



PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK PETROLEUM ETER BAWANG PUTIH (*Allium sativum* Linn) DENGAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS *Candida albicans**

Nurul Khaira¹, Misrahanum¹, Rinaldi Idroes¹, Muhammad Bahi², Khairan^{2*}

¹Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, 23111

²Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, 23111

*E-mail: khannazia_yusuf@yahoo.com

Abstract. Garlic (*Allium sativum*) contains organosulfur compound that plays an important role as an antibacterial and antifungal activities. Ascorbic acid or vitamin C also has been show has a good activity as an antioxidant and as an antifungal. The aims of the research is to determine the effect of the combination of petroleum ether garlic extract with vitamin C against *Candida albicans*. Zone of inhibition testing done by Kirby-Bauer method. The results showed that the combination of petroleum ether garlic extract with vitamin C in concentration of 50% did not show an activity significantly. Meanwhile, the activity of petroleum ether garlic extract alone at concentration of 50 and 75% showed activities towards *Candida albicans* with a diameter of inhibition zone are 19.46 and 27.46 mm respectively.

Keywords: Garlic (*Allium sativum*), *Candida albicans*, vitamin C, and petroleum ether

I. PENDAHULUAN

Infeksi penyakit yang disebabkan oleh jamur merupakan penyakit yang masih menjadi permasalahan kesehatan di Indonesia. Data menunjukkan bahwa prevalensi penyakit kulit yang disebabkan oleh infeksi jamur di Indonesia pada tahun 2000 mencapai 27,6%. Prevalensi penyakit kuit yang paling banyak ditemukan adalah kandidiasis pada oral, yaitu mencapai 85%, dan umumnya disebabkan oleh *Candida albicans* (*C.albicans*) [1]. Saat ini penggunaan obat anti jamur sintesis sering digunakan untuk mencegah penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur terutama oleh jamur *C.albicans*. Obat sintesis yang sering digunakan sebagai obat antijamur adalah Itrakonazol, Ketokonazol, Flukonazol, Nistatin, Griseofulvin, dan Amfoterisin B. Dalam penggunaannya, obat-obatan ini memiliki efek samping yang tidak diinginkan seperti Nistatin memiliki efek samping diantaranya, mual, muntah dan diare setelah pemakaian peroral [2]. Bawang putih (*Allium sativum*) telah lama digunakan oleh masyarakat dunia sebagai bumbu penyedap pada berbagai jenis makanan. Bawang putih juga telah lama digunakan sebagai tanaman herbal karena dapat menyembuhkan berbagai penyakit seperti antidiabetes, antibakteri, antijamur, antimikrobia

dan juga berfungsi sebagai antikanker [3]. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak bawang terbukti memiliki aktivitas sebagai fungistatik dan fungisida baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro* dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* [4]. Penelitian yang telah dilakukan oleh Barnes *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan Nistatin [5]. Penelitian yang telah dilakukan oleh Bakht *et al.*, (2011) juga memperlihatkan bahwa ekstrak bawang putih pada konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* [6]. Aroma khas pada bawang putih disebabkan oleh adanya kandungan senyawa organosulfur seperti alisin. Alisin adalah senyawa yang terbentuk oleh adanya reaksi antara aliin dan enzim aliinase yang ada dalam bawang putih. Pelukaan bawang putih akan mengaktifkan enzim aliinase untuk bereaksi dengan aliin untuk membentuk alisin. Alisin adalah senyawa organosulfur yang bertanggung jawab sebagai antimikrobia. Alisin bersifat tidak stabil, dan mudah terdekomposisi menjadi senyawa turunan alisin seperti Dialilsulfida (DAS), Dialildisulfida (DADS), Dialiltrisulfida (DATS), Dialiltetrasulfida (DATTS), Vinilditiin, Ajoene, dan senyawa organosulfurlainnya. Semua senyawa turunan alisin ini memiliki sifat sebagai

antidiabetes, antibakteri, antijamur, antimikrobal dan juga berfungsi sebagai antikanker [7]. Vitamin C atau asam askorbat termasuk vitamin yang larut dalam air dan bersifat sebagai antioksidan. Kombinasi asam askorbat dengan bioflavonoid mempunyai aktifitas sebagai antijamur, antioksidan, dan antiperadangan. Disamping itu, pemberian asam askorbat secara oral mampu menghambat infeksi yang disebabkan oleh jamur. Berdasarkan hal tersebut di atas, penulis tertarik melakukan penelitian untuk menguji pengaruh kombinasi ekstrak petroleum eter dari bawang putih dengan vitamin C terhadap aktivitas jamur *Candida albicans*.

II. METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; plat KLT silika gel 60, lampu UV₂₅₄, autoklaf, inkubator, *rotary evaporator*, Bunsen, *Laminar Air Flow* (LAF), jangka sorong, kawat ose, timbangan, Erlenmeyer, gelas kimia, cawan petri, tabung reaksi, pinset, batang pengaduk, sentrifugasi, pipet kapiler dan pipet tetes. Bahan-bahan yang digunakan antara lain; bawang putih (*Allium sativum* Linn), petroleum eter, etil asetat, NaCl 0,9 %, nistatin, *blank disc*, etil asetat, toluen, FeCl₃, magnesium, dimetil sulfoksida (DMSO), vitamin C (asam askorbat), media Saboraud Dextrose Agar (SDA), kertas buram, kapas, aluminium foil, dan akuades. Bawang putih (*Allium sativum* Linn) yang digunakan dilakukan uji determinasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor. Sampel diperoleh dari pasar tradisional Lambaro Aceh Besar, diambil dengan menggunakan teknik sampel acak terkontrol (*random purposive sampling*). Kriteria sampel yang di pilih yaitu berwarna putih dengan ukuran siung yang sama sekitar ± 2 cm. Bawang putih segar sebanyak 500 g yang telah dikupas kulitnya, dilakukan sortasi basah lalu dikeringanginkan pada suhu ruang (25-29 °C) selama 4 minggu. Bawang putih yang telah dikeringanginkan ini selanjutnya digunakan untuk preparasi ekstrak petroleum eter.

Pembuatan Ekstrak Petroleum Eter Bawang Putih

Bawang putih (*Allium sativum* Linn) yang telah dikeringanginkan, selanjutnya dirajang dan dihomogenkan didalam 140 ml akuades steril dengan menggunakan blender pada kecepatan maksimum selama 10 menit. Fungsi dari akuades steril adalah untuk menarik senyawa polar tanaman, Kemudian didiamkan selama 2 menit pada suhu ruang, agar terbentuk reaksi enzimatik. Homegenat yang diperoleh selanjutnya dijenuhkan

dengan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9 % untuk menjaga kestabilan dari bawang putih, kemudian diekstrak dengan menggunakan corong pisah. Fraksi air di pisahkan dan di ekstrak dengan pelarut petroleum eter sebanyak 280 ml kemudian diekstrak kembali menggunakan petroleum eter sebanyak 280 ml agar sisa senyawa yang terbawa molekul air dapat ditarik oleh petroleum eter. Fraksi petroleum eter kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Kemudian ekstrak yang diperoleh disimpan pada suhu -20 °C sampai digunakan [8].

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak petroleum eter bawang putih dimonitoring spot senyawanya menggunakan lempeng silika gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan yaitu toluen : etil asetat (70 : 30).

Skrining Fitokimia

Uji alkaloid

Sebanyak 500 mg ekstrak petroleum eter bawang putih ditambahkan 1 mL asam klorida (HCl) 2 N dan 9 ml akuades, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan masing-masing 3 tetes kedalam 3 tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditetaskan larutan pereaksi (LP) Mayer, tabung reaksi kedua ditetaskan larutan pereaksi Bouchardat, dan tabung reaksi ketiga ditetaskan larutan pereaksi Dragendrof masing-masing sebanyak 2 tetes. Reaksi positif jika larutan pereaksi Mayer endapan menggumpal putih atau kuning, larutan pereaksi Bouchardat terbentuk endapan coklat sampai hitam, dan larutan pereaksi Dragendrof terbentuk endapan kuning jingga. Ekstrak dinyatakan mengandung alkaloid jika 2 dari 3 reaksi diatas memberikan hasil yang positif [9].

Uji flavonoid

Sebanyak 500 mg ekstrak petroleum eter bawang putih ditambahkan 5 tetes etanol 80%. Kemudian dikocok hingga homogen dan selanjutnya ditambahkan 0,5 g magnesium dan HCl 0,5 M. Flavonoid menunjukkan hasil positif jika terbentuk endapan merah muda atau ungu [10].

Uji Saponin

Sebanyak 500 mg ekstrak petroleum eter bawang putih dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan dikocok kuat hingga terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang [10].

Uji Tanin

Sebanyak 500 mg ekstrak petroleum eter bawang putih dimaserasi dengan akuades 10 ml selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat diencerkan dengan akuades sampai hampir tidak berwarna. Sebanyak 2 ml filtrat ditambahkan 2 tetes FeCl_3 10% dan diamati warna yang terbentuk. Hasil positif jika terbentuk warna biru atau hijau yang menunjukkan adanya tanin [10].

Uji Aktivitas *Candida albicans*

Media SDA untuk pertumbuhan *Candida albicans* (*C. albicans*) yang telah disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit digunakan untuk uji aktivitas *C. albicans*. Kemudian ditambahkan 0,5 ml suspensi *Candida albicans* (Strandar Mc Farland 0,5). Media selanjutnya digojok secara perlahan agar tercampur homogen dan dituangkan secara aseptis kedalam cawan petri steril masing-masing 20 ml. Setelah memadat, media ini dapat digunakan untuk uji aktivitas *Candida albicans* dengan meneteskan sejumlah volume sampel ke dalam kertas cakram. Kontrol positif yang digunakan adalah Nistatin, sedangkan kontrol negatif adalah petroleum eter sebanyak 6 $\mu\text{l disc}^{-1}$. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, diamati dan diukur zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam inkubasi menggunakan mistar berskala milimeter (mm) [11].

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman bawang putih dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor, menunjukkan bahwa bawang putih yang digunakan dalam penelitian ini termasuk dalam spesies *Allium sativum* Linn.

Simplisia dan Ekstrak Petroleum Eter Bawang Putih

Simplisia bawang putih yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan, dengan persen simplisia yang dihasilkan adalah sebanyak 92,5%. Sebanyak 250 g simplisia selanjutnya dihomogenkan dengan 140 ml akuades steril. Untuk menjaga kestabilan enzim, kedalam homogenat selanjutnya ditambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 140 ml, kemudian diekstrak dengan 300 ml petroleum eter. Ekstrak disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh hasil ekstrak petroleum eter sebanyak 11,31 g (randemen ekstrak petroleum eter yang dihasilkan adalah 4,5%). Ekstrak yang dihasilkan berwarna kuning kehijauan, dengan aroma khas bawang putih dan memiliki konsistensi kental. Ekstrak ini selanjutnya digunakan untuk

KLT, uji fitokimia, dan uji aktivitas terhadap *Candida albicans*.



Gambar 1. a. bawang putih (*Allium sativum* Linn) segar; b. simplisia bawang putih; dan c. ekstrak petroleum eter bawang putih.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak petroleum eter bawang putih yang dihasilkan dimonitoring spot senyawanya menggunakan KLT dengan menggunakan fase diam silika gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak Toluene:etil asetat (70:30), dan spot yang dihasilkan selanjutnya diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak petroleum eter bawang putih menghasilkan 2 spot senyawa yang dominan dengan nilai Rf masing-masing adalah 0,26 dan 0,6. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia Departemen Kesehatan RI (2009), menjelaskan bahwa hasil KLT senyawa alilsistein dengan menggunakan sistem pelarut yang sama memiliki nilai Rf sebesar 0,59. Nilai Rf ini hampir mirip dengan nilai Rf yang dihasilkan oleh ekstrak petroleum eter bawang putih. Noda spot pada Rf 0,6 diduga mengandung senyawa alilsistein. Alilsistein merupakan salah satu senyawa antijamur yang bekerja dengan mengganggu metabolisme sel *Candida albicans* dengan cara inaktivasi protein, penghambatan. Alilsistein merupakan salah satu senyawa antijamur yang bekerja dengan mengganggu metabolisme sel *Candida albicans* dengan cara inaktivasi protein, penghambatan kompetitif dari senyawa sulfidril atau dengan penghambatan non kompetitif dari fungsi enzim melalui oksidasi. Selain itu alilsistein juga dapat menghambat sintesis DNA dan protein [12].

Uji Fitokimia

Uji skrining fitokimia terhadap ekstrak petroleum eter bawang putih untuk melihat senyawa

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak petroleum eter bawang putih

Senyawa Metabolit Sekunder	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Tanin		
Pereaksi	Dragendrof	Mayer	Bouchardat	Mg.HCl 0,5M	Air	FeCl ₃
Hasil	-	+	-	-	-	-

Keterangan: (+) = menunjukkan hasil positif; (-) = menunjukkan hasil negatif

metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak petroleum eter bawang putih. Skrining fitokimia dilakukan terhadap 4 senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak peroleum eter bawang putih tidak mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin karena uji fitokimia menunjukkan hasil yang negatif pada keempat uji tersebut. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Packia et al., bahwa ekstrak petroleum eter bawang putih tidak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Ekstrak petroleum eter bawang putih hanya mengandung terpenoid, fenolik, dan asam amino [13].

Aktivitas Antijamur Ekstrak Petroleum Eter Bawang Putih

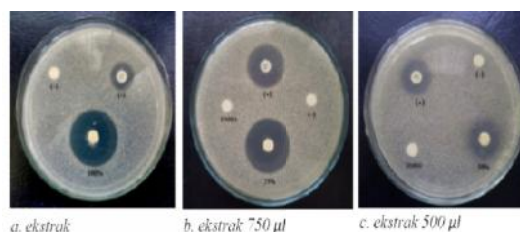
Ekstrak petroleum eter bawang putih

Hasil uji zona hambat ekstrak petroleum eter bawang putih terhadap *Candida albicans* dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2. Tabel 2 menunjukkan aktivitas beberapa konsentrasi ekstrak petroleum eter bawang putih terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak petroleum eter bawang putih pada konsentrasi 750 dan 500 μ l menghasilkan zona hambat masing-masing adalah sebesar 19,46 dan 27,46 mm. Hasil ini menunjukkan aktivitas yang sangat kuat. Sementara ekstrak petroleum eter bawang putih hasil ekstraksi tanpa dilarutkan dengan DMSO menunjukkan aktivitas yang sangat kuat dengan diameter zona hambat yang terbentuk adalah sebesar 31,11 mm. Zona hambat yang terbentuk diduga disebabkan oleh kandungan senyawa organosulfur yang terdapat pada ekstrak petroleum eter bawang putih seperti alilsistein dan senyawa organosulfur lainnya. Tabel 2 juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak petroleum eter bawang putih, maka semakin tinggi pula zona hambat yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brook et al., yang menyatakan bahwa efektifitas suatu zat antimikroba dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi ekstrak dapat menyebabkan meningkatnya kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai antimikroba sehingga kemampuannya dalam menghambat suatu mikroba juga akan semakin besar [14].

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak petroleum eter bawang putih terhadap *C. albicans*.

Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm) ^b			
	d ₁	d ₂	d ₃	d _{mean}
Nistatin (kontrol positif)	15,63	22,63	19,4	19,22
DMSO ^a (kontrol negatif)	0	0	0	0
Ekstrak	32,05	31,85	29,45	31,11
Ekstrak (750 μ l) + DMSO (250 μ l)	27,3	26,65	28,45	27,46
Ekstrak (500 μ l) + DMSO (500 μ l)	19,6	18,6	20,2	19,46
Ekstrak (250 μ l) + DMSO (750 μ l)	0	0	0	0
Ekstrak (100 μ l) + DMSO (900 μ l)	0	0	0	0
Ekstrak (50 μ l) + DMSO (950 μ l)	0	0	0	0
Ekstrak (25 μ l) + DMSO (975 μ l)	0	0	0	0

Keterangan: ^a = dimetil sulfoksida; ^b = uji zona hambat dilakukan tiga kali pengulangan



Gambar 2. Zona hambat ekstrak petroleum eter bawang putih terhadap *C. albicans*

Proses penarikan senyawa oleh pelarut organik terhadap tanaman terjadi melalui dinding sel tanaman. Pelarut akan masuk ke rongga sel dan berinteraksi dengan zat aktif yang terkandung dalam rongga sel, sehingga akan melarutkan zat aktif tersebut. Kemampuan suatu zat atau senyawa dapat terlarut sangat tergantung kepada kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi^[15]. Petroleum eter merupakan pelarut bersifat non polar, oleh karena itu pelarut ini hanya dapat menarik zat-zat non polar saja dari sel tanaman bawang putih. Terbentuknya zona hambat disebabkan oleh kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak bawang putih yang tertarik oleh pelarut petroleum eter. Komponen bawang putih dibedakan menjadi dua bagian yaitu bagian yang larut dalam minyak dan bagian yang larut dalam air. Komponen larut dalam minyak antara lain senyawa-senyawa organosulfur seperti dialil sulfida (DAS), dialildisulfida (DADS), dialiltrisulfida (DATS), dialiltetrasulfida (DATS), alilmetiltrisulfida, dan ajoene. Sementara, komponen yang larut dalam air merupakan turunan

dari senyawa sistein, seperti S-alilsistein (SAC), S-alil merkaptosistein (SAMC), S-metilsistein, dan turunan gamma-glutamil sistein. Menurut Agustina, komponen larut dalam air lebih stabil dibandingkan dengan komponen larut dalam minyak [16].

Kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C

Aktivitas kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C dilakukan dengan metode Kirby-Bauer menggunakan cakram. Suspensi jamur dibuat dengan melarutkan *C. albicans* dalam NaCl 0,9%, dilakukan sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 sebagai acuan tingkat kekeruhan atau jumlah jamur dalam suspensi. Pembuatan suspensi *C. albicans* dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Suspensi yang telah dibuat dicampur dengan media SDA steril dan dituang ke dalam cawan petri. Diameter zona hambat yang terbentuk, digunakan sebagai parameter untuk mengukur besarnya pengaruh kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C. Hasil kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C dapat dilihat Gambar 3 dan Tabel 3 dibawah ini:

Tabel 3. Diameter zona hambat kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C terhadap *C. albicans*.

Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)			
	d ₁	d ₂	d ₃	d _{mean}
Nistatin (kontrol positif)	21	22,5	20,9	21,46
Vitamin C	0	0	0	0
Ekstrak (500 l) + vitamin C (500 l)	15,55	15,85	15,1	15,4
Ekstrak (250 l) + vitamin C (750 l)	0	0	0	0
Ekstrak (100 l) + vitamin C (900 l)	0	0	0	0
Ekstrak (50 l) + vitamin C (950 l)	0	0	0	0
Ekstrak (25 l) + vitamin C (975 l)	0	0	0	0

Tabel 2 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C tidak menunjukkan aktivitas yang signifikan terhadap *C. albicans*. Aktivitas penghambatan hanya terbentuk pada konsentrasi 50% (Ekstrak 500 l + vitamin C 500 l) yaitu sebesar 15,4 mm, hal ini diduga karena vitamin C secara *in vitro* kurang efektif dalam menghambat *Candida albicans*. Menurut penelitian Josling (2010), menyatakan bahwa vitamin C yang dikombinasikan dengan alicin akan membentuk alil-C yang memiliki banyak manfaat diantaranya meningkatkan imunitas tubuh, antijamur, dan antioksidan. Namun hasil menunjukkan bahwa

kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C tidak menunjukkan aktivitas dalam penghambatan jamur *C. albicans*.

KESIMPULAN

Ekstrak petroleum eter bawang putih dapat menghambat jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 500µl, 750 µl dan ekstrak dengan diameter zona hambat masing-masing 19,46; 27,46; dan 31,11 mm. Kombinasi ekstrak petroleum eter bawang putih dengan vitamin C (50%) tidak mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas *Candida albicans*, dengan zona hambat yang terbentuk adalah sekitar 15,4 mm. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas vitamin C dalam menghambat jamur *Candida albicans*.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Siregar, R.S., 2004, *Atlas Berwarna Sarihati Penyakit Kulit Edisi Kedua: Kandidiasis*. EGC. pp. 31-35, Jakarta.
2. Scimitz, G., 2008, *Farmakologi dan Toksikologi*, Terjemahan dari Pharmacology and Toxicology diterjemahkan oleh Joseph sigit, Amalia Hanif. EGC, Jakarta.
3. Sudewo, B., 2012. *Basmi Kanker dengan Herbal*, Transmedia Pustaka, Jakarta.
4. Londhe, V.P., Gavasane A.T., Nipate S.S., Bandawane D.D., Chaudhari P.D., 2011, Role Of garlic (*Allium sativum*) in Various Disease: An Overview, *Journal Of Pharmaceutical Reserch and Opinion*, 1: 4. 129-134.
5. Barnes, J., Anderson, L. A and Philipso, J. D., 2007, *Herbal Medicines*, 3th ed. Pharmaceutical press, London.
6. Bakht, J., Tayyab, M., Ali, M., 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.
7. Danar, D. A., 2011, Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Menurunkan Jumlah leukosit pada mencit model sepsis akibat paparan *Staphylococcus aureus*, CDK, 183; 38(2): 97-100.
8. Block, E., 2010, *Garlic and other Allium The Lore and The Science*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia*. Ed. 3, Depkes RI, Jakarta.
10. Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, 1977, *Materia Medika Indonesia*, Jilid 6, Penerbit Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.

11. World Health Organization, 2009, *Microbiological Examination of Non-Steperile Product : Test For Specified*.
12. Feldberg, R.S., Chang S.C., Kotik, A.N., Nadler, M., Neuwirth, Z., Sundstrom, D.C., Thompson, N.H., 1988, In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin, *Journal of Antimicrobial agents and chemotherapy*, p. 1763-1768.
13. Packia Lekshmi NCJ1*, Viveka S2, Viswanathan MB3, Jeeva S1 and Raja Brindha J1, 2015, Phytochemical Screening and In Vitro Antibacterial Activity of *Allium sativum* Extract Against Bacterial Pathogens, *Journal of Science*, Vol 5, Issue 5, pp. 281-285.
14. Brooks, G. F., Butel, J. S dan Morse, S. A., 2007, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Ke-23, Terjemahan dari Jawetz, Melnick, Adelbergs medical microbiology 23th oleh Retna Neary, Penerbit Buku kedokteran EGC, Jakarta.
15. Voight, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Gajah Mada University Press, Jakarta.
16. Agustina, L., Hatta, M., Purwanti, S., 2010, Penggunaan Ramuan Herbal Untuk Meningkatkan Produktivitas dan Kualitas Broiler (Penggunaan Ramuan Herbal Untuk Meningkatkan Performadan Gambaran Histopatologi Organ Dalam Broiler, *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veterine*, Makassar.