



## Aktivitas antibakteri fraksi ekstrak *black garlic* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan metode difusi cakram

*Antibacterial activity extract fraction of black garlic on Propionibacterium acnes bacteria with disc diffusion method*

Elisabeth Oriana Jawa La, Rensiana Kartini Pandi, Ni Ketut Esati  
Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganasha

### ABSTRACT

*Black garlic is the result of processing garlic through a heating process at a temperature of 70°C with a relative humidity of 70-80% for 21 days without additional treatment so that the water content decreases. Black garlic has antibacterial activity due to the presence of bioactive compounds from the phenolic and flavonoid groups. This study aims to determine the secondary metabolite content and antibacterial activity of the black garlic extract fraction against Propionibacterium acnes bacteria. Extraction of Black garlic by maceration method used 96% ethanol as solvent and to obtain extract fraction of Black garlic by multilevel fractionation method using n-hexane, ethyl acetate, and ethanol as solvents. To determine the content of secondary metabolites, phytochemical screening was carried out in each fraction. Antibacterial activity test of Propionibacterium acnes used disc diffusion method with various concentrations of n-hexane, ethyl acetate, ethanol fractions 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, positive control (clindamycin 1%), negative control and media control. Data analysis was carried out with qualitative, quantitative, and statistical analysis. The results obtained were the extract fraction of black garlic contains secondary metabolites of flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. The results of the antibacterial activity test showed that the garlic extract fraction had antibacterial activity seen from the presence of an inhibition zone. The largest inhibition zone in the n-hexane fraction of 10% concentration of  $8.50 \pm 0.10$  mm was included in the medium category. The positive control was  $12.02 \pm 1.41$  mm and the negative control gave no inhibition zone.*

**Keywords:** *Garlic; black garlic; black garlic extract fraction; antibacterial; Propionibacterium acnes; disc diffusion.*

### ABSTRAK

*Black garlic (bawang hitam) adalah hasil dari pengolahan bawang putih melalui proses pemanasan pada suhu 70°C dengan kelembaban relatif 70-80 % selama 21 hari tanpa perlakuan tambahan sehingga kadar airnya menurun. Black garlic memiliki aktivitas antibakteri karena adanya senyawa bioaktif dari kelompok fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak black garlic terhadap bakteri Propionibacterium acnes. Ekstraksi Black garlic dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dilanjutkan dengan fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, etanol. Skrining fitokimia pada setiap fraksi dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Uji aktivitas antibakteri Propionibacterium acnes menggunakan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi fraksi n-heksana, etil asetat, etanol 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, kontrol positif (klindamisin 1%), kontrol negatif dan kontrol media. Analisis data dilakukan dengan analisis kualitatif, kuantitatif, dan analisis statistik. Hasil penelitian yang diperoleh yaitu fraksi ekstrak black garlic memiliki kandungan metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi ekstrak black garlic memiliki aktivitas antibakteri dilihat dari adanya zona hambat. Zona hambat terbesar pada fraksi n-heksana konsentrasi 10% sebesar  $8.50 \pm 0.10$  mm termasuk ke dalam kategori sedang. Kontrol positif sebesar  $12.02 \pm 1.41$  mm dan kontrol negatif tidak memberikan zona hambat.*

**Kata kunci:** *Bawang putih; black garlic; fraksi ekstrak black garlic; antibakteri, Propionibacterium acnes; difusi cakram.*

**Korespondensi:** Elisabeth Oriana Jawa La, Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganasha, Jalan Tukad Barito Timur No. 57, Denpasar, Bali, Indonesia, (0361) 4749310, [info@farmasimahaganasha.ac.id](mailto:info@farmasimahaganasha.ac.id)

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis dan memiliki tanah yang subur. Berbagai jenis tanaman banyak ditemukan di Indonesia dan dapat diolah menjadi obat yang berkhasiat bagi kesehatan serta dikenal sebagai obat tradisional (1). Penggunaan obat tradisional didukung oleh kecenderungan masyarakat yang kembali ke alam (*back to nature*) dan melakukan pengobatan secara alami (2). Seiring dengan perkembangan zaman, pemakaian obat tradisional semakin berkembang pesat salah satunya sebagai antibakteri (3).

Salah satu masalah kesehatan kulit akibat infeksi bakteri adalah jerawat (*Acne vulgaris*). Jerawat adalah peradangan yang disertai dengan penyumbatan saluran kelenjar minyak kulit dan rambut (saluran *pilosebacea*) (4). *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang ikut berperan dalam terjadinya jerawat. *Propionibacterium acnes* merupakan salah satu flora normal yang berada di kulit. Bakteri *Propionibacterium acnes* mengeluarkan enzim hidrolitik yang menyebabkan kerusakan folikel polisebasea dan menghasilkan lipase, hialuronidase, protease, lesitinase, dan neurimidase yang ikut berperan dalam terjadinya proses peradangan (5).

Salah satu bahan alami yang digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan jerawat adalah bawang putih (*Allium sativum* L.). Bawang putih (*Allium sativum* L.) mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri seperti flavonoid, saponin, alkaloid dan triterpenoid (1). Umumnya bawang putih (*Allium sativum* L.) hanya digunakan sebagai bumbu masakan oleh masyarakat karena memberikan cita rasa yang enak dan bau yang khas yang menyengat. Untuk menghilangkan bau menyengat pada bawang putih (*Allium sativum* L.) maka perlu dilakukan pengolahan lebih lanjut yaitu dibuat dalam bentuk *black garlic*.

*Black garlic* merupakan salah satu produk olahan bawang putih yang paling banyak diminati oleh masyarakat. *Black garlic* memiliki rasa manis dan tidak menyengat. *Black garlic* adalah bawang putih yang

diolah dengan pemanasan pada suhu, waktu dan kelembaban tertentu sehingga menjadi hitam, lunak dan menghasilkan rasa yang manis. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa *black garlic* memiliki aktivitas antibakteri yang dipengaruhi oleh adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (6),(7). Pemanasan *black garlic* optimum pada suhu 70°C selama 21 hari menghasilkan kadar senyawa *polyphenol* dan flavonoid yang mengalami peningkatan (5). Senyawa *polyphenol* dan flavonoid diketahui memiliki aktivitas antibakteri (3).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah fraksi ekstrak *black garlic* memiliki kandungan metabolit sekunder dan untuk mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri fraksi ekstrak *black garlic* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Sains Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi fraksi ekstrak *black garlic*. Variabel terikat yang digunakan adalah zona hambat berupa zona bening yang terbentuk dari uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu suhu pemanasan bawang putih, suhu inkubasi, waktu inkubasi, waktu pemanasan, waktu ekstraksi, waktu pengujian, media pertumbuhan bakteri, larutan uji, penyimpanan ekstrak dan fraksi ekstrak *black garlic*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rice cooker* (Miyako MRJ-208) termometer air raksa 110°C, perlengkapan gelas dan tabung (Pyrex), corong pisah (Pyrex), cawan petri, *autoclave*, *paper disk* 6 mm (MN 827 ATD REF : 484000), inkubator, jangka sorong (Kenmaster ketelitian 0,02mm), timbangan analitik (Ohaus AF-300), mikro-pipet (Dragonlab), lemari LAF, oven, *rotary evaporator* (IKA RV 8), mikroskop Binokuler (Olympus Cx23), spektrofotometer (TSG 10 S UV). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak *black garlic*

*aquadest*, *Propionibacterium acnes*, media MHA, kloramphenikol 1%, Larutan NaCl 0,9%, alkohol 70%, Etanol 96%, etil asetat, n-heksana, *aquadest* steril, NaOH, HCl 2 N, HCl Pekat, serbuk Mg, kloroform amonia, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N, FeCl<sub>3</sub> 1%, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Wagner*, kristal violet, iodine, safranin, lugol, dan asetat anhidrat.

Determinasi bawang putih (*Allium sativum* L.) dilakukan di Kebun Raya "Eka Karya" Bali. Bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan kriteria berukuran besar, tidak busuk, dan masih utuh menyatu dengan siung yang lain ditimbang sebanyak 2 kg, dimasukkan dalam *rice cooker* yang telah dialasi tisu kering. *Rice cooker* dipanaskan dalam mode *warm* (70°C) selama 21 hari. Pemantauan suhu dilakukan dengan termometer air raksa 110°C. Hasil dalam bentuk *black garlic* dihaluskan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memudahkan dalam proses ekstraksi.

Ekstraksi *black garlic* dilakukan dengan metode maserasi 3 kali 24 jam dengan perbandingan 1:100. Sebanyak 100 g *black garlic* direndam dengan pelarut etanol 96% 1000 mL. Sampel kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental *black garlic*. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung % rendemen ekstrak.

### Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk, bau, rasa, dan warna sampel menggunakan pancaindera.

### Uji kadar air

Penetapan kadar air menggunakan metode gravimetri. Metode gravimetri merupakan analisa kualitatif yaitu komponen zat uji ditetapkan berdasarkan penimbangan sebelum dan sesudah zat uji mengalami suatu proses pemisahan (8). Uji kadar air dilakukan dengan menimbang 2 g *black garlic* masukkan ke dalam botol timbang, kemudian dipanaskan di dalam oven suhu 105°C selama

30 menit lalu timbang kembali. Perhitungan nilai kadar air dilakukan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Berat awal simplisia (g)} - \text{Berat akhir simplisia (g)}}{\text{Berat awal simplisia (g)}} \times 100\%$$

### Uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan mereaksikan kalium dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) dan etanol dalam suasana asam. Jika larutan bebas etanol maka akan terbentuk warna campuran dari larutan ekstrak, larutan kalium dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) dan larutan asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), tetapi jika larutan ekstrak mengandung etanol maka campuran akan terbentuk warna biru.

### Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak *black garlic* dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak tercampur, yakni sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (9). Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran (10). Penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah *n*-heksana (nonpolar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Proses fraksinasi akan dimulai dengan pelarut nonpolar-semipolar-polar

### Uji skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia akan dilakukan pada ekstrak *black garlic* dan fraksi ekstrak *black garlic*, diantaranya:

#### 1) Uji flavonoid

Sebanyak 5 mL ekstrak dan fraksi ekstrak *black garlic* (*Allium sativum* L.) dimasukkan ke dalam masing-masing 1 tabung reaksi. Tambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat, terbentuk warna jingga menunjukkan adanya flavonoid (4).

#### 2) Uji alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak dan fraksi ekstrak

*black garlic* (*Allium sativum* L.) dilarutkan dengan 10 mL kloroform beramonia ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N dikocok sampai terbentuk 2 lapisan, ambil lapisan paling atas kemudian dibagi ke dalam masing-masing 3 tabung rekasi (1) :

- a. Tabung 1 ditetesi dengan pereaksi *Dragendorff* 2-3 tetes, hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan atau kekeruhan yang berwarna hitam.
  - b. Tabung 2 ditetesi dengan pereaksi *Mayer* 2-3 tetes, hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan putih/kekuningan.
  - c. Tabung 3 ditetesi dengan pereaksi *Wagner* 2-3 tetes, hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan coklat kemerahan.
- 3) Uji saponin  
Sebanyak 5 mL ekstrak dan fraksi ekstrak *black garlic* (*Allium sativum* L.) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, tambahkan 10 mL *aquadest* ke dalam tabung reaksi berisi ekstrak dan lakukan pengocokan kuat selama 30 detik kemudian amati perubahan yang terjadi. Hasil positif jika terbentuk busa stabil 1-10 cm selama 30 detik. Uji penegasan dilakukan dengan menambahkan 1 tetes asam klorida 2N (11).
- 4) Uji tanin  
Sebanyak 2 mL ekstrak dan fraksi ekstrak *black garlic* (*Allium sativum* L.) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi tambahkan 2 mL *aquadest* panaskan sebentar dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Timbulnya warna biru kehitaman dan hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (12).
- 5) Uji terpenoid dan steroid  
Sebanyak 2 mL ekstrak dan fraksi ekstrak *black garlic* (*Allium sativum* L.) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi tambahkan pereaksi *Lieberman-Bourchard*. Perubahan warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa steroid dan perubahan warna merah-ungu menunjukkan adanya triterpenoid (13).

### Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dalam beberapa tahapan sebagai berikut:

- 1) Sterilisasi  
Alat dan bahan yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan kemudian dibungkus dengan kertas coklat lalu dimasukkan dalam *autoclave*. Sterilisasi dilakukan dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- 2) Pembuatan media agar  
Timbang 12,16 g *mueller hinton agar* (MHA), larutkan dengan akuades 320 mL dalam erlenmeyer yang diberi tutup dengan kassa steril dan dibungkus dengan kertas coklat, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Sterilkan di dalam *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit. Tuang media ke dalam cawan petri dan tabung reaksi (media miring).
- 3) Peremajaan bakteri  
Peremajaan bakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan memindahkan bakteri ke bakteri ke media agar miring yang baru menggunakan *cotton swab* steril. Peremajaan bakteri bertujuan agar bakteri memulai metabolisme kembali dengan nutrisi pada media agar yang baru.
- 4) Pembuatan suspensi bakteri uji  
Bakteri disuspensikan dalam 10 mL larutan NaCl 0,9%. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm, diukur %T 25 (setara dengan jumlah sel 10<sup>8</sup> CFU/mL) sehingga diperoleh nilai persen transmittan.
- 5) Pembuatan varian konsentrasi larutan  
Sampel sebanyak 1 g ditimbang kemudian dilarutkan dengan 10 mL *aquadest* steril dalam labu ukur 10 mL hingga diperoleh konsentrasi fraksi 10%. Larutan 10% kemudian diencerkan menjadi 8%, 6%, 4%, dan 2%. Pengenceran konsentrasi dilakukan dengan cara:  
$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$
  
Dimana:  
V<sub>1</sub> = Volume larutan yang akan diambil

$C_1$  = Konsentrasi larutan yang akan diambil

$V_2$  = Volume larutan yang akan dibuat

$C_2$  = Konsentrasi larutan yang akan dibuat

#### 6) Uji antibakteri

Siapkan suspensi bakteri dan media MHA yang sudah disterilisasi. Suspensi bakteri diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian tuangkan 20 mL media MHA ke dalam cawan berisi suspensi bakteri tutup kembali cawan petri. Homogenkan suspensi bakteri dengan media agar dengan cara memutar cawan petri pada meja datar membentuk angka 8 sehingga bakteri dapat menyebar dengan baik ke seluruh permukaan media. Diamkan 2-3 menit hingga media memadat dengan baik. Ambil *Paper disk* yang telah direndam dalam larutan uji dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, kontrol positif klindamisin 1%, kontrol negatif (aquadest) menggunakan pinset, letakkan diatas media NA yang telah memadat. Proses pengerjaan uji aktivitas antibakteri dilakukan dalam LAF (*Laminar air flow*). Lakukan inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C dengan posisi cawan terbalik untuk mencegah uap air masuk ke dalam media. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidak zona hambat berupa zona bening yang terbentuk disekeliling

kertas cakram/*paper disk*. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Perhitungan zona hambat dapat dilakukan dengan cara:

$$\frac{D_v + D_h}{2} - n$$

Dimana:

$D_v$  = Diameter vertikal

$D_h$  = Diameter horizontal

$N$  = Diameter *disk*

#### Analisa data

Data zona hambat yang terbentuk dianalisis dan diuji statistik menggunakan SPSS.

#### HASIL

Perhitungan persentase rendemen ekstrak *black garlic* diperoleh hasil sebesar 30,40%. Untuk mengetahui mutu dan kualitas bahan baku obat tradisional (simplisia dan ekstrak) *black garlic* maka dilakukan pengujian organoleptis, penetapan kadar air serta pengujian kimiawi dengan skrining fitokimia.

Pengujian organoleptis dilakukan pada bahan baku simplisia segar bawang putih, *black garlic* dan ekstrak etanol *black garlic*. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil uji organoleptic**

<b>Sampel</b>	<b>Bentuk</b>	<b>Bau</b>	<b>Rasa</b>	<b>Warna</b>
Bawang putih ( <i>Allium sativum</i> L.)	Padat	Menyengat khas bawang putih	Pedas	Putih
<i>Black garlic</i>	Kenyal (seperti dodol)	Harum, tidak menyengat	Manis	Hitam
Ekstrak <i>black garlic</i>	kental	Harum, tidak menyengat	-	hitam

Pada tabel 1. Uji organoleptis dilakukan pada simplisia segar bawang putih untuk melihat karakteristik asli dari bawang putih sebelum diubah menjadi bentuk lain yaitu *black garlic*. Pada pengujian sampel dari ketiga hasil pengujian memberikan hasil yang berbeda baik dari bentuk, bau, rasa dan warna seperti pada tabel 1. Untuk memenuhi parameter mutu fisik simplisia

perlu dilakukan pengujian kadar air yang menggambarkan batas maksimal kandungan air yang ada dalam simplisia tersebut. Hasil pengujian kadar air dapat dilihat pada tabel 2. Pada tabel 2 kadar air yang diperoleh sebesar 3,86% memenuhi persyaratan yang ditetapkan untuk standarisasi simplisia.

**Tabel 2. Hasil penetapan kadar air *black garlic***

Replikasi	Sampel	Berat cawan porselin (g)	Berat cawan porselin dan serbuk sebelum dipanaskan (g)	Berat cawan porselin dan serbuk setelah dipanaskan (g)	Kadar air (%)	Rata-rata (%)	Ket.
1.	<i>Black garlic</i> 2g	14,807	16,807	16,722	4,25	3,86	<10%
2.	<i>Black garlic</i> 2g	14,709	16,709	16,625	4,20		
3.	<i>Black garlic</i> 2g	14,818	16,818	16,755	3,15		

Pengujian bebas etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak hasil ekstraksi dengan pelarut etanol tidak mengandung etanol. Adanya kandungan etanol dalam suatu ekstrak dapat mempengaruhi hasil dari pengujian karena pengujian yang dilakukan adalah

uji aktifitas antibakteri. Hasil pengujian pada tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi *black garlic* tidak mengandung etanol karena tidak terjadi perubahan warna. Hasil pengujian bebas etanol dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil uji bebas etanol**

Sampel	Pereaksi	Reaksi Positif	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Ekstrak <i>black garlic</i>	Ekstrak + H <sub>2</sub> SO <sub>4p</sub> + K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Perubahan warna menjadi kecoklatan	Larutan tidak berubah warna	Ekstrak tidak mengandung etanol
Fraksi Etanol	Fraksi + H <sub>2</sub> SO <sub>4p</sub> + K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Perubahan warna menjadi kecoklatan	Larutan tidak berubah warna	Fraksi tidak mengandung etanol

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak dan fraksi-fraksi *black garlic*. Skrining fitokimia dilakukan untuk membuktikan adanya kandungan metabolit sekunder

dalam sampel. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil skrining fitokimia**

Metabolit sekunder	Pengujian	Hasil pengujian	Ekstrak Etanol <i>Black Garlic</i>	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	Terbentuk warna merah atau jingga	+	+	+	+
Alkaloid	Pereaksi <i>Dragendorff</i>	Terbentuk endapan/kekeruhan berwarna hitam	+	-	+	+
	Pereaksi <i>Mayer</i>	Terbentuk endapan putih kekuningan	+	-	+	+
	Pereaksi <i>Wagner</i>	Terbentuk endapan coklat kemerahan	+	+	+	+
Saponin	Akuades + HCl 2N	Terbentuk busa 1-10cm	+	+	-	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Terbentuk warna biru akehitan/hijau kehitaman	+	+	+	+
Terpenoid	<i>Lieberman-Burchard</i>	Terbentuk warna merah-ungu	-	-	-	-
Steroid	<i>Lieberman-Burchard</i>	Terbentuk warna hijau-biru	-	-	-	-

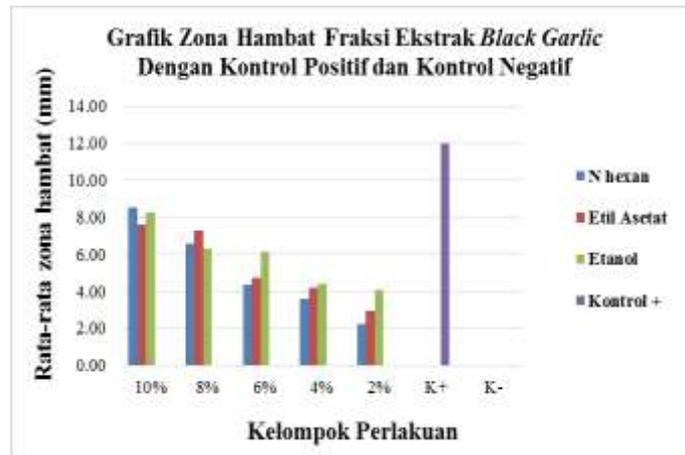
\*) Keterangan: Tanda - : hasil negatif dan tanda +: hasil positif

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Pada tabel 5 hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan setiap fraksi dalam berbagai konsentrasi memberikan aktivitas antibakteri terlihat dari diameter zona hambat

yang terbentuk disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya konsentrasi dari setiap fraksi. Diameter zona hambat terbesar dihasilkan oleh kontrol positif. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil pengukuran diameter zona hambat**

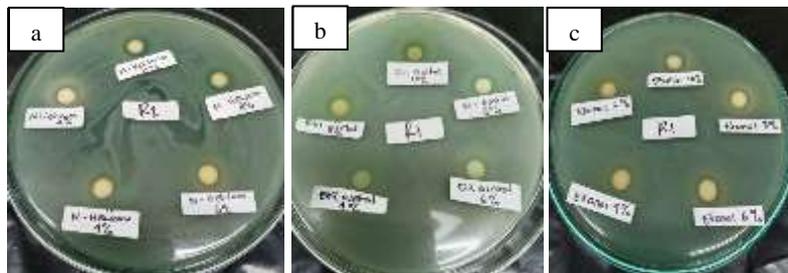
Perlakuan	Konsentrasi (%)	Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)	Mean ± SD (mm)	Kekuatan Zona Hambat
Fraksi n-heksana	2%	1	2,66	2.22±0.43	Lemah
		2	2,19		
		3	1,81		
	4%	1	4,33	3.61±0.84	Lemah
		2	2,68		
		3	3,81		
	6%	1	4,31	4.32±0.29	Lemah
		2	4,61		
		3	4,04		
	8%	1	7,31	6.59±1.84	Sedang
		2	7,96		
		3	4,49		
	10%	1	8,61	8.50±0.10	Sedang
		2	8,41		
		3	8,49		
Fraksi etil asetat	2%	1	3,84	2.93±0.86	Lemah
		2	2,81		
		3	2,14		
	4%	1	5,42	4.17±1.09	Lemah
		2	3,53		
		3	3,55		
	6%	1	6,30	4.70±1.41	Lemah
		2	3,61		
		3	4,20		
	8%	1	7,47	7.26±0.24	Sedang
		2	7,00		
		3	7,32		
	10%	1	7,62	7.59±0.08	Sedang
		2	7,64		
		3	7,50		
Fraksi Etanol	2%	1	4,08	4.09±0.02	Lemah
		2	4,11		
		3	4,09		
	4%	1	4,21	4.42±0.19	Lemah
		2	4,46		
		3	4,59		
	6%	1	5,31	6.12±1.05	Sedang
		2	5,75		
		3	7,31		
	8%	1	6,33	6.30±0.10	Sedang
		2	6,19		
		3	6,38		
	10%	1	8,88	8.28±0.84	Sedang
		2	7,32		
		3	8,64		
Kontrol positif	1%	1	12,61	12.02±1.41	Kuat
		2	10,41		
		3	13,04		
Kontrol negatif		1	-	-	Tidak terdapat zona hambat
		2	-		
		3	-		



Gambar 1. Grafik zona hambat fraksi ekstrak *black garlic* dengan kontrol positif dan kontrol negatif

Grafik pada gambar 1. menunjukkan fraksi pada setiap konsentrasi mengalami peningkatan zona hambat berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi fraksi. Konsentrasi fraksi 10% memberikan hasil zona hambat terbesar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, namun konsentrasi kontrol positif memberikan hasil

yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi pada ketiga fraksi. Fraksi ekstrak etanol *black garlic* menunjukkan hasil zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan etil asetat pada konsentrasi 2,4,6 dan 8



Gambar 2. Zona hambat fraksi *n*-heksana (a), fraksi etil asetat (b), dan fraksi etanol

Gambar 2. menunjukkan besarnya zona hambat yang terbentuk pada setiap fraksi ekstrak *black garlic*, pada setiap replikasi berbeda-beda. Hasil pada kontrol negatif tidak terdapat zona hambat disekeliling kertas cakram. Kontrol positif, fraksi etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat *black garlic* pada semua konsentrasi

menunjukkan adanya zona hambat atau zona bening disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat terbesar dihasilkan oleh kontrol positif. Pada fraksi etanol ekstrak *black garlic* memberikan zona hambat yang lebih baik dari fraksi etil asetat dan *n*-heksan.

## PEMBAHASAN

Uji organoleptik merupakan pengujian awal yang dilakukan pada simplisia maupun ekstrak dari simplisia tersebut dengan mengamati bentuk, bau, rasa dan warna. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa *black garlic* memiliki bentuk, bau, rasa, dan warna yang berbeda dengan bawang putih (*Allium sativum* L.).

Hal ini dipengaruhi adanya proses pemanasan dalam pembuatan *black garlic*.

Pemanasan pada *black garlic* menyebabkan kadar air berkurang sehingga mempengaruhi bentuk dan warna dari bawang putih (*Allium sativum* L.) Rasa manis pada *black garlic* disebabkan adanya peningkatan kandungan gula pereduksi akibat pemanasan (1).

Hasil penetapan kadar air *black garlic* adalah 3,86%, sesuai dengan persyaratan standarisasi simplisia yaitu lebih kecil atau tidak lebih dari 10% (14). Kadar air yang tinggi dapat mempengaruhi stabilitas dan kualitas dari simplisia serta dapat lebih mudah ditumbuhi oleh kapang atau mikroorganisme lain.

Uji bebas etanol dilakukan pada ekstrak *black garlic* dan pada fraksi etanol ekstrak *black garlic*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak *black garlic* dan fraksi etanol ekstrak *black garlic* tidak mengandung etanol, dengan demikian hasil pada pengujian aktivitas antibakteri murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi fraksi yang digunakan. Pengujian bebas etanol dengan prinsip reaksi redoks, reduksi oksidasi dimana terjadi reaksi antara kalium dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) dan asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) dengan etanol dalam suasana asam. Reaksi yang terjadi akan menyebabkan terjadinya perubahan warna. Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak *black garlic*, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol untuk memastikan adanya kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak dan fraksi *black garlic*. Skrining fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder dari suatu bahan alam (15). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak *black garlic* mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil positif pada fraksi *n*-heksana yaitu pada senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil positif pada fraksi etil asetat yaitu pada senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Hasil positif pada fraksi etanol yaitu pada senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil skrining fitokimia yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan dimana pelarut berperan penting dalam menarik suatu senyawa aktif dari suatu bahan (1).

Berdasarkan grafik zona hambat pada Gambar 1, menunjukkan bahwa besarnya zona hambat yang terbentuk disekeliling kertas cakram berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi fraksi yang digunakan.

Hal ini disebabkan *black garlic* memiliki kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (3). Hasil pengukuran zona hambat dari setiap fraksi yang dapat dilihat pada Tabel 5, menunjukkan bahwa pada konsentrasi fraksi terkecil yaitu 2% hingga konsentrasi fraksi terbesar yaitu 10% menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat disekeliling kertas cakram. Hasil yang diperoleh menunjukkan kekuatan zona hambat terbesar pada fraksi *n*-heksana konsentrasi 10% dengan rata-rata zona hambat  $8.50 \pm 0.10$  mm termasuk dalam kategori sedang. Zona hambat terkecil pada fraksi *n*-heksana konsentrasi 2% dengan rata-rata zona hambat  $2.22 \pm 0.43$  termasuk dalam kategori lemah. Kontrol positif menggunakan klindamisin 1% memberikan zona hambat yang baik baik dengan rata-rata zona hambat  $12.02 \pm 1.41$  mm termasuk dalam kategori kuat. Kontrol negatif menggunakan akuades steril tidak memberikan zona hambat.

Analisis statistik dimulai dengan uji normalitas, hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* diperoleh hasil data terdistribusi secara tidak normal (Sig <0,05). Hasil uji homogenitas memberikan hasil data tidak homogen (Sig <0,05). Analisis statistik kemudian dilanjutkan dengan pengujian statistika non parametrik. uji *Kruskall Wallis* diperoleh Signifikansi 0,00 (<0,05) yang menandakan terdapat perbedaan rata-rata dan pengaruh dari setiap konsentrasi dari setiap fraksi ekstrak *black garlic*. Uji dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk melihat konsentrasi yang memiliki perbedaan yang signifikan (Sig <0,05). Hasil uji analisis statistika dengan uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan yang signifikan dari setiap konsentrasi dengan kontrol negatif yaitu 0.037 dimana Sig <0,05. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dari setiap konsentrasi fraksi.

## SIMPULAN

Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol dari ekstrak *black garlic* memiliki kandungan

metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol dari ekstrak *black garlic* memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter zona hambat <10 mm.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kadar metabolit sekunder yang terdapat dalam setiap fraksi ekstrak *black garlic*. dan aktivitas antibakteri fraksi ekstrak *black garlic* dengan meningkatkan konsentrasi fraksi ekstrak dan jenis bakteri yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Nelwida, N., Berliana, B., & Nurhayati, N. (2019). Kandungan Nutrisi Black Garlic Hasil Pemanasan dengan Waktu Berbeda: Nutritioncontent of Black garlic heated in different times. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 22(1), 53-64..
2. Wardhani, G. A. P. K., Azizah, M., & Hastuti, L. T. (2020). Nilai Total Flavonoid dalam Black Garlic (*Allium sativum* L.) Berdasarkan Fraksi Pelarut dan Aktivitas Antioksidan Value of Total Flavonoids in Black Garlic (*Allium sativum* L.) Based on The Solvent Fraction and Antioxidant Activity. *Jurnal Agroindustri Halal*, 6(1), 20-27
3. Aini, S. Q., dan Shovitri M. (2018). Studi Awal Pemanfaatan Bawang Putih yang dihitamkan sebagai Antibakteri. *J Sains Dan Seni ITS*, 7(1), 9–12.
4. Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indones Med Veterinus*, 4(1), 77.
5. Hafsari, A. R., Tri, C., Toni, S., & Rahayu IL. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Beluntas. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas ( *Pluchea Indica* (L.) Less. ) Terhadap *Propionibacterium Acnes* Penyebab Jerawat. *J Istek*, IX (1), 142161.
6. Aliya, R., Maulana, I. T., & Kodir RA.(2020) Perbandingan Aktivitas Antibakteri Bawang Putih (*Allium sativum* L) dengan Ekstrak Bawang Hitam terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium Acnes*. *Pros Farm* <http://repository.unisba.ac.id/handle/123456789/27470>.
7. Azhar, S. F., Y, K. M., dan Kodir RA.(2021) Pengaruh Waktu Aging dan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan *Black Garlic* yang Dibandingkan dengan Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *J Ris Farm* 1(1), 16–23.
8. Amanto, Bambang Sigit, Siswanti AA. Kinetika Pengeringan Temu Giring (*Curcuma heyneana Valeton & van Zijp*) Menggunakan Cabinet Dryer Dengan Perlakuan Pendahuluan Blanching. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* Vol VIII No 2 107-114.
9. Akhsanita M. (2012). Uji Sitotoksik Ekstrak, Fraksi, dan Sub-Fraksi Daun Jati ( *Tectonagrandis* Linn. f. ) dengan Metode Brineshrimp Lethality Bioassay. Universitas Andalas, 1–52.
10. Wulandari S. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*.
11. Moulia MN, Syarif R, Iriani ES, Kusumaningrum HD, Suyatma NE. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Pangan*. 2018;27(1):55–66.
12. Zahrah H, Mustika A, Debora K. (2019) Aktivitas Antibakteri dan Perubahan Morfologi dari *Propionibacterium acnes* Setelah Pemberian Ekstrak *Curcuma Xanthorrhiza*. *Jurnal Biosains Pascasarja*.;20(3):160.
13. Kementerian Kesehatan RI. (2017) Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.
14. Khumaidi, A., Nugrahani, A. W., dan Gunawan F. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kapas (*Gossypium barbadense* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *J Farm Udayana*, 9(1), 52.
15. Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, P., & Qiao X. (2016). Effects of temperature on the quality of black garlic. *Journal of the Science off Food and Agriculture*, 96(7).