KARYA TULIS ILMIAH

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PENYEBAB JERAWAT *Staphylococcus epidermidis* MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN ASHITABA *(Angelica Keiskei)*

Disusun Oleh

SUGANDI MALFADINATA

516020024

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM

TAHUN 2019

HALAMAN PERSETUJUAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PENYEBAB JERAWAT *Staphylococcus epidermidis* MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN ASHITABA (*Angelica Keiskei*)

Diajukan Oleh

SUGANDI MALFADINATA
NIM: 516020024

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji dan Diterima Sebagai Syarat Untuk Mencapai Gelar Ahli Madya Farmasi pada Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama	Pembimbing Pendamping
(Alvi Kusuma W, M.Farm., Apt)	(Yuli Fitriani, M.Farm., Apt)
NIDN. 0326089001	NIDN. 0829039001

Mengetahui,
Ketua Program Studi DIII Farmasi
Universitas Muhammadiyah Mataram

(Baiq Leny Nopitasari, M.Farm.,Apt)
NIDN. 0807119001

HALAMAN PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PENYEBAB JERAWAT *Staphylococcus epidermidis* MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN ASHITABA (*Angelica Keiskei*)

DiajukanOleh

SUGANDI MALFADINATA
NIM: 516020024

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji dan Diterima Sebagai Syarat Untuk Mencapai Gelar Ahli Madya Farmasi pada Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram

1. Ketua Tim Penguji : Alvi Kusuma W, M.Farm., Apt (.....)
2. Penguji I : Irmatika Hendriyani M.Sc (.....)
3. Penguji II : Yuli Fitriani, M.Farm., Apt (.....)

Mengesahkan
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Mataram

(Nurul Qiyaam, M.Farm.Klin.,Apt.)
NIDN. 0827108402

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sugandi Malfadinata

NIM : 516020024

Program Studi : DIII-Farmasi

Fakultas : Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantum dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Mataram, 6 September 2019

Yang membuat pernyataan

METERAI TEMPEL 6000

SUGANDI MALFADINATA

NIM : 516020024

MOTTO

“Belajarlah dari kekeliruan di jaman lalu, mencoba bersama cara yang berbeda,

dan senantiasa berharap untuk sebuah kesuksesan dijaman depan”

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

KATA PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin..

Segala puji bagi Allah SWT untuk kemudahan, kelancaran, kesempatan untuk bisa menyelesaikan tugas akhir ini dengan tepat waktu

Terimakasih untuk kedua orang tua yang telah memberikan doa, dukungan, dorongan untuk bisa samapai pada hari ini.

Terimakasih untuk ibu Alvi Wardani Kusumawati yang telah memberikan bimbingan, pelajaran, arahan, waktu, dan masukan kepada kami anak didiknya.

Terimakasih untuk Ibu Yuli firiani yang telah memberikan bimbingan, saran, pengetahuan, perhatian dan waktu dalam menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah ini.

Terimakasih untuk ibu Irmatika Hendriyani yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan waktu kepada penulis.

Terimakasih kepada teman seperjuangan dalam penelitian ini (Jailani ahmad, trisman hadi, dan mizhul habj) untuk semua pelajaran yang baru, pengalaman yang baru, cerita yang baru.

Terimakasih kepada Ayustina mahardika wanita yang selalu memberikan doa, dukungan, dorongan untuk bisa sampai pada hari ini

Terimakasih untuk teman teman pejuang subuh yang selalu memberikan semangatnya dan waktunya untuk membantu menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini

Terimakasih untuk semua orang yang telah membantu menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Terima kasih banyak ☺

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan Proposal studi kasus sebagai salah satu syarat akademis untuk mencapai gelar ahlimadya farmasi tentang **"UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PENYEBAB JERAWAT *Staphylococcus epidermidis* MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN ASHITABA (*Angelica Keiskei*)".** Melalui kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan karya tulis ilmiah ini, terutama :

1. Nurul Qiyaam, M. Farm. Klin., Apt. Selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Alvi Kusuma W, M.Farm., Apt. Selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, masukan, arahan, dan petunjuk kepada penulis selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dan pada saat penelitian.
3. Yuli Fitriana, M.Farm., Apt. Selaku Pembimbing Pendamping yang telah bersedia disibukkan untuk memberikan bimbingan, masukan, pentunjuk, danarahan, sertamotivasi penulis selama penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dan pada saat penelitian.
4. Abdul Rahman Wahid, M.Farm., Apt. Selaku penguji yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan danmasukan kepada penulis.
5. Teman-teman seperjuangan di Diploma III Farmasi yang senantiasa memberikan do'a, saran, dukungan dan semangat sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan tepat waktu.

6. Seluruh dosen dan staf pegawai Diploma III Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Penulis menyadari bahwa penulisan Karya Tulis ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu saran dan kritik yang bersifat membangun keberhasilan dan penyempurnaannya sangat penulis harapkan.

Mataram, September 2019

Penulis

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i

LEMBAR PERSETUJUAN ii

HALAMAN PENGESAHAN iii

KATA PENGATAR iv

DAFTAR ISI vi

DAFTAR GAMBAR viii

DAFTAR TABEL ix

DAFTAR LAMPIRAN x

ABSTRAK xi

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1.Latar Belakang 4
1.2.Rumusan Masalah 4
1.3.Tujuan Penelitian 4
1.4.Manfaat Penelitian 5
1.5.Keaslian Penelitian 5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 8

2.1.Ashitaba 8
2.2.Definisi Ashitaba 8
2.1.1. Klasifikasi Ashitaba 11
2.1.2. Kandungan Senyawa Kimia dan Manfaat Ashitaba 11
2.3.Jerawat 12
2.3.1. Definisi Jerawat 12
2.3.2. Faktor-faktor Penyebab Jerawat 13
2.4.Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* 14

2.5.Ekstraksi 15
2.5.1. Definisi Ekstraksi 15
2.5.2. Metode Ekstraksi 15
2.6.Metode Uji Aktivitas 18
2.7.Kerangka Konsep 20
2.8.Hipotesis 21
BAB III METODE PENELITIAN 22

3.1.Desain Penelitian 22
3.2.Waktu dan Tempat Penelitian 22
3.3.Obyek dan Sampel 22
3.4.Parameter Pengamatan 22
3.5.Instrumen Penelitian 22
3.6.Variabel Penelitian 23
3.6.1. Variabel Bebas 23
3.6.2. Variabel Terikat 23
3.7.Definisi Oprasional 23
3.8.Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ashitaba 23
3.9.Pembuatan Konsentrasi Ekstrak daun Ashitaba 24
3.10.Cara Kerja 25

3.11. Alur Penelitian 27

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 28

4.1 Pembutan simplisia 29

4.2 Ekstrak 30

4.3 Hasil skrining fitokimia 35

4.4 Pengujian uji aktivitas antibakteri penyebab jerawat

Staphylococcus epidermidis menggunakan ekstrak

daun ashitaba 36

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 41

5.1 Kesimpulan 41

5.2 Saran 41

DAFTAR PUSTAKA 43

LAMPIRAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Ashitaba 10

Gambar 2.2 Kerangka Konsep 20

Gambar 3.1 Alur Penelitian 27

Gambar 4.1 Hasil Uji Flavonoid 31

Gambar 4.2 Reaksi Flavonoid dengan Amoniak..... 32

Gambar 4.3 Hasil Uji Senyawa Saponin 32

Gambar 4.4 Reaksi Perkiraan Uji Saponin..... 33

Gambar 4.5 Hasil Uji Tanin 34

Gambar 4.6 Reaksi antara Tanin dan FeCl3..... 34

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

DAFTAR TABEL

Gambar 4.1 Hasil Simplisia dan Rendemen..... 29

Gambar 4.2 Hasil Uji Pendahuluan Senyawaa Atau Zat Aktif Ekstrak Daun Ashitaba 30

Gambar 4.3 Klasifikasi Respon Zona Hambat Bakteri 36

Gambar 4.4 Hasil Uji Aktivitas Bakteri Penyebab Jerawat

Staphylococcus epidermidis Menggunakan Ekstrak Daun

Ashitaba dengan MenggunakanMetode Sumuran 37

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat permohonan izin penelitian di Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian Dan Kalibrasi Kota Mataram 46

Lampiran 2 Surat Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat

Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba 47

Lampiran 3 Uji Skrining Fitokimia 48

Lampiran 4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Ashitaba 49

Lampiran 5 Uji Sensitivitas Bakteri 50

Lampiran 6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat Staphylococcus Epidermidis Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba 53

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PENYEBAB JERAWAT *Staphylococcus Epidermidis* MENGGUNAKAN EKSTRAK DAUN ASHITABA *(Angelica Keiskei)*

Sugandi Malfadinata, 2019

Pembimbing: (I) Alvi Kusuma W, M.Farm., Apt (II) Yuli Fitriana, M.Farm., Apt

ABSTRAK

Jerawat merupakan penyakit yang sering terjadi pada permukaan kulit wajah, leher, dada dan punggung. Jerawat muncul pada saat kelenjar minyak kulit terlalu aktif, sehingga pori-pori kulit akan tersumbat oleh timbunan lemak yang berlebihan. Pengobatan jerawat biasanya menggunakan antibiotik yang dapat menghambat inflamasi dan membunuh bakteri. Masalah yang timbul akibat penggunaan antibiotik yang terlalu sering adalah munculnya resistensi bakteri terhadap antobiotik, maka perlu alternatif lain dalam mengobati jerawat yaitu dengan menggunakan bahan-bahan dari alam, dengan harapan dapat meminimalkan efek samping yang tidak diinginkan. Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah ashitaba *(Angelica keiskei)*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilihat dari daya hambatnya. Uji antibakteri daun ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode sumuran. Konsentrasi sampel uji ekstrak etanol daun ashitaba yang digunakan adalah 25%, 50% dan 100%. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun batang ashitaba mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Hasil uji aktivitas antibakteri penyebab jerawat *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 100% mempunyai daya hambat sedang dengan diameter hambatan 19,66±0,57, konsentrasi 50% mempunyai daya hambat lemah

dengan diameter hambatan 13,33±2,51, dengan klasifikasi respon zona hambat bakteri 16-20 mm tergolong respon hambatan sedang.

Kata kunci: Daun, ashitaba *(Angelica keiskei),* daya hambat, bakteri *Staphylococcus epidermidis*

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jerawat merupakan penyakit yang sering terjadi pada permukaan kulit wajah, leher, dada dan punggung. Jerawat muncul pada saat kelenjar minyak kulit terlalu aktif, sehingga pori-pori kulit akan tersumbat oleh timbunan lemak yang berlebihan (Sawarkar, 2010). Jika timbunan itu bercampur dengan keringat, debu dan kotoran lain, maka akan menyebabkan timbunan lemak dengan bintik hitam di atasnya yang disebut komedo. Jika pada komedo itu terdapat infeksi bakteri, maka terjadilah peradangan yang dikenal dengan jerawat. Peradangan ditimbulkan oleh bakteri *Propionibacterium acne, Staphylococcus epidermis, dan Staphylococcus aureus* (Wasitaatmaja, 1997).

Pengobatan jerawat di klinik kulit biasanya menggunakan antibiotik yang dapat menghambat inflamasi dan membunuh bakteri contohnya tetrasiklin, eritromisin, doksisiklin, dan klindamisin. Selain dari itu sering juga digunakan benzoil peroksid, asam azelat dan ratinoid, namun obat-obat ini memiliki efek samping dalam penggunaannya sebagai anti jerawat antara lain iritasi, sementara menggunakan antibiotik jangka panjang selain dapat menimbulkan resistensi juga dapat menimbulkan kerusakan organ dan imunohipersensitivitas (Djajadisastra, 2009).

Masalah yang timbul akibat penggunaan antibiotik, maka dicari alternative lain dalam mengobati jerawat yaitu dengan menggunakan bahan-bahan dari alam, dengan harapan dapat meminimalkan efek samping yang tidak diinginkan seperti yang terjadi pada pengobatan jerawat dengan antibiotik atau

zat-zat aktif lain (Djajadisastra, 2009). Penggunaan obat bahan alam dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat yang berasal dari bahan kimia, di samping itu harganya lebih terjangkau. Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Miksusanti, *et al*, 2009). Salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat tradisional adalah daun ashitaba (*Angelica keiskei*).

Ashitaba merupakan tanaman suku umbelliferae yang banyak tumbuh pada daerah Sembalun (Lombok Timur). Daunnya banyak dimanfaatkan oleh masyarakat setempat sebagai tanaman pelengkap pangan dan getahnya digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka pada tubuh. Beberapa senyawa kalkon yang berhasil diisolasi dari ashitaba antara lain adalah xanthoangelol dan isobavakalkon yang secara lanjut diteliti mempunyai aktivitas sebagai penghambat radikal bebas, antibakteri dan dapat menginduksi apoptosis pada neuroblastoma serta sel leukemia. Selain itu golongan senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin, steroid dan glikosida juga terdeteksi pada batang dan daun ashitaba. Sebelumnya telah dilaporkan efek antibakteri dari senyawa kalkon (xanthoangelol dan 4 hydroxyderricin) yang disolasi dari daun ashitaba pada beberapa bakteri Gram positif dan negatif dengan aktifitas paling baik ditunjukkan senyawa pada bakteri Gram positif.

Hasil skrining fitokimia daun, batang dan umbi ashitaba dari Balai Tanaman Obat Manoko, secara kualitatif menunjukkan bahwa tanaman ashitaba mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, saponin, flavonoid, triterfenoid dan glikosida cukup kuat dan khusus pada daun terdapat senyawa kimia golongan

tanin paling kuat yang disebut juga dengan polifenol (Sembiring,2011). Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa komplek dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghacurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri. Senyawa polifenol dan flavonoid merupakan senyawa golongan dari fenol. Senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel bakteri. Selain itu flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri gram positif, selain itu pada dinding sel gram positif mengandung polisakarida yang merupakan polimer larut dalam air yang berfungsi sebagai transfor ion positif. Sifat larut inilah yang menunjukan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar. Senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri karena mempunyai kemampuan untuk menginaktivasi adhesion mikroba, enzim dan protein transport pada membrane sel. Secara garis besar mekanismenya adalah dengan merusak membran sel bakteri (Akiyama, *et al.*,2001). Alkaloid bersifat antibakteri karena memiliki kemampuan menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri, menggangguan metabolisme bakteri sehingga membuat kebutuhan energi tidak tercukupi dan mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang berlanjut kepada kematian bakteri. Ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang merupakan bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur lapisan tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang

disebut asam teikoat. Selain itu, bakteri Gram positif memiliki susunan dinding sel yang tidak terlalu rumit atau kompleks, sehingga dinding sel bakteri Gram positif masih dapat ditembus oleh senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak daun ashitaba seperti tanin, saponin, alkaloid, flavonoid dan fenol.

Berdasarkan latar belakang yang menyebutkan bahwa daun ashitaba dapat memiliki efek sebagai antibakteri serta banyak digunakan secara empirik oleh masyarakat Indonesia, maka akan dilakukan penelitian mengenai potensi antibakteri ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap bakteri penyebab jerawat, sehingga dapat menjadikan daun ashitaba (*Angelica keiskei*) sebagai obat jerawat alamiah.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah aktivitas ekstrak daun ashitaba terhadap aktivitas anti bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode zona hambat?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas ekstrak daun ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilihat dari daya hambatnya.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Institusi Pendidikan

   Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai tambahan referensi dan ilmu bagi mahasiswa kesehatan dan peneliti selanjutnya.

2. Bagi Masyarakat

   Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang penggunaan daun ashitaba sebagai anti jerawat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis.*

3. Bagi Peneliti

   Diharapkan dapat sebagai perwujudan tri dharma perguruan tinggi, yaitu pendidikan, penelitian, dan pengabdian kepada masyarakat.

1.5 Keaslian Penelitian

1. Penelitian yang dilakukan oleh Dyke Gita Wirasisya, Wahida Hajrin, Handa Muliasari (2018) yang berjudul "Aktivitas Antibakteri Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Streptococcus mutans"* menggunakan metode penentuan aktivitas antibakteri menggunakan metode makrodilusi dengan parameter akhir berupa Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Fraksinasi ekstrak menggunakan metode partisi cair-cari dan skrining fitokimia menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan folin-ciocalteu sebagai reagen visualisasi. Hasil penelitian yang dilakukan menggunakan ekstrak etanolik ashitaba mendapatkan bahwa KBM ekstrak berada pada 0,5 mg/mL. Ekstrak tersebut kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut, n-Heksan, etil asetat dan etanol. Hasil uji antibakteri dari 3 fraksi didapatkan bahwa KHM tidak dapat teramati dikarenakan gangguan/bias dari warna fraksi namun KBM dapat teramati pada fraksi N-Hexan (0,125 mg/mL) dan etil asetat (0,5 mg/mL) sedangkan pada hasil fraksi menggunakan etanol 96%

tidak teramati adanya KBM. Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa fraksi n-heksan mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya dengan KBM sebesar 0,125 mg/mL. hal ini dimungkinkan karena fraksi nheksan secara kualitatif mempunyai lebih banyak senyawa fenolik.

2. Penelitian yang dilakukan oleh Risa Umamil (2013) yang berjudul "Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphyloccus aureus"*

   Menggunakan metode perlakuan dalam penelitian ini menggunakan 6 perlakuan yang terdiri atas 5 perlakuan berupa konsentrasi ekstrak daun Ashitaba (5%, 10%, 25%, 50%, dan 100%) sedangkan 1 perlakuan adalah kontrol positif menggunakan tetrasiklin.

   Hasil penelitian bahwa diameter zona hambat mulai terbentuk pada perlakuan konsentrasi 25% sampai 100% dengan diameter yang paling besar adalah 100%. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin tinggi pula senyawa-senyawa aktif yang terdapat ekstrak daun Ashitaba. Lain halnya dengan kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat yang kecil karena bakteri *Staphylococcus aureus* sudah resisten terhadap antibiotik tersebut sebagai akibat dari pemakaian jangka panjang.

3. Penelitian yang dilakukan oleh Rochmanah Suhartati, Dewi Peti Virgianti (2015) yang berjudul "Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba *(Angelica keiskei)* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi

Dari Luka Diabetes“ menggunakan metode difusi agar Kirby Bauer dengan kontrol positif antibiotik tetrasiklin 0,01g/mL dan kontrol negatif pelarut akuades steril. Parameter yang diukur ialah besarnya diameter daya hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram. Ekstraksi daun Ashitaba dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% diperoleh ekstrak kental sebanyak 33,67%. Variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan (1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1; 0,08; 0,06; 0,04; 0,02; 0,01)g/mL dengan ulangan sebanyak 4 kali. Hasil penelitian menunjukan rata-rata diameter daya hambat yang terbentuk dengan perlakuan ekstrak konsentrasi1,0; 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1; 0,08; 0,06; 0,04; 0,02; 0,01 g/mL secara berturut-turut ialah18,06; 16,01, 13,55; 12,24; 11,26; 10,50; 9,90, 0,00; 0,00; 0,00; dan 0,00 mm. Sedangkan rata-rata diameter hambat untuk kontrol positif tetrasiklin 0,01 mg/mL adalah 29,05 mm dan kontrol negatif Aquadest adalah 0,00 mm. Nilai MIC ekstrak etanol 70% daun ashitaba terhadap bakteri S. aureus adalah 0,1g/mL.Penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun ashitaba memiliki perbedaan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri S. aureuspada konsentrasi 0,1 - 1,0g/mL dan nilai MIC adalah 0,1g/mL

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ashitaba *(Angelica Keiskei)*

2.1.1 Ashitaba

Ashitaba adalah tanaman asli dari jepang yang dikenal sebagai harta karun dan sayur-sayuran. Menurut sejarah Bangsa Jepang, ashitaba merupakan tanaman yang dapat memperpanjang umur, yang dulu dicari-cari oleh kaisar pertama Cina dari Dinasti Chin. Pada zaman kekaisaran Edo, *Hachi jo island*, ashitaba juga dikenal sebagai jamu umur panjang. Ashitaba mempunyai daya hidup yang sangat kuat, maka jika daunnya dipetik keesokan harinya tunas daun baru muncul (Harmanto, 2014).

Sistem perakaran ashitaba adalah serabut, yaitu bila akar lembaga dalam perkembangannya mati kemudian akan tumbuh sejumlah akar yang kurang lebih sama besar. Akar tersebut dalam perkembangannya akan mengalami modifikasi menjadi akar yang membesar sebagaimana umbi-umbian yang menyebabkan akar tersebut tampak mempunyai system perkaran tunggang. Warna akar cokelat tua jika sudah dewasa, tetapi akar muda berwarna putih agak kekuningan hingga coklat muda (Azzamy, 2015).

Ashitaba merupakan tanaman suku umbelliferae yang banyak tumbuh pada daerah sembalun (Lombok Timur). Daunnya banyak dimanfaatkan oleh masyarakat setempat sebagai tanaman pelengkap pangan dan getahnya digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka pada tubuh. Beberapa senyawa kalkon yang berhasil diisolasi dari ashitaba antara lain adalah xanthoangelol dan isobavachalcone yang secara lanjut diteliti mempunyai aktivitas sebagai

penghambat radikal bebas, antibakteri dan dapat menginduksi apoptosis pada neuroblastoma serta sel leukemia. (Nishimura *et al.*, 2007).

Dalam decade terakhir, beberapa konstituen aktif mewakili kalkon, flavanone, dan kumarin telah diisolasi dan dikarakterisasi dari ashitaba. Sebagaian besar literature tentang bioaktif metabolit terisolasi dari ashitaba menyangkut berbagai aktivitas kalkon yang paling melimpah terdapat pada kulit akar tanaman (Kim DW *et al.*,2014).

Zat aktif yang terkandung dalam daun ashitaba yaitu senyawa golongan alkaloid, saponin, flavonoid, fenol dan tannin (Rochmanah dan Virgianti, 2015). Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa komplek dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghacurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri. Senyawa polifenol dan flavonoid merupakan senyawa golongan dari fenol. Senyawa fenol memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel bakteri. Selain itu flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri gram positif, selain itu pada dinding sel gram positif mengandung polisakarida yang merupakan polimer larut dalam air yang berfungsi sebagai transfor ion positif. Sifat larut inilah yang menunjukan bahwa dinding sel bakteri Gram positif bersifat lebih polar. Senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri karena mempunyai kemampuan untuk menginaktivasi adhesion mikroba, enzim dan protein transport pada membrane sel. Secara garis besar mekanismenya adalah dengan merusak membran sel

bakteri (Akiyama, *et al.*,2001). Alkaloid bersifat antibakteri karena memiliki kemampuan menghambat kerja enzim untuk mensintesis protein bakteri, mengganggguan metabolism bakteri sehingga membuat kebutuhan energy tidak tercukupi dan mengakibatkan rusaknya sel bakteri secara permanen yang berlanjut kepada kematian bakteri. Ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang merupakan bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur lapisan tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat. Selain itu, bakteri Gram positif memiliki susunan dinding sel yang tidak terlalu rumit atau kompleks, sehingga dinding sel bakteri Gram positif masih dapat ditembus oleh senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak daun ashitaba seperti tanin, saponin, alkaloid , flavonoid dan fenol.

Gambar 2.1 Daun Ashitaba (Dokumentasi Peribadi)

2.1.2 Klasifikasi Ashitaba (Kim DW *et al.*,2014) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Apiales
Familia : Apiaceae
Genus : Angelica
Spesies : *Angelica Keiskei* Koidzumi

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia dan Manfaat Ashitaba

Menurut Wiralaga (2015) batang ashitaba mengandung getah yang berwarna kuning, disebut sebagai "*Chalcone"* termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yang mengandung xantoangelol dan 4-hydroxyderricin. Tanaman ashitaba ini kaya akan betakaroten, vitamin Bi, B2, B3, B5, B6, dan B12, biotin, asam folik dan vitamin C, juga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, potassium, fosfor, seng dan tembaga.

Ashitaba mengandung senyawa alkaloid, saponin dan glikosida dengan kategori kuat pada semua bagian tanaman. Kandungan flavonoid, triterpenoid dan tannin tertinggi terdapat pada daun (Sembiring & Manoi, 2011). Ashitaba yang kaya akan vitamin dan mineral menurut Sembiring dan Manoi (2011) dapat menigkatkan produksi sel darah merah, meningkatkan konsentrasi, produksi hormone pertumbuhan serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit maupun infeksi. Ekstrak daunnya mempunyai aktivitas sebagai antitumor, kanker (paru-paru dan kulit), juga mempunyai potensi sebagai antioksidan. Efek antioksidan ashitaba juga berfungsi untuk menjaga organ tubuh dan kerusakan sel akibat radikal bebas serta memperlambat proses penuaan. Ashitaba juga berpotensi untuk menginduksi sekresi susu pada ibu menyusui.

Kemudian juga berpotensi menyembuhkan diabetes, asam lambung, hipertensi, jantung coroner, asma, liver, menurunkan kolestrol, osteoporosis, ginjal, magh dan menambah vitalitas, meghambat poliferasi HIV.

Suhartati dan Virgianti (2015) melaporkan, bahwa ekstrak etanol 70% daun ashitaba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro.* Suhartati dan Nurasiah (2016) juga melaporkan, bahwa ekstrak air daun ashitaba mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Zat aktif yang terdapat dalam kalkon bermanfaat meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi, juga berfungsi sebagai antitumor (Suhartati & Nurasiah, 2016).

2.2 Jerawat

2.2.1 Definisi Jerawat

Jerawat adalah kondisi abnormal kulit akibat terjadi gangguan berlebihan produksi kelenjar minyak (*sebaceous gland*) yang menyebabkan penyumbatan saluran folikel rambut dan pori-pori kulit. Jerawat dapat timbul di permukaan kulit muka, bagian dada dan lengan.

2.2.2 Faktor-faktor Penyebab Jerawat

a. Komedo

Komedo adalah pori-pori yang tersumbat, bisa terbuka atau tertutup.Komedo yang terbuka disebut sebagai *blackhead*, terlihat seperti pori-pori yang membesar dan menghitam. Berwarna hitam sebenarnya bukan kotoran tetapi merupakan penyumbat pori yang berubah warna karena teroksidasi dengan udara. Komedo yang tertutup

atau *whiteheads*, biasanya memiliki kulit yang tumbuh di atas pori-pori yang tersumbat maka terlihat seperti tonjolan putih kecil-kecil di bawah kulit.Jerawat jenis ini disebabkan sel-sel kulit mati dan kelenjar minyak yang berlebihan pada kulit (Dewi, 2009).

b. Jerawat biasa atau klasik

Jenis jerawat klasik ini mudah dikenal yaitu terdapat tonjolan kecil berwarna pink atau kemerahan.Hal ini terjadi karena pori-pori yang tersumbat terinfeksi dengan bakteri yang terdapat di permukaan kulit, kuas *make-up*, dan jari tangan.Stres, hormon, dan udara yang lembab dapat memperbesar kemungkinan infeksi jerawat karena menyebabkan kulit memproduksi minyak yang merupakan tempat berkembang biaknya bakteri (Dewi, 2009).

c. *Cystic Acne* (Jerawat Batu atau Jerawat Jagung)

Jerawat ini besar dengan tonjolan-tonjolan yang meradang hebat dan berkumpul di seluruh wajah.Penderita jerawat ini dikarenakan faktor genetik yang memiliki banyak kelenjar minyak sehingga pertumbuhan sel-sel kulit tidak normal dan tidak dapat mengalami regenerasi secepat kulit normal (Dewi, 2009).

2.3 Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Klasifikikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebagai berikut:

Kingdom : Protista
Divisi : Schizophyta
Kelas : Schyzomycetes
Bangsa : Eubacteriales
Suku : Enterobacteriaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus epidermidis* (Salle, 1961).

Staphylococcus epidermidis adalah kuman bakteri Gram positif yang bersifat aerob. Sel berbentuk bola dengan diameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. *Staphylococcus epidermidis* berupa kokus tunggal, berpasangan, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair. Bakteri pembentuk spora yang banyak terdapat di udara, air, dan tanah. Koloni biasanya berwarna abu-abu hingga putih terutama pada isolasi primer. Beberapa koloni menghasilkan pigmen hanya pada inkubasi yang diperpanjang. Tidak ada pigmen yang dihasilkan secara anaerobik atau pada media cair. *Staphylococcus epidermidis* merupakan flora normal pada kulit manusia, saluran respirasi, dan gastrointestinal. *Staphylococcus epidermidis* tidak bersifat invasif menghasilkan koagulase negatif dan cenderung menjadi2 nonhemolitik (Jawetz *et al.*, 2005). *Staphylococcus epidermidis* umumnya dapat menimbulkan penyakit pembengkakan (abses) seperti jerawat, infeksi kulit, infeksi saluran kemih, dan infeksi ginjal (Radji, 2011).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penyarian suatu senyawa kimia dari suatu bahan alam dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dilakukan dengan metode yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi. Pada proses ekstraksi ini dapat digunakan sampel dalam keadaan segar atau yang telah dikeringkan terlebih dahulu, tergantung pada sifat tumbuhan dan senyawa yang akan diisolasi (Tiwari *et al*., 2011) :

Efektifitas ekstraksi senyawa kimia dari tumbuhan bergantung pada (Tiwari *et al*., 2011) :

- Bahan-bahan tumbuhan yang diperoleh
- Keaslian dari tumbuhan yang digunakan
- Proses ektraksi
- Suhu ekstraksi
- Konsentrasi pelarut
- Polaritas pelarut

2.4.2 Metode Ekstraksi

Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin (DepKes RI, 2000).

1. Ekstraksi Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan pengekstraksi.Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali.Lamanya waktu maserasi berbeda-beda antara 4-10 hari.Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolute. Semakin besar perbandingan cairan

pengekstraksi terhadap simplisia, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Sjahid, 2008).

Kelebihan cara maserasi adalah alat yang digunakan sederhana dan dapat digunakan untuk zat yang tahan dan tidak tahan pemanasan. Kelemahan cara maserasi adalah banyak pelarut yang terpakai dan waktu yang dibutuhkan cukup lama (DepKes RI, 2000).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai penyarian sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruang.Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap perkolasi antara, tahapan perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), sampai diperoleh ekstrak perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali dari bahan (DepKes RI, 2000).Untuk menentukan akhir dari perkoasi dapat dilakukan dengan pemeriksaan zat secara kualitatif pada perkolat akhir. Ini adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif penyusun *tincture* dan ekstrak cairan (DepKes RI, 2000).

2. Ekstraksi Cara Panas

a. Soxhletasi

Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara serbuk simplisia ditempatkan dalam klonsong yang telah dilapisi

kertas saring sedemikian rupa, cairan penyari dipanaskan dalam labu alas bulat sehingga menguap dikondensasikan oleh kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang jatuh kedalam klonsong menyari zat aktif didalam simplisia dan jika cairan penyari telah mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan turun kembali kelabu alas bulat melalui pipa kapiler hingga terjadi sirkulasi. Ekstraksi sempurna, tidak tampak noda jika di KLT, atau sirkulasi telah mencapai 20-25 kali.Ekstrak yang diperoleh dipekatkan (Anonim, 2011).

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (DepKes RI, 2000).

c. Infundasi

Infundasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature 90˚C selama 15 menit. Infusa adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperature penangas air dimana bejana infusa tercelup dalam penangas air mendidih, temperature yang digunakan (96-98˚C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (DepKes RI, 2000)

d. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30˚C) dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90^0C.

2.5 Metode Uji Aktivitas

Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukann dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi.Pada metode difusi termasuk didalamnya metode *disk diffusion* (tes Kirby Baur), *E-test, Ditch-plate technique*. Sedangkan pada metode dilusi termasuk didalamnya metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008):

1. Metode difusi menurut Pratiwi, 2008 diantaranya:
   a. Metode disk diffusion (tes Kriby Baur) menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan amedia agar.
   b. Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikrorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area

jernih yang ditimbulkan yang menunjukan kadar agen antimkroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

c. *Disch-plate technique*, pada metode ini sampel uji berupa agen antimokroba yang diletakkan pada yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antimikroba tersebut.

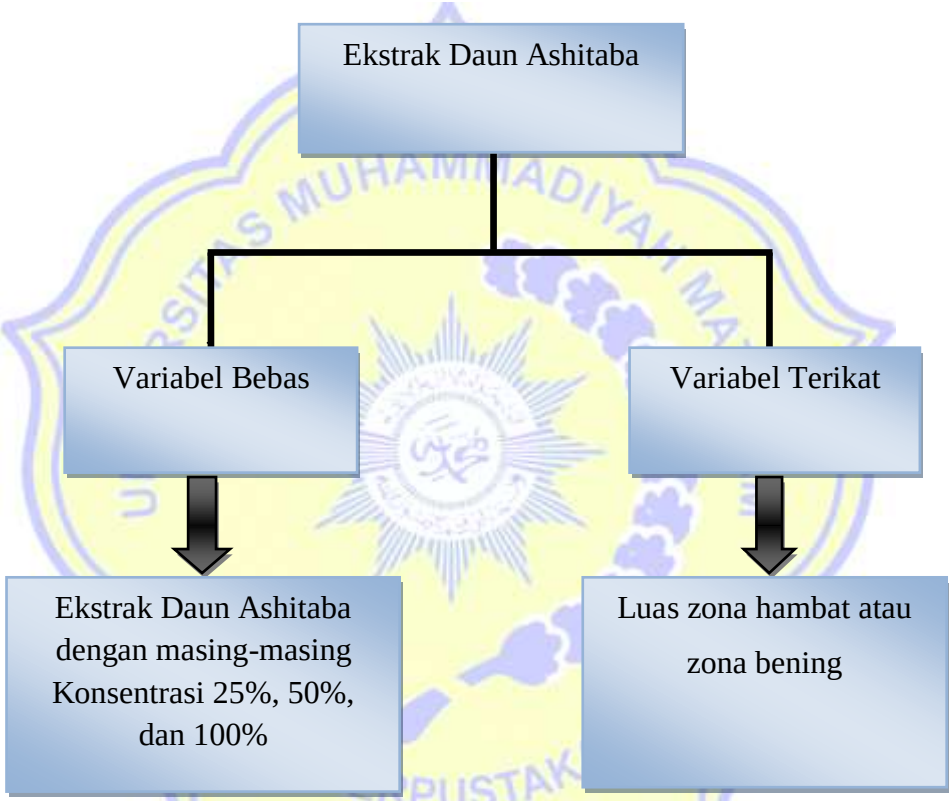
d. *Cup-plate technique.* metode ini serupa dengan disk diffusion, dimana disebut pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimokroba yang akan diuji.

2. Metode dilusi menurut Pratiwi, 2008 diantaranya adalah:

   a. Metode dilusi cair/*broth dilution test (serial diution).* Metode ini digunakkan untuk mengatur Konsentrasi Hambat Minimum (KHA) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang digunakan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambah dengan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penanaman mikrobauj ataupun agen anti mikroba, dan diinkubasi umumnya selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi di tetapkan sebagai KBM.

b. Metode dilusi padat (solid dilution test). Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen mikroorganisme agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji. Beberapa mikroba uji.

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

1. Ekstrak Daun Ashitaba memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true eksperimental* dengan desain *post test only control* menggunakan metode sumuran.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi D3 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan Laboratorium Kesehatan Pengujian Dan Kalibrasi (BLKPK) Kota Mataram. Penelitian ini dilakuan di bulan Juli-Agustus 2019.

3.3 Obyek dan Sampel

Obyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococus epidermidis* dan sampel yang digunakan adalah ekstrak daun ashitaba.

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter yang akan diamati dalam penelitian ini yaitu zona hambat pada medium setelah pemberian ekstrak daun ashitaba dan obat antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococus epidermidis* dengan metode sumuran.

3.5 Instrumen Penelitian

3.5.1 Alat

Cawan petri, Erlenmeyer, timbangan analitik, Bunsen, ose, evaporator, autoklaf, kompor listrik, cotton swab steril, mikropipet, alat-alat glas, ayakan dan blender.

3.5.2 Bahan

Nutrien agar (NA), MHA, alkohol 70 %, alkohol 96%, aquades, larutan garam fisiologis, larutan 0,5 Mc Farland, bakteri *Staphylococus aureus*, ekstrak daun ashitaba, aquades Steril.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak yang di buat dalam variasi konsentrasi yaitu 25%, 50%, dan 100%.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah luas zona hambat atau yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri *Staphylococcus epidermidis* dalam ekstrak daun ashitaba.

3.7 Definisi Oprasional

a. Daun ashitaba merupakan tanaman suku umbelliferae yang banyak tumbuh pada daerah sembalun (Lombok Timur).
b. Ekstrak ashitaba adalah ekstrak yang diperoleh dari proses penyarian dengan menggunakan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi.
c. Bakteri penyebab jerawat yang digunakan adalah *Staphylococcus epidermidis.*

3.8 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ashitaba

1. Pemeriksaan pendahuluan

   Sebagian ekstrak daun ashitaba dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan ditambah aquadest 10 mL lalu dipanaskan selama 30 menit di atas penangas sampai mendidih. Larutan yang terbentuk lalu disaring. Apabila larutan yang diperoleh berwarna kuning-merah, berarti mengandung senyawa yang mempunyai gugus kromofor (flavonoid, tanin, alkaloid, maupun saponin).

2. Uji Kandungan Flavonoid

   Ekstrak daun ashitaba diteteskan pada kertas saring kemudian diuapi dengan amoniak. Apabila muncul warna kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid.

3. Uji Kandungan Saponin (Uji Busa)

   Larutan sampel ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila terbentuk busa yang stabil ± 7 menit, maka sampel positif mengandung saponin.

4. Uji Kandungan Tannin

   Sampel ditambahkan 10 tetes larutan FeCl3 1%. Larutan positif mengandung tanin dan senyawa fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, biru atau hitam pekat.

3.9 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Ashitaba

1. Pembuatan larutan induk (Konsentrasi 100%)

   3 gram ekstrak daun ashitba ditambahkan dengan 3 ml aquadest steril kemudian dicampur dan diaduk sampai terlarut.

2. Pembuatan konsentrasi 100%

$M_1.V_1 = M_2.V_2$

$100.\ V_1 = 100.5$

$V_1 = \frac{300}{100}$

$V_1 = 3$ ml

3. Pembuatan konsentrasi 50%

$M_1.V_1 = M_2.V_2$

$100.\ V_1 = 50$

$V_1 = \frac{50}{100}$

$V_1 = 0{,}5$ ml

Add 0,5 ml ditambahkan 2,5 ml aquadest steril

4. Pembuatan konsentrasi 25%

$M_1.V_1 = M_2.V_2$

$100.\ V_1 = 25$

$V_1 = \frac{25}{100}$

$V_1 = 0{,}25$ ml

Add 0,25 ml ditambahkan 2,75 ml aquadest steril

3.10 Cara Kerja

a. Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan

b. Menyiapkan suspensi bakteri murni *Staphylococcus epidermidis* dengan kekeruhan 0,5 unit *mac farland*.

c. Menyiapkan media Muller Hinton Agar(MHA).

d. kemudian dioleskan suspensi bakteri dengan menggunakan swap kapas steril sehingga merata pada permukaan media.

e. Dibuat sumuran pada media MHA dengan menggunakan *blue* tip steril dengan cara ditempelkan hingga terbentuk sumuran pada permukaan media.

f. Masukkan filtrat daun ashutaba banyak 50 µl pada masing-masing sumuran dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 100%. Kemudian di media lain menggunakan micro pipet masukkan 50 µl kontrol positif antibiotik tetrasiklin.

g. Diinkubasi pada suhu 37 ^{0}C selama 24 jam.

h. Diukur besarnya zona hambatan pada media. Zona hambat dihitung dengan cara mengukur diameter horizontal dan diameter vertical dari zona hambat yang terbentuk. Kemudian dimasukkan ke dalam rumus untuk mencari rata-rata zona hambat kemudian dimasukkan pada tabel kerja. Dengan rumus: (Eskha dkk., 2017)

$$L = \frac{(D1-D2)+(D2-D3)}{2}$$

Keterangan

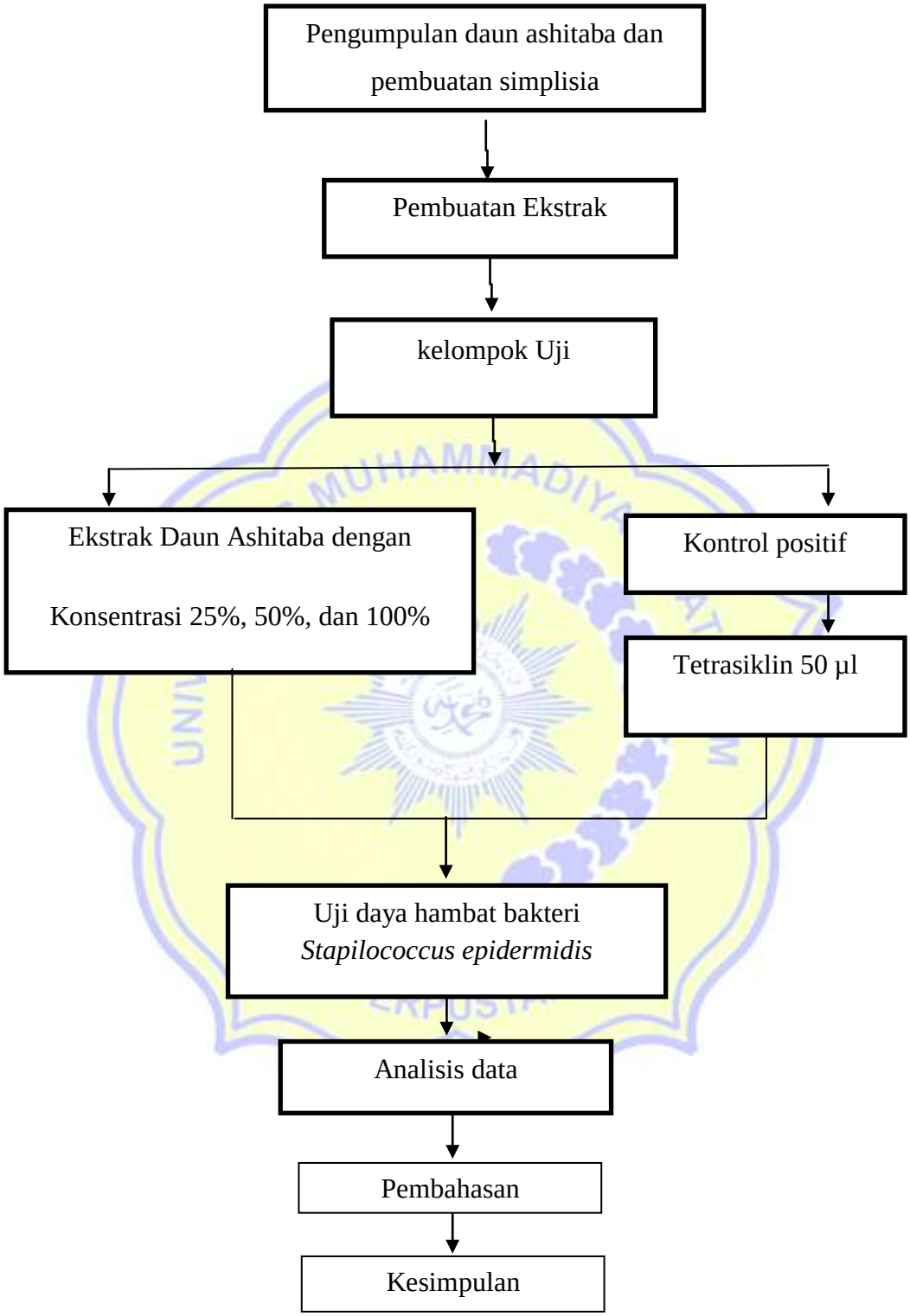
L : Luas zona hambat

D1 : Diameter zona hambat horizontal

D2 : Diameter zona hambat vertikal

D3 : Diameter sumuran

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian