

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG
PUTIH DAN BAWANG HITAM TERHADAP BAKTERI
*Pseudomonas aeruginosa***

**ANTIBACTERIAL TEST ACTIVITIES OF GARLIC AND
BLACK GARLIC ON *Pseudomonas aeruginosa*
BACTERIA**

**DEWI PERMATA LESTARI
N11116526**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG
PUTIH DAN BAWANG HITAM TERHADAP BAKTERI
*Pseudomonas aeruginosa***

**ANTIBACTERIAL TEST ACTIVITIES OF GARLIC AND
BLACK GARLIC ON *Pseudomonas aeruginosa*
BACTERIA**

SKRIPSI

Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

DEWI PERMATA LESTARI

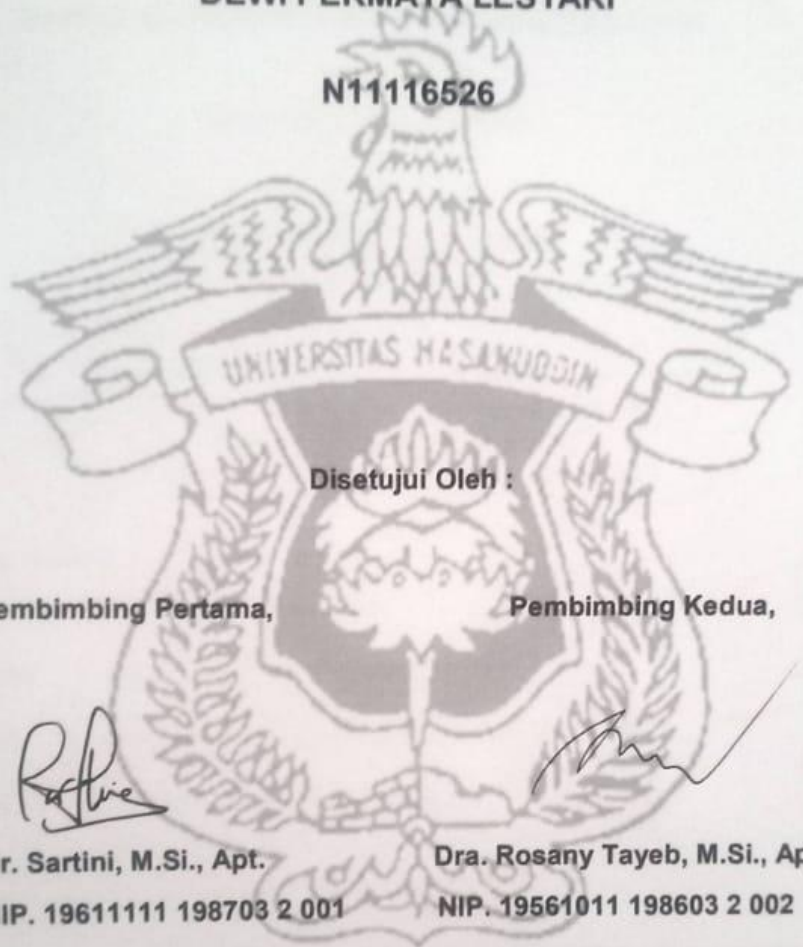
N11116526

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG PUTIH DAN BAWANG
HITAM TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

DEWI PERMATA LESTARI

N11116526



Disetujui Oleh :

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

Dr. Sartini, M.Si., Apt.

NIP. 19611111 198703 2 001

Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.

NIP. 19561011 198603 2 002

Pada tanggal: 08 Juni 2020

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG PUTIH DAN
BAWANG HITAM TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

**ANTIBACTERIAL TEST ACTIVITIES OF GARLIC AND BLACK
GARLIC ON *Pseudomonas aeruginosa* BACTERIA**

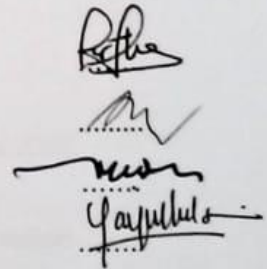
Disusun dan diajukan oleh :

**DEWI PERMATA LESTARI
N11116526**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal, 08 Juni 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

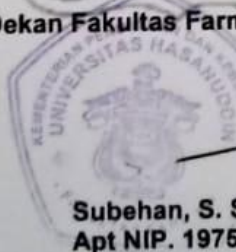
Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dr.Sartini, M.Si., Apt.
2. Sekretaris : Dra.Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
3. Ex officio : Prof.Dr.M.Natsir Djide, MS., Apt.
4. Ex officio : Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm Sci., Apt.



Mengetahui,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



**Subehan, S. Si., M.Pharm. Sc., Ph.D.,
Apt NIP. 19750925 200112 1 002**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 08 Juni 2020

Yang menyatakan



DÉWI PERMATA LESTARI
N1116526

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur kepada Allah swt, karena kehendak dan ridhaNya peneliti dapat menyelesaikan dan merampungkan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di program studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Peneliti sadari skripsi ini tidak akan selesai tanpa doa dan dukungan dari berbagai pihak. Peneliti secara khusus mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu. Peneliti banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak baik yang bersifat moral maupun material. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasehat akademik penulis yang telah memberikan bimbingan, nasehat, aaran selama mengikuti perkuliahan . Dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Ibu Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama atas keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu dan pikirannya untuk memberikan pengarahan, bimbingan, saran, nasehat serta dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Adapun dalam kesempatan ini peneliti ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Subehan, S.Si., M.Pharm., Sc., Ph.D.m Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

2. Bapak Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt. serta Ibu Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm Sci., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saya banyak saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Para laboran disetiap laboratorium farmasi, teruntuk laboran di laboratorium mikrobiologi dan laboratorium fitokimia yang senantiasa mengarahkan, memberikan saran, serta membantu menyediakan beberapa keperluan penelitian.
4. Para teman-teman asisten laboratorium yang senantiasa menemani pada saat mengerjakan penelitian, saling berbagi alat dan bahan penelitian.
5. Sahabat penelitian penulis sekaligus sahabat selama perkuliahan Laila nurhaliza dan israningsih, yang telah membantu penulis dalam mengerjakan penelitian maupun skripsi, dan sahabat penulis azmi dan putri, terima kasih atas segala bantuan, semangat motivasi dan juga terima kasih telah sabar mendengarkan keluh kesah dan tempat curhat penulis selama ini. Serta semua teman-teman NEOST16MINE yang sudah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Terkhusus penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

Yang terhormat Ayahanda H. Ambo Dalle, Ibunda Hj. Indo Asse, dan Nurjannah, S.Kep,Ns. Selaku tante yang telah membesarkan dan mendidik penulis dengan penuh kasih sayang serta senantiasa mendoakan sehingga penulis bisa seperti sekarang, semoga Allah memberikan balasan yang

setimpal. Serta Saudari penulis Anna Moslihat Jamil yang senantiasa membantu dan memberikan semangat kepada penulis.

Penulis menyadari akan segala kekurangan dan keterbatasan penulis sehingga skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan terdapat banyak kesalahan didalamnya sehingga penulis mengharapkan kritikan dan saran yang membangun dari berbagai pihak untuk menciptakan karya yang lebih baik kedepannya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Makassar, 08 juni 2020



Dewi Permata Lestari.

ABSTRAK

DEWI PERMATA LESTARI. Uji aktivitas antibakteri ekstrak bawang putih dan bawang hitam terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (dibimbing oleh Sartini dan Rosany Tayeb).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri. Bawang hitam (bawang putih yang diolah dengan cara pemanasan dengan suhu dan kelembapan yang tinggi), diketahui memiliki kandungan senyawa antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang sering menjadi sumber penginfeksi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanol bawang putih dan ekstrak etanol bawang hitam terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak bawang putih dan bawang hitam diperoleh melalui proses maserasi. Pada pengujian antibakteri menggunakan metode difusi agar dan metode mikrodilusi, diperoleh diameter zona hambat ekstrak bawang hitam pada konsentrasi 4 mg/disc sebesar 7,86 mm, sedangkan pada bawang putih tidak ada zona hambat dan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) bawang putih >20 mg/mL sedangkan bawang hitam 20 mg/mL. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui ekstrak bawang hitam memiliki aktivitas antibakteri lebih besar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan dengan ekstrak bawang putih.

Kata kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, *Allium sativum* L. , antibakteri.

ABSTRACT

DEWI PERMATA LESTARI. Antibacterial test activities of garlic and black garlic on *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. (Guided by Sartini and Rosany Tayeb).

Some research shows that garlic (*Allium sativum* L.) extract contains Allin compounds that function as an antibacterial. Black garlic (Garlic is processed by heating with high temperature and humidity). known to have higher antibacterial compounds compared with garlic. *Pseudomonas aeruginosa* bacteria are gram negative bacteria often the source of the infection. The purpose of this research is to determine the differences in the antibacterial activity of ethanol extract of garlic and ethanol extract of black garlic on the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. Garlic extract and black garlic was obtained by maceration process. In the antibacterial testing using the jelly diffusion method and the microdilution method. obtained the value of diameter of inhibition zone of black garlic extract on the concentration 4 mg/disc is 7,86 mm. meanwhile in garlic no inhibition zone and minimum inhibitory concentration (KHM) of garlic is > 20 mg/mL and black garlic is 20 mg/mL. Based of this research is the black garlic extract has greater antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* compared to the garlic extracts.

Keywords : *Pseudomonas aeruginosa*. *Allium sativum* L. antibacterial.

DAFTAR ISI

Daftar	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I. 1 Latar Belakang	1
I. 2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Peneitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.1.1 Klasifikasi Bawang Putih	4
II.1.2 Morfologi Bawang Putih	5
II.1.3 varietas Bawang Putih	6
II.1.4 Kandungan Senyawa Bawang putih	9

	halaman
II.1.5 Pengolahan Bawang Hitam	10
II.1.6 Kandungan Senyawa Bawang Hitam	11
II.2 Ekstraksi	13
II.3 Uraian Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
II.3.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
II.4 Metode Uji Aktivitas Antibiotik Secara <i>In Vitro</i>	15
II.4.1 Metode Difusi	15
II.4.2 Metode Dilusi	17
BAB III METODE KERJA	19
III.1 Alat Dan Bahan	19
III.2. Penyiapan Sampel	19
III.3. Ekstraksi Sampel	20
III.4 Sterilisasi Alat	20
III.5. Pembuatan Medium	21
III.5.1 Medium <i>Mueller Hilton Agar</i> (MHA)	21
III.5.2 Medium <i>Mueller Hilton Broth</i> (MHB)	21
III.5.1 Medium <i>Nutrient Agar</i> (NA)	21
III.6. Penyiapan Bakteri Uji	22
III.7. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	22
III.8. Penentuan Daya Hambat	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
IV.1 Ekstraksi	25

	halaman
IV.2 Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Bawang putih dan Bawang Hitam	27
IV.3 Hasil Penentuan Daya Hambat	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kandungan bawang putih (<i>Allium Sativum</i> L.)	13
2. Hasil rendemen ekstrak bawang putih dan bawang hitam	25
3. Hasil nilai KHM ekstrak bawang putih dan bawang hitam	27
4. Hasil zona hambat ekstrak bawang putih dan bawang hitam	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Bawang putih tunggal	9
2. Bawang putih yang telah dipanaskan menjadi bawang hitam	11
3. Jalur sintesis senyawa organosulfur bawang putih	12
4. Pewarnaan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
5. Denah pengisian pada setiap sumuran	43
6. Hasil pengamatan setelah penambahan TTC 1% ekstrak bawang hitam	44
7. Hasil pengamatan setelah penambahan TTC 1% ekstrak bawang hitam	44
8. Hasil Pengamatan Penentuan Diameter Hambatan Bawang Putih Dan Bawang Hitam	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja umum	38
2. Skema penyiapan sampel	39
3. Skema penentuan diameter zona hambat ekstrak bawang putih dan bawang hitam	40
4. Skema penentuan KHM bawang putih dan bawang hitam	41
5. Komposisi bahan	42
6. Hasil penentuan nilai KHM bawang putih dan bawang hitam	43
7. Hasil diameter zona hambat bawang hitam dan bawang putih	46
8. Perhitungan persen rendemen ekstrak bawang putih dan bawang hitam	47
9. Perhitungan diameter zona hambat dari ekstrak bawang hitam	48

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang paling sering menjadi sumber penginfeksi di Indonesia sebesar 25,8%. Saat ini tersebar luas di seluruh dunia penyebab infeksi nosokomial disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* (Lutpiatina, 2017). Sebagian besar infeksi nosokomial disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Infeksi yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* akan sulit untuk diterapi, hal ini dikarenakan semakin banyak yang resisten terhadap antibiotik (*multidrug resistance*). Telah banyak ditemukan kasus resistensi *P. aeruginosa* terhadap obat antibiotik kloramfenikol, eritromisin (Putri dan Rahayu, 2012). Menurut penelitian Putra (2015) bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap semua antibiotik yang diujikan yaitu *ceftazidime*, *meropenem*, *cefoperazone-sulbactam*, *imipenem*. Saat ini banyak penelitian menggunakan tanaman obat sebagai antibakteri salah satunya bawang putih.

Bawang putih (*Allium sativum* L.) mengandung berbagai macam zat yang menguntungkan bagi manusia, beberapa zat yang terkandung dalam bawang putih terbukti ampuh mengobati berbagai penyakit dan menjaga kesehatan tubuh seperti antibakteri, antifungi, antikanker, antioksidan, imunomodulasi, dan anti-inflamasi (Prastiwi, *et al.*, 2017). Telah banyak penelitian yang membuktikan bahwa bawang putih mengandung zat

antibakteri yaitu *allicin* (*S-allyl-cysteine sulphoxide*) yang disintesis dari asam amino sistein (Andrian, *et al.*, 2014). *Allicin* pada bawang putih juga dapat dipakai sebagai obat pengganti terhadap bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik dan juga mampu menetralkan toksin yang dihasilkan oleh bakteri (Udayana, *et al.*, 2014). Menurut penelitian Boboyo dan Owoyemi (2004) mengatakan bahwa ekstrak bawang putih memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dengan nilai KHM yaitu 0,134 mg/mL. Aktivitas antibakteri ekstrak bawang putih bersifat spektrum luas yang efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Andrian, *et al.*, 2014).

Di beberapa negara seperti Cina dan Korea Selatan telah banyak mengonsumsi obat herbal dari bawang putih yang telah melalui proses pemanasan menjadi bawang hitam dengan cara mengontrol suhu dan kelembapannya. Bawang hitam tinggi akan *S-allyl cysteine* (SAC) yaitu senyawa berbasis sulfur yang larut dalam air dan mudah untuk dimetabolisme tubuh. SAC merupakan antioksidan yang mampu mengurangi kerusakan sel. Kelebihan dari bawang hitam dibandingkan bawang putih yaitu bawang hitam memiliki kandungan *S-allyl cysteine* (SAC) lima sampai enam kali lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih (Bae, *et al.*, 2014). Menurut penelitian Jang *et al.*, (2018) ekstrak etanol bawang hitam memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

I.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah untuk melihat apakah ada perbedaan aktivitas antibakteri antara ekstrak bawang hitam dan ekstrak bawang putih terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri antara ekstrak bawang hitam dan bawang putih terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman bawang putih sebagai berikut (Tjitrosoepom, 2013) :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Class : Monocotyledoneae
Ordo : Liliales
Familiy : Liliaceae
Genus : *Allium* L.
Spesies : *Allium sativum* Linn.

Bawang putih (*Allium sativum* L.) termasuk dalam familia Liliaceae. Tanaman bawang putih ini memiliki nama yang berbeda di setiap daerah seperti dason putih (Minangkabau), kasuna (Bali), bawang bodas (Sunda), bawang (Jawa Tengah), bhebeng poote (Madura), bawa badudo (Ternate), lasuna mawura (Minahasa), dan bawa fiufer (Irian Jaya). Bawang putih umumnya tumbuh di dataran tinggi, tetapi varietas tertentu mampu tumbuh di dataran rendah. Tanah yang dengan pH netral menjadi media tumbuh yang baik. Suhu yang cocok untuk budidaya di dataran

tinggi berkisar antara 20–25°C dengan curah hujan sekitar 1.200–2.400 mm pertahun, sedangkan suhu untuk dataran rendah berkisar antara 27–30°C (Hernawan dan Setyawan, 2003).

II.1.2 Morfologi Bawang Putih

Bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah tanaman herba semusim berumpun yang mempunyai ketinggian sekitar 30-75 cm. Adapun morfologi dari tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) sebagai berikut:

a. Daun

Berupa helai-helai seperti pita yang memanjang keatas. Jumlah daun yang dimiliki oleh tiap tanaman ini dapat mencapai 7-10 buah. Helaian daun bawang putih memiliki panjang mencapai 30–60 cm dan lebar 1–2,5 cm (Santoso, 2000).

b. Batang

Batangnya merupakan batang semu yang nampak di atas permukaan tanah yang terdiri dari pelepah–pelepah daun (Santoso, 2000).

c. Akar

Terletak dibatang pokok atau pangkal umbi yang berbentuk cakram. System perakarannya akar serabut kecil dengan panjang kurang dari 10 cm. Akar yang tumbuh pada batang pokok bersifat rudimenter, berfungsi sebagai alat penghisap makanan (Santoso, 2000).

d. Siung dan Umbi

Umbi bawang putih berwarna putih terdiri dari 8–20 siung (anak bawang). Antara siung satu dengan yang lainnya dipisahkan oleh kulit tipis, serta membentuk satu kesatuan yang kuat dan rapat. Pelepah daun panjang, merupakan satu kesatuan yang membentuk batang semu (Santoso, 2000).

e. Bunga

Bunga bawang putih berupa bunga majemuk, bertangkai, berbentuk bulat, dan menghasilkan biji untuk keperluan generatif. Ada 6 buah stamen dengan panjang filamen 4–5 mm, bertumpu pada dasar perhiasan bunga. Ovarium superior, tersusun atas 3 ruangan. Buah kecil berbentuk kapsul loculicidal (Hernawan dan Setyawan, 2003).

II.1.3 Varietas Bawang Putih

Bawang putih dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu bawang putih daratan rendah dan bawang putih daratan tinggi. Perbedaan varietas dapat dibedakan berdasarkan pada besar tanaman, produksi, jumlah siung, umur, bentuk, warna, kandungan senyawanya serta umbinya (Samadi, 2000).

Varietas bawang putih yang banyak dibudidayakan di Indonesia dikelompokkan menjadi tiga varietas, yaitu Lumbu Hijau, Lumbu Kuning, dan Lumbu Putih. Lumbu Hijau dan Lumbu Kuning cocok ditanam di dataran tinggi, sedangkan Lumbu Putih lebih cocok ditanam di dataran

rendah. Beberapa varietas kultivar lokal lainnya yang cukup potensial, antara lain Bagor, Jatibarang, Kayu, Kresek, Krisik, Layur, Saigon, Sanur dan masih banyak lagi varietas kultivar lokal yang kemungkinan belum dievaluasi (Hardiyanto, *et al.*, 2007; Sandrakirana, *et al.*, 2018; Hilman, *et al.*, 1997).

Bawang putih tunggal merupakan bawang putih (*Allium sativum* L.) yang hanya terdiri dari satu siung (*single bulb garlic*). Berdasarkan jumlah siungnya, bawang putih dapat dibagi menjadi dua, yaitu bawang putih yang memiliki banyak siung (*multi bulb garlic*) serta hanya memiliki satu siung (*single bulb garlic*). Walaupun sama-sama merupakan bawang putih, namun antara *single bulb garlic* dan *multi bulb garlic* jika dilihat dari karakteristik organoleptiknya, memiliki perbedaan mulai dari warna, rasa, bau dan teksturnya. *Multi bulb garlic* memiliki warna krim yang kekuningan, rasa yang tajam, bau yang khas karena kandungan *alliaceous*, serta tekstur berupa serbuk yang kasar. Sedangkan untuk bawang putih tunggal (*single bulb garlic*) memiliki warna krim kuning keputihan, rasa yang sangat kuat dan tajam, baunya sangat kuat karena kandungan *alliaceous* serta tekstur berupa serbuk kasar (Bharat, *et.al.*, 2014).

Bawang putih tunggal hanya terdiri dari satu siung. Sesungguhnya, bawang putih tunggal ini merupakan bawang putih biasa yang tumbuh di lingkungan yang tak sesuai sehingga bawang ini tak berkembang dengan baik dan hanya berkembang satu siung. Bawang putih tunggal termasuk jenis bawang khusus yang hanya ditemukan di

daerah-daerah tertentu di Indonesia salah satunya pulau Jawa. Bawang putih tunggal pertama kali ditemukan di daerah Sarangan, Magetan, Jawa Timur. Umbi dari tanaman ini hanya terdiri dari satu umbi utuh yang kecil. Hal ini disebabkan karena gagalnya pembentukan tunas utama di tajuk dan menekan pembentukan tunas-tunas bakal siung, daun yang biasanya membungkus siung-siung hanya mampu membungkus umbi utuh, sehingga kulit umbi utuh lebih tebal daripada kulit luar umbi yang bersiung. Bawang putih tunggal memiliki bau yang sangat tajam bila dibandingkan dengan bawang yang lain. Hal ini bisa menjadi salah satu indikator bahwa zat yang terkandung dalam bawang putih tunggal jumlahnya banyak dibandingkan jenis bawang lain (Untari, 2010).

Bawang putih tunggal diketahui memiliki kandungan kimia yang relatif sama dengan bawang putih dalam memberikan manfaat bagi kesehatan, namun dengan kadar yang berbeda. Perbandingan kandungan senyawa aktif dalam 1 siung bawang putih tunggal setara dengan 5-6 siung bawang putih biasa. Kandungan senyawa aktif dalam bawang putih tunggal relatif lebih tinggi dibandingkan bawang putih biasa, karena semua zat aktif berkumpul dalam siung tunggal tersebut. Hal ini menyebabkan bawang putih tunggal dipercaya lebih berkhasiat dibandingkan dengan bawang putih biasa (Kulla, 2016).



Gambar 1. Bawang putih tunggal (Bharat *et al.*, 2014)

II.1.4 Kandungan Senyawa Bawang Putih

Bawang putih mengandung senyawa sulfur, beberapa enzim, asam amino, dan mineral seperti selenium. Bawang putih mengandung senyawa organosulfur (OSC) dengan konsentrasi yang lebih tinggi dari pada spesies *Allium* lainnya. Senyawa belerang bertanggung jawab atas bau tajam bawang putih dan banyak efek obatnya. Bawang putih umumnya mengandung *alliin* (S-allyl cysteine sulfoxide) sebesar 0,25-1,15%, sedangkan bawang putih yang telah dikeringkan dengan metode yang sesuai dapat mengandung *alliin* sebesar 0,7-1,7%. Salah satu senyawa yang paling aktif secara biologis, allicin (dialil tiosulfinat atau dialil disulfida) tidak ada dalam bawang putih sampai dihancurkan atau dipotong; yang kemudian akan mengaktifkan enzim allinase, yang memetabolisme *alliin* menjadi *allicin*. *Allicin* memiliki efek antimikroba terhadap banyak virus, bakteri, jamur, dan parasit serta memiliki aktivitas sebagai anti kanker, antidiabetes, anti hipertensi, antioksidan, kardioprotektif dan peningkatan kekebalan tubuh. Konsentrasi Allicin pada bawang putih bergantung pada

metode pemrosesan. *Allicin* bersifat tidak stabil, dan dapat berubah menjadi senyawa turunan tiosulfinat dengan cepat (Londhe, *et al.*, 2011; Ryu and Kang, 2017; Majewski, 2014).

Unsur-unsur lain yang dapat ditemukan dalam 100 g bawang putih adalah vitamin C - 31 mg, B1 - 0,2 mg, PP, B2, B3, provitamin A dan mineral: 400 mg kalium, 25-28 mg magnesium, 100 mg kalsium dan sejumlah elemen besi, tembaga, nikel, kobalt, kromium, selenium, dan germanium. Meskipun selenium dan germanium hadir dalam jumlah yang sangat sedikit, sangat penting dalam mengurangi pembelahan sel kanker, menghambat pertumbuhannya atau bahkan menghancurkan sel kanker. Minyak bawang putih adalah cairan kekuningan yang tidak larut dalam air dan memiliki bau bawang putih yang kuat (Majewski, 2014).

II.1.5 Pengolahan Bawang Hitam

Bawang hitam merupakan produk olahan dari bawang putih (*Allium sativum* L.) yang dipanaskan pada suhu dan kelembapan tertentu sehingga menjadi hitam. Pemanasan dilakukan selama lebih dari 10 hari tanpa tambahan bahan apapun, proses pemanasan dapat berubah sesuai dengan suhu yang digunakan. Suhu yang digunakan berkisar 40-90°C dengan kelembapan relatif (RH) 60-100%. Pada proses pemanasan terjadi perubahan warna pada bawang putih dikarenakan terjadi reaksi *Maillard* (reaksi pencoklatan non-enzimatik) dan karamelisasi. Reaksi maillard terjadi karena adanya reaksi antara gugus amino protein dengan gugus

karboksil gula pereduksi yang menghasilkan bahan berwarna coklat, sedangkan karamelisasi terjadi karena adanya reaksi antara gula dan panas (Choi, *et al.*, 2014). Sehingga penggunaan suhu dalam pemanasan harus diperhatikan karena dapat mempengaruhi komponen bahan aktif pada bawang putih. (Ji dan Dawon, 2017).

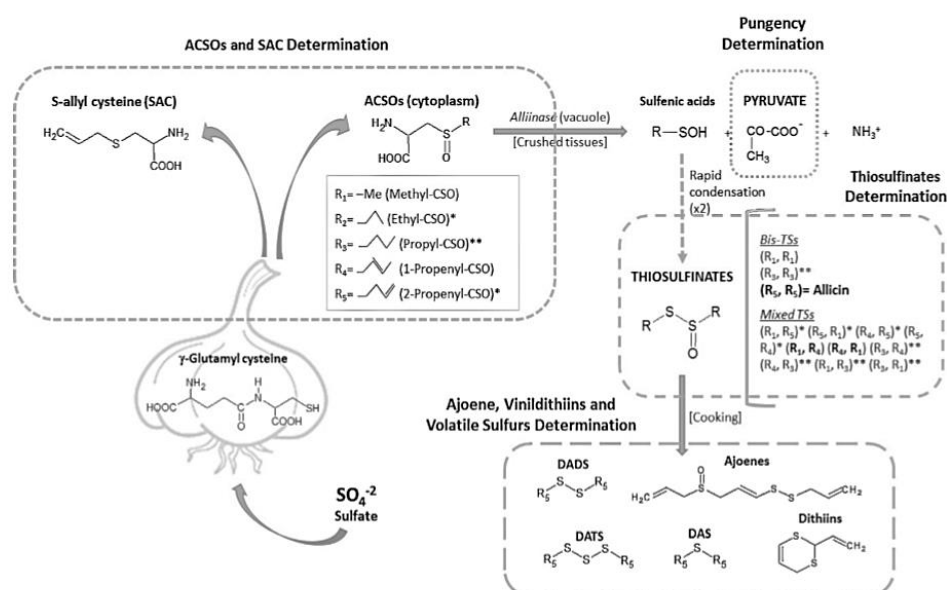


Gambar 2. Bawang putih yang telah dipanaskan menjadi bawang hitam (Tran, 2019)

II.1.6 Kandungan Senyawa Bawang Hitam

Bawang hitam memiliki kandungan sulfur organik jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih biasa. Senyawa sulfur yang terdapat pada bawang putih bertanggung jawab atas bau, rasa dan bentuk. Bawang putih utuh mengandung komponen sulfur utama yaitu *glutami-cysteine*, senyawa ini akan di hidrolisis membentuk *allin*. Ketika umbi bawang putih dihancurkan atau dirajang maka *allin* akan dilepaskan dan berinteraksi dengan enzim *alliinase* membentuk asam aliisulfenat. Hidrolisis dan kondensasi asam aliisulfenat membentuk allicin (dialil thiosulfinat), yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Thiosulfinat (*allicin*), ajoenes, *vinylidithiins* and sulfida (DAS, DADS, dan DATS) merupakan hasil

degradasi senyawa sistein sulfoksida (*alliin*). *Alliin* sendiri merupakan produk yang tidak stabil dan akan mengalami reaksi tambahan untuk membentuk turunan lainnya, tergantung pada kondisi lingkungan dan pemrosesan.



Gambar 3. Jalur sintesis senyawa organosulfur bawang putih (ACSOs: Alk(en)yl cysteine sulfoxides; SAC: S-allylcysteine; DAS: diallyl sulfide; DADS: diallyl disulfide; DATS: diallyl trisulfide) Sumber : (Moulia, *et al.*, 2018)

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Ryu, *et al.*, (2017) diketahui bahwa terdapat perbedaan kandungan senyawa pada bawang hitam memiliki bila dibandingkan dengan bawang putih. Bawang hitam diketahui banyak mengandung senyawa flavonoid, piruvat dan fenol, namun sedikit mengandung senyawa *alliin* jika dibandingkan dengan bawang putih. Jumlah *S-allyl cysteine* (SAC) pada bawang hitam 4 sampai

8 kali lebih besar dibandingkan dengan bawang putih. Kandungan SAC pada bawang putih berkisar 2-2,4 mg/100 g sedangkan pada bawang hitam berkisar 8,5-19,4 mg/100 g. sebaliknya kandungan *allicin* pada bawang hitam lebih kecil jika dibandingkan dengan bawang putih. Perbandingan kandungan fitokimia antara bawang putih dan bawang hitam dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Kandungan fitokimia antara bawang putih dan bawang hitam

Kandungan	Bawang hitam	Bawang putih
Allicin (mg/100g)	20	345-362
Flavonoid (mg/100g)	0,8-1570	0,1-322
Total phenol (mg/100g)	1,6-4835	0,6-1791
SAC (mg/100g)	8,5-19,4	2-2,4

(Sumber : Ryu, *et al.*, 2017).

Senyawa organosulfur yang berpotensi sebagai antibakteri ialah senyawa allyl-thiosulfinate dan derivatnya *Diallyl-disulfide* (DADS), *Diallyl-trisulfide* (DATS) dan lain-lain. Senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, Mekanisme kerja senyawa organosulfur pada bawang yaitu dengan menghambat sintesis DNA, RNA dan protein pada bakteri sehingga mengakibatkan kerusakan morfologi pada bakteri (Ilihc, *et al.*, 2011).

II.2 Ekstraksi

II.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan kandungan senyawa kimia dari bahan alam dengan menggunakan pelarut tertentu. Cara ekstraksi

dapat dilakukan dengan berbagai metode yang sesuai dengan sifat dari bahan alam dan tujuan ekstraksi (Depkes RI, 2000).

Salah satu metode ekstraksi yaitu maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian senyawa kimia secara sederhana yaitu dengan cara merendam simplisia pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut yang sesuai sehingga bahan menjadi lunak dan larut. Penggunaan metode ini bertujuan pada zat-zat yang tidak tahan terhadap pemanasan. Prinsip dari metode ini adalah osmosis dan difusi, dimana adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam dan diluar sel sehingga larutan yang memiliki konsentrasi tinggi akan keluar dari sel (Depkes RI, 2000).

II.3 Uraian Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

II.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*

Berikut klasifikasi bakteri *P. aeruginosa* (Todar, 2011):

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Kelas : Gamma Proteobacteria
 Order : Pseudomonadales
 Family : Pseudomonadaceae
 Genus : Pseudomonas
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 5. Pewarnaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Sumber: Todar, 2011)

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang atau kokus, aerob obligat, bergerak, mempunyai flagel polar. Bakteri

P. aeruginosa dapat tumbuh pada berbagai suhu, dari suhu lingkungan umum 42°C dengan suhu optimal 37°C dan pH 5-9. Sifat biokimianya adalah katalase-positif, indol negatif, fermentasi karbohidrat (glukosa, sukrosa, dan laktosa) negatif, urease negatif (Rehm, 2010; Suyono, 2011).

P. aeruginosa dapat ditemukan dimana-mana seperti di dalam tanah, air, dan flora kulit. Bakteri ini juga dapat ditemukan di tanaman maupun di hewan. Bakteri ini dapat tumbuh tanpa oksigen jika terdapat NO₃ sebagai penerima elektron pernapasan (Soedarto, 2015). *P. aeruginosa* dapat juga ditemukan di saluran pencernaan, tenggorokan, mukosa hidung, kulit ketiak dan daerah perineum. Bakteri *P. aeruginosa* menimbulkan manifestasi klinis mencakup kasus bakterimia, pneumonia, meningitis, infeksi saluran kemih, infeksi luka pasca operasi (Rizki, 2015).

II.4 Metode Uji Aktivitas Antibiotik Secara *In Vitro*

II.4.1 Metode Difusi

Metode difusi didasarkan pada prinsip transfer massa karena pergerakan molekul terjadi dari konsentrasi yang lebih tinggi ke konsentrasi yang lebih rendah. Aktivitas antibakteri dari tanaman yang ditumbuhkan diukur dengan menggunakan beberapa metode yaitu:

1. Metode difusi-disk agar (tes Kirby Bauer)

Metode ini digunakan untuk menguji kerentanan antibakteri dari berbagai tanaman yang berpotensi sebagai obat. Pada metode ini pertama-tama di buat plat agar, kemudian plat agar diinokulasikan dengan bakteri

uji. Setelah itu, cakram disk (diameter 6 mm) yang mengandung senyawa uji ditempatkan diatas permukaan agar. Diinkubasi dengan suhu yang sesuai. Senyawa antibakteri ini akan berdifusi kedalam agar dan membentuk zona hambat dan diikuti dengan penghambatan minimum (MIC). Namun metode ini tidak cocok untuk penentuan MIC karena kuantifikasi senyawa antibakteri yang berdifusi kedalam agar sangat sulit, adapun keuntungan metode ini dengan metode lain yaitu menggunakan prosedur yang sederhana, biaya sedikit, dan bakteri yang digunakan sedikit (Balouiri, *et al.*, 2016).

2. Metode difusi-*well* agar

Metode ini mirip dengan metode cakram disk, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah disebari dengan mikroorganisme dan pada sumur (diameter 6-8 mm) tersebut diberi senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Kemudian diinkubasi pada kondisi pertumbuhan optimal bakteri uji. Percobaan ini dilakukan secara aseptik (Balouiri, *et al.*, 2016).

3. Metode gradien antimikroba (E-test)

Metode gradien antimikroba merupakan gabungan dari prinsip metode dilusi dengan metode difusi untuk menentukan nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) yang didasarkan pada gradien konsentrasi agen antimikroba yang diuji dalam media agar. Metode ini menggunakan strip plastik yang telah berisi zat antibakteri dan kemudian diletakkan pada media agar. Setelah satu jam strip diangkat dan digantikan dengan yang lain yang mengandung obat kedua dan dihitung nilai MIC. Obat dianggap sinergis

ketika nilai MIC dari dua pengenceran menurun dibandingkan dengan antibiotik yang paling aktif diuji sendiri. Dua obat dianggap sinergis jika efek gabungannya lebih dari efek obat individu (Balouiri, *et al.*, 2016).

II.4.2 Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan Teknik yang paling tepat untuk digunakan dalam penentuan nilai MIC karena memberikan hasil yang terkuantifikasi. Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat (Balouiri, *et al.*, 2016).

1. Metode dilusi cair

Metode ini mengukur aktivitas antibakteri (MIC). MIC adalah konsentrasi agen antimikroba terendah sepenuhnya menghambat pertumbuhan organisme dalam tabung atau sumuran mikrodifusi. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba dua kali konsentrasi pengenceran sebelumnya (misalkan 1,2,4,8, dan 16 mg/mL), pada medium cair dengan menggunakan tabung bervolume 2 mL disebut makrodilusi dan volume kecil dengan menggunakan *microplate* 96 disebut mikrodilusi. Tiap lubang *microplate* diinokulasikan mikroba yang telah disetarakan dengan *McFarland* 0,5. Setelah itu dilakukan inkubasi pada kondisi optimal bakteri. Penentuan nilai MIC pada metode mikrodilusi dapat menggunakan alat yang dapat mendeteksi dan mengamati pertumbuhan bakteri tiap *well*. Metode kolorimetrik sering digunakan dalam penentuan nilai akhir MIC antibakteri

dan antifungi dengan menggunakan indikator warna seperti tetrazolium. Metode mikrodilusi telah distandarisasi oleh CLSI untuk pengujian bakteri yang tumbuh aerobik.

2. Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat dengan cara mencampur zat antimikroba pada medium yang masih cair pada konsentrasi yang diinginkan dengan menggunakan pengenceran dua kali lipat. Setelah itu diinokulasikan bakteri uji pada permukaan media agar. Pengukuran dilakukan dengan melihat pada konsentrasi terendah yang menjadi nilai MIC yang menandakan bahwa zat antimikroba dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah diinkubasi pada kondisi optimal tumbuh bakteri uji.

II.4.3 Metode KLT-Bioautografi

Metode ini menggabungkan TLC dengan metode deteksi biologi dan kimia. Metode KLT-Bioautografi terbagi menjadi tiga yaitu: difusi agar, bioautografi langsung, dan agar overlay bioassay. Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode ini dalam pengerjaannya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) (Balouiri, *et al.*, 2016).

BAB III

METODE KERJA

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Biological Safety Cabinet (*1300 series A2[®]*), incubator (*Memmert[®]*), autoklaf (*All American Model 25X-2[®]*), oven (*Ecocell[®]*), Rotary Evaporator (*Heidolph[®]*), sonikator, timbangan analitik (*Sartorius[®]*), mikropipet (*Memmert[®]*), blender (*kirin[®]*), spuit (*OneMed[®]*) dan alat-alat gelas (*pyrex[®]*).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang putih (*Allium sativum* L.), bawang hitam, *Pseudomonas aeruginosa*, etanol 70%, Dimetil Sulfoksida (DMSO), aquadest, *sterilised water for injection* (*Otsu-WI[®]*), reagen 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (*Merck[®]* KGaA, 64271 Darmstadt[®]), medium *Mueller Hinton Agar* (*Merck[®]*) dan medium *Mueller Hilton broth* (*Merck[®]*).

III.2 Penyiapan Sampel

III.2.1 Bawang Putih

Sampel penelitian yang digunakan adalah bawang putih yang diperoleh dari salah satu pasar di daerah Makassar. Bawang putih sebanyak 250 g dikupas kulitnya, selanjutnya dilakukan perajangan, kemudian dikeringkan menggunakan oven simplisia dengan suhu 40°C.

Setelah kering, bawang putih di haluskan menggunakan mesin penghalus. Setelah itu, dilanjutkan ketahap selanjutnya.

III.2.2 Bawang Hitam

Untuk membuat bawang hitam, bawang putih sebanyak 250 g dibungkus dengan menggunakan aluminium foil, kemudian dimasukkan kedalam *rice cooker* dan dibiarkan tanpa mengupas kulitnya. *Rice cooker* ditutup rapat dan diatur mode *keep warm* dan dibiarkan selama 21 hari. Setelah 21 hari. Bawang hitam dikupas kulitnya kemudian dirajang. Setelah itu, di keringkan menggunakan oven simplisia pada suhu 40°C. Setelah kering bawang hitam dihaluskan menggunakan mesin penghalus dan dilanjutkan ketahap selanjutnya.

III.3 Ekstraksi Sampel Bawang Putih dan Bawang Hitam

Ekstrak bawang putih dan bawang hitam dibuat menggunakan metode maserasi dengan modifikasi sonikasi. Sampel bawang putih sebanyak 100 g dan bawang hitam 100 g dimaserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 (10 g serbuk dalam 100 mL etanol), dengan bantuan alat sonikator selama 30 menit. Kemudian didiamkan selama 1x24 jam, setelah itu disaring menggunakan bantuan alat *vacum pump*. Filtrat di kumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator pada suhu 40 °C*

dengan kecepatan 70 rpm. Penguapan sisa pelarut dilanjutkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang kental.

III.4 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih terlebih dahulu, setelah itu dikeringkan dan dibungkus dengan kertas perkamen. Seluruh alat yang tahan panas dan terbuat dari kaca yang akan disterilisasi dalam oven sampai suhu mencapai 170°C selama 2 jam. Alat-alat seperti ose disterilisasi dengan cara dipijarkan dan untuk alat-alat yang berbahan karet, plastik, alat-alat gelas yang mempunyai skala dan bahan yang digunakan seperti medium MHA, medium MHB dan aquades disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.5 Pembuatan Media

III.5.1 Medium *Mueller Hilton Agar (MHA)*

Pembuatan medium Mueller-Hilton sesuai dengan yang disyaratkan yaitu dengan mensuspensikan 3,8 g agar dalam 100 mL, kemudian dipanaskan hingga agar melarut dengan sempurna. Larutan agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, dituang ke dalam cawan petri.

III.5.2 Medium *Mueller Hilton Broth* (MHB)

Pembuatan medium mueller Hilton Broth (MHB) sesuai yang disyaratkan yaitu dengan mensuspensikan 2,1 mg MHB kedalam 100 mL aquadest. Kemudian dipanaskan pada suhu 200°C hingga agar melarut dengan sempurna. Medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.5.3 Medium *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan medium Nutrient Agar (NA) sesuai dengan yang disyaratkan yaitu 2,8 g dalam 100 mL, homogenkan setelah itu dipanaskan hingga melarut dengan sempurna. Larutan agar disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.6 Penentuan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam

III.6.1 Peremajaan Bakteri

Peremajaan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan menggunakan medium Mueller Hilton Agar (MHA). Bakteri diambil 1 ose, kemudian digoreskan pada medium. Setelah itu hasil goresan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

III.6.2 Pembuatan Suspensi Bakteri

Kultur bakteri yang telah diremajakan kemudian didispersikan dengan air steril dan disetarakan dengan standar 0,5 McFarland.

III.6.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan KHM ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) dilakukan dengan menggunakan metode mikrodilusi pada sumuran microplate 48 well. Dibuat larutan stok 200 mg/mL (ditimbang 200 mg/mL ekstrak bawang putih kemudian ditambahkan DMSO 10% hingga batas labu tentukur 5mL), kemudian dibuat pengenceran kelipatan 2 hingga konsentrasi 1,25 mg/mL. Setiap konsentrasi di cuplik sebanyak 50 µL dan dimasukkan kedalam setiap sumuran microplate, setelah itu diencerkan dengan medium MHB 445 µL dan ditambahkan bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* 5 µL (setara 0,5 Mc Farland 10^5 CFU/mL), lalu dihomogenkan. Pada sumuran yang tersisa diisi dengan pengujian control negatif (medium + DMSO), control medium, medium + ekstrak, medium + bakteri. *Microplate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Dilakukan pengamatan dengan cara setiap sumuran ditetesi 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride 5 µL, setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 2 x 15 menit. Kemudian diamati secara visual dengan melihat adanya perubahan warna yang terjadi pada setiap sumuran (berwarna merah). Jika sumuran tidak mengalami perubahan warna menjadi merah maka menandakan bahwa sumuran tidak

menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Nilai KHM dapat dilihat pada konsentrasi terendah dari ekstrak bawang putih.

III.6.4 Penentuan Diameter Zona Hambat

Penentuan diameter daya hambat ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan menggunakan metode difusi. Ekstrak bawang putih dan bawang hitam ditimbang sebanyak 1 g dalam labu tentukur 5 mL dan dilarutkan dengan menggunakan DMSO dengan konsentrasi 10% (100 mg dalam 1 mL DMSO). Setelah itu, dimasukkan medium kedalam tiap-tiap cawan petri sebanyak 10 mL, ditunggu hingga memadat (*base layer*). Dibuat suspensi bakteri 100 μ L dan medium 10 mL dalam botol coklat (*seed layer*), dan dimasukkan kedalam cawan petri, tunggu hingga memadat. Diatas medium diletakkan enam kertas cakram (*blance disk*) yang terdiri dari ekstrak bawang putih (konsentrasi 20% dan 10%), bawang hitam (konsentrasi 20% dan 10%), control negatif (DMSO 10%), dan kontrol positif (amoksisilin) masing-masing sebanyak 20 μ L. Pengerjaan dilakukan secara aseptis di dalam *Biological Safety Cabinet* (BSC). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Pengamatan dilihat dari zona hambat yang terbentuk didaerah sekitas kertas cakram (*blank disk*) yang terlihat jernih. Diameter zona hambat diukur menggunakan alat jangka sorong pada satuan mm.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Ekstraksi

Tabel 2. Hasil perhitungan rendemen ekstrak bawang putih dan bawang hitam

Sampel	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Bawang putih	100	19,29	19,29
Bawang hitam	100	47,44	47,44

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi bawang putih tunggal yang diperoleh dari salah satu pasar di Makassar. Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat atau beberapa dari suatu padatan atau cairan dengan pelarut atau dapat dikatakan dengan memisahkan dua zat berdasarkan perbedaan kelarutan (Depkes RI, 2000). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode sederhana yaitu metode maserasi. Metode ini dipilih karena zat aktif yang terdapat pada simplisia tidak tahan dengan adanya pemanasan bahkan pada suhu ruang (Ilihc, *et al.*, 2011).

Simplisia bawang putih dan bawang hitam diekstraksi masing-masing sebanyak 100 g dengan menggunakan cairan penyari etanol 70%. Pada umumnya cairan penyari yang dapat digunakan untuk ekstraksi senyawa obat ialah air dan etanol (Depkes RI, 1986), adapun keuntungan lain menggunakan pelarut etanol ialah lebih selektif, tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur, tidak beracun, netral dan absorbansinya baik. Dipilih etanol 70% karena memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang

lebar mulai dari senyawa non polar sampai polar (Prastiwi, 2017). Kandungan senyawa yang terdapat pada bawang putih yaitu *Alliin* dan bawang hitam yaitu senyawa organosulfur berupa senyawa hidrofilik dan hidrofobik. Senyawa hidrofilik yaitu *S-allyl cysteine* (SAC), *S-allyl-mercaptocysteine* (SAMC), *S-methyl-cysteine*, dan *-glutami-cysteine*, sedangkan senyawa hidrofobik yaitu *Diallyl-sulfide* (DAS), *Diallyl-disulfide* (DADS), *Diallyl-trisulfide* (DATS), *Allyl-methyl-trisulfide* (Sasaki, *et al.*, 2007; Khorshed, *et al.*, 2016).

Simplisia bawang hitam dan bawang putih di ekstraksi dengan bantuan alat sonikator selama 30 menit yang merupakan modifikasi dari metode maserasi. Metode ekstraksi sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik yang dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dan pelarut meskipun menggunakan suhu ruang. Sonikasi mengandalkan energi gelombang yang menyebabkan proses kavitasi, yaitu proses pembentukan gelembung kecil-kecil yang diakibatkan adanya transmisi gelombang ultrasonik yang membantu difusi pelarut kedalam dinding sel tanaman (Ashley, *et al.*, 2001).

Hasil perhitungan persentase rendemen ekstrak bawang putih dan bawang hitam dapat dilihat pada tabel 2, yaitu bawang putih sebesar 19,29% dan bawang hitam sebesar 47,44%. Pada penelitian Dewangga (2013) yang menggunakan pelarut etanol 96% untuk ekstrak bawang putih diperoleh rendemen sebesar 20,98%. Adapun menurut penelitian Putranti (2019) ekstraksi bawang putih menggunakan pelarut etanol 96% dengan

metode maserasi diperoleh persen rendemen sebesar $8,9 \pm 0,12\%$. Menurut penelitian Nguyen *et al.*, (2017) diperoleh hasil rendemen ekstrak bawang hitam sebesar 56%. Diperoleh hasil rendemen ekstrak bawang hitam lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih dikarenakan bawang hitam mengandung senyawa yang lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih biasa, seperti senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada bawang hitam 4 sampai 8 kali lebih besar dibandingkan dengan bawang putih dan juga dipengaruhi oleh jenis varietas bawang putih yang digunakan. Adapun faktor lain seperti faktor biologi dan kimia. Faktor biologi seperti tempat tumbuh bawang putih, umur tumbuhan, waktu pemanenan, dan bagian tumbuhan yang digunakan. Adapun faktor kimia seperti faktor internal (jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif dan kuantitatif senyawa aktif) dan faktor eksternal (metode eksternal, ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan pada ekstraksi) (Ryu, *et al.*, 2017; Depkes RI, 2000).

IV.2 Hasil Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Bawang Putih dan Bawang Hitam

Tabel 3. Nilai KHM Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam

Sampel	Nilai KHM (mg/mL)
Bawang putih	>20
Bawang hitam	20

Penentuan nilai KHM bawang putih dan bawang hitam dengan menggunakan metode mikrodilusi, metode ini merupakan metode dilusi cair yang dilakukan pada microplate 48 *well* yang berisi 500 μ L setiap *well* nya. Pengamatan pada pengujian ini dapat diamati secara visual dengan menggunakan reagen *2,3,5-trifeniltetrazolium clorida* (TTC). Hasil pengujian antibakteri dapat dilihat dengan adanya perubahan warna merah pada *well* yang ditumbuhi mikroorganisme setelah penambahan reagen TTC (*2,3,5-trifeniltetrazolium clorida*). Digunakan reagen TTC karena bersifat stabil dan mudah larut dalam air. Setiap bakteri memiliki suatu enzim oksidatif (*dehydrogenase activity*/DHA). Oksidasi zat organik oleh mikroorganisme menunjukkan adanya enzim *dehydrogenase*, sehingga aktivitas tersebut dapat menjadi indikator dalam mendeteksi aktivitas mikroorganisme. Reagen TTC sebagai akseptor elektron akan direduksi oleh enzim DHA pada bakteri akan membentuk trifenilformazan berwarna merah (Olga, *et al.*, 2015; Moussa, *et al.*, 2013).

Bedasarkan pada hasil penelitian nilai KHM bawang putih dan bawang hitam dapat dilihat pada tabel 3, menunjukkan nilai KHM ekstrak bawang hitam terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu konsentrasi 20 mg/mL. Sedangkan pada ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 20 mg/mL menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada *well*. Diperoleh hasil demikian dikarenakan terdapat perbedaan kandungan senyawa antara bawang hitam dan bawang putih yang diketahui bawang hitam mengandung senyawa yang lebih banyak dibandingkan bawang

putih.. Selain senyawa antibakteri *S-allyl cysteine* (SAC) pada bawang hitam dan bawang putih, terdapat beberapa senyawa antibakteri lain seperti senyawa flavonoid dan fenol. Menurut penelitian Ryu, *et al.*, (2017) kandungan senyawa flavonoid (mg/100g) pada bawang hitam berkisar 0,8-1570 dan bawang putih berkisar 0,1-322, total phenol (mg/100g) pada bawang hitam berkisar 1,6-4835 dan bawang putih berkisar 0,6-1791. Berdasarkan hasil penelitian Botas, *et al* (2019), menunjukkan nilai KHM ekstrak metanol bawang hitam sebesar 50 mg/mL terhadap pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*. Menurut penelitian Rahaju dan Nurhidayat (2013), nilai KHM ekstrak etanol bawang putih terhadap bakteri *P. aeruginosa* sebesar 50 mg/mL.

Diperoleh hasil nilai KHM yang berbeda-beda dapat disebabkan oleh varietas bawang putih yang digunakan, umur tanaman, suhu pengeringan, serta metode ekstraksi dan cairan penyari yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan kadar senyawa yang terekstraksi sehingga berpengaruh pada senyawa antibakteri .

IV.2 Hasil Penentuan Diameter Hambatan Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam

Berikut merupakan nilai diameter zona hambat antara ekstrak bawang putih dan bawang hitam:

Tabel 4. Nilai diameter hambatan ekstrak bawang putih dan bawang hitam

Replikasi	Diameter rata-rata hambatan (mm)				Amoxicillin (25µg/disc)
	Bawang putih		Bawang hitam		
	20% (4 mg/disc)	10% (2 mg/disc)	20% (4 mg/disc)	10% (2 mg/disc)	
1	-	-	8,11 ± 0,49	-	-
2	-	-	7,29 ± 0,49	-	-
3	-	-	8,18 ± 0,49	-	-
Rata-rata	-	-	7,86	-	-

Penentuan diameter zona hambat ekstrak bawang putih dan bawang hitam digunakan metode difusi agar. Berdasarkan pada hasil penelitian pada tabel 4, menunjukkan nilai diameter hambatan hanya pada ekstrak bawang hitam dengan konsentrasi 20%, sedangkan pada ekstrak bawang putih dan control positif tidak adanya terlihat zona bening pada daerah *paper disc*. Menurut penelitian Johnson (2016), ekstrak air bawang putih pada konsentrasi 500 mg/mL memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *P.aeruginosa* sebesar 25,6±2,4 mm. Kecilnya zona hambat yang diperoleh kemungkinan, bakteri yang digunakan telah resisten, hal ini dapat terlihat pada pemberian *amoxicillin* sebagai control positif tidak memberikan zona hambat. Menurut CLSI (2016), kriteria diameter zona hambat antibiotik *amoxicillin* sensitif terhadap bakteri *P.aeruginosa* jika berdiameter ≥ 18 mm, dan dapat dikatakan resisten jika memiliki diameter zona hambat ≤ 13 mm. bakteri *P.aeruginosa* dengan ATTC27853 yang digunakan sebagai bakteri uji dapat dikatakan bahwa bakteri ini telah resisten terhadap antibiotik *amoxicillin*. Hal ini dikarenakan *amoxicillin* tidak mampu menghambat

pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa*. Resistensi *P. aeruginosa* terhadap antibiotik *amoxicillin* dapat dipengaruhi oleh obat yang tidak mampu mencapai tempat kerjanya didalam sel mikroba, inaktivasi obat dan modifikasi target antibiotik oleh bakteri *P. aeruginosa* (Putri dan Rahayu, 2012).

Adapun faktor lain dikarenakan bakteri gram negatif *P. aeruginosa* memiliki dinding sel dan memiliki kandungan lipid yang tinggi (11-22%) dan struktur dinding selnya berlapis tiga (*multilayer*) yang terdiri atas lipoprotein, membran luar, fosfolipid dan lipopolisakarida, sehingga menyebabkan dinding sel bakteri gram negatif sulit dipenetrasi oleh zat antibakteri. Mekanisme difusi senyawa polar ke bakteri gram negatif yaitu melalui kanal protein membrane luar yang disebut porins, hilangnya atau berkurangnya jumlah porins dapat menyebabkan obat tidak dapat memasuki sel organisme (Silhavy, *et al.*, 2010; Pelczar, 2008; Nikaido, 2003).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

IV.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak bawang hitam lebih besar dibandingkan dengan ekstrak bawang putih terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

IV.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode ekstraksi dan penyari yang berbeda agar didapatkan hasil yang lebih baik, dan perlu dilakukan penelitian mengenai pengukuran senyawa antioksidan pada bawang hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrian, P. A., Rasyid, R. dan Rahmatini (2014) "Artikel Penelitian Perbedaan Sensitivitas Kuman *Pseudomonas Aeruginosa* Penyebab Infeksi Nosokomial Terhadap Beberapa Antibiotika," *Jurnal*, 3(June 2013), hal. 327–331.
- Alam, Md. K., Hoq, Md. O., and Uddin, Md. S. 2016. "Medicinal plant *Allium sativum*. Review," *Journal of Medicinal Plants Studies JMPS*, 72(46), pp. 72–79.
- Ashley, K., Andrews, R.N., Cavazosa, L., Demange, M. 2001. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 16:1147-1153.
- Bae, S. E., Cho, S. Y., Won, Y. D., Lee, S. H., & Park, H. J. (2014). *Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 397–402.
- Boboyo, B., dan Owoyemi, I. D. 2004. Antibacterial Effect and Minimum Inhibitory Concentration of Garlic (*Allium sativum*) Extracts on Some Human Pathogens. *Biosciences, Biotech, Research Asia*, 01(2), pp. 37-40.
- Bharat, P., Dave, A. R., Chandola H. M., Goyal M. R., Shukla V. J., and Khant D. B. 2014. Comparative Analytical Study of Single Bulb and Multi Bulb Garlic (*Allium sativum* Linn.) *International Journal of Ayurveda & Alternative Medicine*. Research Article. University Jamnar, India. 2(4): pp. 89.
- Bennet, J. E., Dolin, R., and Blaser, M. J. 2020. Mandell, Douglas, and Bennett's: Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Elsevier, pp. 236, 251, 253, 261, 263, 264.
- Botas, J., Fernandes, A., Barros, L., Alves, M. J., Carvalho, A. M., and Ferreira, I.C.F.R. 2019. A Comparative Study of Black and White *Allium sativum* L.: Nutritional Composition and Bioactive Properties. *Molecules*. 24. (2194): pp. 1-11.
- Balouri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K. 2016. Method For In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal pharmaceutical analysis* 6: pp. 71 – 79.

- Choi, I. S., Cha, H. S. dan Lee, Y. S. 2014. "Physicochemical and antioxidant properties of black garlic," *Molecules*, 19(10). pp. 16811–16823.
- CLSI. 2016. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Dewangga, L. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Nonpolar Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Pseudomonas Aeruginosa* Serta Bioautografi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Depkes RI. 1986. Sediaan Galenika. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. pp. 4-6.
- Hernawan, U. E. dan Setyawan, A. D. 2003. Review: Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Aktivitas Biologinya. *Biofarmasi*. 1(2): pp. 66.
- Hardiyanto., Devy, N.F, dan Supriyanto, A. 2007. Eksplorasi, Karakterisasi, dan Evaluasi Beberapa Klon Bawang Putih Lokal. *Malang*. 17(4). pp. 307-313.
- Hilman, Y., Hidayat, A., dan Suwandi. 1997. Budidaya Bawang Putih di Dataran Tinggi. Monograf (7), Balitsa. Bandung. ISBN: 979-8304-17-9.
- Ilic, D. P., Nikolic, V. D., Nikolic, L. B., Stankovic, M. Z., Stanojevic, L. P., Cakic, M. D. (2011) "Allicin and related compounds: Biosynthesis, synthesis and pharmacological activity," *Facta universitatis - series: Physics, Chemistry and Technology*, 9(1), pp. 9–20.
- Jang, H. J., Lee, H. J., Yoon, D. K., Ji, D. S., Kim, J. H., Lee, C. H. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of fresh garlic and aged garlic by-products extracted with different solvents. *Food Science and Biotechnology*. The Korean Society of Food Science and Technology, 27(1), pp. 219–225.
- Ji, H. R., and Dawon, K. 2017. Physicochemical Properties, Biological

Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black Garlic: A Review. *J. Molecules*. 22(919). pp. 2 - 6.

- Johnson, M., Olaleye, O. N., and Kolawole, O. S. 2016. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Garlic (*Allium sativum*) Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *British Microbiology Research Journal*. 14(1) : pp. 1-11.
- Kulla, P. D. K. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium Sativum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. SKRIPSI. Pendidikan Biologi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Lutpiatina, L. (2017) "Cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aerogenosa* Pada Stetoskop Dirumah Sakit," *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(2). pp. 61.
- Londhe V.P., Gavasane A.T., Nipate S.S., Bandawane D.D., Chaudari P.D., 2011. *Role of Garlic (Allium sativum) in various diseases: An overview*. *Journal of Pharmaceutical Research and Opinion*. pp. 129-134.
- Mouliya, M. N., Syarief, R., Iriani, E. S., Kusumaningrum, H.S., Suyatma, N. E. (2018) "Antimikroba Ekstrak Bawang Putih," *Antimikroba Ekstrak Bawang Putih Antimicrobial of Garlic Extract*. pp. 55–66.
- Dusica, M. Z., P, Vesna, D., Ljubisa, B. 2014. "Allicin And Related Compounds: Biosynthesis And Pharmacological Activity," *Phys Chem Tech*, pp. 920.
- Moussa, S.H., Tayel, A.A., Al-Hasan, A.A., and Farouk, A. 2013. Tetrazolium/Formazan Test as An Efficient Method to Determine Fungal.
- Majewski, M. 2014. *Allium sativum*: Fact And Myths Regarding Human. Health. *National Institute of Public Health*. 65(1): pp. 1-8.
- Nikaido, H. 2003. Molecular Basis Of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbial biol. Rev.* 67(4): pp. 593-656.
- Olga, P., Petar, K., Jelena, M., dan Srdjan, R. 2015. Screening Method for Detection of Hydrocarbon-oxidizing Bacteria in Oil-contaminated Water and Soil Specimens. *Journal of Microbiological Methods*. 74(2008): pp. 110-113.
- Prastiwi, R. dan All, A. (2017) "Parameter Fisikokimia dan Analisis Kadar

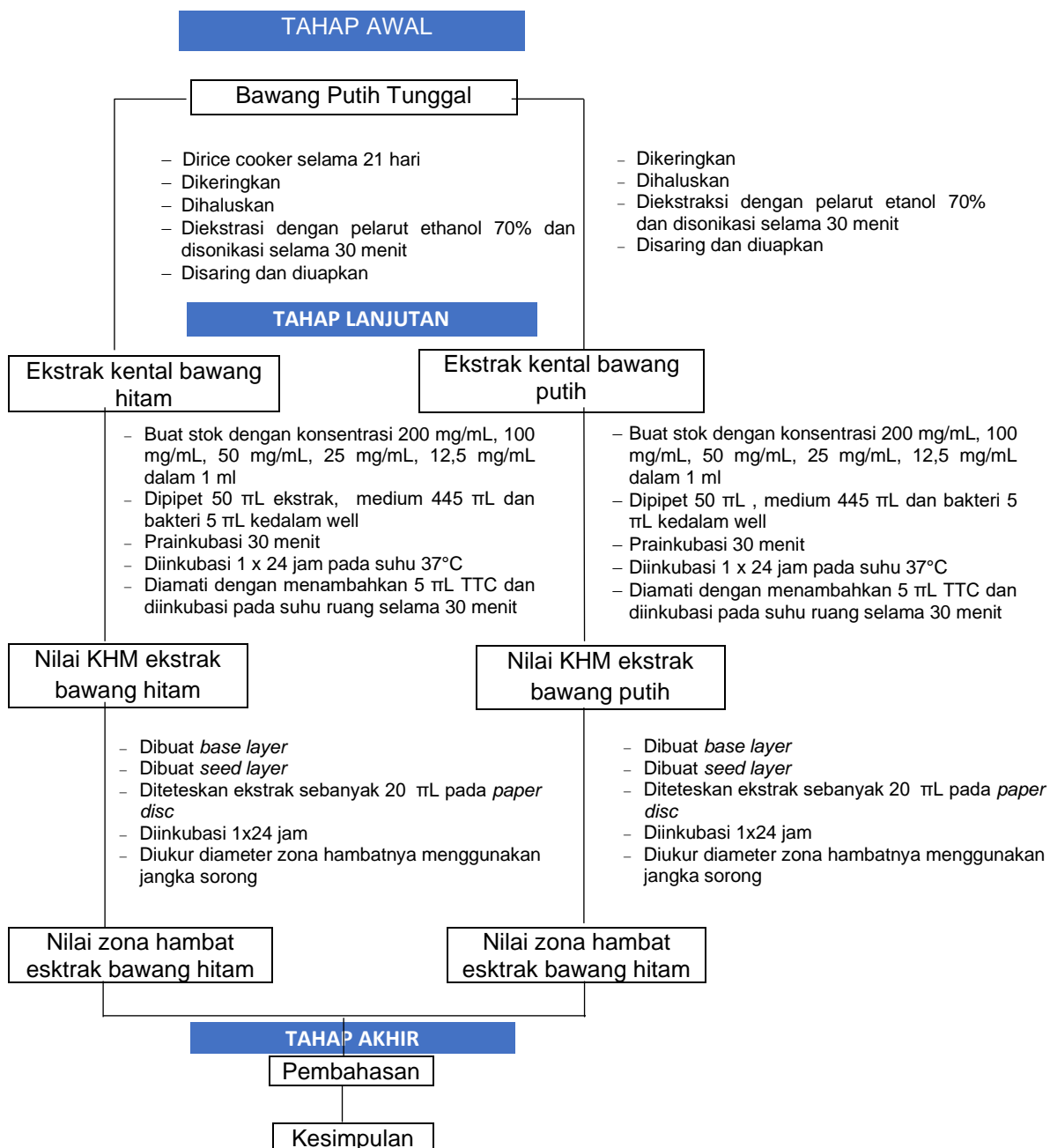
Allyl Disulfide dalam Ekstrak Etanol 70% Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dengan Perbandingan Daerah Tempat Tumbuh,” *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(1), pp. 32–47.

- Putri, D. A. dan Rahayu, T. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Dan Black Garlic Terhadap *Escherichia coli* Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik. *Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya*, 1(1), pp. 390–394.
- Putra, D. P., Kusmiati, T., 2015. Manajemen Pemberian Antibiotik dengan Hasil Uji Kepekaan Resisten. *Jurnal Respirasi*, 1(1), pp. 7-14.
- Putranti, W., Maulana, A., Fatimah, S.F. 2019. Formulasi Emulgel Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(1). pp. 7-15.
- Pelczar, M. J. 2008. Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi 1. Ratna Siti Hadioetoemo, penerjemah. Jakarta:Universitas Indonesia Press. pp. 99-119.
- Rizki, L. P., 2015. Studi Efek Kombinasi Meropenem, Gentamisin, dan Levofloksasin Terhadap Isolat Klinik Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MDR-PA) dengan Metode E-Test. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada.
- Rehm, B. H. A. 2010. Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications. *Nature Reviews, Microbiology*, 8. pp. 578-592.
- Rahaju, Sh. dan Nurhidayat, N. 2013. Daya Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan kajian teknik agronomi ramah lingkungan sebagai bahan baku obat. *UNESA, Surabaya*. pp. 243-237.
- Ryu, J.H., and Kang, D. 2017. Physicochemical Properties, Biological Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black Garlic: A Review. MDPI. *Journal Molecules*. pp. 919.
- Sasaki, J. i., Lu, C., Machiya, E., Tanahashi, M., Hamada, K. 2007. Processed Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance Anti-Tumor Potency against Mouse Tumors. *Global Science Books*, pp. 4–7.
- Suyono, Y., Salahudin, F. (2011) “Identifikasi dan Karakterisasi bakteri *Pseudomonas* pada Tanah yang Terindikasi Terkontaminasi

- Logam," *Biopropal Industri*, 2(1), pp. 8–13.
- Santoso, H.B. 2000. *Bawang Putih*, Edisi ke-12. Penerbit Kanisius: Yogyakarta.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : CV. Sagung Seto.
- Samadi, B. 2000. *Usaha Tani Bawang Putih*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sandrakirana R., Fauzia, L., Alami, E,N., Aisyawati, L., Rahmawati, D., Handayati, W., Susanti I., dan Baswarsiati. 2018. *Panduan Budidaya Bawang Putih*. Kementrian Pertanian, BPTP. Jawa Timur
- Silvany, T.J., D. Kahne and S. Walker. 2010. *The Bacterial Cell Envelope*. Cold Spring Harbour Perspectives in Biology. 2(5): pp. 414.
- Todark. 2011. online textbook of bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> [2 november 2011].
- Tjitrosoepomo, G. 2013. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. pp. 413,414,415.
- Tran, G. B., Pham, T. V., Trinh, N. N. 2019. Black Garlic And Its Therapeutic Benefits. *Industrial University Of Ho Chi Minh*. pp. 1-15.
- Udayana, B. V. 2014. "Pengaruh rempah-rempah dan Lama Penyimpanan Daging Babi terhadap Angka Lempeng Total Bakteri," *Buletin Veteriner Udayana*, 6(1).
- Untari, I. 2010. Bawang Putih Sebagai Obat Paling Mujarab Bagi Kesehatan. *Jurnal Gaster*. Vol. 7 No.1
- Nguyen, N., Mac, G. & Nguyen, T., 2017. Biological Activities of Black Garlic Fermented with *Lactobacillus plantarum* PN05 and Some Kinds of Black Garlic Presenting Inside Vietnam. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(4), pp. 672-678

Lampiran 1

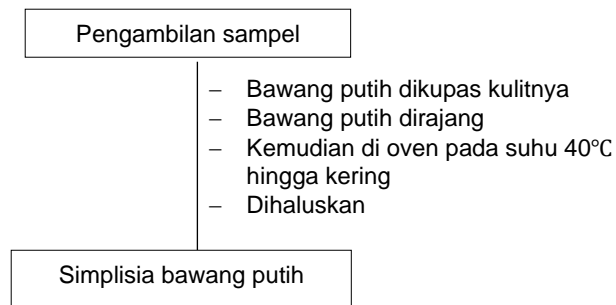
SKEMA KERJA UMUM



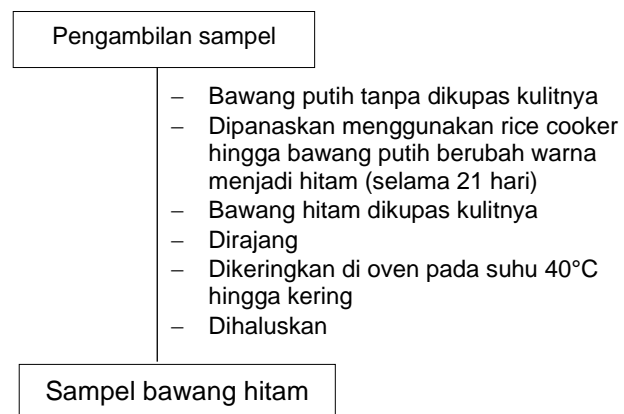
lampiran 2

SKEMA PENYIAPAN SAMPEL

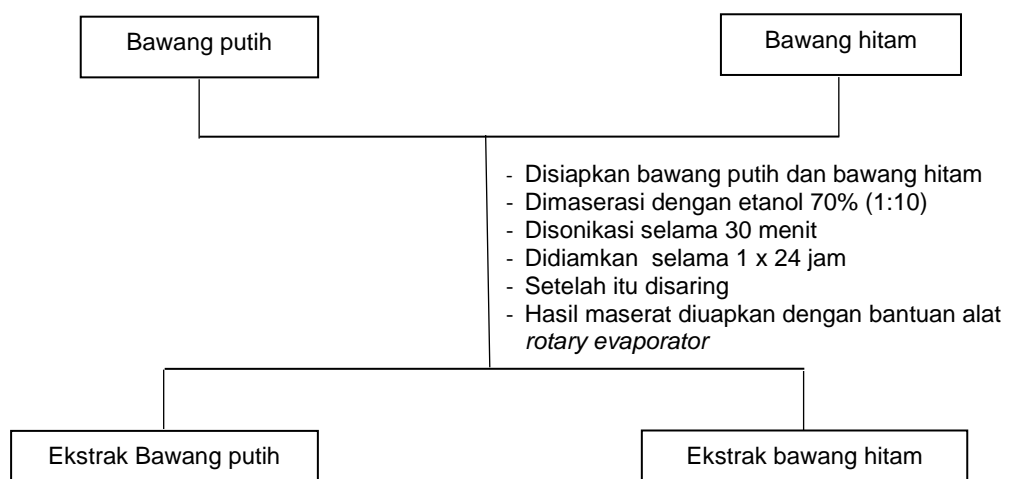
1. Bawang putih



2. Bawang hitam



3. Penyiapan Ekstrak bawang putih dan bawang hitam



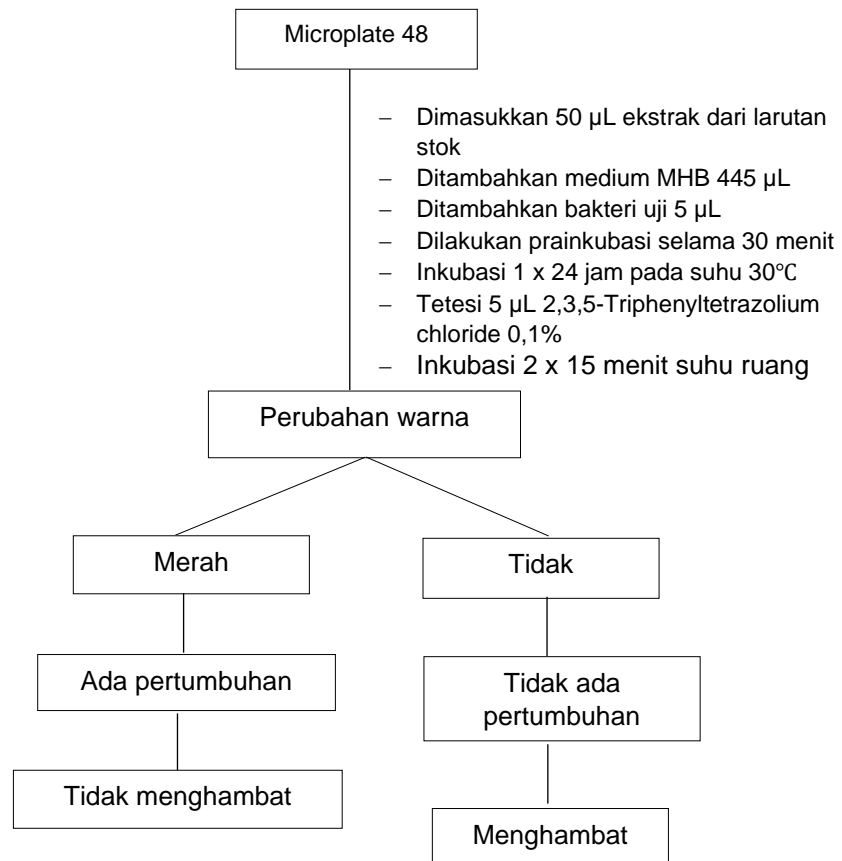
Lampiran 3

SKEMA PENENTUAN DIAMETER ZONA HAMBAT EKSTRAK BAWANG PUTIH DAN BAWANG HITAM



- Masukkan medium MHA steril 10 mL
- Bakteri uji 100 μ L dan media 10 mL
- Masing-masing kertas cakram ditetesi ekstrak dan control sebanyak 20 μ L
- Kertas cakram diletakkan diatas medium
- Prainkubasi selama 30 menit
- Inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam
- Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong

zona hambat

Lampiran 4**SKEMA PENENTUAN KHM EKSTRAK BAWANG PUTIH**

LAMPIRAN 5
KOMPOSISI BAHAN

1. Medium Mueller Hilton Agar (MHA)

Beef ekstrak	2 g
Acid hydrolysate of casein	17,5 g
Starch	1,5 g
Agar	17 g
Aquadest	1 L

2. Medium Mueller Hilton Broth (MHB)

Acid casein pepton	17,5 g
Beef infusion	2 g
Com starch	1,5 g
Aquadest	1L

3. McFarland No. 5

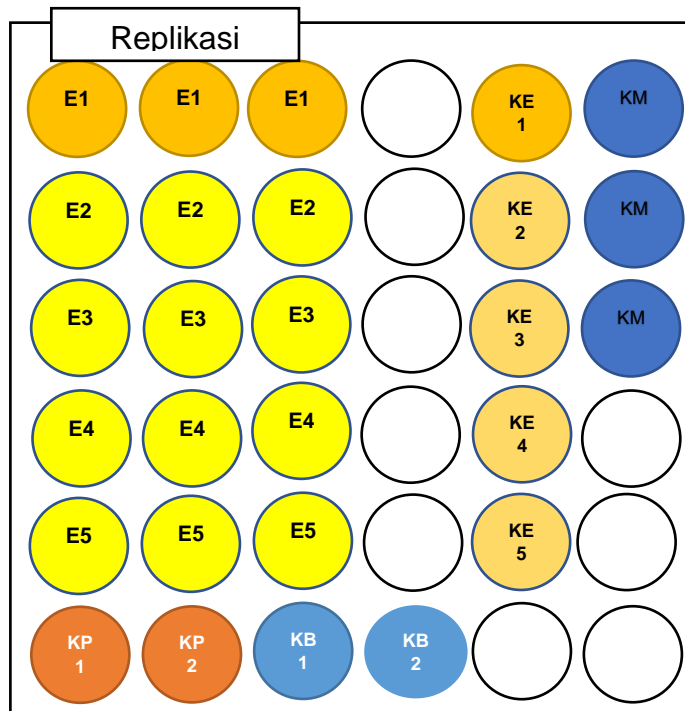
Sulfuric acid 1%	9,5 mL
Barium choride 1%	0,5 mL

4. Nutrient Agart

Pepton	5 g
Yeast ekstrak	2 g
Sodium chloride	5 g
Agar	15 g
Aquadest	1 L

Lampiran 6

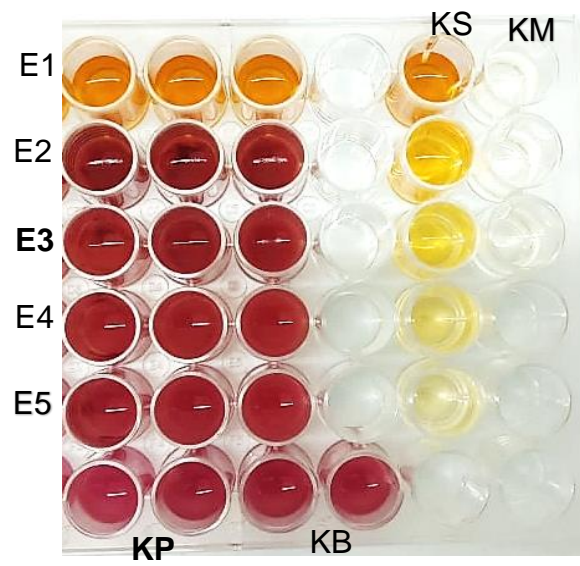
Hasil Penentuan Nilai KHM Ekstrak Bawang putih dan Bawang Hitam



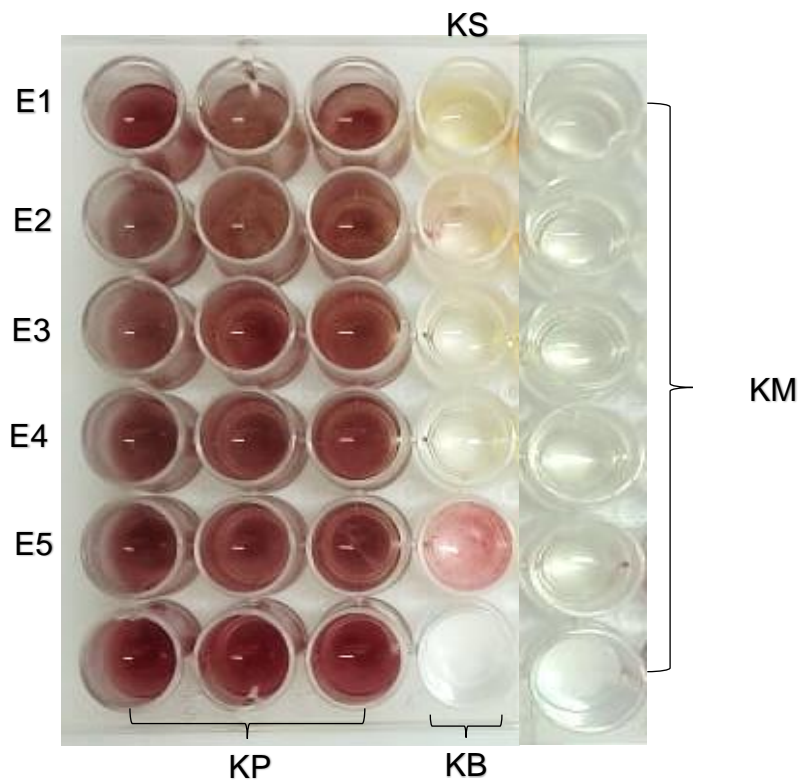
Gambar 5. Denah pengisian pada setiap sumuran

Keterangan:

- E1 = Bawang hitam konsentrasi 20 mg/mL
- E2 = Bawang hitam konsentrasi 10 mg/mL
- E3 = Bawang hitam konsentrasi 5 mg/mL
- E4 = Bawang hitam konsentrasi 2,5 mg/mL
- E5 = Bawang hitam konsentrasi 1,25 mg/mL
- KP = Kontrol pelarut
- KB = Kontrol bakteri
- KS = Kontrol sampel
- KM = Kontrol medium
- KS = Kontrol



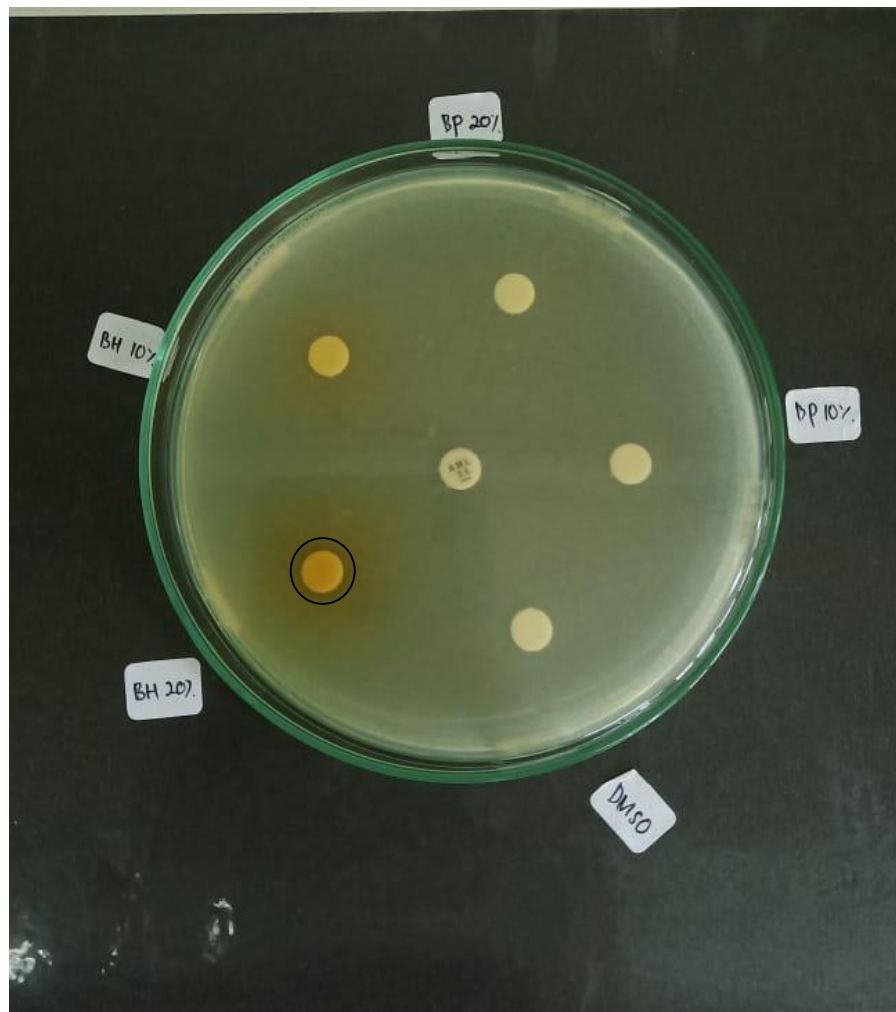
Gambar 6. Hasil pengamatan setelah penambahan TTC 1% ekstrak bawang hitam



Gambar 7. Hasil pengamatan setelah penambahan TTC 1% ekstrak bawang putih

Lampiran 7

Hasil Penentuan Diameter Hambatan Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam



Gambar 8. Hasil Pengamatan Penentuan Diameter Hambatan Bawang Putih Dan Bawang Hitam

Keterangan :

BP 10%	= Bawang Putih 10%
BP 20%	= Bawang Putih 20%
BH 10%	= Bawang Hitam 10%
BH 20%	= Bawang Hitam 20%
DMSO	= Kontrol negatif 10%

Lampiran 8

Perhitungan persen rendemen ekstrak bawang putih dan bawang hitam

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen bawang putih} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{19,29 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 19,29\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen bawang hitam} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{47,44 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 47,44\%\end{aligned}$$

Lampiran 9

Perhitungan diameter rata-rata hambatan dari ekstrak bawang hitam

$$\text{Replikasi 1} = \frac{(7,85 + 8,13 + 8,35)}{3}$$

$$= 8,11$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{(7,43 + 7,07 + 7,37)}{3}$$

$$= 7,29$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{(8,41 + 8,14 + 8)}{3}$$

$$= 8,18$$