

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian uji daya hambat antibakteri ekstrak *black garlic* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan dengan menggunakan metode sumuran untuk menentukan zona hambat atau zona bening pada media agar. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Kota Mataram pada bulan Mei 2019.

4.1 Ekstraksi

Data hasil simplisia dan rendemen dari proses ekstraksi *black garlic* disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil simplisia dan rendemen

Bahan yang digunakan	Berat simplisia	Berat ekstrak	Hasil % rendemen
<i>Black garlic</i>	480 gram	224,95 gram	46,86 %

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan ekstraksi dingin, dimana simplisia direndam di dalam pelarut, dan dilakukan pengadukan atau pengocokan hingga pelarut menarik atau melarutkan senyawa yang diinginkan secara maksimal (Depkes RI, 2000). Metode maserasi dipilih karena dalam proses maserasi, *black garlic* akan terendam hingga pelarut meresap melunakkan sel yang menyebabkan zat aktif di

dalamnya dapat terlarut. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan luar sel, maka larutan yang terpekat akan mendesak keluar (Depkes RI, 1986). Maserasi memiliki kelebihan yaitu proses dan alat yang digunakan sederhana dan mudah dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut, meminimalkan terjadinya kerusakan senyawa yang dapat berubah oleh pemanasan dan ekstrak yang dihasilkan dalam jumlah yang banyak (Hargono dkk, 1986).

Maserasi ekstrak *black garlic* digunakan *black garlic* yang sudah dihaluskan karena semakin halus serbuk simplisia maka proses ekstraksi semakin efektif dan efisien dengan cairan penyari yaitu etanol 96%. Digunakan etanol sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut yang universal yang dapat menarik hampir sebagian besar senyawa kimia yang terkandung dalam didalam herba seperti tanin, polifenol, flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid dan tannin. Pertimbangan lainnya adalah etanol sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh, tidak beracun, netral, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan relatif lebih sedikit, juga etanol tidak menyebabkan pembengkakan membrane sel dan mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim.

Pada penyarian sering dilakukan pengadukannya tujuannya untuk meratakan distribusi cairan penyari sehingga konsentrasi akan tetap terjaga karena adanya derajat perbedaan konsentrasi antara larutan didalam sel dengan larutan diluar sel. Dilakukan remaserasi selama 5 hari, maka total pelarut yang digunakan adalah 5000 ml untuk 5 hari. Proses maserasi dengan pengulangan (remaserasi) akan lebih efisien dibandingkan dengan maserasi tunggal, hal ini terjadi karena

kemungkinan sejumlah besar senyawa aktif dalam sampel masih tertinggal dari proses maserasi yang pertama sehingga hasil ekstraksi yang didapatkan optimal. Penggantian pelarut (remaserasi) dilakukan karena larutan telah menjadi jenuh, ditandai dengan pekatnya warna cairan ekstrak 24 jam pertama yaitu coklat tua sehingga dilakukan penggantian pelarut yang baru untuk 24 jam kedua dan sampai 24 jam kelima untuk mengoptimalkan penyarian. Menurut Ditjen POM (2000) menyatakan bahwa proses ekstraksi suatu tanaman harus dilakukan secara berulang agar bisa mendapatkan kadar zat aktif yang maksimal sehingga dapat dicapai potensi terapi yang maksimal.

Setiap penggantian pelarut dilakukan pemisahan maserat dengan penyaringan. Hal ini bertujuan agar sisa ampas *black garlic* tidak terikat kedalam maserat, sehingga didapatkan maserat yang murni bebas partikel ampas. Bebas ampas karena yang akan digunakan pada tahap selanjutnya untuk uji daya hambat bakteri *staphylococcus aureus* adalah ekstrak bukan ampasnya maka dilakukan penyaringan. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan kain katun dan hasil maserat yang diperoleh ditampung dalam satu toples kaca. Kemudian dilakukan penguapan dengan waterbath pada suhu 60°C. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah yaitu 79°C sehingga memerlukan proses pemanasan yang lebih sedikit untuk proses pemekatan (Sudarmadji, 2003). Dari hasil maserasi diperoleh ekstrak sebanyak 224,95 gram dengan rendemen 46,86%. Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Semakin tinggi nilai rendemen menandakan bahwa bahan baku tersebut memiliki peluang untuk dimanfaatkan lebih besar (Sudirman dkk, 2011).

4.2 Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes atau pemeriksaan yang dapat dengan cepat memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Kristianti dkk, 2008).

Berdasarkan hasil uji kualitatif pada ekstrak *black garlic* dari tiap-tiap perlakuan diperoleh hasil seperti pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Data Hasil Skrining Fitokimia

No	Golongan senyawa	Hasil	Keterangan
1	Flavonoid	+	Muncul warna kuning intensif setelah diuapi amoniak
2	Saponin	+	Terbentuk busa stabil
3	Polifenol	+	Larutan berwarna hijau-biru kehitaman
4	Tannin	+	Larutan berwarna hitam pekat

1. Uji Flavonoid

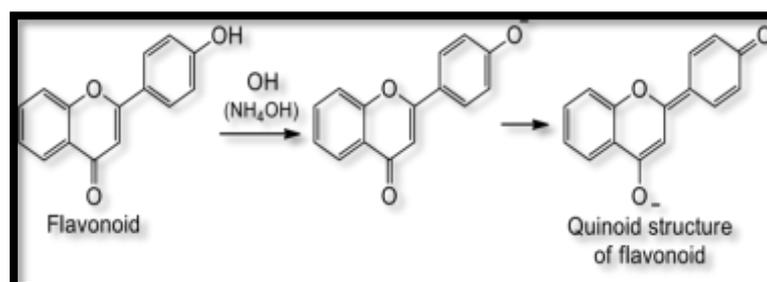
Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak etanol *black garlic* diteteskan pada kertas saring kemudian diuapi dengan amoniak. Pada ekstrak etanol *black garlic* muncul warna kuning intensif menunjukkan

positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil uji senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Hasil uji flavonoid

Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Bhat *et al.*, 2009). Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak, sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harbone, 1996).



Gambar 4.2.Reaksi Flavonoid dengan amoniak

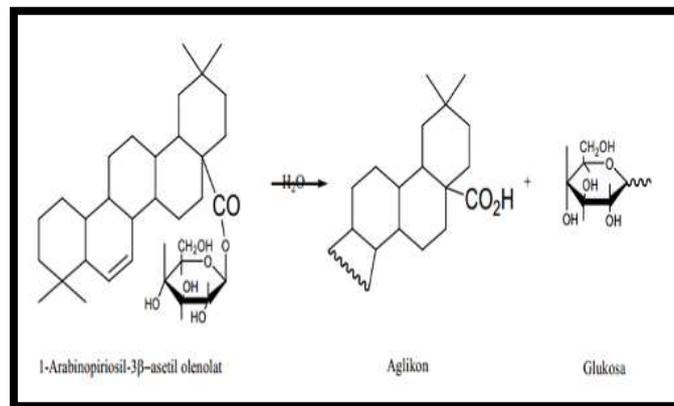
2. Uji saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara sampel ekstrak etanol *black garlic* ditambahkan 2 tetes larutan HCL 1 N. Pada ekstrak etanol *black garlic* terbentuk busa yang stabil kurang lebih 7 menit, maka sampel menunjukkan positif mengandung saponin. Hasil uji senyawa saponin dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3. Hasil uji senyawa saponin

Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan berbentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, *et al.*,2005). Menurut Robinson (1995) senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Dimana keadaan inilah yang tampak seperti busa.



Gambar 4.4 Reaksi perkiraan uji Saponin

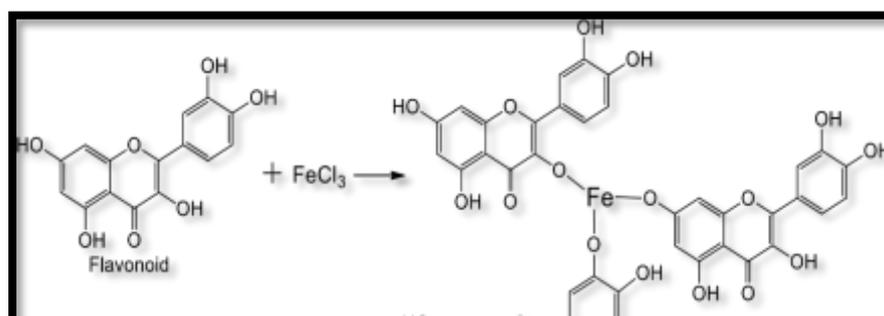
3. Uji polifenol

Ekstrak etanol *black garlic* sebanyak 10 mL ditambahkan 3 tetes FeCl₃ muncul warna biru kehitaman atau hitam kehijauan berarti fraksi tersebut positif mengandung senyawa polifenol. Hasil uji senyawa polifenol dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5. Hasil uji senyawa polifenol

Pengujian polifenol dilakukan dengan melakukan penambahan FeCl₃. Perubahan warna yang terjadi ketika penambahan FeCl₃ yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa polifenol. Pada penambahan FeCl₃ pada ekstrak etanol *black garlic* menghasilkan hijau kehitaman yang menunjukkan bahwa sampel ekstrak *black garlic* mengandung senyawa polifenol.



Gambar 4.6.Reaksi uji polifenol

4. Uji tannin

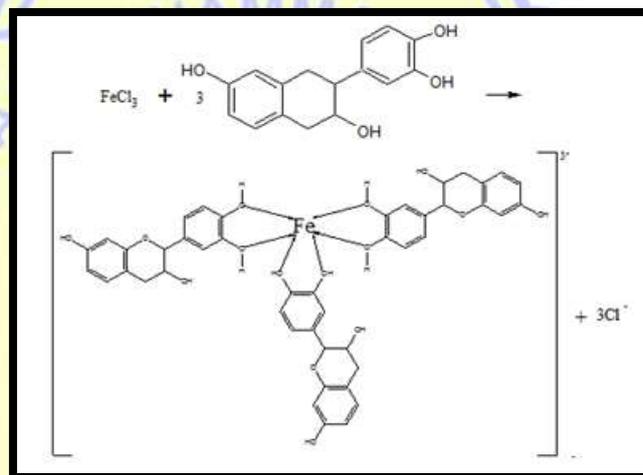
Sampel ekstrak etanol *black garlic* ditambahkan 10 tetes larutan FeCl_3 1%. Larutan menghasilkan warna hijau atau hitam pekat menunjukkan ekstrak *black garlic* positif mengandung senyawa tannin. Hasil uji senyawa tannin dapat dilihat pada gambar 4.7.



Gambar 4.7 Hasil uji senyawa tannin

Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin

karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hal ini diperkuat oleh (Harborne, 1987) cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana yaitu menambahkan ekstrak dengan larutan FeCl_3 1 % dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} , seperti yang terlihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Reaksi antara Tanin dan FeCl_3 (Sa'adah, 2010)

4.3 Pengujian Uji Daya Hambat Ekstrak *Black Garlic* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Menggunakan Metode Sumuran

Uji daya hambat untuk mengetahui penghambatan ekstrak *black garlic* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan

tahapan pertama yaitu pembuatan konsentrasi ekstrak *black garlic*, kemudian pembuatan suspensi bakteri dan uji sensitivitas bakteri menggunakan metode sumuran. Metode ini serupa dengan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

Pembuatan larutan induk (konsentrasi 100%) 5 gram ekstrak *black garlic* ditambahkan dengan 5 ml aquadest steril kemudian dicampur dan diaduk sampai terlarut kemudian membuat konsentrasi 75%, 50%, 25%. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dengan kepekatan 0,5 unit Mc. Farland. Suspensi bakteri dioleskan pada media MHA menggunakan *swap* kapas steril hingga merata. Selanjutnya dibuat lubang-lubang sumuran menggunakan *blue tip* steril yang ditekan pada media, kemudian ekstrak *black garlic* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dimasukkan pada masing-masing sumuran menggunakan mikro pipet sebanyak 50 μ L. Pada media yang berbeda diletakkan paperdisk antibiotik gentamicin sebagai kontrol positif dan disumuran yang lain dimasukkan aquadest steril sebagai kontrol negatif, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰ C. Inkubasi merupakan proses memelihara kultur mikroba dalam suhu tertentu selama jangka waktu tertentu yang bertujuan untuk memantau pertumbuhan bakteri. Setelah diinkubasi dilihat adanya zona hambat yang terbentuk dan diukur menggunakan penggaris besar zona hambatnya. Zona hambat atau zona bening merupakan dimana bakteri tidak dapat tumbuh disekitar antibiotik.

Penentuan aktivitas daya hambat antimikroba mengacu pada tabel kategori kekuatan aktivitas antibakteri. Data hasil pengukuran diameter zona hambat dibandingkan dengan tabel 4.3.

Tabel 4.3. Klasifikasi Respon Zona Hambat Bakteri (Greenwood, 1995)

Diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16 – 20 mm	Sedang
< 15 mm	Lemah

Uji daya hambat ekstrak *black garlic* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode sumuran dengan menggunakan media Muller Hinton Agar (MHA), dari tiap-tiap media didapatkan adanya pengaruh ekstrak *black garlic* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Adapun hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak *Black Garlic* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Menggunakan Metode Sumuran

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)					
	Konsentrasi				Kontrol Positif Gentamicin	Kontrol Negatif Aquadest
	25%	50%	75%	100%		
1	15 mm	18 mm	20 mm	25 mm	22 mm	0

2	12 mm	21 mm	22 mm	25 mm	22,10 mm	0
3	12 mm	17 mm	18 mm	21 mm	22,20 mm	0
4	14 mm	18 mm	19 mm	22 mm	22,30 mm	0
Total	53 mm	74 mm	79 mm	93 mm	88,6 mm	0
Mean ± SD	13.25 ± 1.50	18.50 ± 1.73	19.75 ± 1.70	23.25 ± 2.06	22.15 ± 0.12	0.00 ± 0.00
Rata-Rata	13,25 mm	18,5 mm	19,75 mm	23,25 mm	22,15 mm	0
Interpretasi	Daya hambat lemah	Daya hambat sedang	Daya hambat sedang	Daya hambat kuat	Daya hambat kuat	Tidak ada daya hambat

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya daya hambat ekstrak *black garlic* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Daya hambat ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar sumur yang diisi dengan ekstrak *black garlic*. Zona bening tersebut berwarna agak kehitaman yang dihasilkan oleh warna ekstrak *black garlic*. Hal yang sama juga dapat dilihat pada daerah sumuran yang diisi gentamicin sedangkan pada daerah sumuran yang diisi aquadest steril tidak terlihat adanya zona bening yang terbentuk.

Percobaan dilakukan sebanyak 4x replikasi agar dapat membandingkan zona hambat yang terbentuk. Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada ekstrak *black garlic* dengan konsentrasi 25% memiliki zona hambat 13,25 mm termasuk dalam respon hambat pertumbuhan dengan tingkat lemah (<15 mm), konsentrasi 50% memiliki zona hambat 18,5 mm termasuk dalam respon hambat pertumbuhan dengan tingkat sedang (16-20 mm), dan konsentrasi 75% memiliki zona hambat 19,75 mm termasuk dalam respon hambat pertumbuhan dengan tingkat sedang. Sedangkan pada konsentrasi 100% memiliki zona hambat 23,25 mm termasuk dalam respon hambat pertumbuhan dengan tingkat kuat (>20 mm).

Kontrol negatif menggunakan aquadest steril memperlihatkan bahwa tidak terdapat zona bening atau daya hambat disekitar area sumuran yang ditumbuhi

bakteri, itu berarti tidak adanya aktivitas antibakteri terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini terjadi karena aquadest adalah air dari hasil penyulingan yang kandungannya murni H₂O, sehingga tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri.

Kontrol positif menggunakan gentamicin memperlihatkan bahwa disekitar area disk terbentuk zona bening, yang berarti ada aktivitas antibakteri terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sebagai kontrol positif digunakan gentamicin yang memiliki daya hambat 22,15 mm yang dapat dikatakan tingkat kuat karena melebihi ketentuan dari nilai kuat (>20 mm). Gentamicin bersifat bakterisidal, berdasarkan dayanya untuk menembus dinding bakteri dan mengikat diri pada ribosom (partikel-partikel kecil dalam protoplasma sel yang kaya akan RNA, tempat terjadinya sintesa protein) di dalam sel. Proses tranlasi (RNA dan DNA) diganggu sehingga biosintesa protein dikacaukan. Untuk menembus dinding bakteri mencapai ribosom, aminoglikosida yang bermuatan kation positif akan berikatan secara pasif dengan membran luar dinding kuman gram negatif yang mengandung muatan negatif (Radigan dkk,2016).

Dari penelitian ini diketahui bahwa ekstrak *black garlic* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 25% 13,25 mm, konsentrasi 50% 18,5 mm, konsentrasi 75% 19,75 mm, dan konsentrasi 100% 23,25 mm. Sedangkan pada kontrol positif gentamicin memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk yaitu sebesar 22,15 mm tetapi tidak melebihi diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak *black garlic* dengan konsentrasi 100% sebesar 23, 25 mm. Artinya pada

konsentrasi 100% ekstrak *black garlic* lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar dari kontrol positif gentamicin.

Terdapat perbedaan luas zona hambat yang terbentuk hal ini terlihat dari adanya variasi zona pada masing-masing bahan coba. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain besarnya inokulum, konsentrasi ekstrak, dan daya antibakteri zat berkhasiat. Makin besar inokulum maka semakin kecil daya hambatnya, sehingga semakin kecil zona yang terbentuk. Konsentrasi ekstrak memengaruhi kecepatan difusi zat berkhasiat. Makin besar konsentrasi ekstrak, maka makin cepat difusi, akibatnya makin besar daya antibakteri dan makin luas diameter zona hambat yang terbentuk hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa ekstrak dengan konsentrasi 100% mempunyai zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75 %.

Adanya penghambatan terhadap perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* disebabkan adanya aktivitas senyawa flavonoid dalam ekstrak *black garlic* yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Masduki, 2003). Flavonoid juga mempunyai efek antibakteri dengan cara merusak membran dan struktur selnya (Ayoola, 2008). Sedangkan kerja flavonoid dalam menghambat metabolisme energi adalah dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Selain flavonoid, senyawa yang berfungsi

sebagai antibakteri yang terkandung di dalam *black garlic* yaitu saponin, polifenol dan tannin. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan kematian sel (Nuria, *et al.*,2009). Selain itu, ekstrak *black garlic* juga mempunyai kandungan senyawa polifenol dimana mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktifkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel. Ekstrak *black garlic* juga memiliki kandungan senyawa tannin yang memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria, *et al.*,2009).

Tabel 4.5 Nilai Zona Hambat Ekstrak *Black Garlic* Menggunakan Uji *One Way Annova*

No	Kelompok	Mean \pm SD
1.	Kontrol negatif "Aquadest"	0.00 mm \pm 0.00 ^a

2.	Konsentrasi 25%	13.25 mm \pm 1.50 ^b
3.	Konsentrasi 50%	18.50 mm \pm 1.73 ^c
4.	Konsentrasi 75%	19.75 mm \pm 1.70 ^d
5.	Kontrol positif “Gentamicin”	22.15 mm \pm 0.12 ^e
6.	Konsentrasi 100%	23.25 mm \pm 2.06 ^f

Keterangan : Tanda a,b,c,d,e,f yang sama pada masing-masing kelompok menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara kelompok tersebut

Hasil uji statistik juga menunjukkan perbedaan yang bermakna pada setiap konsentrasi ekstrak *black garlic*. Ekstrak *black garlic* dengan konsentrasi terbesar yaitu 100% merupakan konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak *black garlic* dengan konsentrasi yang berbeda memiliki efek daya hambat yang berbeda terhadap uji bakteri *Staphylococcus aureus*. Variasi efek daya hambat ekstrak *black garlic* disebabkan karena uji bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari 4 konsentrasi ekstrak *black garlic* yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak *black garlic* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 25% 13,25 mm, konsentrasi 50% 18,5 mm, konsentrasi 75% 19,75 mm, dan konsentrasi 100% 23,25 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar.
2. Pada kontrol positif gentamicin memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk yaitu sebesar 22,15 mm tetapi tidak melebihi diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak *black garlic* konsentrasi 100% sebesar 23,25 mm.

5.2 Saran

1. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak *black garlic* terkait manfaatnya dalam menghambat bakteri yang lain.
2. Diharapkan dapat membuat bentuk sediaan yang lain.
3. Untuk peneliti selanjutnya agar dapat menggunakan metode ekstraksi yang berbeda dan jenis pelarut yang lain untuk mendapatkan hasil uji daya hambat yang bagus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abusufyan, Husein. 2012. Bawang Putih Hitam. [http://magicblackgarlic.blogspot.com/2012/12/manfaat bawang-putih-hitam.html](http://magicblackgarlic.blogspot.com/2012/12/manfaat_bawang-putih-hitam.html). (Diakses pada 9 Januari 2019).
- Amagase, Petesh, B., Matsuura, H., Kasuga, S., & Itakura, Y. 2006. Intake of Garlic and its Bioactive components. *Journal of Nutrition*, Vol. 131. No. 955S-962S.
- Anonim. 2013. Black Garlic Benefit. [http://www .antioxidantsguide .com/black_garlic_benefit.html](http://www.antioxidantsguide.com/black_garlic_benefit.html).(Diakses pada 9 Januari 2019).
- Bae, Sang Eun, Seung Yong Cho, Yong Duk Won, Seon Ha Lee, Hyun Jin Park. 2014. "Changes in S-Allyl Cysteine Contents And Phsicochemical Properties Of Black Garlic During Heat Treatment". *LWT- Food Science And Technology*, Vol 55. Hal: 397-402.
- Brooks, G.F. Butel. Janet, S. Ornston, L. Nicholas. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 53,211.
- Cindy, Elizabeth. 2015(<https://elizabethhcindy25.wordpress.com/warna-hitam-berjuta-manfaat-black-garlic/>), (Diakses 4 Januari 2019).
- Corzo-Martinez, M. Corzo N. Villamiel, M. 2007. Biological Properties Of Unionsand Garlic. *Trends Food Sci. Technol*, 18 : 609-625.
- Ditjen POM, Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta, 9-11.16.
- Depkes RI, 1979. *Materia Medika Indonesia*. III ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. I ed. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Elliot, Tom *et al*. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi*. Jakarta : EGC.
- Eskha M. Lambiju, Pemi M. wowor, Michel A. Leman., 2017. Uji daya hambat estrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum* (L)) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, volume 5 nomor 1, Januari-juni 2017. Manado
- Ghozali, Imam. 2009. "Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS "Semarang: UNDIP.
- Harbone ,J.B.,(1987), *Metode Fitokimia*,Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Harbone, J.B., 1996. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung
- Hermawan, A., Hana, W., dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Disk. Universitas Erlangga.
- Kim, Mun Su. Min Ju Kim, Woo Suk Bang, Keun Sung Kim, Sung Soo Park. 2013. "Determination Of S-allyl-cysteine, Diallyl Disulfide, And Total Amino Acids Of Black Garlic After Spontaneous Short-Terfermentation". *J. Korean Soc, Food Sci. Nutr*, Vol. 415 (5). Hal : 661-665.

- Nastiti, F. H. 2011. Pola Peresepan dan Kerasionalan Penggunaan Antimikroba pada Pasien balita di puskesmas Kecamatan Jatinegara. Skripsi Sarjana Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Pelezar dan Chan, E.C.S. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Terjemahan Hadioetomo. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi farmasi. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Rostinawati, Tina. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) terhadap Eschericia coli, Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus dengan Metode Difusi Agar*. Laporan Penelitian Mandiri. Universitas Padjadjaran. Jatinagor
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung.
- Sacher, Ronald A. dan Richard A. McPherson. 2004. Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium edisi 11. Alih bahasa : Brahm U. Pendit dan Dewi Wulandari. EGC : Jakarta. hal 37-48.
- Song, K., & J.A, Milner. 2001. "The Influence Of Heating On The Anticancer Properties Of Garlic". *Journal Of Nutrition*, Vol 131 : 1054S-1057S.
- Untari, Ida. 2010. "Bawang Putih Sebagai Obat Paling Mujarab Bagi Kesehatan". *Jurnal Gaster*, Hal : 547-554.
- Utami, ER. 2011. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki. Malang.
- Wang, Danan. *et al.* 2010. "Black garlic (allium sativum) Extracts Enhance The immune system". *Medicinal and Aromatic Plants Science and Biotechnology*, vol.4 (1). Hal: 37.
- Yosephine, A. D. Wulanjati, M. P. Saifullah, T. N. Astuti, P. 2013. Formulasi Mouthwash Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocinum basilicum L.*) Serta Uji Antibakteri Dan Antibiofilm terhadap Bakteri Streptococcus mutans Secara In Vitro. *Trad. Med. J*, 18 (2): 95-102.



Lampiran 1 : Surat izin penelitian di Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Kota Mataram


PEMERINTAH PROVINSI NUSA TENGGARA BARAT
DINAS KESEHATAN
 UPTD LABORATORIUM KESEHATAN PENGUJIAN KALIBRASI
 DAN PENUNJANG MEDIS
 Jl. Catur Warga No. 9 Telp. (0370) 7505511, email : blpkntbarov@gmail.com Mataram 83231

Nomor : 421.1/10/V/2019
 Lampiran : --
 Perihal : Izin Penelitian.

Mataram, 17 Mei 2019
 Kepada
 Yth. Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
 Universitas Muhammadiyah Mataram
 di -
 Mataram.-

Bismillahirrahmaanirrahim,
Assalaamu'alaikum warahmatullahi wabarakaatuh

Merunjuk surat Saudara No. 104/II.3.AU/PIK/V/2019, tanggal 16 Mei 2019 perihal Ijin Penelitian dalam Penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) mahasiswa Prodi D3 Farmasi Fak. Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram di Laboratorium Kesehatan Pengujian Kalibrasi dan Penunjang Medis, atas nama :

No	NAMA MAHASISWA	NIM	JUDUL KARYA TULIS
1.	Rizka Avitananda	51602022	Uji Daya Hambat Ekstrak Black Garlic Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>

Dengan ini disampaikan bahwa kami dapat memenuhi permintaan tersebut, bersama ini disampaikan bahwa tarif pemeriksaan per parameter yang berlaku sesuai dengan Perda No. 5 Tahun 2018 tentang Retribusi Daerah. Kami harap agar yang bersangkutan melakukan koordinasi mengenai jadwal dan teknis pelaksanaannya demi kelancaran kegiatan tersebut.

Demikian disampaikan, atas perhatian dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Wassalaamu'alaikum warahmatullahi wabarakaatuh

Kepala Laboratorium Kesehatan Pengujian
 Kalibrasi dan Penunjang Medis


Edi Ramlan, SKM, MPH. - f
 Pembina (P/W/a)
 NIP. 197111141992031006

Lampiran 2 : Surat Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak *Black Garlic* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan Metode Sumuran


PEMERINTAH PROVINSI NUSA TENGGARA BARAT
DINAS KESEHATAN
UPTD LABORATORIUM KESEHATAN PENGUJIAN KALIBRASI DAN PENUNJANG MEDIS
 Jl. Catur Warga - Mataram 83121Tlp. (0370) 7841918 Email. Bkpkntbprov@gmail.com

LAPORAN HASIL UJI
 No. : R01488 / I-B / LHU / LKPKPM / V / 2019

No. Register : R01488
 Pengirim : Rizka avitananda
 NIM : 516020022
 Fakultas : Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah Mataram
 Tgl. Pemeriksaan : 25 Mei 2019
 Judul Penelitian : Uji daya hambat ekstrak *Black Garlic* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil Pemeriksaan :

No.	Konsentrasi %	Plate			
		I	II	III	IV
1	100	25 mm	25 mm	21 mm	22 mm
2	75	20 mm	22 mm	18 mm	19 mm
3	50	18 mm	21 mm	17 mm	18 mm
4	25	15 mm	12 mm	12 mm	14 mm

Keterangan :

 Kontrol + Gentamicin : 22 mm
 Kontrol - Aquades steril : 0 mm
 Diameter sumuran : 10 mm

Mataram, 27 - 05 - 2019
 a/n. Kepala Lab. Kesehatan Pengujian, Kalibrasi dan Penunjang Medis
 Pj. Pengujian Mikrobiologi Lingkungan



(Rahmawati, S.Si, M.Sc)
 NIP. 19700915 199203 2 013

**Lampiran 3 : Surat tanda selesai melakukan penelitian di Balai
Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Kota
Mataram**

 PEMERINTAH PROVINSI NUSA TENGGARA BARAT
DINAS KESEHATAN
LABORATORIUM KESEHATAN PENGUJIAN KALIBRASI
DAN PENUNJANG MEDIS
Jl. Catur Warga No. 09 Telp. (0370) 7505511 Mataram

SURAT KETERANGAN
Nomor : 045.2 / 01 / V / 2019

Yang bertanda tangan dibawah ini :

1. Nama : Bambang Rustanto, SKM.
2. NIP : 19650212 198803 1 026
3. Pangkat/Gol. : Penata Tk. I / IIIId
4. Jabatan : Kepala Seksi Pelayanan Pengujian Kalibrasi dan Penunjang Medis

Menerangkan dengan benar bahwa :

1. Nama : **Rizka Avitananda**
2. NIM : **51602022**
3. fakultas : Prodi D3 Farmasi Fak. Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram
4. Judul Skripsi/KTI : **" Uji Daya Hambat Ekstrak Black Garlic Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* "**

Telah melakukan Penelitian sebagai bahan penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul sebagaimana tertera diatas di Laboratorium Kesehatan Pengujian Kalibrasi dan Penunjang Medis pada tanggal 25 Mei 2019.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

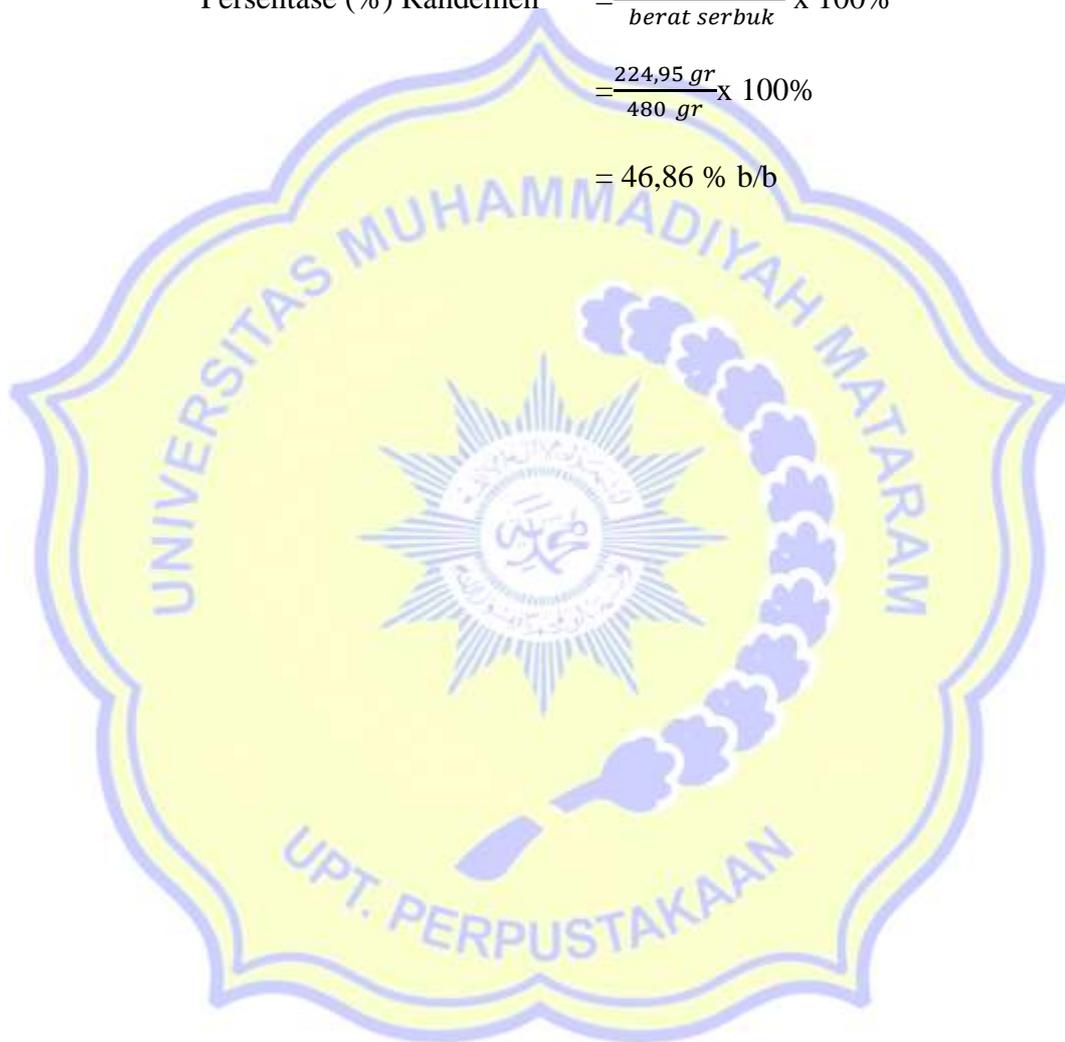
Mataram, 28 Mei 2019
Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian Kalibrasi
Dan Penunjang Medis
Kepala Seksi Pelayanan Pengujian Kalibrasi
Dan Penunjang Medis


= **Bambang Rustanto, SKM.** =
Penata Tk. I (III/g)
NIP. 19650212 198803 1 026

Lampiran 4 : Perhitungan Rendemen

- Berat serbuk : 480 gram
- Berat ekstrak : 224,95 gram

$$\begin{aligned}\text{Persentase (\%) Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{224,95 \text{ gr}}{480 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 46,86 \% \text{ b/b}\end{aligned}$$



Lampiran 5 : Proses maserasi untuk mendapatkan ekstrak



Pembuatan maserasi



Proses penguapan



Ekstrak *black garlic*

Lampiran 6 : Hasil Uji skrining Fitokimia



Uji Flavonoid



Uji Saponin



Uji Polifenol



Uji Tannin

Lampiran 7 : Pembuatan Konsentrasi Ekstrak



Penimbangan ekstrak *black garlic*



Pembuatan konsentrasi induk (konsentrasi 100%)



Setelah pembuatan ekstrak *black garlic* konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%

Lampiran 8 : Uji Sensitivitas Bakteri



Pembuatan suspensi bakteri



Pengolesan suspensi bakteri



Pembuatan lubang sumuran

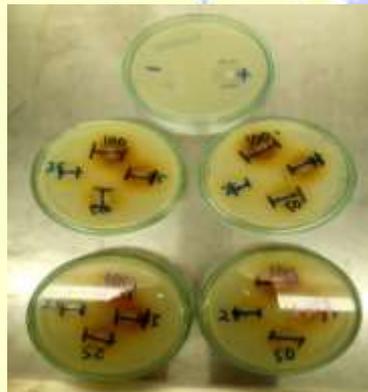


Penuangan ekstrak

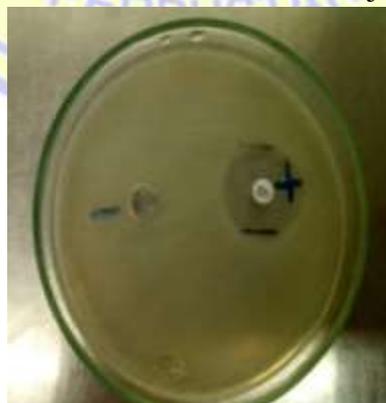


Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C

Lampiran 9 : Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak *Black Garlic* Konsentrasi (25%, 50%, 75% dan 100%) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.



Zona hambat dari konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dari 4 kali pengulangan setelah di inkubasi selama 24 jam



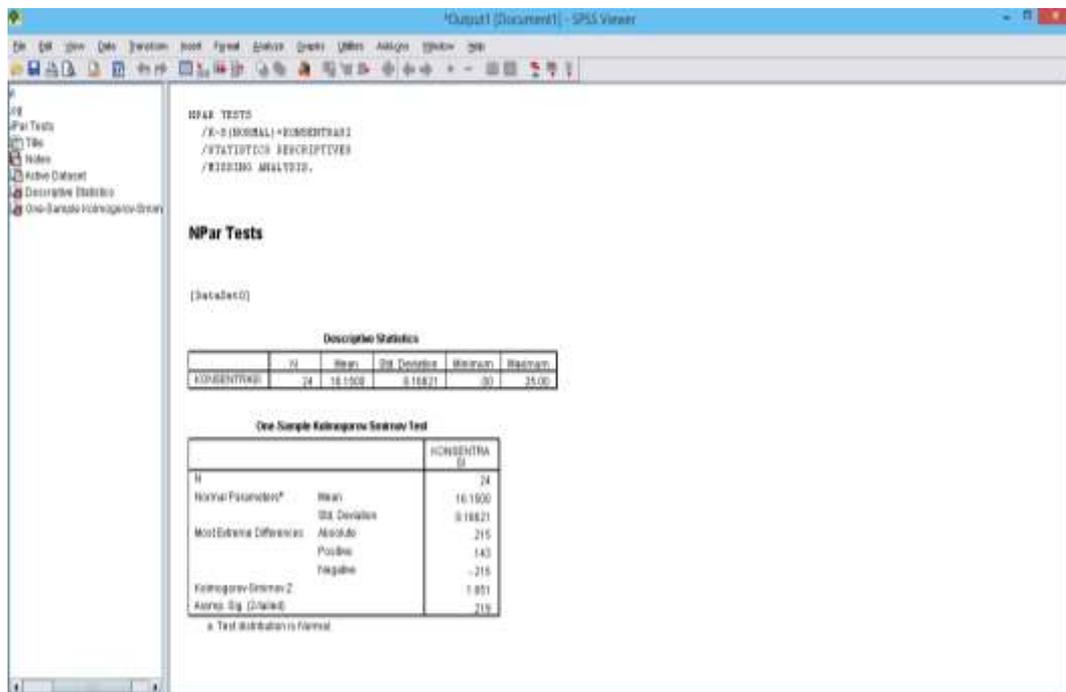
Zona hambat dari kontrol negatif (Aquadest) dan kontrol positif (gentamicin) setelah di inkubasi selama 24 jam



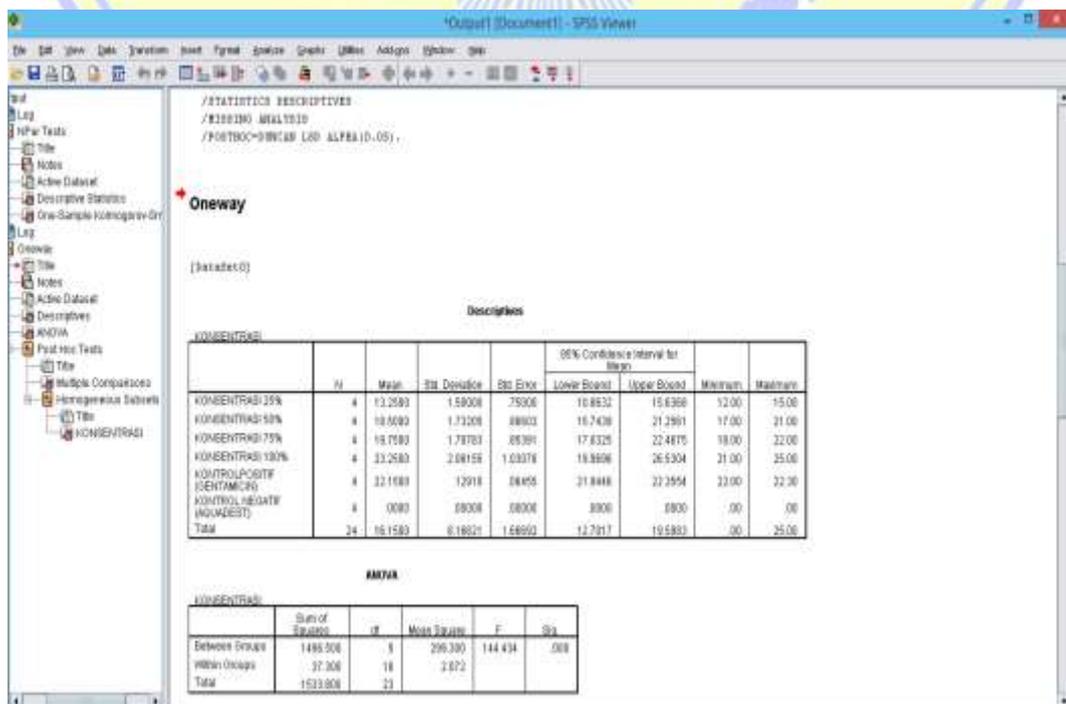
Pengukuran diameter zona hambat

Lampiran 10 : Analisis Data Statistik *One Way Anova*

KELOMPOK	KONSENTRASI
1	1.00
2	1.00
3	1.00
4	1.00
5	2.00
6	2.00
7	2.00
8	2.00
9	3.00
10	3.00
11	3.00
12	3.00
13	4.00
14	4.00
15	4.00
16	4.00
17	5.00
18	5.00
19	5.00
20	5.00
21	6.00
22	6.00
23	6.00
24	6.00



Lampiran 11. Lanjutan



SPSS Viewer - Output (Document) - SPSS Viewer

Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: KONSENTRASI

KELUMPUKAN	KONSENTRASI	Mean Difference (I - J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LED	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 50%	-5.2500*	1.81788	.000	-7.3685	-3.1315
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 75%	-6.5000*	1.81788	.000	-8.6185	-4.3815
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 100%	-10.0000*	1.81788	.000	-12.1385	-7.8615
	KONSENTRASI 25%	KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	-6.0000*	1.81788	.000	-7.8385	-4.1615
	KONSENTRASI 25%	KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	12.2500*	1.81788	.000	10.1115	14.3885
KONSENTRASI 50%	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 50%	5.2500*	1.81788	.000	3.1315	7.3685
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 75%	-1.2500	1.81788	.235	-3.3685	.8615
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 100%	-4.7500*	1.81788	.000	-6.8885	-2.6115
	KONSENTRASI 25%	KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	-3.0000*	1.81788	.002	-4.7885	-1.2115
	KONSENTRASI 25%	KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	16.5000*	1.81788	.000	14.3615	20.6385
KONSENTRASI 75%	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 50%	6.5000*	1.81788	.000	4.3815	8.6185
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 75%	1.2500	1.81788	.235	-.8615	3.3685
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 100%	-3.0000*	1.81788	.002	-4.8385	-1.1615
	KONSENTRASI 25%	KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	-2.4000*	1.81788	.030	-4.5385	-.2615
	KONSENTRASI 25%	KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	19.7500*	1.81788	.000	17.6115	21.8885
KONSENTRASI 100%	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 50%	10.0000*	1.81788	.000	7.8615	12.1385
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 75%	4.7500*	1.81788	.000	2.6115	6.8885
	KONSENTRASI 25%	KONSENTRASI 100%	3.0000*	1.81788	.002	1.1615	4.8385
	KONSENTRASI 25%	KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	1.1000*	1.81788	.034	-.2615	3.2385
	KONSENTRASI 25%	KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	22.2500*	1.81788	.000	20.1115	24.3885

Lampiran 12. Lanjutan

SPSS Viewer - Output (Document) - SPSS Viewer

KELUMPUKAN	KONSENTRASI	Mean Difference (I - J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	KONSENTRASI 25%	8.0000*	1.81788	.000	5.7015	11.0385
	KONSENTRASI 50%	3.0500*	1.81788	.002	1.5115	5.7885
	KONSENTRASI 75%	2.4000*	1.81788	.030	.2615	4.5385
	KONSENTRASI 100%	-1.1000*	1.81788	.034	-2.2385	1.0385
	KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	22.1800*	1.81788	.000	20.0115	24.2885
KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	KONSENTRASI 25%	-12.2500*	1.81788	.000	-14.3685	-11.1315
	KONSENTRASI 50%	-16.5000*	1.81788	.000	-18.6385	-14.3615
	KONSENTRASI 75%	-19.7500*	1.81788	.000	-21.8885	-17.6115
	KONSENTRASI 100%	-23.2500*	1.81788	.000	-25.3885	-21.1115
	KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	-22.1800*	1.81788	.000	-24.2885	-20.0115

* The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous

KONSENTRASI

KELUMPUKAN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Duration*	4	8000			
KONTROL NEGATIF (AGUACEST)	4		11.2500		
KONSENTRASI 25%	4			16.5000	
KONSENTRASI 50%	4				18.7500
KONTROL POSITIF (GENTAMICIN)	4				22.1800
KONSENTRASI 100%	4				23.2500
Sig.		1.800	1.000	.235	.284

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 * Use Harmonic Mean Sample Size = 4.000.