

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI PELARUT POLAR, SEMI-POLAR, DAN NON-POLAR EKSTRAK ETANOLIK BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) TERHADAP *SHIGELLA FLEXNERI* PADA DISENTRI BASILER SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

***ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF POLAR, SEMI-POLAR, AND NON-POLAR FRACTION GARLIC (*Allium sativum* L.) ETHANOLIC EXTRACT AGAINST SHIGELLA FLEXNERI ON BACILLARY DYSENTERY BY IN VITRO AND IN SILICO ASSAY***

Shosa Kalinio Gherin Krissandy, Hari Widada  
School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Science  
Muhammadiyah University of Yogyakarta  
[krissandy94@gmail.com](mailto:krissandy94@gmail.com)

**INTISARI**

Pengobatan dengan tanaman herbal telah digunakan sejak lama. Bawang putih (*Allium sativum* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak khasiat pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanolik bawang putih terfraksinasi terhadap *Shigella flexneri* secara *in vitro* dan *in silico*.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan dilanjutkan proses fraksinasi menggunakan tiga pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda (metanol, etilasetat, dan n-heksan). Setiap fraksi dibagi menjadi enam konsentrasi (1%, 5%, 10%, 25%, 50%, dan 75%) dan menjadi sampel untuk pengujian aktivitas antibakteri metode *Kirby-Bauer Disk Diffusion Test*. Ekstrak yang menunjukkan hambatan signifikan pada uji antibakteri dilakukan analisis kandungan dengan metode *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Senyawa organosulfur yang terdeteksi dilakukan analisis secara *in silico* dengan metode *molecular docking* terhadap DNA gyrase subunit B.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ketiga fraksi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri*. Aktivitas antibakteri tertinggi hingga terendah adalah fraksi n-heksan ( $9,833 \pm 1,556$ ), fraksi etilasetat ( $7,944 \pm 3,327$ ), dan fraksi metanol ( $1,527 \pm 3,742$ ). Data ini menunjukkan bahwa fraksi etilasetat dan n-heksan lebih signifikan ( $P < 0,05$ ) daripada fraksi metanol. Analisis GC-MS terhadap fraksi etilasetat dan n-heksan menunjukkan keberadaan senyawa organosulfur seperti dialil disulfida, dialil trisulfida, 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin, dll. Uji *in silico* senyawa-senyawa organosulfur tersebut dengan target DNA gyrase subunit B menunjukkan adanya afinitas dalam efek antibakteri. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksan dan fraksi etilasetat memiliki aktivitas antibakteri yang baik dengan uji secara *in vitro* dan *in silico*.

**Kata Kunci** : *Allium sativum* L., Fraksi, Aktivitas Antibakteri, GC-MS, *Molecular Docking*

### ABSTRACT

*Healing purpose with herbal medicine has been used long time ago. Garlic (*Allium sativum* L.) is a plant that has many medicinal properties. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of fractioned garlic ethanolic extract against *Shigella flexneri* by in vitro and in silico test.*

*The extraction process performed by maceration method and continued by fractionation process using three solvents with different polarity level (methanol, ethyl acetate, and n-hexane). Each fraction was divided into six concentration (1%, 5%, 10%, 25%, 50%, and 75%) and be the sample for antibacterial activity testing by Kirby-Bauer Disk Diffusion Test method. Extract that showed significant inhibition in antibacterial study was conducted for composition analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) method. Detected organosulfur compounds were analyzed by in silico with molecular docking method against DNA gyrase subunit B.*

*The result showed that three fraction have antibacterial activity against *Shigella flexneri*. Highest antibacterial activity to the lowest is n-hexane fraction ( $9,833 \pm 1,556$ ), ethyl acetate fraction ( $7,944 \pm 3,327$ ), and methanol fraction ( $1,527 \pm 3,742$ ). These data indicate that ethyl acetate and n-hexane fraction is more significant ( $P < 0,05$ ) than methanol fraction. GC-MS analysis of ethyl acetate and n-hexane fraction showed the presence of organosulfur compounds such as diallyl disulfide, diallyl trisulfide, 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin, etc. In silico test of these organosulfur compounds showed there affinity in antibacterial effects against DNA gyrase subunit B. The result of this study indicate that n-hexane and ethyl acetate fraction had a good antibacterial activity by in vitro and in silico test.*

**Keywords :** *Allium sativum* L., Fraction, Antibacterial Activity, GC-MS, Molecular Docking

## PENDAHULUAN

Disentri basiler atau yang biasa disebut dengan Shigellosis saat ini masih menjadi salah satu masalah kesehatan yang perlu perhatian. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri genus *Shigella* dan dikarakterisasi dengan diare yang mengandung darah yang disertai dengan demam, mual, dan muntah (Bush and Perez, 2014).

Kejadian penyakit ini dapat ditemukan di seluruh daerah geografis baik negara maju maupun negara berkembang. Angka morbiditas (angka kesakitan) disentri basiler cukup tinggi. Disentri basiler terjadi di seluruh dunia dan bertanggung jawab terhadap lebih dari 600.000 kematian setiap tahun, dengan 2/3 kasus kematian muncul pada anak-anak usia dibawah 10 tahun (Public Health Agency of Canada, 2005). Data di Indonesia menunjukkan bahwa 29% kematian anak-anak usia 1 hingga 4 tahun yang disebabkan diare adalah akibat disentri basiler (Nafianti dan Sinuhaji, 2005). Selain itu dari hasil penelitian tahun 2005 hingga 2007 di Jakarta Selatan, ditemukan bahwa 9,3% dari 612 penderita diare disebabkan oleh bakteri *Shigella* (Herwana *et al.*, 2010).

Disentri basiler secara umum dapat membaik dengan sendirinya setelah 4 hingga 7 hari apabila status imun penderita baik (Dipiro *et al.*, 2008). Namun pada kejadian yang berat seperti diare dengan darah atau penderita dengan status imun yang rendah perlu diberikan antibiotik untuk menurunkan durasi penyakit.

Penggunaan antibiotik yang kurang sesuai oleh penderita menyebabkan angka resistensi bakteri *Shigella sp.* pada penggunaan antibiotik *first-line* saat ini mulai muncul. Beberapa kejadian resistensi antibiotik tersebut dilaporkan terjadi pada penggunaan obat ampisilin dan

kotrimoksazol yang merupakan *first-line* antibiotik untuk mengatasi disentri basiler (CDC, 2013). Di Indonesia, laporan resistensi antibiotik banyak ditemukan pada *Shigella flexneri* dan *Shigella boydii* khususnya terhadap ampisilin, kloramfenikol, tetrasiklin, dan kotrimoksazol (Herwana *et al.*, 2010). Selain itu juga masih ada kemungkinan terjadinya resistensi beberapa antibiotik lain apabila penggunaan antibiotik yang tidak benar.

Belum ditemukannya vaksin disentri basiler sampai saat ini dan untuk meminimalkan terjadinya resistensi terhadap berbagai antibiotik, maka penggunaan sumber hayati dapat menjadi pertimbangan untuk membantu mengatasi disentri basiler yang ringan. Dalam hal ini telah banyak penelitian yang membuktikan khasiat dari ekstrak tanaman sebagai agen antibakteri, salah satunya adalah ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) (Karuppiah and Rajaram, 2012).

Ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) banyak mengandung senyawa-senyawa organosulfur seperti allicin, dialil disulfida, S-alilsistein, dan dialil trisulfida (Mikaili *et al.*, 2013). Senyawa yang diduga memiliki khasiat sebagai agen antibakteri adalah senyawa-senyawa thiosulfinat, misalnya allicin (Hughes and Lawson, 1991). Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar bawang putih (*Allium sativum* L.) efektif dalam melawan *Shigella sp.* yang merupakan bakteri penyebab disentri basiler (Eja *et al.*, 2007).

Penelitian aktivitas antibakteri yang berorientasi pada fraksinasi ekstrak juga diperlukan untuk menghasilkan ekstrak yang terpisah berdasarkan kelarutannya pada suatu pelarut. Sedangkan untuk mengetahui kandungan senyawa pada suatu fraksi tersebut dapat digunakan analisis *gas*

*chromatography-mass spectrometry* (GC-MS). Penelitian untuk mengetahui mekanisme antibakteri suatu senyawa dapat dilakukan secara *in silico* dengan metode *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan suatu metode yang berfungsi untuk memprediksi aktivitas struktur kimia senyawa atau ligan dengan kompleks protein secara *in silico* atau *virtual screening* (Kroemer, 2007). Aplikasi yang sering digunakan untuk *molecular docking* salah satunya adalah AutoDockTools.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi polar, semi-polar, dan non-polar ekstrak etanolik bawang putih terhadap bakteri *Shigella flexneri* secara *in vitro* dan *in silico*, serta mengetahui kandungannya dengan analisis GC-MS.

## METODE PENELITIAN

Umbi bawang putih dikumpulkan, dibersihkan, dirajang, dan dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari yang ditutup dengan kain hitam pada permukaannya. Simplisia bawang putih kemudian diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk bawang putih kemudian dilakukan ekstraksi secara maserasi selama 24 jam dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut (1:5 b/v). Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Proses ekstraksi dilanjutkan dengan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair (*liquid extraction*) menggunakan metanol, etilasetat, dan n-heksan sebagai pelarut. Ekstrak selanjutnya kembali dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Fraksi metanol, etilasetat, dan n-heksan dilakukan pembuatan variasi konsentrasi 1%, 5%, 10%, 25%, 50%, dan 75%. Pengenceran dilakukan dengan aquades steril dan khusus fraksi

etilasetat dan n-heksan perlu penambahan span 80. Kontrol positif digunakan siprofloksasin 5µg. Sedangkan kontrol negatif digunakan aquades steril dan campuran aquades steril dan span 80. Media Mac Conkey yang telah diinokulasi dengan bakteri - *Shigella flexneri* digunakan untuk uji aktivitas antibakteri metode Kirby-Bauer Disk Diffusion Test untuk masing-masing sampel.

### Analisis Kandungan Senyawa Metode GC-MS

Fraksi yang terbukti signifikan dalam uji aktivitas antibakteri digunakan sebagai sampel analisis GC-MS. Proses pemisahan digunakan kolom AGILENTJ%W DB-1 dengan panjang 30 meter serta memiliki ketebalan internal 0,25 mm. Fase gerak (*carrier gas*) digunakan gas helium dengan kecepatan 0,54 ml/menit. Sistem pemanasan diatur dari suhu 50 hingga 260°C dengan peningkatan sebesar 5°C setiap menit. Dalam instrumen MS digunakan energi ionisasi sebesar 70 eV dengan metode *electron impact* (EI). Sampel uji mula-mula dilarutkan dengan pelarut yang sesuai (metanol/etilasetat/n-heksan) secukupnya hingga diperoleh konsentrasi 1%. Selanjutnya 1 µl sampel tersebut diinjeksikan ke dalam instrumen GC.

### Uji *Molecular Docking*

Uji *molecular docking* digunakan aplikasi AutoDockTools. Langkah penelitian dijelaskan sebagai berikut :

#### *Preparasi Protein DNA gyrase subunit B (3TTZ)*

Data protein diperoleh dari RCSB (<http://www.rcsb.org>) dan diunduh dengan format PDB *file* (*gz*). Protein tersebut dibuka dengan aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dan

dilakukan preparasi dengan menghilangkan komponen pengganggu sehingga tersisa 1 protein target. Hasil tersebut kemudian disimpan dalam format PDB file (\*.pdb).

#### *Preparasi Ligan*

Ligan yang digunakan dalam uji ini adalah senyawa-senyawa organosulfur yang diperoleh melalui analisis GC-MS dari fraksi ekstrak yang terbukti signifikan dalam uji aktivitas antibakteri, siprofloksasin, dan ligan referensi. Data ligan diunduh melalui PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan dipilih dalam bentuk 3D SDF. File ligan tersebut dibuka melalui aplikasi *Discovery Studio Visualizer* dan disimpan dalam format PDB (\*.pdb).

#### *Preparasi Ligan dan Protein Target Dalam Format PDBQT*

Hasil preparasi protein dilakukan preparasi lebih lanjut dengan aplikasi AutoDockTools dengan menambahkan atom hidrogen polar dan muatan melalui pilihan *Kollman Charges* dan disimpan dalam format \*.pdbqt.

Setelah dilakukan preparasi protein target selanjutnya dilakukan *input* ligan melalui perintah *Open Ligand* pada aplikasi AutoDockTools. Ligan yang telah masuk ke dalam protein target kemudian dilakukan preparasi dalam hal *Torsion Free* dan *Aromatic Carbons* dan disimpan dalam format \*.pdbqt.

#### *Preparasi Parameter*

Proses ini dilakukan penentuan *Grid Box* dan parameter *docking*. *Grid* yang digunakan meliputi keseluruhan area protein. Sedangkan parameter *docking* digunakan *Lamarckian Genetic Algorithm*.

#### *Simulasi Docking*

Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan AutoGrid 4.2 dan AutoDock 4.2 melalui Cygwin Terminal.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### **Uji Aktivitas Antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan replikasi pengujian sebanyak 3 kali. Data pengukuran ini adalah *Diameter Zone Inhibition* (DZI) yang menggambarkan kemampuan sampel untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Hasil uji aktivitas antibakteri masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 tersebut diketahui bahwa Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) fraksi metanol, etilasetat, dan n-heksan secara berturut-turut adalah 75%, 5%, dan 1%.

Hasil pengujian tersebut selanjutnya dibandingkan dengan larutan kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil pengujian antibakteri kontrol positif dan kontrol negatif dapat dilihat pada Tabel 2.

Analisa statistik dari ketiga fraksi dilakukan analisis deskriptif dan parametrik menggunakan uji *one way ANOVA*. Berdasarkan analisis deskriptif diketahui bahwa rata-rata nilai DZI dari yang terkecil hingga yang terbesar berturut-turut adalah fraksi metanol, fraksi etilasetat, dan fraksi n-heksan. Sedangkan berdasarkan hasil analisis parametrik diketahui bahwa fraksi n-heksan dan fraksi etilasetat lebih signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* daripada fraksi metanol. Namun dari hasil pengujian ini juga diketahui bahwa fraksi etilasetat dan fraksi n-heksan memiliki perbedaan yang kecil.

**Tabel 1.** Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi metanol, etilasetat, dan n-heksan

Perlakuan		Diameter Zone Inhibition (mm)					
		Konsentrasi					
		1%	5%	10%	25%	50%	75%
Fraksi Metanol	Rep 1	0	0	0	0	0	8,5
	Rep 2	0	0	0	0	0	10
	Rep 3	0	0	0	0	0	9
	Rata-rata	0	0	0	0	0	9,167
Fraksi Etilasetat	Rep 1	0	7	8	9	11	11
	Rep 2	6	6	7,5	8	10,5	12
	Rep 3	0	8,5	8	9	10,5	11
	Rata-rata	2	7,167	7,833	8,667	10,667	11,333
Fraksi n-heksan	Rep 1	7	9	10	10,5	10,5	11
	Rep 2	8	9	10	10,5	11	12
	Rep 3	7	8	10	11	11	11,5
	Rata-rata	7,333	8,667	10	10,667	10,833	11,5

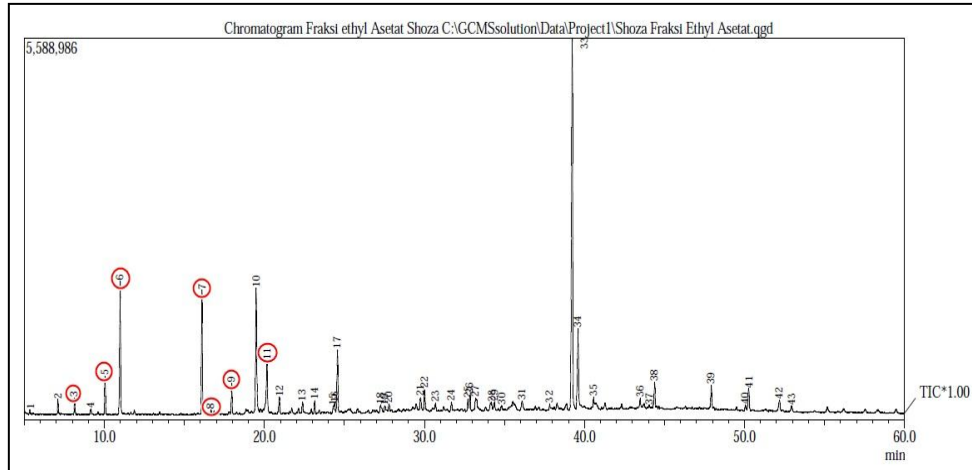
**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas antibakteri kontrol positif dan kontrol negatif

Jenis	DZI (mm)		
	Siprofloksasin 5µg	Aquadest steril	Aquadest steril + span 80
Replikasi 1	30	0	0
Replikasi 2	29	0	0
Replikasi 3	30	0	0
Rata – rata	29,667	0	0

**Analisis Kandungan Senyawa Metode GC-MS**

Analisis kandungan kimia metode GC-MS dilakukan untuk identifikasi senyawa organosulfur yang terdapat pada fraksi etilasetat dan fraksi n-

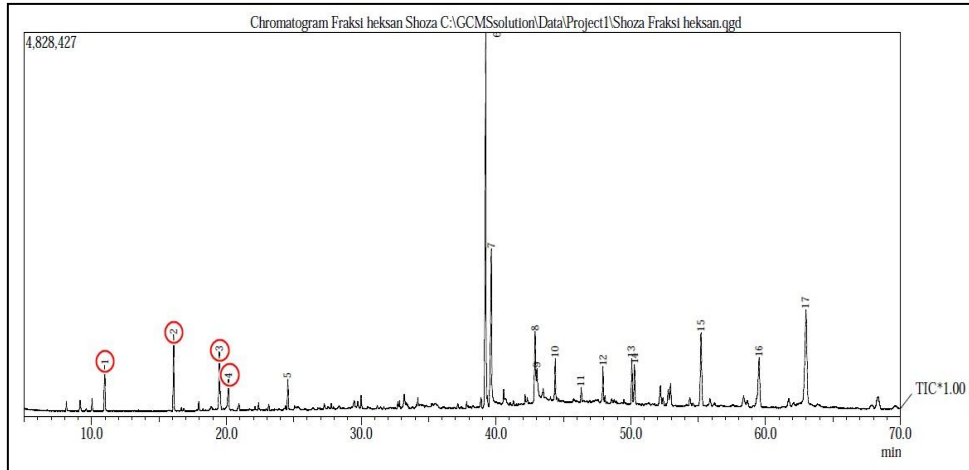
heksan karena terbukti signifikan dalam uji aktivitas antibakteri. Hasil analisis fraksi etilasetat dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 3. Hasil analisis fraksi n-heksan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 4.



**Gambar 1.** Kromatogram fraksi etilasetat

**Tabel 3.** Senyawa organosulfur fraksi etilasetat

No. Peak	Rt (menit)	BM	Nama Senyawa	Struktur Kimia
3	8,133	114	Dialil monosulfida	<chem>C=CCSCC=C</chem>
5	10,033	120	Metil alil disulfida	<chem>C=CCSSC</chem>
6	10,992	164	Dietil mercaptole	<chem>CCSCC</chem>
		103	Dimetilthioasetamida	<chem>CC(=S)N(C)C</chem>
7	16,100	146	Dialil disulfida	<chem>C=CCSSCC=C</chem>
		178	Dialil trisulfida	<chem>C=CCSSSCC=C</chem>
8	16,658	210	Dialil tetrasulfida	<chem>C=CCSSSCC=C</chem>
9	17,958	88	(E)-(CAS) Trans-metil propenil sulfida	<chem>C=CCSC</chem>
11	20,158	144	2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin	<chem>C=CC1=CC=CS1</chem>
		162	Alicin	<chem>C=CC(=O)SSC=C</chem>



**Gambar 2.** Kromatogram fraksi n-heksan

**Tabel 4.** Senyawa organosulfur fraksi n-heksan

No. Peak	Rt (menit)	BM	Nama Senyawa	Struktur Kimia
1	10,975	164	Dietil mercaptole	<chem>CCSC(C)SCC</chem>
		103	Dimetilthioasetamida	<chem>CC(=S)NC</chem>
2	16,083	146	Dialil disulfida	<chem>C=CCSCC=C</chem>
		178	Dialil trisulfida	<chem>C=CCSSCC=C</chem>
		210	Dialil tetrasulfida	<chem>C=CCSSSCC=C</chem>
3	19,467	144	2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin	<chem>C=CC1SCSC1</chem>
		162	Alicin	<chem>C=CC(=O)SSC=C</chem>
4	20,150	144	2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin	<chem>C=CC1SCSC1</chem>
		162	Alicin	<chem>C=CC(=O)SSC=C</chem>

Berdasarkan hasil analisis GC-MS diketahui bahwa fraksi etilasetat dan

fraksi n-heksan mengandung senyawa-senyawa organosulfur.



### Uji *Molecular Docking*

Uji *Molecular Docking* berfungsi untuk mengetahui afinitas senyawa-senyawa organosulfur yang terdeteksi pada analisis GC-MS terhadap protein DNA gyrase subunit B dan mengetahui perbedaan skor *docking* antara senyawa-senyawa organosulfur tersebut dengan siprofloksasin dan ligan referensi. Ligan yang digunakan pada uji ini adalah dialil disulfida, dialil trisulfida, dialil tetrasulfida, dietil mercaptole, allicin, 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin, siprofloksasin, dan 2-[(3S,4R)-4-[[3,4-dichloro-5-methyl-1H-pyrrol-2-yl)carbonyl]amino]-3-fluoropiperidin-1-yl]-1,3-thiazole-5-carboxylic acid (ligan referensi).

Hal yang perlu diperhatikan dalam analisis hasil *docking* adalah melalui energi ikatan (*binding energy*) dan konstanta inhibisi (*inhibitory constant*).

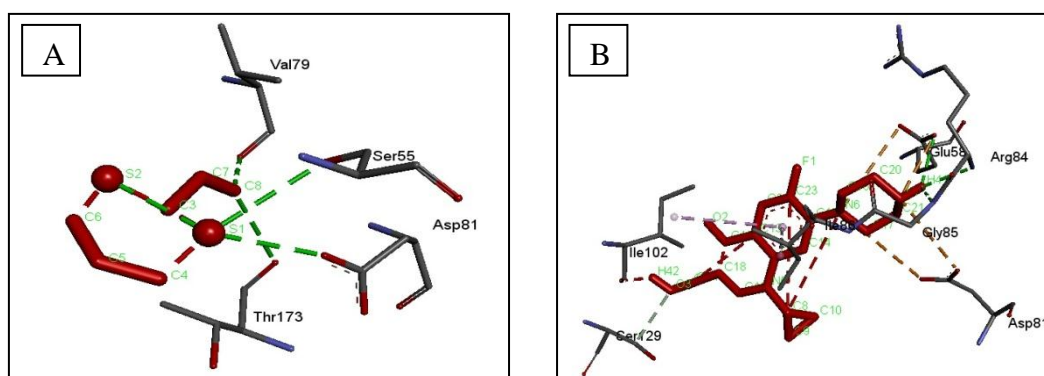
Energi ikatan memiliki hubungan dengan konstanta inhibisi. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi maka akan semakin kecil pula energi ikatan. Dari hal ini diketahui bahwa semakin kecil energi ikatan dan konstanta inhibisi, maka interaksi antara ligan dan enzim akan semakin disukai (Prasetia, 2011). Hasil skor *docking* terbaik setiap ligan terhadap protein target dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Interaksi ligan dengan protein target

Ligan	Energi Ikatan (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi	Interaksi
Dialil disulfida	-3,56	2,47 mM	Val79, Asp81, dan Thr173
Dialil trisulfida	-3,83	1,57 mM	Glu58, Ser55, Asp81, dan Thr173
Dialil tetrasulfida	-3,7	1,94 mM	Gly85, Asp81, Ser55, dan Asn54
Allicin	-4,0	1,17 mM	Asp81 dan Ser55
Dietil mercaptole	-3,74	1,83 mM	Gly85, Asp81, Asn54, dan Thr173
2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin	-4,07	1,04 mM	Asp81, Ser55, Thr173, dan Val79
Siprofloksasin	-5,79	56,73 $\mu$ M	Arg84, Asp81, Glu58, Gly85, Ile86, Ile102, dan Ser129
Ligan referensi	-8,15	1,06 $\mu$ M	Arg144, Arg84, Asn54, Asp81, Glu58, Ile86, Ser55, Thr173

Setelah didapatkan konformasi terbaik dari masing-masing senyawa, selanjutnya dilakukan visualisasi interaksi senyawa terkait dengan protein target dengan menggunakan aplikasi

*Discovery Studio Visualizer*. Contoh hasil visualisasi interaksi antara ligan dengan protein DNA gyrase subunit B disajikan dalam Gambar 3.



**Gambar 3.** Interaksi 3D antara (A) 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin dan (B) siprofloksasin terhadap DNA gyrase subunit B

### Pembahasan Penelitian

Bawang putih merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak khasiat pengobatan. Penelitian secara farmakologi membuktikan bahwa bawang putih memiliki berbagai efek misalnya pada penyakit kardiovaskuler, menguatkan sistem imun sebagai agen anti tumor dan efek antioksidan, serta sebagai anti mikroba (Goncagul and Ayaz, 2009).

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 24 jam dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Etanol digunakan sebagai pelarut penyari karena merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga mampu melarutkan senyawa yang memiliki kepolaran relatif rendah hingga relatif tinggi (Wulandari, 2011).

Ekstrak kental etanolik yang diperoleh pada proses maserasi selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut metanol, etilasetat, dan n-heksan berdasarkan metode ekstraksi cair-cair (*liquid extraction*). Pelarut metanol, etilasetat, dan n-heksan digunakan untuk mendapatkan fraksi ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran senyawa yaitu sebagai fraksi polar, semi-polar, dan non-polar.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan fraksi metanol,

etilasetat, dan n-heksan dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 25%, 50%, dan 75%.

Hasil nilai DZI dapat diinterpretasikan untuk mengetahui KHM dari setiap fraksi. Nilai KHM berfungsi untuk mengetahui konsentrasi minimal dari setiap fraksi pelarut untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa nilai KHM fraksi metanol, fraksi etilasetat, dan fraksi n-heksan berturut-turut berada pada konsentrasi 75%, 5%, dan 1%. Dari hasil tersebut fraksi n-heksan diketahui lebih poten dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Hasil penelitian Rainy *et al* (2014) membuktikan bahwa ekstrak bawang putih dalam pelarut n-heksan terbukti mengandung senyawa-senyawa hasil degradasi allicin seperti senyawa disulfida dan trisulfida dimana senyawa-senyawa ini yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa penghambatan terkecil hingga terbesar secara berturut-turut dimiliki oleh fraksi metanol, fraksi etilasetat, dan fraksi n-heksan. Hasil analisa tersebut juga diketahui bahwa fraksi n-heksan dan fraksi etilasetat memiliki penghambatan yang hampir

sama dan lebih signifikan dibandingkan dengan fraksi metanol. Hal tersebut diduga karena senyawa-senyawa organosulfur lebih banyak tersari oleh pelarut semi polar dan non polar. Menurut penelitian dari Bakht *et al* (2011) membuktikan bahwa ekstrak metanol tidak menunjukkan zona hambat terhadap berbagai bakteri patogen dibandingkan dengan ekstrak etilasetat.

Uji identifikasi senyawa organosulfur dilakukan secara GC-MS terhadap fraksi etilasetat dan fraksi n-heksan karena kedua fraksi ini menunjukkan signifikansi pada uji aktivitas antibakteri dibandingkan dengan fraksi metanol. Berdasarkan hasil identifikasi melalui instrumen GC-MS membuktikan bahwa dalam fraksi etilasetat dan fraksi n-heksan mengandung senyawa-senyawa organosulfur hasil degradasi allisin seperti dialil monosulfida, dialil disulfida, dialil trisulfida, dialil tetrasulfida, 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin, dan allisin.

Senyawa-senyawa tersebut selain 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin telah diketahui memiliki efek sebagai antibakteri (Mikaili *et al*, 2013). Sedangkan menurut penelitian Nikolic pada tahun 2003, senyawa 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin diketahui memiliki efek dalam menghambat agregasi trombosit, siklooksigenase, dan 5-lipoksigenase sehingga berperan dalam regulasi tekanan darah.

Aktivitas antibakteri senyawa-senyawa organosulfur dapat diteliti melalui pengujian secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Protein yang digunakan sebagai target dalam penelitian ini adalah enzim DNA gyrase subunit B. Protein ini digunakan sebagai target karena terkait dengan penelitian dari Prescott *et al* (2005) yang menduga

bahwa senyawa-senyawa organosulfur yang terkandung dalam bawang putih berperan sebagai antibakteri dengan menghambat enzim DNA gyrase dan mengganggu aktivitas lain yang terkait dengan DNA.

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua senyawa yang diuji memiliki afinitas dalam mengikat protein target. Ligan referensi dan siprofloksasin sebagai kontrol menghasilkan hasil yang terbaik karena memiliki energi ikatan paling rendah, yaitu masing-masing sebesar -8,15 dan -5,79 kkal/mol. Hasil *docking* terhadap ligan referensi memberikan hasil yang terbaik karena senyawa ini merupakan ligan asli dari protein ini. Sedangkan senyawa-senyawa organosulfur menghasilkan energi ikatan yang bervariasi namun memiliki selisih yang minimal. Hasil terbaik dari senyawa organosulfur yang diuji adalah 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin dengan energi ikatan sebesar -4,07 kkal/mol.

Hasil tersebut membuktikan bahwa senyawa-senyawa organosulfur dalam fraksi etilasetat dan fraksi n-heksan dari ekstrak etanolik bawang putih memiliki mekanisme yang identik dengan antibiotik siprofloksasin, yaitu dengan menghambat aktivitas enzim DNA gyrase subunit B. Selain itu berdasarkan energi ikatannya, diketahui bahwa senyawa-senyawa organosulfur tersebut memiliki afinitas yang relatif sama dengan antibiotik siprofloksasin.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi metanol, etilasetat, dan n-heksan dari ekstrak etanolik bawang putih (*Allium sativum* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*. Penghambatan fraksi n-heksan dan fraksi etilasetat

- lebih signifikan daripada fraksi metanol.
- Hasil analisis GC-MS dapat diketahui bahwa fraksi etilasetat dan fraksi n-heksan mengandung senyawa organosulfur (dialil disulfida, dialil trisulfida, dialil tetrasulfida, 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin, dietil mercaptole, allicin, dll).
  - Hasil uji *in silico* menunjukkan bahwa senyawa organosulfur memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat enzim DNA gyrase subunit B secara *molecular docking* dengan aplikasi AutoDockTools.

## SARAN

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mempertahankan stabilitas senyawa-senyawa organosulfur. Selain itu juga perlu dilakukan isolasi senyawa-senyawa organosulfur dari ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.).

Penelitian lanjutan dengan metode *molecular docking* juga perlu dilakukan terhadap berbagai protein dari bakteri untuk mengetahui target lain dari senyawa organosulfur. Selain itu dapat juga dilakukan *docking* terhadap protein dalam tubuh manusia untuk mengetahui aktivitas farmakologi senyawa organosulfur terhadap sistem fisiologi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bakht, J., Tayyab, M., Ali, H., Islam, A., Shafi, M. (2011). Effect of different solvent extracted sample of *Allium sativum* (Linn) on bacteria and fungi. *African Journal of Biotechnology*. 10 (31) : 5910-5915
- Bush, L.M., Perez, M.T. (2014). Shigellosis (Bacillary Dysentery). Retrieved 12 Mei, 2014, from [http://www.merckmanuals.com/professional/infectious\\_diseases/gram-negative\\_bacilli/shigellosis.html](http://www.merckmanuals.com/professional/infectious_diseases/gram-negative_bacilli/shigellosis.html)
- CDC. (2013). Shigellosis. Retrieved 9 Mei, 2014, from <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/shigellosis/#top>
- CLSI. (2007). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA. 27 (1)
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Posey, L.M. (2008). *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach*. 17<sup>th</sup> Ed. Mc Graw Hill
- Eja, M.E., Asikong B.E., Abriba, C., Arikpo, G.E., Anwan, E.A., Enyi-Idoh, K.E. (2007). A Comparative Assessment of the Antimicrobial Effects of Garlic (*Allium sativum*) and Antibiotics on Diarrheagenic Organism. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 38 (2) : 343-348
- Gandjar, I.G., Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Goncagul, G., Ayaz, E. (2010). Antimicrobial Effect of Garlic (*Allium sativum*). *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. 5 : 91-93
- Hale, T.L., Keusch, G.T. (1996). Shigella. Dalam Baron, S. (1996). *Medical Microbiology*, 4th ed – NCBI Bookshelf. University of Texas Medical Branch at Galveston. Retrieved 15 Mei, 2014, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8038/>

- Herwana, E., Surjawidjaja, J.E., Salim, O.C., Indriani, N., Bukitwetan, P., Lesmana, M. (2010). Shigella-Associated Diarrhea in Children In South Jakarta, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 41 (2) : 418-425
- Hudzicki, J. (2013). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. Retrieved 15 Mei, 2014, from <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>
- Ilic, D.P., Nikolic, V.D., Nikolic, L.B., Stankovic, M.Z., Stanojevic, L.P., Cakic, M.D. (2011). Allicin and Related Compounds : Biosynthesis, Synthesis and Pharmacological Activity. *Physics, Chemistry and Technology.* 9 (1) : 9-20
- Karuppiah, P., Rajaram, S. (2012). Antibacterial Effect of *Allium sativum* Cloves and *Zingiber officinale* rhizomes Against Multiple-drug Resistant Clinical Pathogens. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2 (8) : 597-601
- Kroemer, R.T. (2007). Structure-Based Drug Design : Docking and Scoring. *Current Protein and Peptide Science.* 8 : 312-328
- Lalitha, M.K. (2004). *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing.* Vellore, Tamil Nadu
- Mikaili, P., Maadirad, S., Moloudizargari, M., Aghajanshakeri, S., Sarahroodi, S. (2013). Therapeutic Uses and Pharmacological Properties of Garlic, Shallot, and Their Biologically Active Compounds. *Iran J Basic Med Sci.* 16 (10) : 1031-1048
- Morris, G.M., Goodsell, D.S., Pique, M.E., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., Hart, W.E., Halliday, S., Belew, R., Olson, A.J. (2012). Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors. User Guide
- Nafianti, S., Sinuhaji, A.B. (2005). Resistensi Trimetoprim-Sulfametoksazol Terhadap Shigellosis. *Sari Pediatri.* 7 (1) : 39-44
- NIH. (2013). NIH-funded Researchers Begin Trial of Shigella Vaccine Candidates. Retrieved 25 Mei, 2014, from [www.nih.gov/news/health/feb2013/niaid-20.htm](http://www.nih.gov/news/health/feb2013/niaid-20.htm)
- Nikolic, V. (2003). Synthesis and Characterization of Allicin, its Derivates and Inclusion Complexes (In Serbian), *Ph.D Thesis.* Faculty of Technology. Leskovac
- Prasetya, T. (2011). Simulasi Dinamika Molekul Kompleks *Histone Deacetylase* (HDAC) Kelas II *Homo Sapiens* dengan *Suberoylanilide Hydroxamic Acid* (SAHA) dan Turunannya sebagai Inhibitor Kanker Serviks. *Skripsi,* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. (2005). *Microbiology.* 6th Ed. Mc Graw Hill. Boston. p. 992
- Public Health Agency of Canada. 2005. Shigellosis. Retrieved 12 Mei, 2014, from <http://dsol-smed.phac-aspc.gc.ca/dsol-smed/ndis/diseases/shig-eng.php>
- Rainy, G., Amita, S., Preeti, M., Shukla, R.N. (2014). Study of chemical composition of garlic oil and comparative analysis of cotrimoxazole in response to *in vitro* antibacterial activity. *Int Res J Pharm.* 5 (2) : 97-101

- Rizvi, S.M.D., Shakil, S., Haneef, M. (2013). A Simple Click by Click Protocol to Perform Docking : Autodock 4.2 Made Easy for *Non-Bioinformaticians*. *EXCLI Journal*. 12 : 831-857
- Sadek, P. (2002). The HPLC Solvent Guide. Wiley-Interscience publication. [Chart].
- Subekti, D., Oyofu, B.A., Tjaniadi, P., Corwin, A.L., Larasati, W., Putri, M., *et al.* (2001). *Shigella spp.* Surveillance in Indonesia : the Emergence or Reemergence of *S. Dysenteriae*. *Emerging Infectious Diseases*. 7 (1) : 137-140
- Tattelman, E. (2005). Health Effects of Garlic. *American Family Physician*. 72 (1) : 103-106
- Teodoro, M.L., Phillips Jr, G.N., Kaviraki, L.E. (2001). Molecular Docking : A Problem With Thousand of Degrees of Freedom
- Wulandari, I. (2011). Teknologi ekstraksi dengan metode maserasi dalam etanol 70% pada daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus Benth*) di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO-OT) Tawangmangu, *Skripsi*, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Yogyakarta.