

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG MERAH (*Allium x wakegi* Araki.) KULTIVAR LEMBAH PALU, SULAWESI TENGAH**

*ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF SHALLOT EXTRACT (*Allium x wakegi* Araki.) CULTIVAR PALU VALLEY, CENTRAL SULAWESI*

**SITTI RAHMAH SARI**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG MERAH  
(*Allium x wakegi* Araki.) KULTIVAR LEMBAH PALU,  
SULAWESI TENGAH**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Biologi

Disusun dan diajukan oleh

SITTI RAHMAH SARI

H072211001

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

TESIS

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BAWANG MERAH (*ALLIUM X WAKEGI*  
ARAKI) KULTIVAR LEMBAH PALU, SULAWESI TENGAH

SITTI RAHMAH SARI

NIM. H072211001

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Magister Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin

Pada tanggal 27 November 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain, DEA.  
NIP. 19600525 198601 2 001

Pembimbing Pendamping

Dr. Faiqah Umar, S.Si., M.Kes.  
NIP.

Ketua Program Studi  
Magister Biologi

Dr. Juhriah, M.Si.  
NIP. 19631231 198810 2 001

Dekan Fakultas Matematika dan  
Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Amiruddin, M.Si.  
NIP. 19720515 199702 1 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Merah (*Allium x wakegi* Araki.) kultivar Lembah Palu, Sulawesi Tengah adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain. DEA. dan Dr. Faiqah Umar, S.Si., M.Kes. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Iranian Journal Of Microbiology sebagai artikel dengan judul "Antibacterial Activity and GVMS Analysis of Shallot's (*Allium x wakegi* Araki.) Cultivar of Pallu Valley Against *Salmonella typhi*".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.



Makassar, 27 November 2023

Sitti Rahmah Sari  
NIM. H072211001

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah swt. atas limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Merah (*Allium x wakegi* Araki.) kultivar Lembah Palu, Sulawesi Tengah” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains (M.Si) di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Proses penyelesaian tesis ini, merupakan suatu rangkaian perjuangan yang cukup panjang bagi penulis. Selama proses penelitian dan penyusunan tesis ini tidak sedikit kendala yang penulis hadapi, banyak hal serta kendala yang penulis harus lewati. Berkat usaha dan doa yang disertai motivasi, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak akhirnya penelitian dan penyusunan tesis ini dapat diselesaikan oleh penulis. Oleh karena itu, penulis merasa sangat bersyukur dan mengucapkan banyak terima kasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah banyak membantu dalam proses penyelesaian tesis ini. Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar terkhusus kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Aminuddin dan Ibunda Warni Kasim yang senantiasa diberikan dukungan baik moril dan materil serta selalu mendoakan.

Penulis menyampaikan banyak terima kepada Ibu Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain. DEA. dan Dr. Faiqah Umar, S.Si., M.Kes. yang senantiasa meluangkan waktunya memberikan bimbingan, bantuan dan mengarahkan penulis dengan memberikan kritik dan saran juga nasihat selama penulisan tesis ini. Penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari peran dan batuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Dr. Eng. Amiruddin, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta staf pegawainya.
3. Dr. Juhriah, M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

4. Prof. Dr. Fahrudin, M.Si., Dr. Rosana Agus, M.Si., dan Dr. Ambeng, M.Si., selaku dosen penguji yang dengan sabar mengarahkan dan memberi kritik dan saran demi perbaikan tesis ini.
5. Seluruh staf dosen yang telah memberikan ilmu dan memotivasi kepada penulis mulai dari awal perkuliahan hingga saat ini.
6. Teman-teman program magister biologi yang telah berjuang bersama dengan penulis selama perkuliahan hingga saat ini.
7. Kepada semua pihak yang tidak dapat penulis tuliskan namun telah membantu penulis selama proses perkuliahan hingga penyusunan tesis ini. Penulis tidak dapat membalas kebaikan bapak/ibu/saudara sekalian. Dengan penuh rasa hormat penulis mempersembahkan tesis ini dan semoga dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Penulis

Sitti Rahmah Sari  
NIM. H072211001

## ABSTRAK

SITTI RAHMAH SARI. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Merah (*Allium x wakegi* Araki.) Kultivar Lembah Palu, Sulawesi Tengah** (dibimbing oleh, Dirayah Rauf Husain dan Faiqah Umar).

Bawang merah merupakan tanaman hortikultura yang cukup banyak digunakan di Dunia termasuk di Indonesia. Salah satu komoditasnya adalah bawang merah khas kultivar Lembah Palu yang potensinya belum banyak diekspos. Fitokimia yang berasal dari bawang merah memungkinkan menjadi sumber antimikroba alternatif yang efisien karena kurang beracun, murah, dan mudah didapat yang berpotensi mengobati penyakit disebabkan oleh infeksi bakteri. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis secara *in vitro* dan *in silico* aktivitas senyawa bawang merah kultivar Lembah Palu terhadap kultur bakteri *Salmonella typhi* dan *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Sampel ekstrak bawang merah melalui metode fraksinasi, uji antibakteri dengan metode KLT-bioautografi dan difusi agar. Uji GCMS dilakukan untuk melihat kandungan senyawa pada bawang merah. Setelah inkubasi 24 jam hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening. Uji KLT Bioautografi menunjukkan potensi antibakteri lebih efektif terhadap *Salmonella typhi* dengan rata-rata zona hambat 29,44mm dibandingkan MRSA (15,89mm). Uji daya hambat menunjukkan konsentrasi optimum ekstrak kental terhadap *Salmonella typhi* adalah 2% dengan rata-rata diameter zona hambat 28,27mm. *Dodecanoic Acid*, *1,2,3-Propanetriyl Ester* (55,26% pada ekstrak kental), *5-Hydroxymethylfurfural* (62,53% pada fraksi polar), *N-Hexadecanoic Acid* (22,89% pada fraksi semi polar dan 27,1% pada fraksi nonpolar) adalah senyawa-senyawa paling melimpah dalam bawang merah kultivar Lembah Palu berdasar hasil uji GCMS. Uji antibakteri selanjutnya didukung uji *in silico* molekuler docking, disimpulkan bahwa bawang merah memiliki aktivitas antibakteri yang efektif terhadap *Salmonella typhi*, ditandai adanya  $\Delta G^0$  nilai afinitas pengikatan terendah -8,3 kkal/mol pada senyawa *9,19-Cyclolanostan-3-Ol, Acetate, (3.Beta.)*.

Kata Kunci: bawang merah kultivar Lembah Palu, antibakteri, *Salmonella typhi*, MRSA

## ABSTRACT

SITTI RAHMAH SARI. **Antibacterial Activity Test Of Shallot Extract (*Allium x wakegi* Araki.) Cultivar Palu Valley, Central Sulawesi** (supervised by, Dirayah Rauf Husain and Faiqah Umar).

Shallot is a horticultural crop that is quite widely used in the world including in Indonesia. One of the commodities is a typical shallot from Palu Valley whose potential has not been widely exposed. Phytochemicals derived from shallots may be an efficient alternative source of antimicrobials because they are less toxic, cheap, and easily available that have the potential to treat diseases caused by bacterial infections. The purpose of this study was to analyze in vitro and in silico the activity of shallot compounds from Palu Valley against *Salmonella typhi* and *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) bacterial cultures. Onion extract samples through fractionation method, antibacterial test with KLT-bioautography method, and agar diffusion. GCMS test was conducted to see the content of compounds in shallots. After 24 hours of incubation, positive results are indicated by the presence of a clear zone. KLT Bioautography test showed more effective antibacterial potential against *Salmonella typhi* with an average inhibition zone of 29.44mm compared to MRSA (15.89mm). The inhibition test showed that the optimum concentration of viscous extract against *Salmonella typhi* was 2% with an average inhibition zone diameter of 28.27mm. *Dodecanoic Acid*, *1,2,3-Propanetriyl Ester* (55.26% in the thick extract), *5-Hydroxymethylfurfural* (62.53% in the polar fraction), *N-Hexadecanoic Acid* (22.89% in the semi-polar fraction and 27.1% in the nonpolar fraction) are the most abundant compounds in shallots from Palu valley based on GCMS test results. The antibacterial test was further supported by in silico molecular docking test, it was concluded that shallots have effective antibacterial activity against *Salmonella typhi*, characterized by the lowest binding affinity value  $\Delta G^\circ$  -8.3 kcal/mol to the compound 9,19-Cyclolanostan-3-Ol, Acetate, (3.Beta.).

Keywords: Palu valley shallots, antibacterial, *Salmonella typhi*, MRSA

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Umum Bawang merah .....	5
2.1.1 Senyawa Bioaktif Bawang merah .....	8
2.1.2 Aktivitas Antimikroba Senyawa Bawang merah .....	12
2.2 Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	19
2.3 Target dan Mekanisme Kerja Antimikroba .....	20
2.4 <i>Salmonella typhi</i> .....	28
2.5 <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	31
2.6 Metode Ekstraksi.....	35
2.7 Identifikasi Senyawa dengan Kromatografi.....	37
2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	38
2.4.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	41
2.4.3 KLT-Bioautografi .....	41
2.4.4 <i>Gas Chromatography and Mass Spectroscopy</i> (GC-MS) .....	43
2.8 Molekuler Docking.....	45
2.9 Kerangka Pikir.....	48
2.10 Alur Penelitian .....	49
BAB III METODE PENELITIAN.....	50

3.1	Rancangan Penelitian .....	50
3.2	Waktu dan Lokasi Penelitian .....	50
3.3	Bahan dan Alat.....	50
3.4	Populasi dan Sampel.....	51
3.5	Prosedur kerja.....	51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		57
4.1	Hasil Penelitian.....	57
4.1.1	Determinasi Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	57
4.1.2	Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	57
4.1.3	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu .....	58
4.1.4	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	61
4.1.5	Hasil Uji GCMS Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	62
4.1.6	Analisis Molekuler Docking Potensi Antibakteri Bawang Merah Kultivar Lembah Palu .....	69
4.2	Pembahasan .....	72
4.2.1	Determinasi Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	72
4.2.2	Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu .....	73
4.2.3	Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	75
4.2.4	Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu	81
4.2.5	UJI GCMS Senyawa Bawang Merah Kultivar Lembah Palu .....	83
4.2.6	Analisis Molekuler Docking Potensi Antibakteri Bawang Merah Kultivar Lembah Palu .....	85
BAB V PENUTUP .....		91
4.1	Kesimpulan .....	91
4.2	Saran .....	92
DAFTAR PUSTAKA.....		93
LAMPIRAN .....		104

## DAFTAR TABEL

<b>Nomor urut</b>	<b>Halaman</b>
1. Daftar publikasi terkait senyawa pada bawang merah (Setiawan et al., 2021) .....	8
2. Daftar publikasi terkait aktivitas antimikroba pada bawang merah (Teshika et al., 2019).....	12
3. Hasil Ekstraksi Bawang Merah.....	58
4. Hasil KLT Penampak Bercak Ekstrak Awal Bawang Merah .....	58
5. Hasil KLT Penampak Bercak Fraksi Polar Bawang Merah .....	58
6. Hasil KLT Penampak Bercak Fraksi Semi Polar Bawang Merah .....	58
7. Hasil KLT Penampak Bercak Fraksi Non Polar Bawang Merah .....	59
8. Hasil KLT Bioautografi Senyawa Bawang Merah .....	60
9. Uji One Way ANOVA .....	61
10. Uji Analisis Post-Hoc.....	61
11. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kental, Fraksi Polar, Semi Polar dan Nonpolar Senyawa Bawang Merah .....	62
12. Komponen Fitokimia yang teridentifikasi pada Ekstrak Kental Bawang Merah Kultivar Lembah Palu dengan Analisis GCMS .....	62
13. Komponen Fitokimia yang teridentifikasi pada Fraksi Polar Bawang Merah Kultivar Lembah Palu dengan Analisis GCMS .....	64
14. Komponen Fitokimia yang teridentifikasi pada Fraksi Semi Polar Bawang Merah Kultivar Lembah Palu dengan Analisis GCMS .....	65
15. Komponen Fitokimia yang teridentifikasi pada Fraksi Non Polar Bawang Merah Kultivar Lembah Palu dengan Analisis GCMS .....	67
16. Nilai $\Delta G^\circ$ Binding Afinitas Ligan Senyawa Bawang Merah kultivar Lembah Palu dengan Reseptor pada Bakteri.....	70
17. Tabel Visualisasi 3D dan 2D Interaksi Ligan dan Protein Target .....	71

## DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Bawang merah sebelum dan sesudah mekar (Rahayu & Venus Ali, 2004) ...	6
2. Senyawa Bioaktif dan Fungsi Kesehatan Bawang Merah (Zhao et al., 2021)	7
3. S-alk(en)yl-L-sistein-S-oksida pada berbagai Spesies Allium (Cultivar et al., 2011) .....	10
4. Struktur Kimia Organosulfur Utama dan Senyawa Fenolik pada Bawang Merah(Zhao et al., 2021).....	11
5. Struktur Selubung Sel Bakteri (Hauser, 2015).....	21
6. Target Antimikroba (Etebu & Ariekpar, 2016) .....	21
7. Struktur lapisan peptidoglikan pada dinding sel Escherichia coli. Asam amino dalam ikatan silang tetrapeptida mungkin berbeda tiap spesies. NAG, N-Asetil-D-glukosamin NAM, asam N-asetil muramat (Neidhardt & C, 1990)..	23
8. Mekanisme kerja sulfonamid dan trimetoprim serta pengaruhnya terhadap sintesis asam amino esensial dan asam nukleat (Mahon et al., 2018) .....	24
9. Mekanisme Resistensi Antibiotik Staphylococcus aureus (Peacock & Paterson, 2015) .....	33
10. Macam-macam pelarut ekstraksi berdasarkan urutan polaritas (Pandey & Tripathi, 2014).....	36
11. Representasi skema chamber KLT konvensional (tampilan samping) (Cai, 2014) .....	39
12. Sampel Umbi Bawang Merah Asal Palu yang telah Diidentifikasi.....	57
13. Hasil Uji KLT Bioautografi .....	59
14. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kental Senyawa Bawang Merah terhadap <i>Salmonella typhi</i> .....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Nomor urut</b>	<b>Halaman</b>
1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	104
2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Penampak Bercak.....	105
3. Uji Antibakteri Senyawa Ekstrak Bawang Merah.....	111
4. Uji Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GCMS) .....	113
5. Analisis Molekuler Docking Potensi Antibakteri Bawang Merah Kultivar Lembah Palu.....	121

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi adalah penyebab utama kematian secara global. Menurut laporan dari Organisasi Kesehatan Dunia, terdapat tiga penyakit menular yang menempati peringkat 10 besar penyebab kematian pada tahun 2016 yakni infeksi saluran pernapasan bawah (tempat keempat), penyakit diare (tempat kesembilan), dan tuberkulosis (tempat kesepuluh). Mikroorganisme termasuk virus, bakteri, jamur, dan parasit dapat menyebabkan penyakit infeksi. Di antara mikroorganisme menular, bakteri tetap menjadi penyebab utama kematian pada orangtua, anak-anak dan pasien dengan defisiensi imun (Zhang et al., 2020). Bakteri patogen adalah masalah utama dalam kesehatan masyarakat karena tingginya mortalitas dan mordibitas, serta meningkatnya pengeluaran untuk manajemen pasien (Woodford & Livermore, 2009). Di seluruh dunia, terutama pada negara-negara berkembang di Afrika dan Asia Tenggara, infrastruktur kesehatannya belum sempurna, peningkatan morbiditas dan mortalitas terjadi karena infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten antibiotik (Friedman et al., 2016).

*Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Kleibsellla pneumonia*, dan *Streptococcus pneoumoniae* memiliki riwayat patogenisitas yang tinggi dan telah terlibat dalam berbagai infeksi manusia dengan berbagai tingkat keparahan. Meskipun banyak antibiotik telah dikembangkan untuk melawan organisme patogen ini, masalah toksisitas obat dan resistensi antibiotik telah membuat pencarian antibiotik baru terus menerus dilakukan (Price et al., 2017). Untuk mengobati infeksi bakteri, paparan antibiotik spektrum luas berkepanjangan kadang-kadang diperlukan yang dalam banyak kasus menyebabkan peningkatan toksisitas bagi pasien. Hal ini menciptakan kebutuhan yang semakin meningkat akan agen antimikroba alternatif yang kurang beracun, murah, mudah didapat dan efektif yang dapat mengobati penyakit disebabkan oleh bakteri dan agen infeksi lainnya (Wise et al., 2011).

Fitokimia yang berasal dari tanaman pangan memungkinkan menjadi sumber antimikroba alternatif yang efisien. Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki banyak tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan (von Rintelen et al., 2017). Salah satu yang memiliki tingkat

komoditas tinggi dan berpotensi sebagai tanaman obat untuk dikembangkan adalah bawang merah.

Bawang merah merupakan tanaman hortikultura yang banyak digunakan di Indonesia dalam bidang kuliner sebagai bumbu masakan, sayuran maupun produk olahan seperti bawang goreng (Sari et al., 2017). Termasuk dalam genus *Allium*, yakni tumbuhan berbunga monokotil dalam famili Alliaceae (Karuppiyah & Rajaram, 2012). Spesies *Allium* telah dimanfaatkan selama ratusan tahun di seluruh dunia untuk mengatasi berbagai penyakit menular (Shobana et al., 2009). Penggunaan spesies *Allium* untuk tujuan pengobatan dimulai sejak 35 abad yang lalu seperti yang didokumentasikan dalam papirus Mesir kuno: Codex Ebers (Enejiyon et al., 2020). Louis Pasteur sejak tahun 1858 telah menjelaskan tentang efek antibakteri dari bawang merah terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif (Naidu, 2000). Berdasarkan literatur, bawang merah memiliki potensi dalam bidang farmakologis, termasuk antimikroba, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antidiabetes, hipolipidemik, antihipertensi, dan efek imunoprotektif. Studi fitokimia telah dilakukan pada bawang merah dalam beberapa penelitian dan ditemukan banyak sekali senyawa yang bertanggung jawab atas khasiat obatnya yang khas. Di antara kelas fitokimia yakni senyawa fenolik, asam ferulat, asam galat, asam protocatechuic, quercetin, dan kaempferol (Teshika et al., 2019).

Bawang merah (*Allium x wakegi* Araki.) kultivar Lembah Palu, Sulawesi Tengah adalah salah satu komoditas unggulan dan merupakan bahan baku industri pengolahan bawang goreng yang menjadi brand lokal khas Palu. Diketahui penelitian tentang kandungan senyawa dan aktivitas antibakteri yang ada pada bawang merah kultivar Lembah Palu ini belum banyak dilakukan dan diekspos. Maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui dan mempelajari potensi antibakteri senyawa bawang merah kultivar Lembah Palu berdasarkan uji in vitro dan in silico. In vitro adalah prosedur pengujian kandidat obat yang dilakukan pada kultur artifisial seperti sel, jaringan dan organ di dalam laboratorium.. Adapun uji in silico dilakukan untuk mensimulasikan interaksi molekuler serta memprediksi mode pengikatan dan afinitas antara reseptor pada sel bakteri dan ligan senyawa pada bawang merah. Sehingga tujuan penelitian ini difokuskan untuk menganalisis secara in vitro dan in silico aktivitas antibakteri senyawa pada bawang merah kultivar lembah Palu pada kultur bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (gram positif) dan *Salmonella typhi* (gram negatif).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, masalah yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Komponen kimia apa yang bersifat antibakteri yang ada dalam ekstrak kental, fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi nonpolar umbi bawang merah?
2. Apakah senyawa ekstrak kental, fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi nonpolar pada umbi bawang merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Salmonella typhi* ?
3. Bagaimana mekanisme pengikatan ligan senyawa ekstrak umbi bawang merah terhadap reseptor pada bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Salmonella typhi* berdasarkan analisis molekuler docking?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis komponen kimia yang memiliki sifat antibakteri pada ekstrak kental, fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi nonpolar umbi bawang merah.
2. Membuktikan ekstrak kental, fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi nonpolar umbi bawang merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Salmonella typhi* .
3. Menganalisis mekanisme pengikatan ligan senyawa ekstrak umbi bawang merah terhadap reseptor pada bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Salmonella typhi* berdasarkan analisis molekuler docking.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1. Manfaat Akademis

Memberikan informasi baru dalam pengembangan ilmu pengetahuan tentang pengaruh ekstrak umbi bawang merah sebagai antibakteri pada isolat

bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Salmonella typhi* serta mekanisme penghambatannya berdasarkan analisis molekuler docking.

## **2. Manfaat Praktis**

Terbuktinya penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar pengembangan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Salmonella typhi*.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

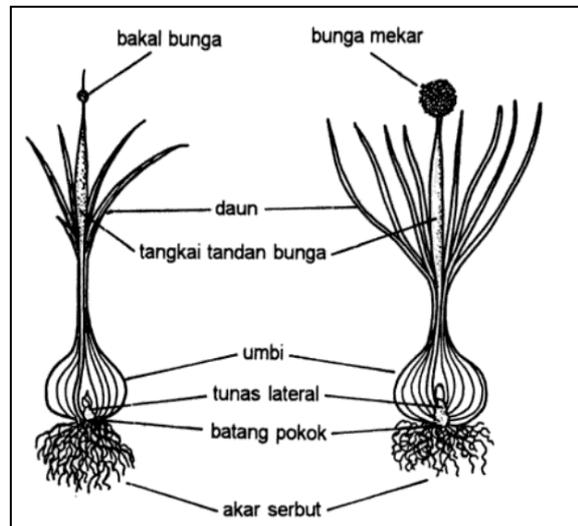
### 2.1 Tinjauan Umum Bawang merah

Spesies *Allium* terutama *Allium cepa* adalah salah satu tanaman terpenting di dunia yang telah lama dianggap sebagai anggota keluarga Liliaceae, tetapi menurut skema taksonomi lebih baru, genus *Allium* termasuk dalam famili Amaryllidaceae, subfamili Allioideae (Bremer et al., 2009). Genus ini merupakan salah satu genus monokotil terbesar karena terdiri dari sekitar 850 spesies (Peruzzi et al., 2017). Kata “bawang merah” berasal dari kata Latin 'unio' yang berarti 'tunggal' atau 'satu' karena tanaman bawang merah hanya menghasilkan umbi tunggal (Teshika et al., 2019).

Bawang merah tersebar hampir di setiap negara, oleh karena itu bawang merah umumnya dikenal dengan banyak nama konvensional atau alternatif lainnya. Di Indonesia bawang merah memiliki nama khas yang berbeda-beda seperti bawang abang mirah (Aceh), bawang beureum (Sunda), babhang merah (Madura), jasun ban atau jasun mirah (Bali), bawang (Gorontalo), lasuna eja (Makassar) dan lasuna cella (Bugis) (Rahayu & Venus Ali, 2004)

*A. cepa* adalah tanaman dua tahunan dengan akar adventif dan berserat. Akarnya serabut pendek sehingga bawang merah tidak tahan terhadap kekeringan. Bawang merah memiliki 3–8 daun bentuk glaucous yang khas yakni bulat kecil dan memanjang seperti pipa, tetapi ada juga yang membentuk setengah lingkaran pada penampang melintang daun. Ujung daun meruncing, sedangkan bawahnya berbentuk lebar dan membengkak. Umbinya terbuat dari pangkal daun berdaging yang membesar dan konsentris. Pangkal daun luar mengering, tipis dan berwarna beragam, membentuk lapisan pelindung, sedangkan pangkal daun bagian dalam menebal ketika umbi berkembang. Umbi matang dapat berbentuk bulat, bulat telur atau memanjang yang ukurannya bervariasi tergantung pada varietasnya. (Marrelli et al., 2019). Ketika pertumbuhan dimulai, fotosintesis yang dihasilkan oleh helaian daun diangkut ke dasar daun. Hal ini menyebabkan inti membengkak yang mengakibatkan terbentuknya bola umbi. Saat umbi matang, sisik luar berkembang menjadi kulit kering dan kedap air, yang membantu mencegah pengeringan. Helaian daun berhenti terbentuk di umbi bagian dalam menghasilkan pseudostem berongga. Bagian umbi ini berisi cadangan makanan

untuk persediaan makanan bagi tunas yang akan menjadi tanaman baru. Saat pelepah daun melemah, batang semu terlepas dari helaian daun dan daun gugur (Teshika et al., 2019)



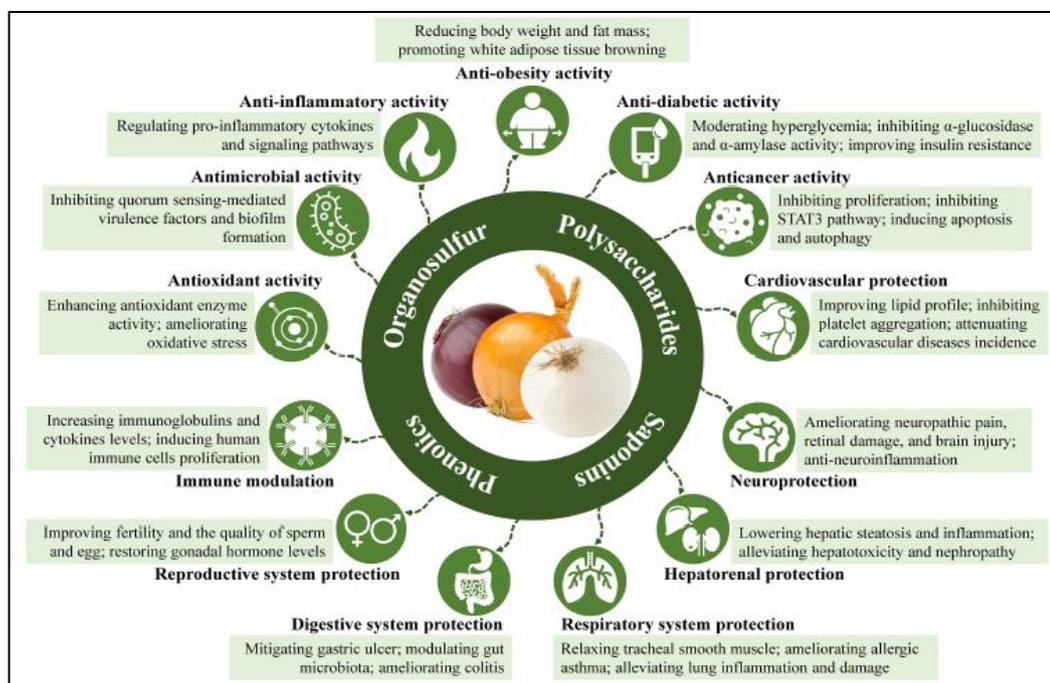
**Gambar 1.** Bawang merah sebelum dan sesudah mekar (Rahayu & Venus Ali, 2004)

Bawang merah adalah tanaman semusim yang berbentuk rerumputan, tumbuh tegak dengan tinggi yang dapat mencapai 15-50 cm dan membentuk rumpun. Daun berwarna hijau. Kelopak luar bawang merah selalu melingkari kelopak bagian dalam. Jika bagian ini dipotong melintang, akan terlihat lapisan berbentuk cincin. Pembengkakan kelopak daun pada pangkalnya lama kelamaan akan terlihat menggebu dan membentuk umbi yang merupakan umbi-lapis (Rahayu & Venus Ali, 2004).

Bagian pangkal umbi membentuk cakram yang merupakan batang pokok yang tidak sempurna (rudimenter). Di bagian tengah cakram terdapat mata tunas utama (inti tunas) yang kelak akan tumbuh bunga. Tunas pada bagian ini di namakan tunas apikal. Dari bagian bawah cakram tumbuh akar-akar serabut. Di bagian atas cakram yakni di antara lapisan daun yang membengkak terdapat mata tunas yang dapat tumbuh menjadi tanaman baru. Tunas ini dinamakan tunas lateral. Di lingkungan dengan kondisi yang sesuai, pada tunas apikal kelak dapat tumbuh bakal bunga (primordia bunga). Tunas-tunas lateral akan membentuk cakram baru yang kemudian dapat membentuk umbi lapis kembali. Dengan cara ini, tanaman bawang merah dapat membentuk rumpun tanaman. Pada setiap umbi dapat dijumpai tunas lateral sebanyak 2-20 tunas. Tunas-tunas tersebut kemudian tumbuh membesar membentuk rumpun tanaman sehingga bila saat panen tiba dapat dihasilkan umbi sejumlah tersebut. Pada daun yang baru bertunas belum terlihat adanya lubang di dalamnya (bagian tengahnya). Setelah daun itu tumbuh

memanjang dan membesar, lubang tersebut terlihat sehingga daun berbentuk seperti pipa (Rahayu & Venus Ali, 2004)

*Allium cepa* telah digunakan secara tradisional untuk dalam pengobatan berbagai penyakit. Esensi *A. cepa* berkembang sejak Yunani kuno sebagai pembersih darah untuk atlet. Selama invasi Roma, gladiator biasa menggosok jus bawang untuk mengencangkan otot. Para pelaut Yunani dan Fenisia mengkonsumsinya untuk mencegah penyakit kudis. Tabib Yunani Hippocrates, biasa meresepkan bawang merah sebagai penyembuh luka, diuretik, dan pneumonia. Dalam tinjauan ini, ditemukan bahwa negara-negara Asia, yaitu, India dan Pakistan termasuk di antara mayoritas yang menggunakan bawang untuk pengobatan berbagai penyakit. Secara keseluruhan, diamati bahwa *A. cepa* paling sering digunakan di negara-negara berkembang. Hal ini mungkin karena kurangnya fasilitas kesehatan dan mudahnya ketersediaan obat tradisional termasuk bawang merah. *A. cepa* juga digunakan dalam berbagai penggunaan internal dan eksternal untuk meringankan beberapa penyakit termasuk masalah pencernaan, penyakit kulit, penyakit metabolisme, gigitan serangga dan lain-lain (Jaradat et al., 2016; Kiliç et al., 2020; J. Sharma et al., 2014; Silambarasan & Ayyanar, 2015)



**Gambar 2.** Senyawa Bioaktif dan Fungsi Kesehatan Bawang Merah (Zhao et al., 2021)

Varietas bawang merah umum dengan tiga warna berbeda, termasuk merah, kuning, dan putih, biasanya tersedia di pasar makanan. Sebagai bahan

makanan, bawang biasanya disajikan sebagai bahan sayuran dalam masakan hangat dengan cara dimasak, seperti memanggang, merebus, merebus, memanggang, menggoreng, memanggang, menumis, atau mengukus. Bawang juga bisa dimakan mentah dalam salad, dibuat menjadi jus, diasamkan dalam cuka, atau digunakan sebagai bumbu. Sebagai obat herbal, bawang merah digunakan untuk meredakan atau mencegah beberapa penyakit umum, seperti aterosklerosis, asma, bronkitis, dan batuk. Manfaat bawang merah untuk kesehatan terutama dikaitkan dengan kandungan bioaktifnya yang beragam, seperti senyawa organosulfur, senyawa fenolik, polisakarida, dan saponin. Baru-baru ini, akumulasi penelitian menunjukkan fungsi kesehatan yang luar biasa dari bawang merah dan senyawa bioaktifnya, termasuk antioksidan, antimikroba, anti-inflamasi, anti-obesitas, anti-diabetes, antikanker, pelindung kardiovaskular, pelindung saraf, pelindung hepatorenal, pelindung pernapasan, pelindung sistem pencernaan, pelindung reproduksi, dan sifat imunomodulator (Gambar 2.) (Zhao et al., 2021).

### 2.1.1 Senyawa Bioaktif Bawang merah

Karakteristik rasa dan sifat biologis dasar pada penggunaan bawang merah terutama dikaitkan dengan senyawa belerang yang ada dalam fraksi volatil bawang merah. Senyawa volatil yang dikeluarkan oleh bawang merah juga menunjukkan aktivitas anti-browning, dengan trisulfida sebagai inhibitor yang lebih baik daripada disulfida (Vazquez-Armenta et al., 2014). Telah dilaporkan bahwa aktivitas antimikroba sulfida dipengaruhi oleh jumlah atom C dari gugus alk(en)il dan atom S. Konsentrasi senyawa belerang yang berbeda dalam profil volatil bawang, menunjukkan pentingnya karakterisasi profil volatil bawang merah dalam berbagai bentuk yang digunakan, karena komposisi senyawa belerang bervariasi di antara berbagai bentuk rasa bawang (Choi et al., 2017; Vazquez-Armenta et al., 2014). Kelas lain dari senyawa volatil yang terdeteksi dalam bawang segar atau yang diolah adalah aldehida (Choi et al., 2017).

**Tabel 1** Daftar publikasi terkait senyawa pada bawang merah (Setiawan et al., 2021)

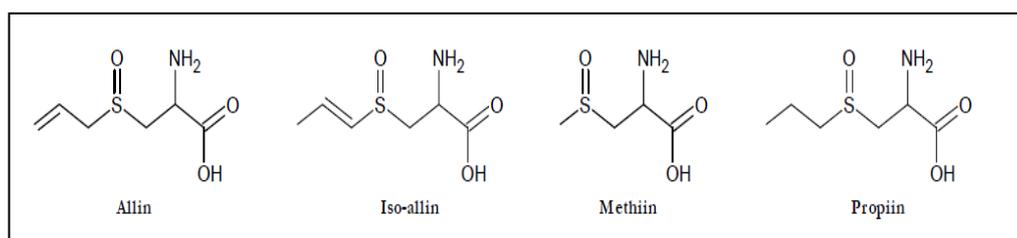
No	Referensi	Hasil
1	Fredotović et al., 2017	Berdasarkan hasil analisis HPLC flavonol dan antosianin, didapatkan kuantifikasi Flavonol yang terdiri dari <i>Quercetin 3,4'-diglucoside</i> , <i>Quercetin 4'-monoglucoside</i> , <i>Myricetin</i> , <i>Quercetin aglycone</i> dan <i>Isorhamnetin</i> . Kemudian didapatkan kuantifikasi antosianin yang terdiri dari <i>Peonidin 3'-glucoside</i> , <i>Petunidin 3'-glucoside acetate</i> , <i>Delphinidin 3'-glucoside</i> , dan <i>Malvidin 3'glucoside</i> .

2	Metrani et al., 2020	Berdasarkan hasil identifikasi flavonoid dan antosianin pada bawang merah secara LC-ESI-QTOF-MS menggunakan mode ionisasi positif didapatkan kandungan fitokimia dari <i>Allium cepa</i> yaitu Flavonoid yang terdiri dari <i>Quercetin-3,7,4'-triglucoside</i> , <i>Quercetin-7,4'-diglucoside</i> , <i>Quercetin-3,4'-diglucoside</i> , <i>Isorhamnetin-3,4'-diglucoside</i> , <i>Quercetin-3-glucoside</i> , <i>Quercetin-4'-glucoside</i> , <i>Isorhamnetin-4'-glucoside</i> , dan <i>Quercetin</i> . Kemudian Antosianin yang terdiri dari <i>Cyanidin-3-glucoside</i> , <i>Cyanidin-3-laminaribioside</i> , <i>Delphinidin-3,5-diglucoside</i> , <i>Cyanidin-3-(6"-malonoylglucoside)</i> , <i>Cyanidin-3-(6"-malonoyl-laminaribioside)</i> , <i>Peonidin-3-malonoylglucoside</i> , <i>Cyanidin-3(malonoyl)-(acetyl)-glucoside</i> .
3	Marrelli et al., 2019	Senyawa fitokimia bawang merah terutama yang berkaitan dengan efek menguntungkan dalam pengobatan obesitas yaitu <i>Quercetin</i> , <i>cycloalliin</i> , <i>S-methyl-L-cysteine</i> , <i>S-propyl-L-cysteine sulfoxide</i> , <i>dimethyl trisulfide</i> , <i>S-methyl-L-cysteine sulfoxide</i> , <i>N-acetylcysteine</i> , <i>alliucide</i> .
4	Ladeska et al., 2020	Berdasarkan hasil skrining fitokimia didapatkan kandungan kimia dari peneliti <i>Allium cepa</i> yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, dan steroid/triterpenoid.
5	Gazuwa et al., 2013	Hasil penelitian menemukan terdapat beberapa senyawa fitokimia di dalam <i>Allium cepa</i> yaitu alkaloid, <i>cardiac glycosides</i> , flavonoid, terpena dan steroid.
6	Boukeria et al., 2016	Berdasarkan hasil analisis fitokimia menunjukkan adanya alkaloid tanin, flavonoid, sterol dan triterpenoid, hadir dalam varietas bawang merah.
7	Shobha et al., 2019	Hasil penyelidikan fitokimia dari <i>Allium cepa</i> terdapat senyawa fenol, saponin, flavonoid, tanin dan karbohidrat seragam hadir di semua ekstrak; ekstraksi etil asetat dan etanol mengandung alkaloid; heksana dan etanol menunjukkan glikosida; dan steroid hanya ada dalam etanol.
8	Liguori et al., 2017	Berdasarkan hasil penelitian didapatkan komponen senyawa phenol dari <i>Allium cepa</i> L yaitu <i>gallic acid</i> , <i>ferulic acid</i> , <i>quercetin</i> , <i>kaempferol</i> , dan <i>chlorogenic acid</i> .
9	Syahrina et al., 2020	Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol kulit bawang merah menemukan kandungan senyawa fitokimia yang terdapat di dalam <i>Allium cepa</i> yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid.
10	Irozuru et al., 2021	Konstituen fitokimia A. cepa, yang dianalisis secara kualitatif kaya akan senyawa fitokimia berikut yaitu flavonoid, tanin, saponin, glikosida jantung, terpena, steroid, dan phlobatannin, dan alkaloid.
11	Galavi et al., 2021	Penelitian ini menemukan bahwa <i>Allium cepa</i> memiliki kandungan flavonoid dan alkenil sistein sulfoksida. <i>Quercetin</i> dan <i>kaempferol</i> sebagai kandungan utama dari flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan.
12	Sofihidayati et al., 2021	Pada penelitian ini dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak kulit bawang merah. Berdasarkan hasil uji fitokimia didapatkan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.
13	Ren et al., 2020	Hasil pengujian pada umbi bawang merah menemukan kandungan antosianin, seperti <i>cyanidin-3-glucoside</i> , <i>cyanidin-3-diglucoside</i> dan <i>peonidin-3-glucoside</i> . Selain itu, juga terdapat flavonol seperti <i>quercetin</i> , <i>kaempferol</i> , <i>kaempferol-4-glucoside</i> dll juga telah ditemukan.

Berdasarkan beberapa studi literatur bawang merah memiliki kandungan flavonoid berupa antosianin, quercetin dan kaempferol. Kandungan antosianin terdiri dari cyanidin-3-(6"-malonoyl-laminaribioside), cyanidin-3-glucoside,

cyanidin-3-laminaribioside, cyanidin-3(malonoyl)-(acetyl)-glucoside, cyanidin-3-(6"-malonoylglucoside), delphinidin-3,5-diglucoside, delphinidin 3'-glucoside, petunidin 3'-glucoside acetate, peonidin 3'-glucoside, peonidin-3-malonoylglucoside, malvidin 3'glucoside dan kaempferol. Sedangkan flavonoid berupa quercetin 3,4'-diglucoside, quercetin-4'-glucoside, quercetin-3-glucoside, quercetin-3,7,4'-triglucoside, quercetin-7,4'-diglucoside, quercetin aglycone, isorhamnetin-4'-glucoside, myricetin, isorhamnetin-3,4'-diglucoside, dan isorhamnetin. Selain antosianin dan flavonoid, pada bawang merah juga terdapat kandungan lain seperti sistein, cycloalliin, alkaloid, saponin, fenol, tanin, steroid, cardiac glycosides, dan triterpenoid (Setiawan et al., 2021).

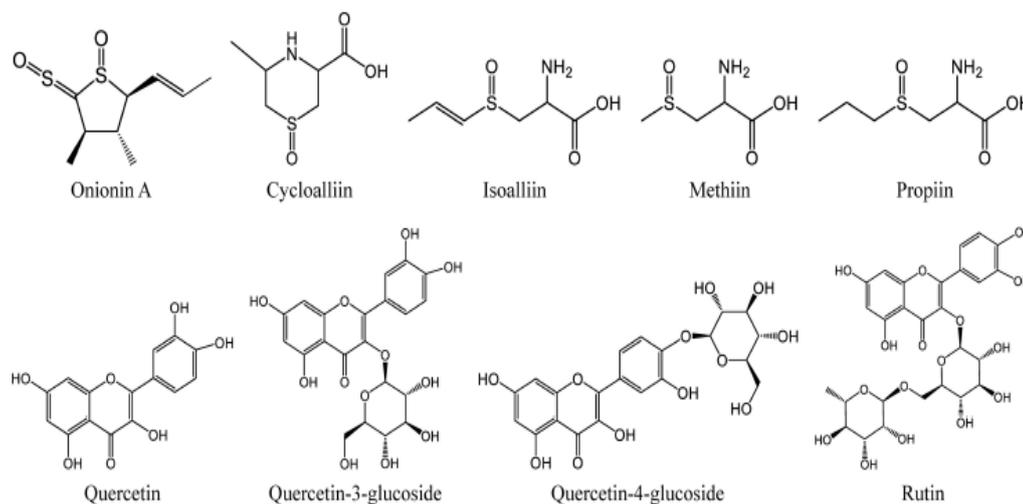
Jenis senyawa belerang yang ditemukan dalam bawang merah dan spesies *Allium* lainnya sangat dipengaruhi oleh sifat prekursor S-alk(en)yl-L-sistein-S-oksida (Gambar 3). Sebagai contoh, pada bawang putih, propiin hampir tidak ada dan alliin merupakan senyawa utama, sedangkan pada bawang merah, alliin terdapat pada konsentrasi yang sangat rendah (Cultivar et al., 2011) dan iso-alliin merupakan metabolit utama. Iso-alliin dan turunannya yang mengandung bagian 1-propenil biasanya terdapat sebagai campuran dari isomer E dan Z. Dalam bawang merah, beberapa turunan iso-alliin juga ditransformasikan menjadi Z-propanethial S-oxide (faktor lachrymatory) dan isomernya E-propanethial S-oxide, cis dan trans-zwiebelene dan *cepaene* (Lanzotti, 2006), yang sebagian besar terkandung dalam bawang segar.



**Gambar 3.** S-alk(en)yl-L-sistein-S-oksida pada berbagai Spesies *Allium* (Cultivar et al., 2011)

Bawang kaya akan berbagai fitokimia dengan fungsional yang bermanfaat, termasuk senyawa organosulfur, senyawa fenolik, polisakarida, dan saponin. Senyawa bioaktif utama bawang merah adalah senyawa yang mengandung belerang, seperti onionin A dan sistein sulfoksida, serta senyawa fenolik, seperti rutin, quercetin, dan quercetin glukosida (Gambar 4.). Kandungan senyawa bioaktif antar varietas bawang merah berbeda. Bawang merah memiliki kandungan antosianin dan flavonol tertinggi, diikuti oleh bawang kuning, tetapi bawang putih mengandung jumlah terendah. Selain itu, senyawa utama bervariasi

dalam lapisan bawang yang berbeda. Quercetin merupakan senyawa utama pada kulit bawang merah, sedangkan quercetin-4-glucoside merupakan senyawa utama pada umbinya (Zhao et al., 2021).



**Gambar 4.** Struktur Kimia Organosulfur Utama dan Senyawa Fenolik pada Bawang Merah (Zhao et al., 2021)

Pengolahan dapat mengubah bioaksesibilitas dan kandungan senyawa bioaktif pada bawang merah. Bioaksesibilitas total flavonol pada bawang merah tidak dipengaruhi oleh proses tekanan tinggi, tetapi matriks bawang merah dapat meningkatkan bioaksesibilitas flavonolnya (Fernández-Jalao et al., 2017). Telah ditemukan bahwa kuersetin aglikon kulit bawang lebih tersedia secara hayati daripada kuersetin dihidrat murni pada manusia (Burak et al., 2017). Kandungan kuersetin tidak berubah secara signifikan dengan menumis (Watanabe et al., 2018), tetapi kandungan dan bioaksesibilitas senyawa fenolik, terutama turunan kuersetin, ditemukan meningkat dengan memasak, seperti memanggang, memanggang, dan menggoreng (Cattivelli et al., 2021). Selain itu, kandungan sistein sulfoksida, termasuk sikloalliin, isoalliin, methiin, dan propiin, berubah secara berbeda dalam bawang merah dengan proses panas, tergantung pada metode memasaknya (S. Kim et al., 2016). Misalnya, kandungannya berkurang selama perebusan, tetapi meningkat selama penggorengan, microwave, dan pengukusan. Selanjutnya, kandungan flavonoid menurun selama pengolahan bawang hitam, sedangkan kandungan isoalliin dan fruktosa meningkat secara signifikan (Moreno-Ortega et al., 2020).

### 2.1.2 Aktivitas Antimikroba Senyawa Bawang merah

Bawang merah telah digambarkan sebagai agen antimikroba ampuh untuk melawan penyakit menular. Banyak bakteri, jamur, dan virus ditemukan rentan terhadap ekstrak pelarut yang berbeda dari bawang merah. Senyawa belerang telah terbukti menjadi agen antimikroba aktif utama yang ada dalam bawang merah. Banyak penelitian (Liguori et al., 2017) telah mempertimbangkan kembali efek senyawa yang mengandung organosulfur terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Bawang merah juga memiliki senyawa fenolik antimikroba lainnya termasuk protocatechuic, p-coumaric, asam ferulat, dan katekol. Quercetin dan kaempferol telah ditemukan sebagai kontributor signifikan untuk kegiatan ini. Efektivitas kaempferol lebih besar daripada quercetin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus*, *L. monocytogenes*, dan *P. aeruginosa* serta sama efektifnya dengan quercetin dalam menghambat pertumbuhan *M. Luteus* dan *S. aureus* (Teshika et al., 2019)

Penelitian mengenai aktivitas antimikroba pada senyawa yang diperoleh dari ekstrak bawang merah telah dilakukan sejak tahun 1858 oleh Louis Pasteur (Naidu, 2000). Berikut adalah beberapa hasil penelitian terbaru yang menunjukkan aktivitas antimikroba pada bawang merah.

**Tabel 2** Daftar publikasi terkait aktivitas antimikroba pada bawang merah (Teshika et al., 2019)

No	Aktifitas Antimikroba	Mikroorganisme	Temuan Utama	Referensi
1.	Ekstrak metanol lapisan dalam dan luar bawang putih dan merah terhadap empat strain bakteri (in vitro)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27852), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25992), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300)	Lapisan luar bawang kaya akan flavanoid dengan kandungan $103 \pm 7.90 \mu\text{g/g DW}$ (varietas merah) dan $17.3 \pm 0.69 \mu\text{g/g DW}$ (varietas putih) memiliki daya hambat pertumbuhan <i>E. coli</i> lebih baik daripada <i>I. verum</i> dan <i>C. Oxyacantha</i> ssp <i>monogyna</i>	(Benmalek et al., 2013)
2.	Khasiat ekstrak CO <sub>2</sub> superkritis minyak esensial bawang terhadap pembusukan makanan dan mikroorganisme bawaan makanan (in vitro)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 21216), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Rhodotorula glutinis</i> (ATCC 16740), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ATCC 9763), <i>Candida tropicalis</i> (ATCC 13801), <i>Aspergillus niger</i> (ATCC 16404), <i>Monascus purpureus</i> (ATCC 36928), dan <i>Aspergillus terreus</i> (ATCC 20542)	Minyak esensial menunjukkan efek penghambatan yang kuat terhadap semua bakteri dan jamur. Menunjukkan efek antimikroba yang tinggi pada <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> dan <i>Monascus purpureus</i> , dengan diameter zona hambat masing-masing 19.3, 15.1, dan 13.2 mm	(Ye et al., 2013)

3.	Ekstrak etanol kental <i>Allium cepa</i> segar terhadap bakteri gram positif, gram negatif dan jamur (in vitro)	Isolat klinis bakteri gram positif: <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> Bakteri gram negatif: <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella typhi</i> dan <i>Klebsiella pneumoniae</i> Jamur: <i>Candida albicans</i>	Kerentanan terhadap ekstrak <i>Allium cepa</i> pada <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> dan <i>C. albicans</i>	(Bahkt <i>et al.</i> , 2013)
4.	Efek bubuk bawang pada mikroflora usus yang dipilih dan histomorfologi usus pada ayam pedaging (320 hari) (in vivo)	Spesies <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	Unggas yang diberi pakan bawang dengan takaran 2,5 g/kg menunjukkan penurunan populasi <i>E. coli</i> di usus sementara itu terdapat peningkatan jumlah <i>Lactobacillus</i>	(Ur Rahmah <i>et al.</i> , 2017)
5.	Pengaruh suplement diet dengan bawang segar terhadap kinerja, sifat dan komposisi mikroflora usus pada ayam broiler (umur 1 tahun) (in vivo)	Isolat <i>Lactobacillus</i> ssp. Dan <i>Escherichia coli</i>	Populasi <i>Lactobacillus</i> ssp. terhadap pemberian suplement diet dan bawang merah segar 30 g/kg pada ayam broiler secara signifikan lebih tinggi dibanding kelompok lain pada usia 42 hari (p,0,05). Jumlah <i>Escherichia coli</i> paling rendah terdeteksi pada ayam broiler yang diberi pakan dengan 15 mg virginiamycin/kg. Jumlah <i>E. coli</i> menurun signifikan pada ayam pedaging yang diberi suplement diet dengan 10 sampai 30 g bawang/kg (p<0.005)	(Goodarzi <i>et al.</i> , 2014)
6.	Biosintesis nanopartikel perak (AgNPs) ekstrak <i>Allium cepa</i> terhadap beberapa mikroorganisme patogen (in vitro)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633), <i>Bacillus subtilis</i> (NCTC 10400), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 14579), <i>Bacillus licheniformis</i> (ABRI16), <i>Bacillus</i> sp. (BSG-PDA-16), <i>Bacillus</i> sp. (DV2-37), <i>Staphylococcus aureus</i> (NCTC 7447), <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 3654), <i>Escherichia coli</i> (NCTC 10418), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 10031), <i>Salmonella typhi rium</i> (NCIMB 9331), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10145), <i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 27973), <i>Serratia marcescens</i> (ATCC 25179), <i>Candida albicans</i> (ATCC 70014)	Semua mikroorganisme dapat dihambat kecuali <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Zona hambat terbesar yang terbentuk terdapat pada <i>Candida albicans</i>	(Gomaa, 2017)
7.	Khasiat minyak esensial dari <i>Allium cepa</i> terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Strains yang diuji memiliki MIC = 93.8 ± 44.2 µL/mL dan MBC = 312.5 ± 265 µL/mL menunjukkan bahwa <i>A. cepa</i> memiliki	

			efek antibakteri sampai batas tertentu	
8.	Khasiat minyak atsiri bawang merah yang di ekstrak secara hidrodistilasi terhadap strain bakteri bawaan makanan (in vitro)	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , dan <i>Salmonella typhi rium</i>	Semua bakteri menghasilkan zona hambat, dengan efek paling besar terlihat pada <i>Staphylococcus aureus</i> (IZD = 6.90 ± 1.26)	Bag dan Chattopad hyay, 2015)
9.	Ekstrak minyak atsiri bawang merah dengan cara hidrodistilasi terhadap dua bakteri gram negatif dan dua bakteri gram positif (in vitro)	Gram positif : <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19115) Gram negatif: <i>Salmonella typhi murium</i> (ATCC 14028), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739), <i>Campylobacter jejuni</i> (ATCC 33291)	Minyak atsiri bawang menghasilkan zona hambat terbesar dengan diameter 15.5 ± 2.1 mm untuk <i>S. aureus</i> dan zona hambat terendah 6 mm pada <i>E. coli</i>	Mnayer et al., 2014)
10	Ekstrak etanol 95% umbi bawang merah terhadap <i>Salmonella typhi</i> isolat dari Nigeria	<i>Salmonella typhi</i>	Ekstrak bawang merah menghambat pertumbuhan <i>S. Typhi</i> dengan MIC = 0.4 g/mL dan diameter zona hambat = 13 mm	(Odikamno ro et al., 2015)
11	Maserasi ekstrak alkohol bawang merah terhadap multiresisten bakteri gram negatif dan gram positif dengan metode difusi sumur agar (in vitro)	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCCBAA 1026), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 33495) dan <i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	Ekstrak bawang (100 µg/mL) memiliki efek penghambata terhadap <i>S. Aureus</i> (IZD = 12 ± 0.707) dan <i>E. coli</i> (IZD = 10.8 ± 0.490)	(Palaksha et al., 2013)
12	Ekstrak etanol 95% <i>Allium cepa</i> terhadap strain bakteri dengan metode difusi sumur agar (in vitro)	Bakteri: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> . Jamur: <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Colletotrichum</i> spp. dan <i>Phythium</i> spp.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> adalah bakteri yang paling sensitif, sementara <i>Pseudomonas aeruginosa</i> yang paling tidak rentan. <i>Fusarium oxysporum</i> lebih rentan dibandingkan <i>Colletotrichum</i> spp. <i>Phythium</i> spp. tidak menunjukkan adanya aktifitas terhadap ekstrak	(Begum dan Yassen, 2015)
13	Maserasi ekstrak metanol 80% bawang merah terhadap strain bakteri standar <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19114	Efek penghambatan positif terlihat dengan MIC 125 µg/mL dan MBC = 500 µg/mL	(Anzabi, 2015)
14	Ekstrak air dan etanol dari 50 umbi bawang merah melawan mikroorganisme patogen (in vitro)	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak tersebut efektif menghambat pertumbuhan kedua bakteri	(Oyebode dan Fajilade, 2014)
15	Pengaruh air mendidih dan pelarut organik	<i>Listeria monocytogenes</i>	Peghambatan lebih efektif dengan ekstrak pelarut organik	(Shakurfow et al., 2016)

	(campuran kloroform, sikloheksana, dan metanol) ekstrak umbi bawang putih pada <i>Listeria monocytogenes</i>		dibandingkan dengan ekstrak air mendidik dan air dingin	
16	Ekstrak air bawang (konsentrasi 50%) terhadap 8 bakteri gram negatif, 5 gram positif dan 1 fungi yang diisolasi dari pasien (in vitro)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus viridans</i> (G+) <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Serratia marcescans</i> dan <i>Salmonella typhi</i> (G-) <i>Candida albicans</i> (fungi)	Ekstrak air bawang menghambat semua mikroorganisme dengan zona hambat paling besar pada bakteri <i>Salmonella typhi</i> (30 mm)	Hamza, 2015)
17	Ekstrak air, etanol, kloroform, dan petroleum eter umbi bawang merah segar terhadap beberapa jamur dengan metode difusi cakram (in vitro)	<i>A.niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. flavus</i>	Ekstrak kloroform bawang merah menunjukk zona tertinggi penghambatan dengan <i>A. niger</i> (IZD = $28 \pm 1.4$ mm) <i>A. fumigatus</i> (IZD = $31 \pm 1.3$ mm) dan <i>C. albicans</i> (IZD = $32 \pm 1.5$ mm) tetapi lebih kecil dari <i>A. flavus</i> (IZD = $24 \pm 1.1$ mm)	(Singh, 2017)
18	Uji waktu bunuh dan antiradikal pada ekstrak etanol (75%) bawang hijau terhadap patogen saluran pencernaan (in vitro)	<i>E. arerogens</i> dan <i>S. pyogenes</i>	100% ekstrak air dari umbi bawang hijau memperlihatkan kemampuan bunuh maksimum dan tingkat pembunuhan sedikit lebih tinggi dari tingkat pembunuhan dengan kontrol positif untuk <i>E. arerogens</i>	Thampi dan Jeyadoss, 2015)
19	Ekstrak air dingin dan ekstrak bawang segar (etanol 70%) pada beberapa bakteri patogen yang terkait dengan infeksi mata (in vitro)	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumonia</i> dan <i>S. pyogenes</i>	<i>S. pyogenes</i> dan <i>S. aureus</i> terhadap ekstrak bawang merah segar dengan zona hambat mulai dari 17 mm pada <i>S. aureus</i> 20 mm pada <i>S. pyogenes</i> , 15 mm pada <i>E. coli</i> dan 8 mm pada <i>S. pneumonia</i>	(Shinkafi dan Dauda, 2013)
20	Ekstrak air dan ekstrak metanol (95%) bawang merah melawan <i>Streptococcus mutans</i> yang diisolasi dari karies gigi manusia (in vitro)	<i>Streptococcus mutans</i> diisolasi dari karies gigi manusia	Ekstrak air bawang merah pada konsentras 50% menunjukan zona hambat sebesar $10,37 \pm 0.65$ pada <i>Streptococcus mutans</i>	(Shukla et al., 2013)
21	Senyawa aktif dari ekstrak metanol	Gram negatif: <i>E. coli</i> Gram positif: <i>S. aureus</i>	Zona hambat tertinggi pada <i>S. aureus</i> adalah	(Sharma et al., 2017)

	bawng merah terhadap bakteri gram negatif dan gram positif (in vitro)		13.5 ± 0.9 mm untuk ekstrak bawang merah sedangkan untuk ekstrak bawang kuning adalah 11.3 ± 0.7 mm	
22	Minyak atsiri bawang merah dengan metode destilasi uap terhadap bakteri patogen pembusuk makanan (in vitro)	<i>Brochothrix thermosphacta</i> (CECT 847), <i>Escherichia coli</i> (CECT 910), <i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 5873), <i>Pseudomonas putida</i> (CECT 7005), <i>Salmonella typhi murium</i> (ATCC 14028) dan <i>Shewanella putrefaciens</i> (CECT 5346)	Zona hambat tertinggi adalah 32 mm pada <i>Shewanella putrefaciens</i>	(Teixeira et al., 2013)
23	Uji ekstrak air dan minyak bawang konsentrasi 50% pada 8 isolat gram negatif, 5 gram positif dan 1 fungi dengan metode difusi cakram	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. viridans</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia marcescans</i> dan <i>Salmonella Candida albicans</i> (fungi)	Zona hambat maksimum bakteri gram positif untuk ekstrak bawang terdapat pada <i>S. pyogenes</i> (25 mm), <i>S. pneumoniae</i> (25 mm) dan minimum pada <i>S. epidermidis</i> (18 mm). Zona hambat maksimum bakteri gram negatif diamati pada <i>Salmonella typhi</i> (30 mm), minimum melawan <i>Proteus mirabilis</i> (18 mm)	(Hamza, 2015)
24	Pengaruh ekstrak bawang merah pada parameter hematologi, hispatologi dan kelangsungan hidup ikan lele <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822) sub dewasa yang terinfeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (in vitro)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ekstrak kloramfenikol bawang mencapai tingkat penghambatan yang sama (19.5 ± 0.5) pada konsentrasi 50% dan 100%. <i>A. cepa</i> ditemukan aktif melawan <i>P. Aeruginosa</i> . Menunjukkan aktivitas antibakteri tinggi terhadap organisme uji (19.04 ± 4.0 mm) serta MIC dan MBC masing-masing 190 mg/mL dan 50 mg/mL	(Oyewusi et al., 2015)
25	Ekstrak minyak atsiri, air dan ekstrak etanol segar bawang merah terhadap tiga patogen dan tiga strain fungi (in vitro)	Bakteri: <i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. aureus</i> dan <i>S. typhimurium</i> Fungi: <i>A. niger</i> , H.U.B., 1, <i>A. ochreocies</i> , H.U.B., 2, dan <i>Fusarium oxysporum</i> , H.U.B., 3	<i>S. typhimurium</i> lebih sensitif terhadap ekstrak air etanol dan minyak esensial bawang <i>E. coli</i> O157:H7, <i>S. aureus</i> , <i>A. niger</i> , H.U.B., 1, <i>A. ochreocies</i> , H.U.B., 2, dan <i>Fusarium oxysporum</i> , H.U.B., 3 memiliki zona penghambatan 7, 9, dan 10 mm untuk ekstrak air pada konsentrasi (20, 40 dan 60 mg/mL) masing-masing	(Abdel-Salam et al., 2014)

Beberapa penelitian menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak *A. cepa* varietas merah ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan varietas kuning dan putih (K. Sharma et al., 2018). Dalam studi (Ziarlarimi et al., 2011) menemukan bahwa ekstrak air bawang merah tidak menunjukkan efek apapun terhadap *E. coli*

dan ini menguatkan penelitian (Gerard & Celia, 2011) di mana ekstrak heksana dan etanol juga tidak efektif. Hasil serupa oleh (Ponce et al., 2003) yang mempelajari aktivitas antimikroba ekstrak tumbuhan alami, melaporkan bahwa oleoresin bawang merah tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *L. monocytogenes* dalam metode difusi agar. Juga, mereka menyarankan bahwa kurangnya aktivitas antimikroba bawang merah mungkin karena konsentrasi yang digunakan dan kemurnian oleoresin bawang merah yang rendah. Menariknya, (Azu & Onyeagba, 2007) menemukan bahwa bawang merah efektif melawan *P. aeruginosa* yang diisolasi dari pasien yang menderita infeksi saluran kemih yang menunjukkan potensinya dalam pengelolaan kondisi tersebut.

Ekstrak bawang merah dan senyawa bioaktif turunannya, seperti senyawa tiosulfinat, senyawa fenolik, polisakarida, dan minyak esensial, telah dilaporkan memiliki sifat antibakteri yang kuat (Zhao et al., 2021). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa produk oksidasi quercetin dari kulit bawang kuning seperti 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-4,6-dihydroxy-2-methoxybenzofuran-3-one menunjukkan aktivitas selektif terhadap strain *Helicobacter pylori* sedangkan 3-(quercetin-8-yl)-2,3-epoxyflavanone menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap strain *Staphylococcus aureus* dan *H. pylori* yang resisten terhadap banyak obat (Ramos et al., 2006).

Studi lain mengamati bahwa minyak atsiri dari tiga jenis bawang merah (merah, hijau, dan kuning) menunjukkan khasiat anti mikroba yang nyata terhadap patogen tertentu, termasuk *Staphylococcus aureus*, *Penicillium cyclopium*, *Salmonella enteritidis*, *Fusarium oxysporum*, dan *Aspergillus Niger* (Chakraborty et al., 2022). Quorum sensing sangat penting untuk koordinasi virulensi bakteri selama infeksi. Satu hasil menemukan bahwa ekstrak organik bawang dan quercetin memiliki gangguan pada produksi violacein dan swarming motilitas yang diatur oleh kuorum pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Serratia marcescens*, di mana quercetin aglikon mengurangi produksi violacin sedangkan quercetin aglikon dan quercetin 3-b- D-glukosida menghambat motilitas bakteri. Sangat mengejutkan bahwa pembentukan biofilm, faktor penting lain untuk resistensi antimikroba yang dikendalikan oleh sistem penginderaan kuorum, tidak terpengaruh oleh ekstrak bawang atau quercetin (Quecan et al., 2019).

Studi in vivo (ur Rahman et al., 2017) menunjukkan bahwa unggas yang diberi pakan bawang merah dengan takaran 2,5 g/kg pakan mengalami penurunan populasi *E. coli* dan peningkatan signifikan *Lactobacillus* spp. Hasilnya sesuai

dengan (Goodarzi et al., 2014) yakni ayam pedaging diberi pakan yang mengandung 10–30 g bawang merah/kg. Menariknya, penelitian terbaru yang dilakukan oleh (Lekshmi et al., 2012) menunjukkan bagaimana nanopartikel yang disintesis dari bawang merah menunjukkan efek positif dalam menghambat *Klebsiella* spp. (Saxena et al., 2010) juga melaporkan sintesis nanopartikel perak dengan menggunakan ekstrak bawang dan menunjukkan bahwa nanopartikel ini, pada konsentrasi 50  $\mu\text{g/mL}$ , menunjukkan aktivitas antibakteri yang lengkap terhadap *E. coli* dan *Salmonella typhi murium*.

Sebuah studi *in vitro* meneliti pengaruh ekstrak minyak atsiri *A. cepa* terhadap strain bakteri *Escherichia coli* dipelajari memiliki konsentrasi hambat minimum (MIC)  $93,8 \pm 44,2 \text{ g/mL}$  dan konsentrasi bakteri minimum (MBC)  $312,5 \pm 265 \text{ g/mL}$ , menunjukkan bahwa *A. cepa* memiliki aktivitas antibakteri tertentu. Bag dan Chattopadhyay menemukan temuan terkait di mana kedua bakteri memprediksi daerah penghambatan, tetapi *S. aureus* memiliki dampak penghambatan yang lebih besar (IZD =  $6,90 \pm 1,26$ ) (Bag & Chattopadhyay, 2015). Juga, ekstrak metanol bawang merah menghambat *E. coli* dan *S. Aureus* zona hambat tertinggi untuk *S. aureus* diamati menjadi  $13,5 \pm 0,9 \text{ mm}$  untuk ekstrak bawang merah, sedangkan untuk ekstrak bawang kuning adalah  $11,3 \pm 0,7 \text{ mm}$  (K. Sharma et al., 2018). Ekstrak etanol, air, petroleum eter, dan kloroform umbi bawang segar terhadap beberapa jamur dengan metode difusi cakram diselidiki oleh Singh et al. Dalam produksi air dan etanolnya, bawang merah telah menunjukkan penghambatan pertumbuhan jamur yang substansial. Bawang adalah ekstrak kloroform yang paling efisien, sedangkan ekstrak petroleum eter adalah yang paling tidak efektif. Ekstrak kloroform bawang merah menunjukkan zona hambat tertinggi dengan *A. fumigatus* (IZD =  $31 \pm 1.3 \text{ mm}$ ), *A. niger* (IZD =  $28 \pm 1.4 \text{ mm}$ ), dan *C. albicans* (IZD =  $32 \pm 1.5 \text{ mm}$ ) tetapi kurang dalam kasus *A. flavus* (IZD =  $24 \pm 1.1$ ) (Singh & Singramau, 2017). Dalam studi lain, membunuh bakteri maksimum ditunjukkan oleh 100% ekstrak air dari umbi bawang hijau, dan kontrol positif untuk *E. aerogenes* sedikit lebih rendah dari tingkat membunuh (Thampi & Jeyadoss, 2015).

## 2.2 Bawang Merah Kultivar Lembah Palu

Di Propinsi Sulawesi Tengah, khususnya di Lembah Palu terdapat komoditas bawang merah unggul lokal daerah yang sudah cukup dikenal sebagai sumber bahan baku bawang goreng dan dikenal sangat khas dibandingkan dengan bawang lain yang ada di tanah air. Jenis bawang merah lokal Palu saat ini banyak diusahakan di Lembah Palu (wilayah Kota Palu serta sebagian wilayah Kab. Sigi dan Donggala). Secara khusus ada dua jenis bawang lokal Palu yang terdapat di kawasan Lembah Palu dan masyarakat Sulawesi Tengah (suku kaili) memberikan nama untuk jenis yang pertama adalah bawang “papaya” atau bawang “tasima” dan jenis kedua adalah bawang “batu” atau “tatu” yaitu bawang merah dengan umbi berwarna keputih-putihan. Jika dibandingkan dengan jenis bawang lainnya di Indonesia, jenis bawang merah lokal Palu sangat baik sebagai bahan baku bawang goreng dengan aroma yang khas, tekstur yang padat, rasanya gurih dan tahan dalam penyimpanan setelah digoreng (Pasigai et al., 2016).

Setiap varietas bawang merah memiliki karakteristik berbeda, termasuk morfologi dan kandungan gizi (Wibowo, 1988). Bawang merah ‘lembah palu’ berasal dan dikembangkan di kawasan Lembah Palu yang meliputi daerah Kota Palu, Kabupaten Donggala dan Kabupaten Sigi di Propinsi Sulawesi Tengah, dan telah ditetapkan oleh Menteri Pertanian sebagai salah satu varietas unggul nasional, berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian R.I. No. 1843/Kpts/SR.120/4/2011 (Mentan, 2011).

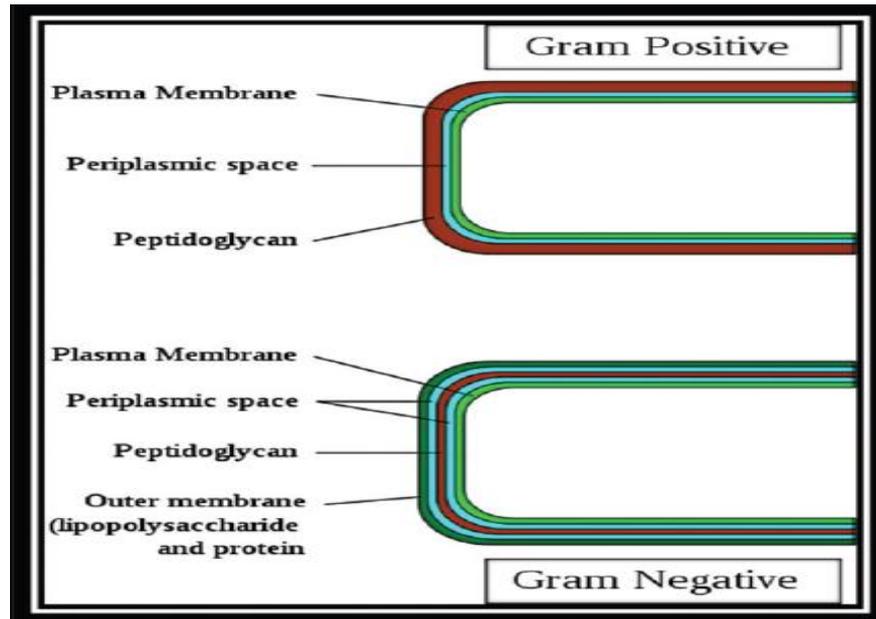
Hasil deskripsi varietas menunjukkan bawang merah ‘lembah palu’ memiliki karakteristik yaitu: tinggi tanaman 20-34 cm, jumlah anakan 7-10 umbi per rumpun, jumlah daun 20-40 helai per rumpun, panjang daun 25-30 cm, lebar daun 0,5-0,6 cm, bentuk daun silindris berlubang dan bewarna hijau muda; serta memiliki bentuk umbi bulat agak lonjong, berwarna merah pucat dan keputih-putihan, umbi berukuran panjang 2,5-3,0 cm, diameter 1,5-2,5 cm, umur panen 65-70 hst., dan tidak berbunga dengan potensi hasil 9,7 ton/ha. Bawang merah ‘lembah palu’ dikembangkan pada habitat aslinya, pada dataran rendah dengan ketinggian tempat kurang dari 300 m dpl. (Diperta Sulteng, 2009). Bawang wakegi di Indonesia pada umumnya disebut bawang merah. Bawang merah kultivar ‘lembah palu’ termasuk jenis bawang wakegi (Sulistyaningsih et al., 2008). Bawang wakegi (*Allium L x Wakegi Araki*,  $2n=16$ , AF) yang merupakan bawang hasil persilangan

alami antara (*A. cepa* L. Kelompok *Aggregatum*,  $2n=16$ , AA) dan (*A. fistulosum*,  $2n=16$ , FF) (Ganet, 1994).

Divisi : Spermatophyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Monocotyledonae  
Ordo : Asparagales  
Famili : Amaryllidaceae  
Sub Famili : Allioideae  
Genus : *Allium*  
Spesies : *Allium x wakegi* Araki.

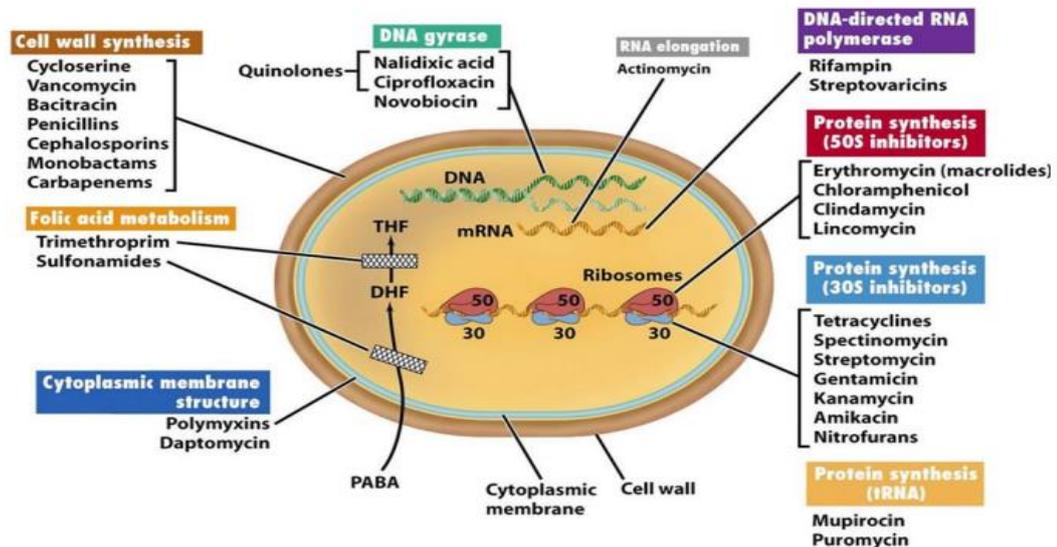
### 2.3 Target dan Mekanisme Kerja Antimikroba

Bakteri gram positif dan gram negatif memiliki struktur dinding sel yang berlapis-lapis. Bakteri gram positif terdiri dari membran sitoplasma yang dikelilingi oleh jaring yang keras dan kaku yang disebut dinding sel. Sebaliknya, bakteri gram negatif terdiri dari dinding sel tipis yang dikelilingi oleh membran lipid kedua yang disebut membran luar atau *outer membrane* (OM). Ruang antara OM dan membran sitoplasma disebut sebagai periplasma (Gambar 5). OM adalah lapisan pelindung tambahan pada bakteri Gram-negatif yang mencegah banyak zat masuk ke dalam bakteri. Namun, membran ini memiliki saluran porin, yang memungkinkan masuknya berbagai molekul seperti obat-obatan (Hauser, 2015). Dinding sel adalah lapisan keras yang memberi bakteri bentuk yang khas dan mencegahnya dari tekanan osmotik dan mekanis. Membran sitoplasma tersusun atas fosfolipid dan protein, yang dikelilingi oleh sitoplasma berperan sebagai barier osmotik, mencegah ion mengalir masuk atau keluar sel, mempertahankan komponen sitoplasma dan merupakan tempat sistem transport elektron yang bertanggungjawab menghasilkan energi.



Gambar 5. Struktur Selubung Sel Bakteri (Hauser, 2015)

Target Antimikroba adalah proses anabolik seluler seperti sintesis dinding sel, sintesis folate, replikasi DNA, transkripsi DNA dan translasi mRNA. Target tersebut merupakan target kritikal pada mekanisme bertahan hidup sel mikroorganisme dan sangat penting sebagai pembeda dari sel eukariotik agar dapat memperkenankan toksisitas yang selektif.



Gambar 6. Target Antimikroba (Etebu & Arikekpar, 2016)

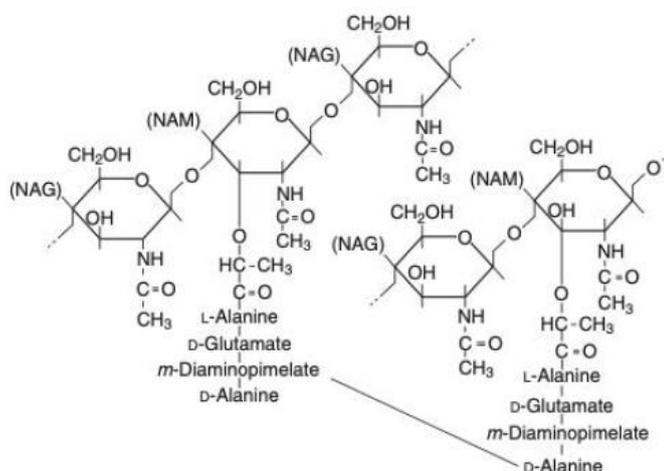
Mekanisme kerja Antimikroba lebih lanjut diuraikan sebagai berikut:

### 1. Inhibisi Biosintesis pada Dinding Sel

Sebagian besar sel bakteri terbungkus oleh mukopolisakarida unik yakni lapisan kaku peptidoglikan (PG) atau murein (dalam sumber yang lebih tua), yang

menyusun dinding sel bakteri. Peptidoglikan berfungsi melindungi sel dalam menghadapi tekanan osmotik yang berlaku konsisten pada lingkungan dan kondisi di mana bakteri hidup. Kuantitas polimer serta lokasinya di dalam envelope sel berbeda antara bakteri gram positif dan gram negatif. Lapisan peptidoglikan tersusun atas rantai subunit disakarida N-acetyl-D-glucosamine dan N-acetyl-D-muramic (NAM) yang berselang-seling. Subunit NAM memiliki rantai peptida pendek yang melekat, memediasi tautan silang paralel molekul glycan pada peptidoglikan mature. Peptida ini terdiri atas asam amino L- dan D- yang secara khusus diakhiri dengan D-alanyl-D-alanine (D-Ala-D-Ala). Tautan silang diantara rantai samping peptida yang berdampingan, memberikan kekuatan mekanisme terhadap molekul dan memberikan kesempatan untuk biodiversitas biokimiawi pada tipe tautan silang yang terkandung dan diantara spesies bakteri yang berbeda (Mahon et al., 2018).

Untuk tetap hidup, bakteri harus mensintesis peptidoglikan. Biosintesis peptidoglikan memiliki empat tahapan utama yakni (1) sintesis prekursor pada sitoplasmik (2) transport prekursor ikatan lemak yang melintas pada membran sitoplasmik (3) insersi unit glikan ke dalam dinding sel dan (4) sambungan transpeptidase dan maturasi D-cycloserine dan bacitracin yang merupakan dua tahapan awal, secara berurutan. Inhibitor yang paling banyak digunakan pada biosintesis dinding sel bakteri adalah  $\beta$ -laktam dan glikopeptida yang bekerja pada tahapan 3 dan 4. Pada kondisi pertumbuhan normal, biosintesis peptidoglikan berlangsung melalui formasi yang dimediasi ligase pada D-ala-D-ala, sebuah prekursor yang digunakan untuk membentuk UDP-NAM-acetyl-muramyl-pentapeptida (Gambar 7.). Prekursor ini memperpanjang rantai peptidoglikan melalui proses transglikosilasi pada rantai glikan dan elongasi rantai peptida yang terjadi melalui transpeptidase (Mahon et al., 2018).

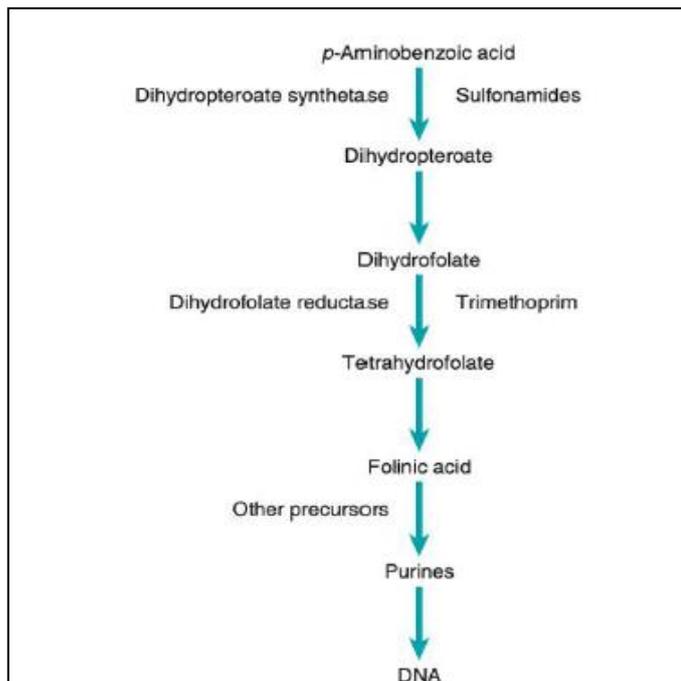


**Gambar 7.** Struktur lapisan peptidoglikan pada dinding sel *Escherichia coli*. Asam amino dalam ikatan silang tetrapeptida mungkin berbeda tiap spesies. NAG, N-Asetil-D-glukosamin NAM, asam N-asetil muramat (Neidhardt & C, 1990)

Target utama agen  $\beta$ -laktam adalah PBP (*Penicilin Binding Protein*). Telah dihipotesiskan bahwa cincin  $\beta$ -laktam meniru bagian D-alanyl-D-alanine dari rantai peptida yang biasanya terikat oleh PBP. PBP berinteraksi dengan cincin  $\beta$ -laktam dan tidak tersedia untuk sintesis peptidoglikan baru. Terganggunya lapisan peptidoglikan menyebabkan bakteri lisis. Glikopeptida mengikat bagian D-alanil-D-alanin dari rantai samping peptida dari subunit peptidoglikan prekursor. Molekul obat besar vankomisin mencegah pengikatan subunit D-alanil ini dengan PBP dan karenanya menghambat sintesis dinding sel (Kapoor et al., 2017).

## 2. Inhibisi Sintesis Folat

Jalur asam folat merupakan proses pembentukan molekul prekursor esensial yang dibutuhkan untuk biosintesis DNA pada bakteri. Jalur ini dimediasi oleh dua enzim utama, yaitu *dihydropteroate synthase* dan dihydrofolate reduktase, yang memediasi informasi tetrahydrofolate (THF) dari dihydrofolate (Gambar 8.). Sulfamethoxazole (SMZ) memblokir tahapan yang menyebabkan pembentukan 7,8-dihydropteroate dengan cara berkompetisi dengan struktur analog asam aminobenzoic dan berikatan dengan *dihydropteroate synthase*. Trimethoprim (TMP) memblokir tahapan yang menghasilkan pembentukan formasi THF dengan cara mencegah daur ulang koenzim folate yang dimediasi oleh dihydrofolate reduktase (Mahon et al., 2018).



**Gambar 8.** Mekanisme kerja sulfonamid dan trimetoprim serta pengaruhnya terhadap sintesis asam amino esensial dan asam nukleat (Mahon et al., 2018)

Sulfamethoxazole dan trimetoprim Masing-masing obat ini menghambat langkah-langkah yang berbeda dalam metabolisme asam folat. Kombinasi obat sulfa dan trimetoprim yang bekerja pada langkah yang berbeda pada jalur biosintetik yang sama menunjukkan sinergi dan penurunan tingkat mutasi untuk resistensi. Sulfonamida menghambat sintase dihidropteroat secara kompetitif dengan afinitas yang lebih tinggi terhadap enzim daripada substrat alami, asam *p*-amino benzoat. Agen seperti trimetoprim bertindak pada tahap selanjutnya dari sintesis asam folat dan menghambat enzim dihidrofolat reduktase (Kapoor et al., 2017).

### 3. Inhibisi Sintesis Asam Nukleat

#### - Interferensi Replikasi DNA

Jalur metabolisme yang menghasilkan sintesis asam nukleat sangat penting, gangguan pada sintesis asam nukleat bertentangan dengan kelangsungan hidup dan keturunan sel bakteri. Antibiotik mengganggu sintesis asam nukleus dengan menghalangi replikasi atau menghentikan transkripsi. Replikasi DNA melibatkan pelepasan struktur heliks ganda tradisional, suatu proses yang difasilitasi oleh enzim helikase (Etebu & Arikekpar, 2016). Siklus sel prokariotik mencakup replikasi DNA yang diikuti dengan tahapan pembelahan sel. Pada mikroorganisme seperti *E. coli* yang

melakukan pembelahan sel 30 menit setelah berada pada kondisi lingkungan dengan pertumbuhan optimal, replikasi DNA nya harus diinisiasi dan diselesaikan untuk memastikan bahwa setiap dupleks DNA terdapat pada setiap sel anakan. Enzim yang dibutuhkan untuk replikasi DNA termasuk enzim topoisomerase I, II, III, dan IV (Mahon et al., 2018).

Quinolone merupakan obat antibakterial yang mempengaruhi replikasi DNA dengan menarget enzim topoisomerase II (DNA *gyrase*) dan IV, yang merupakan enzim penting untuk mengontrol topologi DNA, replikasi dan dekatinasi (pelepasan ikatan/rantai) pada fase akhir siklus replikasi DNA bakteri). DNA *gyrase* dan topoisomerase IV merupakan molekul tetramerik yang terdiri atas subunit dimerik A dan B. Subunit DNA *gyrase* dikode oleh gen *gyrA* dan *gyrB*, sedangkan subunit enzim topoisomerase IV dikode oleh *parC* dan *parE*. Tetramer DNA *gyrase* dan topoisomerase IV sangat homolog yakni *gyrA* sangat homolog dengan *parC*, dan *gyrB* sangat homolog dengan *parE*. Menariknya target quinolone sangat selektif, hanya menarget DNA *gyrase* pada bakteri gram negatif dan topoisomerase IV pada bakteri gram positif, tetapi golongan quinolone terbaru menunjukkan afinitas tinggi terhadap keduanya. Analisis mekanisme aksi menunjukkan bahwa quinolone berinteraksi dengan kompleks DNA *gyrase*-DNA dan kompleks topoisomerase IV-DNA untuk menangkap enzim yang menyebabkan stabilisasi reaksi intermediet, sehingga menyebabkan inhibisi replikasi DNA, mengakibatkan terjadinya bakteristasis yakni kematian sel bakteri (Mahon et al., 2018). Kuinolon yang menghambat sintesis asam nukleat bakteri dengan cara ini tidak berinteraksi dengan RNA polimerase mamalia, membuatnya secara spesifik antagonis terhadap bakteri Gram-positif dan beberapa bakteri Gram-negatif (Etebu & Ariekpar, 2016).

Fluoroquinolones (FQ) menghambat enzim DNA *gyrase* bakteri, yang memotong DNA untai ganda, memperkenalkan superkoil negatif dan kemudian menutup kembali ujung yang terpotong. Hal ini diperlukan untuk mencegah superkoil positif yang berlebihan dari untai ketika mereka terpisah untuk memungkinkan replikasi atau transkripsi. DNA girase terdiri dari dua subunit A dan dua subunit B. Subunit A melakukan nicking DNA, subunit B memperkenalkan supercoils negatif, dan kemudian subunit A menutup kembali untai. FQ mengikat subunit A dengan afinitas tinggi dan mengganggu fungsi pemotongan untai dan penyegelan kembali. Pada bakteri

Gram-positif, target aksi utama adalah topoisomerase IV yang memotong dan memisahkan untai DNA anak setelah replikasi DNA. Afinitas yang lebih besar untuk enzim ini dapat memberikan potensi yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram-positif. Di tempat DNA girase atau topoisomerase IV, sel mamalia memiliki topoisomerase II, yang memiliki afinitas sangat rendah untuk FQ- sehingga toksisitas rendah terhadap sel (Kapoor et al., 2017).

- Interferensi Transkripsi DNA

Transkripsi DNA merupakan sebuah proses template rantai DNA yang disalin menjadi sekuens RNA fungsional menghasilkan mRNA mature atau RNA struktural. Transkripsi DNA menjadi RNA dimediasi oleh RNA polimerase. RNA polimerase bakteri merupakan sebuah inti tetramer yang terdiri atas sebuah subunit  $\alpha$ , dua subunit  $\beta$  ( $\beta\beta'$ ), sebuah subunit  $\gamma$  dan sebuah subunit disosiatif  $\sigma$  yang mengontrol transkripsi kelompok gen tertentu. Rifampicin merupakan sebuah derivat sintetik rifampicin B. Prinsip penggunaan terapi rifampicin melalui kombinasi dengan antimikroba kelas lainnya untuk pengobatan terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Target rifampicin pada *Mycobacterium tuberculosis* adalah RNA polimerase subunit  $\beta$  pada sisi alosterik dan blokade secara bertahap elongasi rantai RNA. Sehingga transkripsi RNA tidak terjadi pada tahap awal inisiasi. Pada beberapa kondisi, rifampicin juga digunakan untuk pengobatan infeksi terhadap spesies bakteri aerobik termasuk Staphylococci, Enterococci, *Haemophilus* spp., dan *S. Pneumoniae*. Rifampicin yang dikombinasikan dengan ciprofloxacin dan clindamicin sangat berguna untuk infeksi bakteri yang relevan dengan bioterorisme, seperti inhalasi anthraks (Mahon et al., 2018)

#### 4. Inhibisi Sintesis Protein (Interferensi Translasi mRNA)

Makhluk hidup termasuk bakteri ditentukan oleh jumlah dan jenis protein penyusunnya, dan terus diproduksi. Protein bertanggung jawab atas komposisi struktural, proses metabolisme dan fisiologis, dan respons terhadap kondisi yang merugikan, di antara peran lainnya. Namun, jenis dan jumlah protein yang dihasilkan oleh bakteri pada waktu tertentu bergantung pada informasi yang terkandung dalam biomolekul lain yang sangat penting – asam deoksiribonukleat (DNA). DNA menentukan jenis protein yang dihasilkan sel bakteri melalui informasi tertentu yang disimpannya di dalam dirinya sendiri. Informasi tersebut adalah seperangkat kode genetik yang disebut kodon, diturunkan ke biomolekul identik –

Asam ribonukleat (RNA), khususnya messenger RNA (mRNA). Transfer RNA (tRNA), biomolekul serupa juga terbentuk di bawah arahan DNA. Biomolekul ini bersama dengan mRNA berjalan ke ribosom – pabrik untuk sintesis protein dalam sel hidup. tRNA kemudian menguraikan kodon yang terdapat pada mRNA dan memfasilitasi translasi urutan kodon menjadi urutan asam amino yang merupakan penyusun protein (Etebu, 2013).

Mesin selular pada organisme hidup mengkode mRNA menjadi protein fungsional, sebuah proses yang disebut translasi mRNA. Translasi mRNA menjadi protein terjadi melalui tiga fase berurutan (inisiasi, elongasi dan terminasi) yang melibatkan ribosom dan sejumlah faktor aksesori sitoplasma. Ribosom terdiri dari RNA dan protein, dan umumnya disebut Ribonucleoprotein. Komponen RNA adalah apa yang disebut sebagai Ribosomal RNA (rRNA), dan terdiri dari dua subunit, satu subunit kecil dan subunit besar. Kedua subunit ini biasanya digambarkan dalam hal koefisien sedimentasinya (yaitu, laju sedimentasinya adalah ultracentrifuge), dan diukur dalam satuan Svedberg (S) yang masing-masing disebut 30S dan 50S. Bakteri memiliki gen 5S, 16S dan 23S pada rRNA mereka. Gen-gen yang mengkode pembentukan RNA ribosomal (rRNA) berada dalam satu operon yang sama (*rrn-operon*), secara berurutan dari ujung 5' gen-gen tersebut adalah 16S rRNA, 23S rRNA, dan 5S rRNA. Jumlah operon bervariasi mulai dari satu sampai 15 operon per total genom bakteri. Gen 16S rRNA berada pada ujung (terminus) 5' dan mengkode pembentukan RNA ribosomal pada subunit kecil ribosom. Ketiga gen tersebut dipisahkan oleh daerah *spacer* (pengatur jarak) yang dinamakan ISR (*intergenic spacer region*). Bagian ini selanjutnya akan membentuk RNA transfer (tRNA) yang berperan pada proses sintesis protein. Ada perbedaan besar antara rRNA prokariotik dan eukariotik, dan prestasi ini sangat memungkinkan para ilmuwan untuk mengembangkan antibiotik yang akan menargetkan rRNA dari spektrum bakteri patogen yang luas (Hong et al., 2014).

Biosintesis protein membutuhkan pengikatan sekuensial subunit 30S dan 50S ribosomal pada mRNA, agar terjadi translasi pesan genetik. Fase inisiasi dimulai dengan faktor inisiasi, protein yang mengikat subunit 30S, inisiator transfer (RNAt), formylmethionyl-tRNA, yang akan berikatan dengan area promoter subunit 30S ribosomal. Subunit 30S membantu pengikatan dengan pemindai RNAt untuk menemukan kodon start pada mRNA. Selanjutnya, subunit 50S akan berikatan dan membentuk kompleks preinisiasi. Kodon, selanjutnya akan mengikuti kodon inisiasi yang menentukan pengikatan RNAt pada area subunit A ribosomal.

Sintesis protein merupakan fungsi seluler, menjadikan proses tersebut merupakan target tepat untuk pengembangan obat Antimikroba. Ribosom bakteri merupakan target utama sejumlah obat, beberapa menarget subunit 30S ribosomal (seperti aminoglycoside, tetracycline, glycylyccline), dan lainnya menarget subunit 50S ribosomal (seperti macrolide, lincosamide, chloramphenicol, oxazolidinone, streptogramin) (Mahon et al., 2018).

Secara umum, antibiotik yang menghambat ribosom 50S melakukannya dengan memblokir secara fisik baik fase inisiasi translasi protein atau fase perpanjangan sintesis protein di mana asam amino yang masuk dihubungkan dengan rantai peptida yang baru tumbuh. Contoh antibiotik yang menghambat inisiasi translasi protein adalah anggota Oxazolidinones, sedangkan makrolida seperti lincosamide dan streptogramin memblokir sintesis protein dengan menghambat fase elongasi translasi mRNA. Oleh karena itu, kelompok antibiotik yang terakhir ini dilaporkan tidak efektif ketika pemanjangan telah berkembang melampaui panjang kritis (Etebu & Arikekpar, 2016). Penghambat ribosom 30S pada prinsipnya bekerja dengan menghalangi akses aminoasil-tRNA ke ribosom. Contoh antibiotik yang berfungsi dengan cara ini termasuk tetrasiklin, streptomisin, spektinomisin, dll. (Hong et al., 2014).

Diantara inhibitor ribosom, aminoglycoside merupakan satu-satunya kelompok antibiotik yang bersifat bakterisidal secara meluas. Macrolide, streptogramin, spectinomycin, tetracycline, chloramphenicol bersifat bakteristatik; namun, dapat pula memberi efek bakterisidal pada spesies tertentu (contoh chloramphenicol dapat membunuh *S. pneumoniae*) Antibiotik yang bersifat bakterisidal spesies spesifik ini, kemungkinan disebabkan adanya perbedaan sekuens diantara spesies bakteri pada area variabel RNA ribosomal (RNAR) (Mahon et al., 2018).

#### **2.4 *Salmonella typhi***

*Salmonella enterica* subspecies *enterica* merupakan patogen hewan berdarah panas termasuk manusia. Subspesies ini diklasifikasikan lebih lanjut menjadi serovar, berdasarkan antigen O (lipopolisakarida) dan H (flagel lar). Pada manusia, infeksi *Salmonella* secara luas menghasilkan dua hasil-baik gastroenteritis self-limiting atau demam tifoid sistemik invasif. Hasil penyakit tergantung pada serovar yang menginfeksi, dan dengan demikian, serovar

Salmonella diklasifikasikan menjadi dua kelompok: Salmonella tifoid dan nontifoid (NTS). NTS yang paling umum, yang menjadi penyebab dari gastroenteritis, adalah serovar dengan kisaran inang yang luas seperti *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella typhi murium* (Johnson et al., 2018). Namun, baru-baru ini, varian NTS telah dikaitkan dengan penyakit sistemik invasif dan tingkat kematian yang tinggi pada pasien dengan gangguan sistem imun di Afrika sub-Sahara (Feasey et al., 2012).

Bakteri patogen *Salmonella enterica serovar typhi* (*S. typhi*) adalah penyebab utama demam tifoid, salah satu penyakit sistemik yang mengancam jiwa manusia (Dougan & Baker, 2014). Paratyphi serotipe A dapat menyebabkan jenis penyakit demam enterik yang hampir tidak dapat dibedakan dari tipus (Baker et al., 2014). Oleh karena itu Serovar Salmonella ini sering disebut sebagai "*Salmonella tifoid*." Demam tifoid adalah salah satu penyakit manusia tertua yang telah tercatat dalam literatur barat. Terlepas dari kehadirannya yang lama dalam sejarah manusia, demam tifoid masih menjadi masalah kesehatan masyarakat utama yang merenggut nyawa 200,000 orang, kebanyakan anak-anak di negara berkembang (Buckle et al., 2012).

Serovar tifoid yang menyebabkan demam tifoid (atau enterik) adalah *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi A* (Dougan & Baker, 2014). Studi terbaru memperkirakan bahwa ada sekitar 10-20 juta kasus tifus per tahun, yang mengakibatkan 100.000-200.000 kematian (Antillón et al., 2017). Setelah terpapar, *S. typhi* melintasi epitel usus dan menyebar ke situs sistemik, termasuk hati, limpa, sumsum tulang, dan kandung empedu. Gejala tifus biasanya berkembang 10-14 hari setelah konsumsi dan termasuk demam, sakit kepala, nyeri otot, sakit perut, dan sembelit atau diare. Dengan pengobatan antibiotik yang tepat, tifus memiliki angka kematian sekitar 1%. Setelah pemulihan dari penyakit akut, sekitar 3-5% dari individu yang terinfeksi akan terus melepaskan *S. typhi* selama beberapa bulan hingga bertahun-tahun (Gunn et al., 2014). Selama pengangkutan kronis, *S. typhi* dan *S. paratyphi A* dapat bertahan tanpa gejala di dalam kandung empedu (Gunn et al., 2014).

Tidak seperti serovar *Salmonella enterica* ("nontyphoidal") lainnya seperti *S. typhimurium*, yang dapat menginfeksi berbagai host hewan dan umumnya menyebabkan gastroenteritis yang dapat sembuh sendiri, *S. typhi* adalah patogen manusia yang eksklusif, di mana ia menyebabkan penyakit sistemik yang parah. Urutan genom *S. typhi* telah memberikan wawasan utama tentang sejarah

evolusinya, dan analisis filogenetik menunjukkan bahwa bakteri ini sangat monomorfik dan mungkin telah memasuki populasi manusia relatif baru. Genom *S. typhi* menyimpan jumlah pseudogen yang lebih tinggi dari perkiraan, sebuah indikasi bahwa proses adaptasi manusia-inang menghasilkan pengurangan genomnya. Secara tradisional, mekanisme patogenesis *S. typhi* telah disimpulkan dari studi serovar Salmonella terkait seperti *S. typhimurium* pada model tikus infeksi (Galán, 2016).

Resistensi multidrug (MDR) di *S. typhi* hampir secara eksklusif terkait dengan plasmid IncH1 yang tampaknya telah beradaptasi dengan serovar ini. Fenotipe MDR telah muncul pada beberapa waktu di lokasi yang berbeda pada pohon filogenetik, tetapi sebagian besar garis keturunan ini berumur pendek atau terbatas secara geografis. Namun, satu garis keturunan, haplotipe 58 (H58), telah menjadi dominan, menyebabkan epidemi berkelanjutan yang telah menyebar ke seluruh Asia dan Afrika (Kantele et al., 2012). Garis keturunan H58 tampaknya mampu mengungguli *S. typhi* lainnya, terutama dalam menghadapi paparan antimikroba (Lunguya et al., 2012).

Fluoroquinolones adalah pengobatan pilihan untuk tifus, tetapi resistensi telah muncul, dimediasi sebagian oleh mutasi dalam *gyrA*, mengkodekan subunit DNAgyrase A, target utama obat ini. *S. typhi* yang menyimpan mutasi *gyrA* bisa lebih bugar daripada *S. typhi* yang setara dengan tipe liar di beberapa pengaturan eksperimental, menunjukkan bahwa strain tersebut mungkin memiliki keunggulan selektif yang berkelanjutan bahkan jika paparan fluoroquinolones dihilangkan. Sebuah fitur mencolok dari genom *S. typhi* dan *S. paratyphi* A adalah akumulasi dari apa yang disebut pseudogen. Degradasi genom dianggap sebagai tanda adaptasi dan terdapat pada patogen terbatas inang lainnya seperti *Yersinia pestis*, *Bordetella pertussis*, dan *Mycobacterium leprae*. Pembentukan pseudogen masih berlangsung dalam *S. typhi*, meningkatkan kemungkinan bahwa patovar yang berbeda muncul. Dalam kasus tifus, kolonisasi bakteri pada usus yang efisien telah hilang demi kasus sistemik yang istimewa seperti sumsum tulang dan kantong empedu. Banyak dari sekitar 200 pseudogen *S. typhi* termasuk dalam kelas fungsional, seperti yang berkontribusi terhadap persistensi usus (misalnya, *ratA* dan *shdA*), metabolisme (misalnya, *rhaD* dan *araH*), adhesi (misalnya, *pilN* dan *sefD*), dan secretome (misalnya, *sopA* dan *wcaK*) (Dougan & Baker, 2014).

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Species	: Salmonella Enterica
Subspecies	: S. Enterica Subsp. Enterica (Knodler & Elfenbein, 2019)
Serovar	: <i>Salmonella enterica serovar typhi</i>

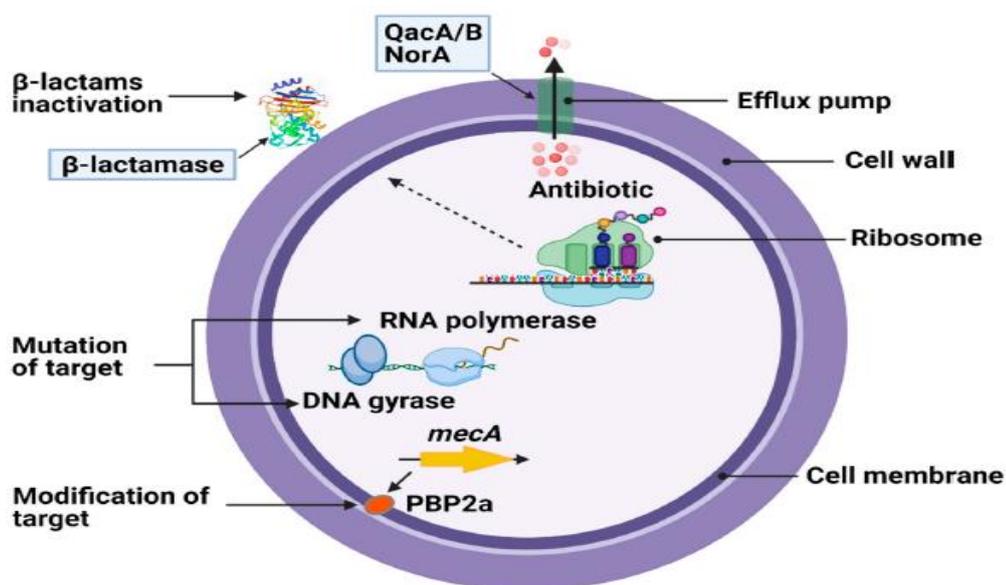
## **2.5 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri kokos Gram-positif, nonmotil, koagulase-positif dari filum Firmicutes. *S. aureus* ditemukan dalam mikrobiota komensal manusia pada mukosa hidung mencapai 20-40% dari populasi keseluruhan (Becker et al., 2017). *S. aureus* adalah bakteri komensal pada manusia dan ditularkan di komunitas dan fasilitas kesehatan (Turner et al., 2019). Bakteri ini adalah penyebab utama infeksi invasif atau rumit, termasuk bakteremia, pneumonia, endokarditis, infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi osteoartikular, dan osteomielitis (Tong et al., 2015). *S. aureus* dapat mengancam jiwa ketika dapat menghindari sistem kekebalan inang, melintasi penghalang epitel, dan memperoleh akses ke jaringan yang lebih dalam, seperti darah, katup jantung, saluran pencernaan, dermis, atau tulang (Balasubramanian et al., 2017). Orang-orang berisiko lebih tinggi terkena infeksi *S. aureus* ketika mereka dirawat di rumah sakit, menjalani operasi, dipasang perangkat medis implan, atau ketika mereka bersentuhan dengan pasien yang terinfeksi *S. aureus* (Lee et al., 2018).

Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) pertama kali dijelaskan di Inggris pada tahun 1961, segera setelah methicillin diperkenalkan ke dalam praktik klinis. Methicillin awalnya banyak digunakan; namun, karena toksisitasnya, sekarang tidak lagi dipasarkan untuk penggunaan manusia dan sebagian besar telah digantikan oleh penisilin serupa yang lebih stabil seperti oksasilin, flukloksasilin, dan dikloksasilin (Kucers et al., 2018). Namun demikian, istilah *S. aureus* yang resisten methicillin terus digunakan. Dalam dekade setelah deskripsi awal, MRSA bertanggung jawab atas wabah rumah sakit (*health-care-associated* MRSA (HA-MRSA)) di banyak bagian dunia. Perubahan substansial dalam epidemiologi MRSA diamati ketika terdeteksi pada individu tanpa kontak perawatan kesehatan sebelumnya (disebut sebagai MRSA terkait komunitas (CA-MRSA)), terutama di

antara penduduk asli di Australia pada 1980an dan sebaliknya. orang sehat, termasuk anak-anak, di Amerika Serikat pada 1990-an . Sejak pertengahan 2000-an, ini juga telah dikaitkan dengan paparan ternak (*livestock-associated* MRSA (LA-MRSA)) (Lee et al., 2018).

Data dari surveilans populasi MRSA *Emerging Infections Program* (EIP) (2005–2016) dan database Premier dan *Cerner Electronic Health Record* (2012–2017) yang menggambarkan tren insiden infeksi MRSA dan MSSA yang terjadi di rumah sakit dan yang terjadi di komunitas menunjukkan bahwa Infeksi aliran darah *S. aureus* menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang signifikan di Amerika Serikat. Pada tahun 2017, diperkirakan 119.247 infeksi aliran darah *S. aureus* dengan 19.832 kematian terkait terjadi di Amerika Serikat (Kourtis et al., 2019). Lebih lanjut, data dari kultur bakteri dan kerentanan obat yang dikumpulkan di *Japan Nosocomial Infection Surveillance* (JANIS) menunjukkan bahwa diperkirakan 17.157 kematian terkait infeksi aliran darah *S. aureus* dari seluruh populasi (126,8 juta) terjadi di Jepang pada tahun 2017 (Tsuzuki et al., 2020). Di antara mereka, kasus yang dikaitkan dengan MRSA menyumbang 4224 (24,6%). Masalah ini diperburuk oleh munculnya dan penyebaran cepat MRSA, yang resisten terhadap hampir semua antibiotik  $\beta$ -laktam yang dikenal. Telah dilaporkan bahwa strain MRSA dikaitkan dengan peningkatan mortalitas lebih dari 60% bila dibandingkan dengan *S. aureus* (MSSA) yang rentan terhadap methicillin (Organization, 2014). Antibiotik dalam penggunaan klinis menjadi semakin tidak efektif melawan MRSA karena resistensi antimikroba menyebar ke seluruh dunia. Tekanan selektif yang diberikan oleh paparan berbagai antibiotik telah menyebabkan munculnya strain MRSA yang resisten terhadap banyak obat.



**Gambar 9** Mekanisme Resistensi Antibiotik *Staphylococcus aureus* (Peacock & Paterson, 2015)

Mekanisme rinci resistensi antimikroba ini telah muncul dalam ulasan terbaru dan diilustrasikan secara singkat pada Gambar 9 (Peacock & Paterson, 2015). MRSA dapat berkembang melalui perolehan determinan dengan transfer gen horizontal elemen genetik bergerak (MGES); dari transposon dan elemen kromosom kaset staphylococcal (*SCCmec*); dari mutasi kromosom yang mengubah tempat pengikatan obat pada target molekuler; atau dengan meningkatkan ekspresi pompa penghabisan endogen. Protein penghabisan multidrug *QacA/B*, *NorA*, dan *Smr* terdapat pada membran sel *S. aureus*. MRSA yang menyimpan gen *qacA* dan *qacB* telah ditemukan terkait dengan peningkatan resistensi terhadap antibiotik non-laktam dan toleransi klorheksidin. Gen resistensi untuk berbagai antibiotik telah diidentifikasi di MSSA dan MRSA, seperti penisilin (*blaZ*), eritromisin (*ermC* dan *ermA*), klindamisin (terutama resistensi terinduksi yang dikodekan *ermC*), tetrasiklin (*tetK* dan *tetL*), dan trimetoprim (*dfrA* dan *dfrK*) (Lade & Kim, 2021).

MRSA telah memperoleh resistensi terhadap semua antibiotik  $\beta$ -laktam melalui dua mekanisme yang berbeda: (i) produksi protein pengikat penisilin 2a (PBP2a), suatu transpeptidase yang sangat resisten terhadap penghambatan oleh antibiotik  $\beta$ -laktam dan dapat mempertahankan ikatan silang peptidoglikan, sehingga memungkinkan regangan untuk bertahan hidup di hadapan  $\beta$ -laktam; dan (ii) produksi  $\beta$ -laktamase, yang menghidrolisis ikatan amida dari cincin  $\beta$ -laktam beranggota empat, membuat antibiotik tidak aktif sebelum mencapai target

PBP (Fisher & Mobashery, 2020). PBPs adalah enzim berlabuh membran yang bertanggung jawab untuk langkah terakhir dari sintesis dinding sel bakteri dan merupakan target utama untuk antibiotik  $\beta$ -laktam. Perubahan PBP adalah penyebab utama resistensi antibiotik  $\beta$ -laktam, terutama di antara kokus Gram-positif (Lade & Kim, 2021). Resistensi MRSA terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam dimediasi oleh PBP2a (Shalaby et al., 2020). Selanjutnya, *aux* (faktor pembantu) dan *fem* (faktor penting untuk resistensi methicillin) berkontribusi terhadap resistensi  $\beta$ -laktam yang dimediasi PBP2a. Dalam MRSA, PBP2a (PBP2') dikodekan oleh gen *mecA* yang terletak pada elemen genetik seluler SCCmec, bersama dengan regulatornya *mecR1* dan *mecI* (Lade & Kim, 2021).

Mayoritas strain yang terkait dengan perawatan kesehatan (HA)-MRSA terkait dengan SCCmec tipe II atau III, sedangkan terkait komunitas (CA)-MRSA dengan SCCmec tipe IV (Lakhundi & Zhang, 2018). Baru-baru ini, homolog yang dikodekan *mecC* dari PBP2a (ditunjuk sebagai PBP2c oleh Komite Eropa untuk Pengujian Kerentanan Antimikroba; EUCAST) dari strain *S. aureus* LGA251 telah dijelaskan, berbeda dalam karakteristik pengikatan  $\beta$ -laktam (C. Kim et al., 2012).

Meskipun demikian  $\beta$ -laktam tetap menjadi kelas antibiotik yang penting untuk pengobatan infeksi *S. aureus*, tetapi hampir semua  $\beta$ -laktam tidak efektif melawan MRSA umum, khususnya yang terlibat dalam infeksi kulit dan jaringan lunak (SSTI). Pemilihan antibiotik tergantung pada kerentanan bakteri, karakteristik pasien, dan tempat infeksi. MRSA menanggapi antibiotik tertentu dari setiap kelas antibiotik, tetapi prevalensi MRSA di rumah sakit, resistensi antibiotik, dan beban penyakit berarti sering kali perlu menggunakan antibiotik lini terakhir atau antibiotik baru untuk mengobati infeksi persisten. Vankomisin obat standar perawatan tetap menjadi antibiotik pilihan untuk pengobatan infeksi MRSA yang serius, tetapi efektivitasnya dibatasi oleh bakteremia persisten atau berulang, nefrotoksisitas, dan munculnya strain yang tidak rentan. Antibiotik alternatif, seperti linezolid dan daptomycin, sebanding dengan efektivitas vankomisin (Lade & Kim, 2021). Saat ini, vankomisin, teicoplanin, arbekacin, dan linezolid digunakan sebagai agen terapeutik untuk pengobatan infeksi MRSA. Selanjutnya, daptomycin dan tedizolid diluncurkan pada tahun 2011 dan 2018, masing-masing, untuk pengobatan infeksi MRSA di Jepang (Goto et al., 2020).

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Bacillota  
Class : Bacilli

Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Gherardi et al., 2018)

## 2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan bagian tumbuhan yang berkhasiat obat dengan menggunakan pelarut selektif melalui sebuah prosedur standar. Tujuan dari semua ekstraksi adalah untuk memisahkan metabolit tanaman yang larut, meninggalkan jejak seluler yang tidak larut (residu). Ekstrak kasar awal menggunakan metode ini mengandung campuran kompleks dari banyak metabolit tanaman, seperti alkaloid, glikosida, fenolat, terpenoid dan flavonoid. Beberapa ekstrak yang diperoleh awalnya mungkin siap untuk digunakan sebagai agen obat dalam bentuk tincture dan ekstrak cair tetapi beberapa perlu diproses lebih lanjut (Azwanida, 2015). Lamanya ekstraksi bahan baku tanaman obat akan tergantung pada sejumlah faktor yang menentukan sifat sampel. Faktor tersebut antara lain berbagai kondisi fisiologis jaringan bahan organik, perbedaan struktur jaringan bahan baku organik, kepadatan membran sel tanaman, adanya mikropori dan/atau ultramikropori, ada tidaknya zat (protopektin, lilin, lignin, dll.) yang mengurangi atau menyumbat saluran antar sel, dll (Bryda & Stadnytska, 2021)

Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan yakni maserasi, infus, perkolasi dan rebusan. Maserasi adalah teknik yang digunakan dalam pembuatan anggur, telah diadopsi dan banyak digunakan dalam penelitian tanaman obat. Maserasi melibatkan perendaman bahan tanaman (kasar atau bubuk) dalam wadah bersumbat dengan pelarut dan didiamkan pada suhu kamar selama minimal 3 hari dengan pengadukan yang sering. Pengolahan dimaksudkan untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tanaman agar melepaskan fitokimia yang larut. Setelah 3 hari, campuran ditekan atau disaring dengan penyaringan. Dalam metode konvensional ini, panas dipindahkan melalui konveksi dan konduksi dan pemilihan pelarut akan menentukan jenis senyawa yang diekstraksi dari sampel. Infus dan rebusan menggunakan prinsip yang sama seperti maserasi, keduanya direndam dalam air dingin atau direbus. Namun, periode maserasi untuk infus lebih pendek dan sampel direbus dalam volume air tertentu (misalnya 1:4 atau 1:16) dengan waktu tertentu untuk rebusan. Rebusan hanya cocok untuk

mengekstraksi senyawa tahan panas, bahan tanaman keras (misalnya akar dan kulit kayu) dan biasanya menghasilkan senyawa yang lebih larut dalam minyak dibandingkan dengan maserasi dan infus. Peralatan unik yang disebut perkolator digunakan dalam perkolasi, metode lain yang memiliki prinsip dasar yang sama. Sampel serbuk kering dikemas dalam perkolator, ditambahkan air mendidih dan dimaserasi selama 2 jam. Proses perkolasi biasanya dilakukan dengan kecepatan sedang (misalnya 6 tetes/menit) sampai ekstraksi selesai sebelum penguapan untuk mendapatkan ekstrak pekat (Azwanida, 2015).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi tanaman obat juga dikenal sebagai menstruum. Pemilihan pelarut tergantung pada jenis tanaman, bagian tanaman yang akan diekstraksi, sifat senyawa bioaktif, dan ketersediaan pelarut. Pada umumnya pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol digunakan dalam ekstraksi senyawa polar, sedangkan pelarut nonpolar seperti heksana dan diklorometana digunakan dalam ekstraksi senyawa nonpolar (Altemimi et al., 2017). Selama ekstraksi cair-cair, cara konvensional adalah memilih dua pelarut yang dapat bercampur seperti air-diklorometana, air-eter, dan air-heksana. Dalam semua kombinasi, air hadir karena polaritasnya yang tinggi dan dapat bercampur dengan pelarut organik. Senyawa yang akan diekstraksi menggunakan ekstraksi cair-cair harus larut dalam pelarut organik tetapi tidak larut dalam air untuk memudahkan pemisahan. Selanjutnya, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi diklasifikasikan menurut kepolarannya, dari *n*-heksana yang paling tidak polar hingga air yang paling polar. Berikut ini adalah 11 macam pelarut ekstraksi yang disusun menurut urutan kenaikannya polaritas (Pandey & Tripathi, 2014):

Pelarut	Polaritas
1. <i>n</i> -Heksan	0.009
2. Petroleum ether	0.117
3. Dietil eter	0.117
4. Etil asetat	0.228
5. Kloroform	0.259
6. Diklorometan	0.309
7. Aseton	0.355
8. <i>N</i> -butanol	0.586
9. Etanol	0.654
10. Metanol	0.762
11. Air	1.000

**Gambar 10** Macam-macam pelarut ekstraksi berdasarkan urutan polaritas (Pandey & Tripathi, 2014)

Hal-hal yang harus dipertimbangkan ketika memilih pelarut ekstraksi antara lain (i) Selektivitas. Kemampuan pelarut yang dipilih untuk mengekstrak konstituen

aktif dan meninggalkan bahan inert. (ii) Keamanan. Pelarut ekstraksi yang ideal harus tidak beracun dan tidak mudah terbakar. (iii) Biaya. (iv) Reaktivitas. Pelarut ekstraksi yang sesuai tidak boleh bereaksi dengan ekstrak. (v) Pemulihan. Pelarut ekstraksi harus cepat pulih dan dipisahkan dari ekstrak. (vi) Viskositas. Viskositas rendah untuk memungkinkan kemudahan penetrasi. (vii) Suhu didih. Suhu didih pelarut harus serendah mungkin untuk mencegah degradasi oleh panas (Pandey & Tripathi, 2014).

Fraksinasi adalah proses pemisahan ekstrak tumbuhan menjadi berbagai fraksi. Ini selanjutnya memisahkan fraksi menjadi bagian-bagian yang terdiri dari sejumlah senyawa. Proses berlanjut sampai senyawa murni diisolasi. Beberapa pelarut diperlukan untuk fraksinasi, harus ditambahkan sesuai dengan urutan peningkatan polaritas. Teknik fraksinasi pada dasarnya diklasifikasikan ke dalam metode fisik atau kimia. Metode kimia yakni metode ekstraksi yang didasarkan pada jenis gugus fungsi suatu senyawa dalam campuran yang diberikan. Pemisahan atau pemurnian dapat dicapai dengan reaksi kimia menggunakan reagen yang sesuai. Metode fisika yang digunakan dalam pemisahan senyawa dari campuran meliputi metode corong pisah, teknik kromatografi, distilasi fraksional, kristalisasi fraksional, pembebasan fraksional, dan sublimasi (Doughari, 2012).

Selama fraksinasi, pelarut yang dipilih ditambahkan sesuai dengan urutan peningkatan polaritas, mulai dari n-heksana, yang paling tidak polar hingga air dengan polaritas tertinggi. Jika peneliti ingin memilih lima pelarut selama fraksinasi, praktik yang biasa dilakukan adalah memilih dua pelarut dengan polaritas rendah (n-heksana, kloroform), dua dengan polaritas sedang (diklorometana, n-butanol), dan satu dengan polaritas tertinggi (air) (Pandey & Tripathi, 2014).

## **2.7 Identifikasi Senyawa dengan Kromatografi**

Kromatografi adalah istilah kolektif untuk seperangkat teknik laboratorium untuk pemisahan campuran menjadi komponennya. Semua bentuk kromatografi bekerja dengan prinsip yang sama. Kromatografi memiliki fase diam (padatan atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (cair atau gas). Campuran dilarutkan dalam cairan yang disebut fase gerak, yang membawanya melalui struktur yang menahan bahan lain yang disebut fase diam. Fase gerak mengalir melalui fase

diam dan membawa komponen-komponen campuran bersamanya. Berbagai unsur campuran bergerak dengan kecepatan yang berbeda, menyebabkannya terpisah. Pemisahan ion didasarkan pada bagian ion berbeda yang mengion antara fase gerak dan fase diam (Kumar et al., 2013).

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan pola pergerakan antara fase gerak dan fase diam untuk memisahkan komponen (berupa molekul) yang berada pada larutan. Molekul yang terlarut dalam fase gerak, akan melewati kolom yang merupakan fase diam. Molekul yang memiliki ikatan yang kuat dengan kolom akan cenderung bergerak lebih lambat dibanding molekul yang berikatan lemah (Ashworth & Stahl, 2013).

Ada berbagai jenis kromatografi seperti kromatografi kolom, kromatografi kertas dll. di antaranya Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah teknik laboratorium yang banyak digunakan dan mirip dengan kromatografi kertas. Namun, alih-alih menggunakan fase diam kertas, ini melibatkan fase diam dari lapisan tipis adsorben seperti silika gel, alumina, atau selulosa pada tingkat substrat yang datar dan lembam. Dibandingkan dengan kertas, ia memiliki keuntungan lebih cepat berjalan, lebih baik pemisahan ion, dan pilihan antara adsorben yang berbeda (Kumar et al., 2013)

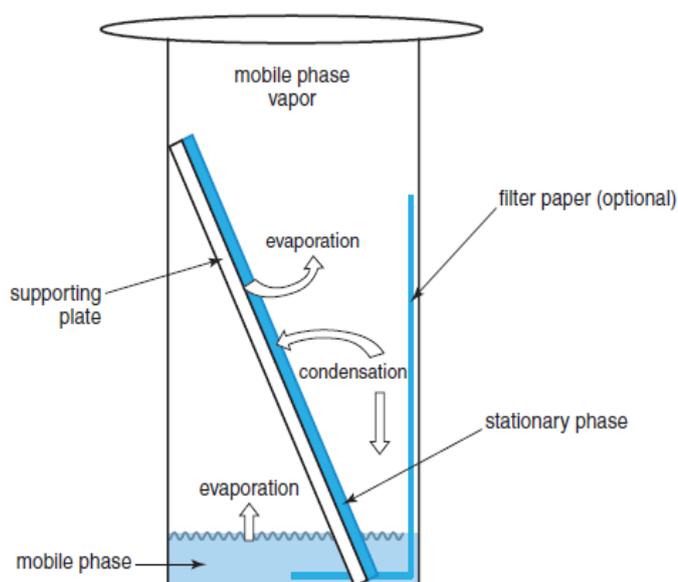
#### **2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin di deteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu alat yang paling berguna untuk mengikuti kemajuan ion reaksi kimia organik dan untuk menguji kemurnian senyawa organik dalam fitokimia dan Bioteknologi. Seperti semua metode kromatografi, KLT memanfaatkan perbedaan afinitas analit dengan fase gerak dan fase diam untuk mencapai pemisahan campuran kompleks molekul organik. KLT umumnya digunakan untuk menentukan jumlah komponen dalam campuran, memverifikasi identitas dan kemurnian suatu senyawa, memantau kemajuan suatu reaksi, menentukan komposisi pelarut untuk pemisahan preparatif; dan menganalisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom (Cai, 2014).

Pelat KLT adalah lembaran kaca, logam atau plastik yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben padat. Sejumlah kecil campuran yang akan dianalisis ditempatkan di dekat bagian bawah pelat ini. Pelat KLT kemudian ditempatkan di

kolam dangkal pelarut di chamber KLT sehingga hanya bagian paling bawah pelat yang berada dalam cairan. Cairan atau eluen ini adalah fase gerak, dan perlahan-lahan naik ke atas pelat KLT oleh aksi kapiler. Pemilihan eluen didasarkan pada polaritas senyawa dan biasanya merupakan campuran beberapa cairan yang berbeda polaritas, sehingga didapatkan perbandingan tertentu. Eluen KLT dipilih dengan cara trial and error. Kepolaran eluen sangat berpengaruh terhadap Rf (faktor retensi) yang diperoleh (Bele & Khale, 2011).

Fase gerak berinteraksi dengan fase diam melalui daya kapilaritas yang memungkinkan terjadinya pemisahan berbagai komponen senyawa berdasarkan kelarutan dan retensinya dalam fase diam dan fase gerak. Pemisahan dicapai melalui kompetisi antara molekul sampel dan fase gerak untuk berikatan atau berinteraksi dengan fase diam. Setiap senyawa kimia tersebut akan bergerak dengan laju tertentu dan tingkat pergerakannya dinyatakan sebagai faktor reterdasi (Rf). Faktor reterdasi adalah perbandingan jarak yang ditempuh fase gerak mulai dari garis awal hingga akhir dengan jarak pergerakan senyawa kimia yang telah terpisah. Senyawa yang mempunyai afinitas yang besar terhadap fase gerak atau afinitas yang lebih kecil terhadap fase diam akan bergerak lebih cepat daripada senyawa yang mempunyai afinitas sebaliknya (Rafi et al., 2017)



**Gambar 11** Representasi skema chamber KLT konvensional (tampilan samping) (Cai, 2014)

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua

fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) yang menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi dari masing-masing komponen. Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Afinitas senyawa dalam fase diam dan fase gerak ditentukan oleh sifat fisika kimia dari masing-masing senyawa. Metode pemisahan pada kromatografi sangat tergantung dari jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan menentukan interaksi yang terjadi antara analit dengan fase diam dan fase gerak. Metode pemisahan pada kromatografi terbagi menjadi (Wulandari, 2011):

a. Pemisahan berdasarkan polaritas

Metode pemisahan berdasarkan polaritas, senyawa-senyawa terpisah karena perbedaan polaritas. Afinitas analit terhadap fase diam dan fase gerak tergantung kedekatan polaritas analit terhadap fase diam dan fase gerak (like dissolve like). Analit akan cenderung larut dalam fase dengan polaritas sama. Analit akan berpartisi diantara dua fase yaitu fase padat-cair dan fase cair-cair. Ketika analit berpartisi antara fase padat dan cair faktor utama pemisahan adalah adsorpsi. Sedangkan bila analit berpartisi antara fase cair dan fase cair, faktor utama pemisahan adalah kelarutan. Prinsip pemisahan analit terpisah karena afinitas terhadap fase padat dan fase cair biasa disebut dengan adsorpsi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi adsorpsi. Sedangkan prinsip pemisahan analit terpisah karena afinitas terhadap fase cair dan fase cair disebut dengan partisi dan metode kromatografinya biasa disebut kromatografi cair.

b. Pemisahan berdasarkan muatan ion

Pemisahan berdasarkan muatan ion dipengaruhi oleh jumlah ionisasi senyawa, pH lingkungan dan keberadaan ion lain. Pemisahan yang disebabkan oleh kompetisi senyawa-senyawa dalam sampel dengan sisi resin yang bermuatan sehingga terjadi penggabungan ion-ion dengan muatan yang berlawanan disebut kromatografi penukar ion. Pemisahan yang terjadi karena perbedaan arah dan kecepatan pergerakan senyawasenyawa dalam sampel karena perbedaan jenis dan intensitas muatan ion dalam medan listrik disebut elektroforesis.

c. Pemisahan berdasarkan ukuran molekul

Ukuran molekul suatu senyawa mempengaruhi difusi senyawa-senyawa melewati pori-pori fase diam. Pemisahan terjadi karena perbedaan difusi senyawa-senyawa melewati pori-pori fase diam dengan ukuran pori-pori yang bervariasi. Senyawa dengan ukuran molekul besar hanya berdifusi kedalam pori-pori fase

diam yang berukuran besar, sedangkan senyawa dengan ukuran molekul kecil akan berdifusi ke dalam semua pori-pori fase diam, sehingga terjadi perbedaan kecepatan pergerakan molekul melewati fase diam. Senyawa dengan ukuran molekul besar memiliki kecepatan yang lebih besar dibanding senyawa dengan ukuran molekul kecil. Metode pemisahan ini biasa disebut dengan kromatografi permeasi gel.

d. Pemisahan berdasarkan bentukan spesifik

Pemisahan senyawa berdasarkan bentukan yang spesifik melibatkan ikatan kompleks yang spesifik antara senyawa sampel dengan fase diam. Ikatan ini sangat selektif seperti ikatan antara antigen dan antibody atau ikatan antara enzim dengan substrat. Pemisahan ini biasa disebut dengan kromatografi afinitas. Fase diam KLT dengan sorben yang memiliki bentukan spesifik dengan selektifitas tinggi dalam bentuk lempeng siap pakai belum tersedia dipasaran.

#### **2.4.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)**

Di antara berbagai teknik pemisahan senyawa dari bahan alam, teknik kromatografi adalah yang paling cepat dan banyak digunakan dalam pemisahan. Sejumlah metode kromatografi baik analitik maupun preparatif telah dikembangkan. Sebagian besar pemisahan dilakukan dalam dua langkah. Langkah pertama, pemisahan secara kasar menggunakan pelarut. kemudian diikuti dengan pemisahan kromatografi isolasi cair-padat pada gel silika atau alumina dll. Di antara semua teknik kromatografi, kromatografi cair vakum (KCV) paling efisien baik dalam pemisahan kasar maupun halus dari campuran produk sintesis dan alami yang kompleks. Dalam dekade terakhir KCV telah semakin diterapkan di bidang produk alami maupun kimia sintetik karena kesederhanaan operasinya.

#### **2.4.3 KLT-Bioautografi**

Pada tahun 1946, Goodall and Levi menggabungkan metode kromatografi kertas (PC) dengan bioautografi kontak untuk mendeteksi penisilin yang berbeda. Setelah itu, Fischer dan Lautner memperkenalkan KLT di bidang yang sama. Teknik ini menggabungkan KLT dengan metode deteksi biologis dan kimia. Beberapa penelitian dilakukan pada ekstrak organik, terutama ekstrak tumbuhan,

untuk aktivitas antibakteri dan antijamur dengan KLT-bioautografi (M Balouiri et al., 2016). Adapun teknik KLT bioautografi terbagi menjadi tiga yaitu difusi agar, bioautografi langsung, dan uji agar-overlay bioassay.

Difusi agar juga dikenal sebagai metode kontak agar, merupakan salah satu teknik yang paling sedikit digunakan. Prosedur ini melibatkan transfer dengan difusi agen antimikroba dari pelat kromatogram (PC atau KLT) ke media agar yang sebelumnya telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang diuji. Dibiarkan beberapa menit atau jam untuk memungkinkan difusi senyawa agen antimikroba, pelat kromatogram lalu dikeluarkan dan media agar diinkubasi. Zona penghambatan pertumbuhan muncul di tempat di mana senyawa antimikroba kontak dengan lapisan agar (M Balouiri et al., 2016).

Bioautografi langsung adalah metode yang paling banyak diterapkan di antara ketiga metode. Pelat KLT yang telah dihilangkan sisa eluennya dicelupkan atau disemprot dengan suspensi mikroba. Kemudian, bioautogram diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam dalam kondisi lembab. Garam tetrazolium sering digunakan untuk visualisasi pertumbuhan mikroba. Garam-garam ini mengalami konversi menjadi formazan berwarna yang sesuai dengan dehidrogenase sel hidup, p-Iodonitrotetrazolium violet adalah reagen pendeteksi yang paling cocok. Garam ini disemprotkan ke bioautogram, lalu diinkubasi kembali pada suhu 25°C selama 24 jam atau pada suhu 37°C selama 3-4 jam. Mueller Hinton Broth yang dilengkapi dengan agar merupakan media pertumbuhan yang digunakan pada media untuk memungkinkan kadar pertumbuhan mikroba yang lebih tinggi pada pelat KLT dan mempertahankan kelembaban yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba. Bioautografi langsung dapat digunakan untuk jamur atau bakteri. Teknik ini merupakan cara paling mudah untuk mendeteksi zat antijamur dan antibakteri yang memberikan hasil cukup konsisten (Dewanjee et al., 2015)

Agar overlay bioassay dikenal sebagai bioautografi imersi, prosedur ini merupakan gabungan dari kedua metode sebelumnya. Pelat KLT ditutup dengan media agar yang masih cair. Untuk memungkinkan difusi yang baik dari senyawa yang diuji ke dalam media agar, pelat KLT ditempatkan pada suhu rendah selama beberapa jam sebelum inkubasi. Setelah inkubasi di bawah kondisi yang sesuai tergantung pada mikroorganisme uji, pewarnaan dapat dibuat dengan tetrazoliumdye. Seperti bioautografi langsung, metode ini dapat diterapkan pada semua mikroorganisme seperti *Candida albicans* dan kapang (Mounyr Balouiri et

al., 2015). Proses ini memberikan zona penghambatan pertumbuhan yang terdefinisi dengan baik dan sensitif terhadap kontaminasi.

#### **2.4.4 Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS)**

Kromatografi gas-spektrometri massa atau dikenal dengan GC-MS adalah metode kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa yang bertujuan untuk menganalisis berbagai senyawa dalam suatu sampel. Kromatografi gas dan spektrometri massa memiliki prinsip kerjanya masing-masing, namun keduanya dapat digabungkan untuk mengidentifikasi suatu senyawa baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Kromatografi gas menggunakan kolom kapiler yang tergantung pada dimensi kolom itu (panjang, diameter, ketebalan film) serta sifat fase (misalnya 5% fenil polisiloksan). Perbedaan sifat kimia antara molekul-molekul yang berbeda dalam suatu campuran dipisahkan dari molekul dengan melewati sampel sepanjang kolom. Molekul-molekul memerlukan jumlah waktu yang berbeda (disebut waktu retensi) untuk keluar dari kromatografi gas, dan ini memungkinkan spektrometri massa untuk menangkap, ionisasi, mempercepat, membelokkan, dan mendeteksi molekul terionisasi secara terpisah. Spektrometri massa melakukan hal ini dengan memecah masing-masing molekul menjadi terionisasi mendeteksi fragmen menggunakan massa untuk mengisi rasio (Hananun et al., 2013).

Sebagian besar sampel terdiri atas berbagai campuran senyawa. Bahkan jika langkah-langkah pengkondisian sampel yang efektif digunakan untuk mengisolasi senyawa yang diinginkan, campuran biasanya masih tersisa untuk dianalisis. Pentingnya kromatografi gas dan cair yakni untuk memisahkan komponen campuran. Campuran ini dapat berasal dari segala aspek aktivitas manusia: lingkungan, makanan, jaringan biologis, proses industri, investigasi kriminal, dan semua fase studi medis. Kekayaan informasi yang tercurah dari kombinasi GC-MS menuntut penggunaan komputer canggih yang didedikasikan untuk tugas-tugas tertentu seperti ekstraksi, penyimpanan, dan analisis data penting. Hal ini menambah dimensi dan kekuatan baru pada kemampuan analitis sistem GC-MS. Prestasi instrumentasi komputer GC-MS sangat mengesankan. Pada tahun 1975 instrumen seperti itu dikirim pada kendaraan luar angkasa melalui 200 juta mil untuk mendarat di planet Mars di mana ia melakukan 14 analisis di tanah di sana, mencari keberadaan kehidupan organik di planet ini. Terlepas dari sensitivitas ppb, tidak ada kehidupan organik yang ditemukan.

Instrumentasi komputer GC-MS telah memungkinkan untuk mendeteksi banyak bahan kimia beracun di lingkungan dan melacak asal-usulnya ke aktivitas masyarakat industri modern. Pengetahuan tentang sumber dan nasib kelas bahan kimia mematenkan yang dikenal sebagai dioksin terklorinasi adalah saksi dari pencapaian ini. Di bidang medis, teknik GC-MS telah menghasilkan deteksi dan pemahaman yang lebih baik tentang banyak gangguan dan penyakit metabolisme manusia (Karasek & Clement, 2012).

Metode analisis GC-MS adalah dengan membaca spektra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut. Pada spektra GC jika terdapat bahwa dari sampel mengandung banyak senyawa, yaitu terlihat dari banyaknya puncak (peak) dalam spektra GC tersebut. Berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa apa saja yang ada dalam sampel. Selanjutnya adalah dengan memasukkan senyawa yang diduga tersebut ke dalam instrumen spektrometer massa. Hal ini dapat dilakukan karena salah satu kegunaan dari kromatografi gas adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa dari suatu sampel. Setelah itu, didapat hasil dari spektra spektrometri massa pada grafik yang berbeda. Informasi yang diperoleh dari kedua teknik ini yang digabung dalam instrumen GC/MS adalah tak lain hasil dari masing-masing spektra. Untuk spektra GC, informasi terpenting yang didapat adalah waktu retensi untuk tiap-tiap senyawa dalam sampel. Sedangkan untuk spektra MS, bisa diperoleh informasi mengenai massa molekul relatif dari senyawa sampel tersebut (Hananun et al., 2013).

Tahap-tahap suatu rancangan penelitian GC/MS (Hananun et al., 2013) sebagai berikut:

#### 1. Preparasi sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan faktor-faktor pengganggu dalam analisis sampel. Preparasi dimulai dengan menyaring sampel dan fase gerak di mana untuk sampel menggunakan kertas saring whatman 0,45 sedangkan fase gerak menggunakan kertas saring whatman 0,2. Kemudian masing-masing dilakukan degasing, yakni penghilangan gas yang dapat mengganggu saat analisis sampel.

#### 2. Derivatisasi sampel

Derivatisasi sebelum pemisahan dengan kromatografi gas sering dilakukan untuk meningkatkan stabilitas termal suatu senyawa, terutama senyawa dengan gugus fungsional polar, misalnya pembentukan metil ester asam lemak,

pembentukan metil atau trimetilsilil ester dan asetil atau trifluoroasetil ester suatu sakarida, sedangkan untuk asam amino dilakukan derivatisasi terhadap gugus karboksil menjadi n-butil atau n-propil ester dan asetilasi terhadap gugus amino. Derivatisasi juga digunakan untuk merubah molekul solute sehingga dapat memberikan sinyal yang dapat dibaca oleh detektor yang digunakan, misalnya derivatisasi karbamat dengan TFA untuk determinasi dengan ECD.

### 3. Injeksi

Menginjeksikan campuran larutan ke kolom GC lewat heated injection port. GC/MS kurang cocok untuk analisa senyawa labil pada suhu tinggi karena akan terdekomposisi pada awal pemisahan.

### 4. GC separation

Campuran dibawa gas pembawa (biasanya Helium) dengan laju alir tertentu melewati kolom GC yang dipanaskan dalam pemanas. Kolom GC memiliki cairan pelapis (fase diam) yang inert.

### 5. MS detector

Aspek kualitatif : lebih dari 275.000 spektra massa dari senyawa yang tidak diketahui dapat teridentifikasi dengan referensi komputerisasi. Aspek kuantitatif : dengan membandingkan kurva standar dari senyawa yang diketahui dapat diketahui kuantitas dari senyawa yang tidak diketahui.

### 6. Scanning

Spektra massa dicatat secara reguler dalam interval 0,5-1 detik selama pemisahan GC dan disimpan dalam sistem instrumen data untuk digunakan dalam analisis. Spektra massa berupa fingerprint ini dapat dibandingkan dengan acuan.

## 2.8 Molekuler Docking

Molekuler docking adalah metode desain obat berbasis struktur yang mensimulasikan interaksi molekuler dan memprediksi mode pengikatan dan afinitas antara reseptor dan ligan. ketika keduanya berinteraksi satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil, Informasi yang diperoleh dari orientasi molekul terikat yang tepat dapat digunakan untuk memprediksi profil energi (seperti energi bebas pengikatan), kekuatan dan stabilitas (seperti afinitas pengikatan dan konstanta pengikatan) kompleks. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan fungsi scoring dari molecular docking. Saat ini, molekuler docking sering digunakan untuk meramalkan orientasi pengikatan molekul kecil (kandidat

obat) ke target biomolekulernya (seperti protein, karbohidrat dan asam nukleat) dengan tujuan untuk menentukan parameter pengikatan tentatifnya. Ini menetapkan data mentah untuk perancangan obat rasional (pengembangan obat berbasis struktur) dari agen baru dengan kemanjuran yang lebih baik dan spesifisitas yang lebih tinggi (Guedes et al., 2014).

Dalam beberapa tahun terakhir, teknologi molekuler docking telah banyak digunakan dalam bidang penelitian desain obat. Database senyawa yang digunakan untuk menyaring potensi farmakofor tidak hanya nyaman bagi peneliti untuk memperoleh, mensintesis dan menyelesaikan tes farmakologis tindak lanjut, tetapi juga sangat meningkatkan efisiensi dan mengurangi biaya penelitian. Selain itu, munculnya teknologi molekuler docking dapat secara signifikan meningkatkan kapasitas prediksi target obat dan memahami mekanisme molekuler terkait untuk desain obat (Fan et al., 2019).

Dalam penemuan obat modern, protein-ligan atau protein-protein docking memainkan peran penting dalam memprediksi orientasi ligan ketika terikat pada reseptor protein atau enzim menggunakan bentuk dan interaksi elektrostatik untuk mengukurnya. Interaksi van der Waals juga memegang peranan penting, selain interaksi Coulomb dan pembentukan ikatan hidrogen. Jumlah dari semua interaksi ini didekati dengan skor docking, yang mewakili potensi pengikatan. Dalam sistem benda tegar yang paling sederhana, ligan dicari dalam ruang rotasi atau translasi enam dimensi agar sesuai dengan situs pengikatan, yang dapat berfungsi sebagai senyawa timbal untuk desain obat (Pagadala et al., 2017).

Tujuan utama dari molekuler docking adalah untuk mencapai konformer docking yang optimal dari kedua molekul yang berinteraksi untuk mencapai pengurangan energi bebas dari keseluruhan sistem. Molekul docking menghasilkan nilai energi dalam membentuk ikatan antara ligan dan sel target (reseptor). Semakin kecil nilai energi ikatan yang ditunjukkan maka ikatan ligan dan reseptor yang semakin stabil. Ikatan yang stabil menunjukkan bahwa aktivitas dari hasil interaksi ligan dan reseptor semakin besar. Energi bebas ikatan akhir yang diprediksi ( $\Delta G_{bind}$ ) dimodelkan dalam bentuk dispersi & tolakan ( $\Delta G_{vdw}$ ), ikatan hidrogen ( $\Delta G_{hbond}$ ), desolvasi ( $\Delta G_{desolv}$ ), elektrostatik ( $\Delta G_{elec}$ ), energi bebas torsional ( $\Delta G_{tor}$ ), final energi internal total ( $\Delta G_{total}$ ) dan energi sistem tak terikat ( $\Delta G_{unb}$ ). Oleh karena itu, pemahaman rinci tentang prinsip-prinsip umum yang mengatur ikatan energi bebas yang diprediksi ( $\Delta G_{bind}$ ) memberikan

informasi tambahan tentang sifat dari berbagai jenis interaksi yang mendorong docking molekul (Agarwal et al., 2015).

Energi afinitas yang dihasilkan dari proses docking merupakan refleksi suatu ikatan kimia antara ligan dan residu asam amino pada binding site. Ikatan yang terjadi dapat bermacam-macam seperti ikatan ionik, ikatan kovalen, hidrofobik, maupun ikatan hidrogen. Jenis ikatan kimia mempengaruhi afinitas suatu senyawa terhadap binding site (Khaerunnisa & Awaluddin, 2020)

#### 1. Ikatan kovalen

Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat terjadi antara obat dan reseptor. Ikatan ini terjadi antara dua atom yang saling menggunakan bersama pasangan elektron. Ikatan kovalen akan membentuk ikatan irreversible antara ligan dan reseptor, yang membentuk energi sebesar 50-150 kkal/mol untuk memisahkan ikatan tersebut. Efek ikatan kovalen pada durasi respon ialah semakin memperpanjang efek farmakologi. Misalnya, asam asetil salisilat (aspirin) yang membentuk ikatan kovalen antara gugus aldehid dari aspirin dan gugus glisin yang berasal dari asam amino binding site.

#### 2. Ikatan ionik

Berbeda dengan ikatan kovalen, ikatan ionik terjadi pada molekul dengan perbedaan yang berlawanan pada muatan elektrostatis. Energi yang dibutuhkan untuk melepaskan ikatan ionik juga lebih rendah dibandingkan ikatan kovalen, yakni 5-10 kkal/mol.

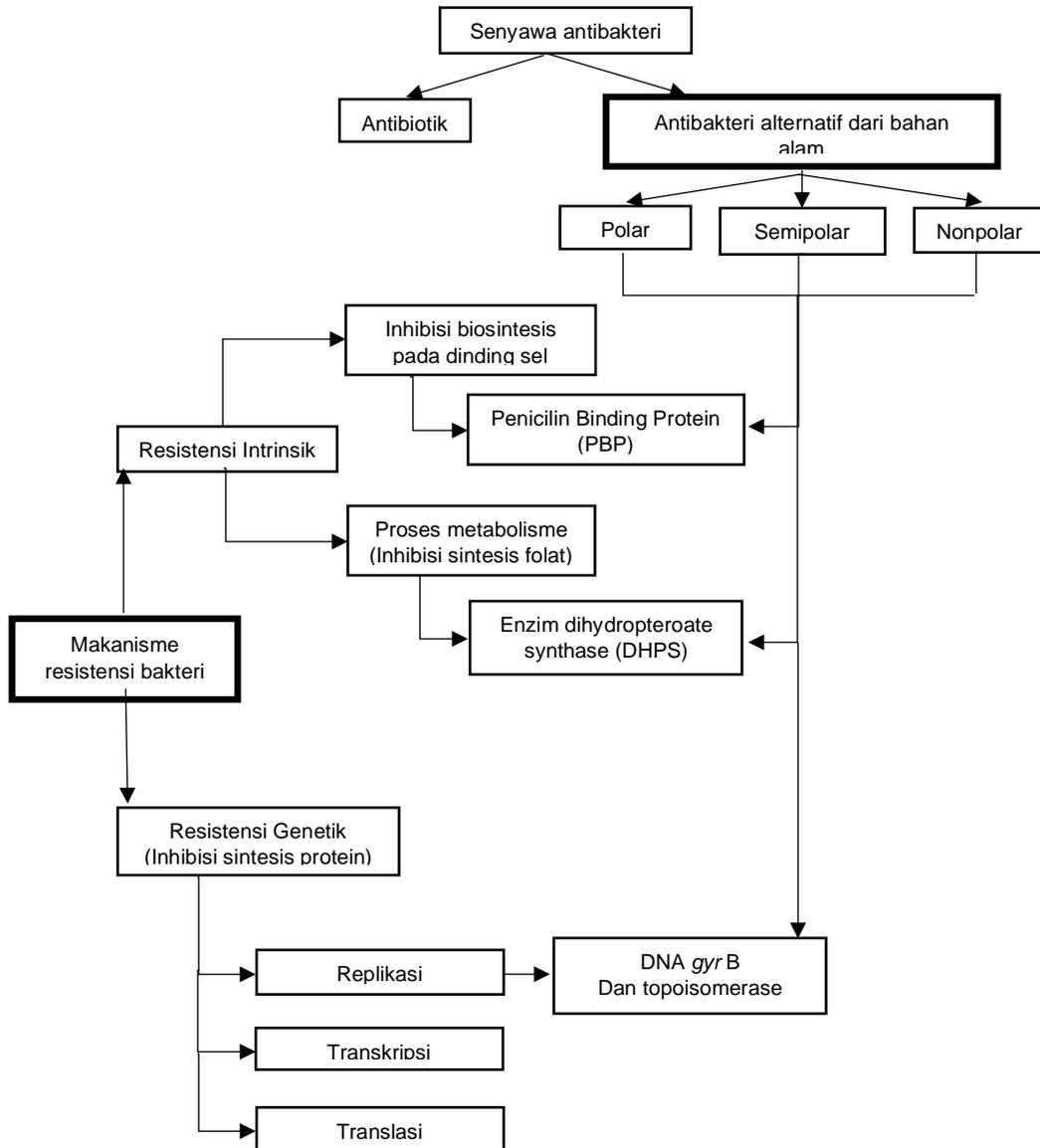
#### 3. Ikatan hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan ikatan interaksi kutub-kutub muatan (dipole-dipole) yang terkuat. Ikatan tersebut terbentuk dari interaksi atom hidrogen dan atom dengan nilai elektronegatif tinggi seperti oksigen (atom O), nitrogen (N), dan flour (F). ikatan ini dapat terjadi antar molekul ataupun ikatan hidrogen intramolekul. Energi yang dibutuhkan untuk memisahkan ikatan hidrogen ialah 2-5 kkal/mol. Ikatan hidrogen ini merupakan ikatan yang ideal terjadi pada interaksi obat dan reseptor karena menghasilkan sifat ikatan yang mudah kembali (reversible).

#### 4. Ikatan hidrofobik

Pada ikatan ini, merupakan ikatan kimia yang paling rendah afinitasnya, maka ikatan tersebut akan mudah lepas (konstanta afinitas:  $0 > k_1/k_2 < 1$ ). Macam-macam ikatan hidrofobik ialah ikatan van der Waals, ikatan phi, dan lain-lain.

## 2.9 Kerangka Pikir



## 2.10 Alur Penelitian

