **Research Journal of Life Science**. 2019. 6(3):172-183.
- Ngajow, M., Abidjulu, J. dan Kamu, V. S. *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus secara In Vitro*. **Jurnal MIPAUnsrat Online**. 2013; 2(2):128-132.
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., Ren, L. *Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism*. **Current Medicinal Chemistry**. 2015; 22(1):132-149.
- Nomer, N.M.G.R., Duniaji, A.S., Nocianitri, K.A. *Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap Vibrio cholerae*. **Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan**. 2019; 8(2) 216-225.
- Park, S.-N., Lim, Y. K., Choi, M.-H., Cho, E., Bang, I. S., Kim, J. M., Kook, J.-K. *Antimicrobial Mechanism of Oleanolic and Ursolic Acids on Streptococcus mutans UA159*. **Current Microbiology**. 2017; 75(1), 11–19.

20. Djarwis, D. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan, Jakarta : Ditjen Dikti Depdiknas*. 2004.
21. Medisusyanti, A.S., Haryoto. *Aktivitas Sitototoksik Fraksi Polar Umbi Bawang Putih (Allium sativum L.) Terhadap Sel T47D*. Surakarta: **University Research Colloquium**; 2018.
22. Putri SD & Purwati. *Antioxidant Activity Test and Flavonoid Levels Test Ethyl Acetate Fraction Tomato Fruit Extract*. **Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal**. 2019; 3(2).
23. Sinulingga S, Subandrat , Safyudin S. *Uji Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Fraksi Etanol Air Benalu Kersen (Dendrophloe petandra (L) Miq)*. **Jurnal Kedokteran dan Kesehatan**. 2020; 16(1): 76-83.
24. 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.
25. 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).
26. 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.
27. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30th ed. CLSI supplement M100. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2017.
28. Eliopoulos, G. M., Huovinen, P. *Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole*. **Clinical Infectious Diseases**. 2001; 32(11): 1608–1614.
29. Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. *Antimicrobial Resistance in Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, 2018; 6(4).
30. Prihandani S. *Uji Daya Antibakteri Bawang Putih (Allium sativum L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium dan Pseudomonas aeruginosa Dalam Meningkatkan Keamanan Pangan*. **Informatika Pertanian**. 2015; 24(1): 53.
31. Mustamin. *Uji Antibakteri Ekstrak Allium sativum Linn Terhadap Pertumbuhan Escherichia Coli Secara In Vitro*. **Mahakam Medical Laboratory Technology Journal**. 2016 ;1(2): 91-100.
32. Ilić, D. P., Nikolić, V. D., Nikolić, L. B., Stanković, M. Z., Stanojević, L. P., Cakić, M. D. *Allicin and related compounds: Biosynthesis, synthesis and pharmacological activity*. **Physics, Chemistry and Technology**. 2011; (9)1:9-20.
33. Davis, W.W., Stout, T.R., *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. **Applied Microbiology**. 1971; 22 (1): 659-665.
34. Balafif, R. A. R, Andayani, Y., dan Gunawan, E. R. *Analisis senyawa triterpenoid dari hasil fraksinasi ekstrak air buah buncis (Phaseolus vulgaris Linn)*. **Chem. Prog**. 2013; 6(2): 56-61.
35. Setiabudy, R. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*, Jakarta : **Badan Penerbit FKUI 2011**. 2011.
36. Katzung, B. G., & Trevor, A. J. *Basic & Clinical Pharmacology 13th Edition*. **USA: McGraw-Hill**. 2015.