

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI
ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI DAUN ASHITABA
(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)/TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



Oleh :

**Purwanita Indah Kusuma
19133966A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI
ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI DAUN ASHITABA
(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

*Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Purwanita Indah Kusuma
19133966A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI
ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI DAUN ASHITABA
(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Oleh :
Purwanita Indah Kusuma
19133966A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 9 Juni 2017



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt.

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt
Pembimbing Pendamping

Opstaria Saptarini, M.Si., Apt

Penguji:

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si.
2. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
3. Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

“Tugas kita bukanlah untuk berhasil. Tugas kita adalah untuk mencoba, karena di dalam mencoba itulah kita menemukan dan belajar membangun kesempatan untuk berhasil”

-Mario Teguh-

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila telah selsai dari suatu urusan, kerjakanlah urusan lainnya dengan sungguh-sungguh dan hanya kepada Tuhanlah hendaknya berharap”.

(Al-Insyirah:6-8)

Kupersembahkan Skripsi ini kepada:

- ❖ Allah SWT yang telah memberikan limpahan berkah & nikmat yang luar biasa kepadaku*
- ❖ Kedua orang tuaku, Ayah dan ibu yang telah memberikan kasih sayang, selalu mendoakanku, serta menanti keberhasilanku*
- ❖ Kakak dan adikku tersayang*
- ❖ Orang yang memotivasiku*
- ❖ Almamaterku*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/ karya ilmiah/ skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 9 Juni 2017



Purwanita Indah Kusuma

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT berkat limpahan rahmat serta kasih-Nya. Pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DARI DAUN ASHITABA(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**”. Penulisan Skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Selesainya penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik secara moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing yang sangat arif dan bijaksana yang telah memberikan pengarahan, petunjuk, nasihat, bimbingan dengan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini tersusun.
5. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt., selaku Dosen Pendamping yang telah memberikan bantuan berupa bimbingan serta saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Tim Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. Segenap dosen Universitas Setia Budi yang telah memberikan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

8. Laboran di Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta yang telah mendukung penyelesaian skripsi ini.
9. Kepada kedua orang tuaku Bapak Purwanto, Ibu Sunarmi yang selalu mendoakan, memberikan kasih sayang, dan pengorbanannya menjadi jembatan perjalanan hidupku baik dari segi moril maupun materi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Seluruh rekan mahasiswa Universitas Setia Budi.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempuannya oleh karena itu, penulis menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu farmasi khususnya obat tradisional Indonesia.

Surakarta, 9 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Ashitaba(<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz).....	5
1. Taksonomi tanaman Ashitaba	5
2. Nama lain	5
3. Morfologi tanaman	5
4. Tempat tumbuh dan budidaya tanaman.....	6
5. Kandungan kimia tanaman.....	6
5.1 Flavonoid	7
5.2 Triterpenoid.....	7
5.3 Alkaloid.....	8
5.4 Saponin	8
5.5 Tanin	8
6. Manfaat dari tanaman	9
B. Simplisia	9
1. Pengertian simplisia	9

2.	Pemilihan simplisia	9
3.	Pencucian dan pengeringan simplisia.....	10
C.	Metode Penyarian	10
1.	Pengertian ekstrak	10
2.	Metode maserasi	11
3.	Fraksinasi.....	11
4.	Pelarut.....	12
D.	Infeksi	13
E.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	14
1.	Sistematika bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	14
2.	Morfologi dan Fisiologi.....	14
3.	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	14
4.	Pathogenesis	15
5.	Pengobatan	16
F.	Antibakteri.....	17
1.	Definisi	17
2.	Mekanisme kerja antibakteri	17
3.	Uji aktivitas antibakteri	19
3.1.	Metode difusi.....	19
3.2	Metode dilusi	19
G.	Media Bakteri	20
1.	Pengertian media	20
2.	Macam-macam bentuk media	20
3.	Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri	21
3.1	Media sintetik.....	21
3.2	Media kompleks.....	21
3.3	Media biakan khusus.....	21
3.4	Media selektif dan deferensial	21
3.5	Media anaerob.....	21
3.6	Media pengayaan	22
H.	Sterilisasi	22
I.	Amoksisilin.....	23
J.	Landasan Teori	23
K.	Hipotesis	25
BAB III METODE PENELITIAN		27
A.	Populasi dan Sampel.....	27
B.	Variabel Penelitian	27
1.	Identifikasi variabel utama	27
2.	Klasifikasi variabel utama	27
3.	Definisi operasional variabel utama	28
C.	Bahan dan Alat	29
1.	Bahan.....	29
2.	Alat	29
D.	Jalannya Penelitian	30
1.	Identifikasi tanaman	30

2.	Pembuatan serbuk daun Ashitaba.....	30
3.	Penetapan susut pengeringan dari serbuk daun Ashitaba.....	30
4.	Pembuatan ekstrak daun Ashitaba.....	30
5.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun Ashitaba	30
5.1	Flavonoid	30
5.2	Alkaloid.....	31
5.3	Tanin	31
5.4	Saponin	31
6.	Uji Bebas Etanol.....	31
7.	Fraksinasi Ekstrak	31
8.	Sterilisasi	32
9.	Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	32
9.1	Identifikasi morfologi	32
9.2	Identifikasi mikroskopis pewarnaan gram	32
9.3	Uji katalase.....	33
9.4	Uji koagulase.	33
10.	Pembuatan suspensi bakteri uji	33
11.	Pengujian antibakteri daun ashitaba secara difusi.....	33
12.	Pengujian antibakteri daun ashitaba secara dilusi	34
13.	Analisis Hasil	34
E.	Skema Penelitian	35
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		39
A.	Hasil Penelitian.....	39
1.	Identifikasianamanashitaba	39
2.	Pengambilan bahan.....	40
3.	Hasil pembuatan serbuk daun ashitaba	40
4.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba.....	41
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba.....	41
6.	Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ashitaba	42
7.	Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun ashitaba	42
8.	Hasil identifikasi fraksi daun ashitaba.....	43
9.	Fraksinasi.....	44
9.1	Hasil fraksi <i>n</i> -Heksana.	44
9.2	Hasil fraksi etil asetat dan air.....	44
10.	Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	45
10.1	Hasil identifikasi morfologi.	45
10.2	Hasil identifikasi mikroskopis pewarnaan Gram.	46
10.3	Hasil Uji Katalase.	46
10.4	Hasil uji Koagulase.	47
11.	Hasil pembuatan suspensi bakteri uji	48

12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi daun ashitaba terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi	48
13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun ashitaba dan amoksisilin dengan metode dilusi.....	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	54
A. Kesimpulan.....	54
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Ashitaba <i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz	5
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun Ashitaba (<i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz)	35
Gambar 3. Skema uji aktivitas antibakteri	36
Gambar 4. Prosedur pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi	37
Gambar 5. Prosedur pengujian aktivitas antibakteri metode dilusi	38
Gambar 6. Hasil identifikasi morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	45
Gambar 7. Hasil identifikasi pewarnaan Gram <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	46
Gambar 8. Hasil uji katalase	47
Gambar 9. Hasil uji koagulase	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba.....	40
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba.....	41
Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun ashitaba.....	42
Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ashitaba.....	42
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak.....	43
Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi <i>n</i> -Heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun ashitaba	43
Tabel 7. Rendemen fraksi <i>n</i> -Heksan daun ashitaba	44
Tabel 8. Rendemen fraksi etil asetat daun ashitaba.....	44
Tabel 9. Rendemen fraksi air daun ashitaba.....	44
Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi daun ashitaba terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara difusi.....	49
Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat dan amoksisilin dengan metode dilusi	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman ashitaba.....	63
Lampiran 2. Foto daun ashitaba.....	64
Lampiran 3. Foto daun ashitaba kering dan serbuk daun ashitaba	65
Lampiran 4. Gambar alat	66
Lampiran 5. Foto ekstrak cair dan ekstrak kental daun ashitaba	67
Lampiran 6. Foto fraksinasi dan hasil fraksinasi	68
Lampiran 7. Foto identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak	69
Lampiran 8. Foto identifikasi senyawa fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun ashitaba.....	70
Lampiran 9. Foto hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	71
Lampiran 10. Hasil difusi.....	72
Lampiran 11. Hasil dilusi fraksi teraktif etil asetat dan amoksisilin.....	73
Lampiran 12. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba	79
Lampiran 13. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol, fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun ashitaba.....	80
Lampiran 14. Pembuatan larutan stok uji difusi dan dilusi.....	81
Lampiran 15. Lampiran pengujian dosis antibiotik Amoksisilin.....	83
Lampiran 16. Hasil data difusi secara ANNOVA <i>one way</i>	85
Lampiran 17. Formulasi dan pembuatan media.....	96

INTISARI

KUSUMA, PI. 2017. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT, DAN FRAKSI AIR DARI DAUN ASHITABA (*Angelica keiskei* (Miq.)Koidz) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman ashitaba merupakan tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional. Daun ashitaba mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun ashitaba sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dilanjutkan dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Percobaan dilakukan menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 40%, 30%, 20% dan metode dilusi dengan konsentrasi 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%; 0,078%.

Hasil uji metode difusi menunjukkan fraksi etil asetat memiliki daya hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu 20,5 mm. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat yang dapat membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah konsentrasi 10% dengan menggunakan metode dilusi.

Kata kunci : Daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.)Koidz), fraksi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibakteri.

ABSTRACT

KUSUMA, PI. 2017. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST ETHANOLIC EXTRACT, FRACTION n-HEXANE, FRACTION ETHYL ACETATE, AND FRACTION WATER ASHITABA LEAVES(*Angelica keiskei* (Miq.)Koidz) AGAINST BACTERIA *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. UNDERGRADUATE THESIS. FACULTY OF PHARMACY. SETIA BUDI UNIVERSITY. SURAKARTA.

Ashitaba plant was used as a traditional drug. Ashitaba leaves contained chemical compounds such as alkaloid, flavonoid, tannin and saponin which had antibacterial activity. The purpose of this study was to determine the activity of *n*-hexane, ethyl acetate, and water fraction from ethanolic extract of ashitaba leaves against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The extraction was done with 96% ethanol by maceration method and fractionation with *n*-hexane, ethyl acetate, and water. The test was done using the diffusion method with concentrations of 40%; 20%; 10%; 5%; 2.5%; 1.25%; 0.625%; 0.313%; 0.156%; 0.078%.

The results showed that the diffusion method of ethyl acetate fraction had the biggest inhibition against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, which is 20.5 mm. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of ethyl acetate that killed *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was a concentration of 10% using the dilution method.

Keyword : Ashitaba leaves, *Angelica keiskei* (Miq.)Koidz, fraction, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibacterial.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Staphylococcus aureus adalah bakteri patogen utama pada manusia. *Staphylococcus aureus* mempunyai sifat dapat menghemolisa darah. Infeksi yang ditimbulkan dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Peranahan yang bersifat menahun dan timbul radang yang disebut *osteomyelitis* (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus adalah sel sferis Gram positif yang ditemukan pada 40% orang sehat (Gillespie 2009) dengan rentangan insidensi pada kulit 5-15% (Shulmann *et al.* 1994). Mikroorganisme ini merupakan penyebab paling umum infeksi kulit (Chiller *et al.* 2001) berupa *staphylococcal scalded skin syndrome* dengan angka mortalitas 50% (Suzuki *et al.* 2003), serta infeksi sistemik bakteremia stafilokokus yang mengalami peningkatan insidensi pada 2 dekade terakhir dengan angka mortalitas sebanyak 15-60% (Chiller *et al.* 2001; Cosgrove *et al.* 2003).

Antibiotik digunakan untuk menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, tetapi dalam penggunaannya banyak timbul masalah resistensi terhadap antibiotik yang digunakan. Berdasarkan penelitian, diketahui bahwa beberapa jenis bakteri patogen seperti *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* mempunyai resistensi tertinggi terhadap ampisilin, amoksilin, penisilin G, tetrasiklin dan kloramfenikol (Refdinata *et al.* 2002).

Bagi negara-negara berkembang timbulnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Selain itu cara pengobatan dengan menggunakan kombinasi berbagai antibiotik dapat menimbulkan masalah resistensi yaitu munculnya bakteri yang multiresisten terhadap antibiotik. Bahaya terjadinya resistensi kuman adalah pengobatan penyakit menjadi sulit dan lamanya sakit menjadi panjang juga resiko timbulnya komplikasi atau kematian akan meningkat (Tjay & Raharja 2002). Kenyataan

inimendorong untuk menemukan antiinfeksi baru untuk menghasilkan obat baru dengan menggunakan tumbuhan(Refdinata *et al.*2002).

Beberapa tanaman dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, dan atau sediaan galeniknya atau campuran dari bahan – bahan tersebut (Dewoto 2007). Penelitian dan perkembangan tanaman obat, baik di dalam maupun luar negeri berkembang pesat. Penelitian yang berkembang, terutama pada segi farmakologi maupun fitokimianya berdasarkan indikasan tanaman obat yang telah digunakan oleh sebagian masyarakat dengan khasiat yang teruji secara empiris. Hasil penelitian tersebut tentunya lebih memantapkan para pengguna tanaman obat akan khasiat dan penggunaannya (Cristy 2010).

Tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional yaitu ashitaba(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang bentuknya mirip dengan seledri hanya memiliki perawakan lebih besar, sehingga di Indonesia khususnya di Jawa Barat dikenal dengan nama seledri Jepang atau seledri Raja. Ashitaba Pada masa *Edo* dikenal sebagai jamu-jamuan “umur panjang” karena daya hidupnya yang kuat, bila dipetik daunnya hari ini maka daun muda yang baru akan bertunas esok harinya (*tomorrow's leaf*). Ashitaba juga dikenal dengan sebutan “daun malaikat” karena kemampuannya menyembuhkan berbagai penyakit (Nagata *et al.* 2007). Tanaman ashitaba tumbuh baik di Lombok Timur, penduduk memanfaatkan tanaman ini sebagai sayuran dan juga dapat diolah menjadi teh dengan cara diseduh sehingga pemanfaatannya lebih praktis. Ashitaba dibudidayakan di Trawas Mojokerto, Malang, Jawa Timur dan di kebun percobaan Manoko, Balai Penelitian Obat dan Aromatik di Lembang, Jawa Barat (Sembiring & Monai 2011).

Tanaman ashitaba berpotensi sebagai obat karena dari getahnya yang berwarna kuning mengandung zat kalkon yang termasuk golongan senyawa flavonoid (Sembiring & Monai 2011). Zat aktif yang terdapat dalam chalcone bermanfaat sebagai antibakteri terutama *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis* (Baumann 2008).

Menurut Baba (1995) jumlah kandungan bahan aktif dalam 100 g ashitaba adalah terdapat xanthoangelol 0,25%, 4-Hydroxyderricin 0,07% dan total chalcone 0,32%. Total flavonoid di dalam pucuk daun ashitaba berkisar 219 mg/100 g per berat basahanya (Yanget *al.* 2008). Rochmanah & Dewi (2015) membuktikan adanya aktivitas ekstrak etanolik daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari luka diabetes, menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi dengan nilai diameter daya hambat 10,50 mm. Pada penelitian tersebut menyebutkan bahwa daun ashitaba mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positive *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik melakukan penelitian untuk menguji potensi fraksi-fraksi daun ashitaba terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini perlu dilakukan untuk menguji aktivitas fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus*. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa dan menarik senyawa kimia yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sesuai sifat kepolaran pelarut yang digunakan.

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas dari *Staphylococcus aureus* salah satunya menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Bonang & Koeswardono 1982).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, dari ketiga fraksi atau ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) tersebut manakah yang teraktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum dari fraksi teraktif dari daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Pertama untuk mengetahui ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua untuk mengetahui ketiga fraksi atau ekstrak etanol daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) tersebut yang teraktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum dari fraksi teraktif dari daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi atau tambahan pengetahuan khususnya dibidang obat tradisional yang berguna bagi seluruh lapisan masyarakat dalam upaya pemanfaatan daun ashitaba sebagai agen antibakteri. Bagi peneliti dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat ekstrak dan fraksi daun ashitaba sebagai agen antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan sebagai acuan yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)

1. Taksonomi tanaman Ashitaba

Menurut Soepomo (1997), taksonomi tanaman ashitaba adalah:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Apiales
Keluarga	: Apiaceae
Marga	: Angelica
Jenis	: <i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz



Gambar 1. Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)

2. Nama lain

Tanaman ashitabadi Indonesia khususnya di Jawa Barat dikenal dengan nama seledri Jepang atau seledri Raja (Rochmanah dan Dewi 2015).

3. Morfologi tanaman

Ashitabamerupakan suatu jenis tanaman tahunan yang abadi. Ashitaba tumbuh dengan baik di daerah dataran tinggi dengan kedalaman tanah yang cukup lembab. Ashitaba termasuk tanaman monokotil dan termasuk daun lengkap yang

terdiri dari pelepah (upih), tangkai, dan helaian. Daun ashitaba termasuk daun majemuk karena mulai pelepah sampai ujung tangkai daun tumbuh anak daun yang berjumlah tiga atau lebih. Pada anak daun ashitaba mempunyai anak tangkai yang seolah-olah seperti tangkai daun untuk daun yang melekat padanya. Ujung daun ashitaba meruncing dengan pangkal daun yang tumpul (Soepomo 1997).

Susunan tulang daun tanaman ashitaba ada dua macam, yaitu menjari dan menyirip. Hal ini dilihat dari dua sudut pandang yang berbeda, pertama jika dilihat dari bagian tempat melekatnya daun tanaman tersebut tulang daunnya menjari, sedangkan daun ashitabadikatakan sebagai susunan tulang daun menyirip karena pada helaian dari hasil torehan daun tersebut tulang daunnya tersusun menyirip. Daun ashitaba yang masih muda berwarna hijau kekuningan sedangkan daun yang sudah dewasa berwarna hijau tua. Tepi daun ashitaba yaitu bergerigi dengan duri berwarna putih yang tidak terlalu keras dan kaku (Soepomo 1997).

4. Tempat tumbuh dan budidaya tanaman

Tanaman ini dapat tumbuh subur hanya di beberapa tempat di Indonesia, yaitu di Desa Sembalun, Kecamatan Sembalun Kabupaten Lombok timur, Nusa Tenggara Barat (Tamlikha 2011); di Ketapanrame, Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur; di Malang; di kebun Percobaan Manoko; Balai penelitian Tanaman Obat dan Aromatik di Lembang, Jawa Barat (Sembiring & Monai 2011). Daerah ini sangat cocok sebagai tempat tumbuhnya ashitaba karena di daerah tersebut mempunyai ketinggian daratan mencapai 1.200 meter di atas permukaan laut. Suhu rata-ratanya 9-10°C pada siang hari dan 5°C pada malam hari sehingga sangat memenuhi kriteria tanaman Ashitaba untuk dapat tumbuh dengan baik, ditambah lagi dengan kesuburan tanah vulkanik yang berasal dari gunung, sehingga menghasilkan produk ashitaba berkualitas tinggi (Tamlikha 2011).

5. Kandungan kimia tanaman

Daun batang serta umbi tanaman ashitaba mengandung flavonoid, triterfenoid, alkaloid, saponin, tanin, fenolik, dan glikosida, khusus untuk steroid ditemukan hanya pada bagian daun (Sembiring & Monai 2011). Menurut Baba (1995) dalam 100 gram ashitaba adalah terdapat xanthoangelol 0,25%, 4-

Hydroxyderricin 0,07% dan total chalcone 0,32%. Selanjutnya menurut Ma'mun *et al.* (2009) di dalam ashitaba terdapat zat asam hexadecanoat 2,41%, asam palmitat 5,08%, xanthotoxin 3,12%, asam linoleat 9,17%, pyrimidin 2,70%, strychnidinone 3,18% dan smenochromena 7,55%. Selain zat tersebut di dalam ashitaba juga terdapat vitamin, asam amino dan unsur mineral.

5.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan etanol 70%. Senyawa flavonoid biasanya terdapat dalam sel jaringan di dalam bunga, terutama antosian merupakan pigmen tumbuhan yang setelah klorofil dan karotena. Senyawa flavonoid termasuk golongan fenol, karena itu warnanya kuning atau merah jingga berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi senyawa ini mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harbone 1987). Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid untuk beberapa tanaman ialah pengatur tumbuh, pengatur fotosintesa, kerja antimikroba, dan kerja antivirus (Robinson 1995). Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa fenol, mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Substansi yang dapat mendenaturasikan protein dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan & Mulyani 2004).

5.2 Triterpenoid. Triterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C 30 asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Senyawa triterpenoid bekerja sebagai antifungi, insektisida, antibakteri dan antivirus (Widiyati 2006).

Mekanisme antibakteri senyawa triterpenoid yaitu triterpenoid memiliki sifat lipofolik yang umumnya menyebabkan kerusakan membran sel bakteri. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antibakteri bereaksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya. Membran sel bakteri terdiri dari fosfolipid dan molekul protein. Akibat peningkatan permeabilitas, senyawa antibakteri dapat masuk ke dalam sel. Ketika di dalam sel, senyawa tersebut dapat melisiskan

membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel bakteri tersebut (Adewoye *et al.* 2010).

5.3 Alkaloid. Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih senyawa nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistema siklik. Alkaloid tidak memiliki warna, bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar (Harborne 1987). Kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan menggunakan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Alamsyah & Kurniawan 2014).

5.4 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif yang permukaannya kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang terendah menyebabkan hemolisis sel darah merah. Sifat-sifat saponin adalah mempunyai rasa pahit, dalam larutan air membentuk busa yang stabil, menghemolisa eritrosit, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksi steroid lainnya, sulit untuk dimurnikan, berat molekul relatif tinggi (Lenny 2006).

Senyawa saponin dapat merusak membran. Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik, enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel (Antika *et al.* 2014).

5.5 Tanin. Tanin adalah polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Terapi di dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, mengobati ambeien (Lenny 2006). Tanin merupakan senyawa bersifat fenol yang mempunyai rasa yang sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin larut dalam air dan membentuk

larutan koloid. Tanin diduga mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barrier dalam mikroorganisme sehingga bersifat sebagai antibakteri (Harborne 1987)

6. Manfaat dari tanaman

Daun ashitaba mengandung alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, glikosida dan steroid (Sembiring & Monai 2011). Di antara senyawa-senyawa tersebut flavonoid mempunyai bermacam-macam efek, yaitu efek antitumor, immunostimulan, antioksidan, analgesik, antiradang (antiinflamasi), antivirus, antibakteri, antifungi, antidiare, antihepatotoksik, antihiperglikemik, dan sebagai vasodilator (Sumastuti & Sonlimar 2002). Menurut Toshihiro (2003) ashitaba digunakan sebagai kemopreventif.

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat – zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan berupa zat kimia murni (Depkes 1985).

2. Pemilihan simplisia

Proses pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari benda asing yang berbahaya atau tidak berbahaya dalam jumlah kecil atau besar yang biasanya merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda

pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes 1985).

3. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo 2013).

Tujuan pengeringan simplisia adalah untuk menurunkan kadarair sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari dan pengeringan teduh. Kelemahan pengeringan di bawah sinar matahari adalah membutuhkan suhu dan kelembaban yang tidak terkontrol, membutuhkan tempat yang luas dan terbuka sehingga kemungkinan terjadi kontaminasi mikroba lebih besar. Pengeringan di tempat teduh biasanya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang sifatnya termolabil (Depkes 2008).

C. Metode Penyarian

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air yang mendidih. Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat simplisia terdapat dalam bentuk kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan agar zat berkhasiat dapat diatur dosisnya (Dwicandra *et al.* 2006). Ekstraksi atau penyarian merupakan proses perpindahan zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh cairan penyari, sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari (Ansel 1989).

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dan menggunakan pelarut yang dipilih untuk melarutkan zat yang diinginkan. Tiap-tiap bahan mentah obat disebut ekstrak, tidak mengandung hanya satu unsur

saja tetapi berbagai macam unsur, tergantung pada obat yang digunakan dan kondisi dari ekstraksi (Ansel 1989).

2. Metode maserasi

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi untuk memperoleh ekstrak yang sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih suatu metode ekstraksi (Tiwari *et al.* 2011). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.

Maserasi (*macerare*: mengairi, melunakkan) merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut akan adanya perbedaan konsentrasi. Cairan penyari yang digunakan bisa berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia ditambahkan dengan 75 bagian cairan penyari. Maserasi dilakukan selama 5 hari, terlindung dari cahaya dan sesekali dikocok. Sari disaring selama 5 hari, ampas diperas. Ampas ditambahkan cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana ditutup, dibiarkan selama 2 hari, kemudian endapan dipisahkan (Depkes 1986).

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu cara untuk memisahkan golongan utama dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolaran suatu senyawa. Senyawa yang bersifat polar misal glikosida jantung, glikosida flavonoid, glikosida saponin, dan tanin akan terlarut dalam pelarut polar, senyawa yang bersifat nonpolar yaitu *n*-butanol, metanol, etanol, asam asetat, isopropanol, *n*-propanol dan asam format, air akan terlarut dalam pelarut nonpolar. Senyawa-senyawa yang bersifat semi polar misal alkaloid, senyawa fenolik, asam fenolat, flavonoid juga akan masuk ke pelarut semi polar, yang termasuk pelarut semi polar yaitu etil asetat, aseton. Contoh pelarut nonpolar yaitu *n*-heksan, kloroform, benzena, karbon tetraklorida, dietil eter (Harborne 1987).

Ekstraksi cair-cair bersifat sederhana, bersih, cepat dan mudah. Ekstraksi cair-cair merupakan suatu teknik bila suatu larutan dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada hakekatnya tidak tercampurkan dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (*solute*) ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dilakukan dengan mengocok-ngocok dalam sebuah corong pisah selama beberapa menit (Basset J *et al.* 1994).

4. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut yang aktif, zat yang tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan (Ansel 1989). Pemilihan larutan penyari juga harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, beraksi netral, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Cairan penyari atau pelarut ada tiga macam yaitu pelarut polar, semi polar dan non polar, contoh cairan penyari adalah etanol, *n*-heksana, etil asetat dan air.

Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, lemak, malam, tanin dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Depkes 1986).

n-Heksan merupakan pelarut nonpolar, berupa cairan yang jernih, mudah menguap, berbau seperti eter atau bau seperti petroleum. Praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol, dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzena dan sebagian besar minyak lemak serta minyak atsiri. Senyawa yang dapat larut oleh *n*-heksan adalah senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar seperti lemak, steroid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Depkes 1987).

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform (Depkes

1986). Senyawa yang dapat larut ke dalam pelarut ini adalah alkaloid, flavonoid, polifenol (Harborne 1987).

Air dipertimbangkan sebagai pelarut stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut air adalah garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, gula, gom, pati, protein, lilin, lemak pektin, saponin dan tanin (Depkes 1986).

D. Infeksi

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar tidak saja di Indonesia, tetapi juga diseluruh dunia. Bakteri merupakan penyebab yang paling besar selain virus pada penyakit infeksi. Penyakit infeksi juga merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia (Mulholland 2012). Berdasarkan data dari WHO (2014) angka kematian akibat infeksi diperkirakan mencapai 4 juta jiwa.

Salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi manusia adalah bakteri bergenus *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* adalah patogen utama pada manusia. Penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia yang dapat menyebabkan sepsis pada luka, bisul atau abses setempat, jerawat dan lesi-lesi kulit pada bayi dengan derajat keparahan yang beragam, dari infeksi kulit ringan hingga infeksi berat. *Staphylococcus aureus* selain itu mempunyai sifat dapat menghemolisa darah. Infeksi yang ditimbulkan dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Pernaahan yang bersifat menahun dan timbul radang yang disebut *osteomyelitis* (Jawetz *et al.* 2005). Pemberian antibiotik merupakan salah satu pilihan dalam menangani penyakit infeksi. Penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol dapat menimbulkan bakteri yang multiresisten (Wardani 2008). Resistensi ini dapat menimbulkan banyak masalah, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berbahan herbal yang dapat mengobati penyakit infeksi (Mardiastuti 2007).

E. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Garrity *et al.* (2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan Fisiologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul (Boyd 1980), berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Todar 2002) sebagaimana. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Boyd, 1980).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit seperti infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul dan infeksi pada luka. Sedangkan di rumah sakit sering menimbulkan nosocomial infection pada bayi, pasien luka bakar atau pasien bedah yang sebagian besar disebabkan kontaminasi oleh personil rumah sakit (medis dan paramedis) (Djide 2003; Entjang 2003).

3. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat mempunyai diameter kira-kira 0,7-1,2 μm , dan biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak karena tidak memiliki flagella dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh dalam keadaan

aerobik maupun mikro-aerobik pada suhu optimum 37°C. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, menonjol dan berkilauan, *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk panisilinase (beta-laktamase), suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies yang lain. Protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al.* 2012).

4. Patogenesis

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi yang bersifat piogenik (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui

folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Penanahan yang bersifat menahun dan timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 1995).

Staphylococcus aureus terdapat dihidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus aureus* yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulasi dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Jewetz *et al.* 2012).

5. Pengobatan

Pengobatan *Staphylococcus aureus* untuk kasus ringan di luar rumah sakit dapat diberikan Penisilin G. Infeksi yang berat atau jika diduga tahan (resisten) terhadap Penisilin, dapat diberikan Metisilin atau derivat Penisilin lain yang resisten penisilinase (Warsa 1993). Pengobatan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* meliputi penyakit abses, bakterimia, endokarditis, pneumonia, osteomyelitis, selulitis dapat diterapi dengan berbagai macam prioritas pemilihan obat yang sesuai melalui uji sensitivitas masing-masing antibiotik tersebut. Pasien yang terkena abses peka terhadap penisilin pemberian pilihan meliputi terapi pertama menggunakan nafsilin atau oksasilin, alternatif terapi kedua menggunakan sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga secara beraturan, dan terapi ketiga menggunakan klindamisin (Goodman & Gilman 2007).

Pasien bakterimia menggunakan terapi alternatif kedua dengan menggunakan vankomisin dan alternatif ketiga menggunakan makrolida. Pasien endokarditis dan pneumonia menggunakan terapi alternatif trimetoprim-

sulfametoksazole ditambah rifampisin. Pasien selulitis resisten metisilin pemberian pilihan terapinya meliputi terapi pertama menggunakan vankomisin, alternatif terapi kedua menggunakan kuinupristin-dalfopristin dan terapi ketiga menggunakan linezolid (Goodman & Gilman 2007). Pengobatan terapi profilaksis operasi dengan kemungkinan terinfeksi *Staphylococcus aureus* dapat diberikan sefazolin, klindamisin pada saat induksi anestesia (Bennett 2006).

F. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.* 2007). Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germisid, bakterisida, bakteriostatika, antiseptik, desinfektan (Dianasari 2009).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai zat bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang disebut bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai KHM dan KBM (Ganiswara 2007).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Jawetz *et al.* 1986).

Pertama, mengganggu metabolisme mikroba, mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari *Para Amino Benzoic Acid* (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi dan bisa menyebabkan bakteri mati (Ganiswara 1995). Contoh

antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamida dan trimetoprin (Bakung 2014).

Kedua, menghambat sintesis dinding sel bakteri, dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara 1995). Contoh antibakteri golongan antara lain penisilin, sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, sikloserin, dan basitrasin (Radji 2002).

Ketiga, mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Ganiswara 1995). Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membran sel sehingga mempengaruhi kehidupan sel bakteri, antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida dan poliena (misal amfoterisin B) (Radji 2002).

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri, bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu mekanisme kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel bakteri (Ganiswara 1995). Antibakteri yang termasuk golongan ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji 2002).

Kelima, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri. Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini pada umumnya bersifat toksik kurang selektif, karena antibakteri ini bersifat sitotoksik terhadap sel tubuh hospes, sehingga hanya bersifat sitotoksik yang masih dapat diterima sebagai antibakteri (Ganiswara 1995). Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain asam nalidiksat dan golongan kuinolon (Radji 2002).

3. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi atau pengenceran.

3.1. Metode difusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Selain inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng *Blood Agar Plate* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekelilingi cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harminta 2004).

Keuntungan dari metode difusi dibandingkan metode dilusi yaitu lebih ekonomis, sederhana, mudah dibuat dan reproduksibel. Prosedur yang paling sering digunakan dan dianjurkan oleh WHO (*World Health Organisation*) dan NCCLS (*Nation Committee for Clinical Laboratory Standards*) adalah metode difusi cakram modifikasi *Kirby Bauer*. Kelemahan metode ini karena tidak bisa digunakan untuk semua jenis mikroba misalnya mikroba dengan pertumbuhan lambat ataupun anaerob obligat (Depkes 1999).

3.2 Metode dilusi. Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah yang berbeda-beda atau membuat larutan obat dengan kadar yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati

konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji.

Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 1986), dan satu konsentrasi agen antimikroba yang di uji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008). Kekurangan metode dilusi yaitu sampel yang digunakan harus jernih karena jika keruh akan mempersulit pengamatan (Putra 2010).

G. Media Bakteri

1. Pengertian media

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik didalam media maka perlu persyaratan, antara lain dalam media harus terkandung unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri, harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH sesuai dengan kebutuhan mikroba dan harus steril (Suriawiria 1986).

2. Macam-macam bentuk media

Bentuk media ada tiga jenis yaitu media padat, cair dan semi padat. Media padat apabila ke dalam media ditambahkan antara 12 – 15 gram tepung agar-agar per 1.000 ml media. Tepung agar – agar yang ditambahkan tergantung pada jenis dan kelompok mikroba yang ditambahkan. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan mikroalga.

Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media tidak ditambahkan zat pematat, media cair dipergunakan untuk perbaikan mikroalga terutama bakteri dan ragi.

Media semi cair atau semi padat digunakan untuk menguji ada tidaknya mortalitas dan kemampuan fermentasi. Media ini untuk pertumbuhan mikroba

yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1985).

3. Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri

3.1 Media sintetik. Media ini digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis, media yang digunakan mengandung faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Pertumbuhan bakteri sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji. Organisme yang banyak menumbuhkan faktor pertumbuhan disebut *fastidious*, misalnya *Lactobacillus* (Radji 2011).

3.2 Media kompleks. Media ini mengandung nutrisi tinggi, yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging, tumbuhan, ataupun protein dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik diperoleh dari ekstrak daging atau ragi yang merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Media kompleks yang berbentuk cairan disebut *nutrient broth*, sedangkan yang ditambahkan media agar disebut *nutrient agar* (Radji 2011).

3.3 Media biakan khusus. Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan O₂ dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO₂ di udara (Radji 2011).

3.4 Media selektif dan deferensial. Media selektif dan diferensial digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, contoh *Bismuth Sulfite Agar* digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella typhi* pada tinja, media *Salmonella Shigella Agar* untuk mengisolasi bakteri *Staphylococcus aureus*. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama (Radji 2011).

3.5 Media anaerob. Bakteri anaerob ditanam pada media spesial disebut reducing media yang menggunakan natrium trioglikolat. Media ini sebelum digunakan dipanaskan perlahan-lahan untuk menghilangkan oksigen yang

terserap. Bejana anaerob digunakan untuk menginkubasi bakteri anaerob yang diinokulasikan dalam media agar di dalam cawan petri (Radji 2011).

3.6 Media pengayaan. Media ini dalam bentuk media cair bila digunakan untuk pengayaan biakan bakteri dan hampir sama dengan media selektif, tetapi dirancang untuk memperbanyak tipe bakteri yang diinginkan. Tahap pengayaan adalah upaya untuk menumbuhkan bakteri dalam beberapa kali pemindahan ke media yang baru. Ketika biakan pengayaan terakhir disebarkan di atas media padat yang mengandung komposisi yang sama dengan media cair, hanya koloni yang mampu menggunakan fenol yang bertahan tumbuh (Radji 2011).

H. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan didalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2004).

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan didalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang paling tahan panas seperti bakteri. Sterilisasi dengan autoklaf biasanya disebut sterilisasi basah atau sterilisator uap yang mudah diangkat dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu 121°C disebabkan oleh tekanan 1 atm. Metode selain dengan menggunakan sterilisasi basah juga dapat menggunakan metode lainnya seperti perebusan, tyndalisasi, pasteurisasi, pemanasan kering, radiasi, radiasi ionisasi, penyaringan, dan lain-lain (Fardiaz 2001).

Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami

perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmandi 2008).

I. Amoksisilin

Amoksisilin merupakan penisilin semisintetik yang rentan terhadap penisilinase dan secara kimia serta farmakologis berhubungan dengan ampisilin. Antibiotik ini bekerja menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme (Goodman & Gilman 2007).

Amoksisilin termasuk golongan penisilin berspektrum luas. Amoksisilin stabil dalam suasana asam dan digunakan secara oral. Absorpsi amoksisilin dari gastrointestinal lebih cepat dan lebih sempurna daripada ampisilin karena absorpsi amoksisilin tidak terganggu dengan adanya makanan dalam lambung. Spektrum antimikroba amoksisilin pada dasarnya sama dengan ampisilin (Goodman & Gilman 2007).

Mekanisme kerja amoksisilin dengan menghambat mukopeptida yang diperlukan dalam sintesis dinding sel bakteri. Aktivitas amoksisilin mirip dengan ampisilin yang efektif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif yang patogenik. Bakteri yang sensitif terhadap amoksisilin adalah *Staphylococci*, *Enterococci*, *Escherichia coli*, *H.influenzae*, *Streptococci*, dan *S. pneumonia*. Kelemahan amoksisilin adalah sifatnya yang peka terhadap penisilinase (β -laktamase) yaitu enzim yang diproduksi oleh bakteri. Enzim ini mencegah antibiotik β -laktamase untuk mencapai target pada membran sitoplasma dengan cara merusak saat antibiotik tersebut melewati membran luar dan lapisan periplasma (Hazar *et al.* 2014). Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian aktivitas antibakteri.

J. Landasan Teori

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Todar 2002). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit seperti infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul dan infeksi pada luka. Sedangkan di rumah sakit sering menimbulkan infeksi nosokomial pada bayi, pasien luka bakar atau

pasien bedah yang sebagian besar disebabkan kontaminasi oleh personil rumah sakit (medis dan paramedis) (Djide 2003; Entjang 2003).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang bentuk tanamannya mirip dengan seledri hanya memiliki perawakan lebih besar, sehingga di Indonesia khususnya di Jawa Barat dikenal dengan nama seledri Jepang atau seledri Raja (Nagata *et al.* 2007). Tanaman Ashitaba berpotensi sebagai obat karena dari getahnya yang berwarna kuning mengandung zat kalkon yang termasuk golongan senyawa flavonoid. Shibata (1994) menyatakan bahwa kalkon mempunyai fungsi sebagai antitumorigenic. Zat aktif yang terdapat dalam chalcone bermanfaat untuk meningkatkan produksi sel darah merah, serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi, selain itu juga dapat menyembuhkan diabetes, hipertensi, jantung koroner, liver dan sebagai antibakteri terutama *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* (Baumann 2008). Daun, batang serta umbi tanaman Ashitaba mengandung alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterfenoid, dan glikosida, khusus untuk steroid ditemukan hanya pada bagian daun (Sembiring & Monai 2011).

Mekanisme kerja flavonoid dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara mendenaturasi protein (Gunawan & Mulyani 2004). Saponin dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.* 2013). Alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Darsana 2012). Steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Madduluri *et al.* 2013). Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Harborne 2006), sedangkan tanin/ polifenol mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna (Sari *et al.* 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Rochmanah & Dewi (2015) membuktikan adanya aktivitas ekstrak etanolik daun ashitaba terhadap *Staphylococcus*

aureus yang diisolasi dari luka diabetes, menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi dengan nilai diameter daya hambat 10,50 mm. Pada penelitian tersebut menyebutkan bahwa daun *Ashitaba* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positive *Staphylococcus aureus*.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat, dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun *ashitaba* mempunyai polaritas yang berbeda-beda sehingga dilakukan fraksinasi dan akan diketahui fraksi yang aktif terhadap *Staphylococcus aureus*. Etanol 96% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi. *n*-Heksana merupakan pelarut non polar digunakan untuk menyari senyawa seperti atsiri, terpenoid, triterpenoid, sterol lemak, dan asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil dan resin (Depkes 2005). Etil asetat bersifat semi polar sebagai pelarut karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Putri *et al.* 2013). Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari seperti antosianin, tanin, saponin, glikosida dan gula (Depkes 2005).

Ekstrak etanol daun *ashitaba* diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun *ashitaba* diharapkan memiliki aktivitas antibakteri paling efektif dibandingkan dengan fraksi *n*-heksana dan fraksi air karena senyawa yang tertarik dalam fraksi etil asetat secara maksimal senyawa-senyawa semipolar yang diduga aktif sebagai antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan polifenol.

K. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Pertama, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak daun *ashitaba* (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari ketiga fraksi atau ekstrak etanol yang mempunyai aktivitas teraktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu fraksi etil asetat.

Ketiga, dapat menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang diperoleh dari desa Ketapan Rame, Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) daun diambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, berwarna hijau, segar, belum berubah warna dan bersih dari kotoran yang diperoleh dari desa Ketapan Rame, Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah serbuk daun ashitaba yang di ekstraksi dengan etanol 96% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan *n*-heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dan ekstrak etanol daun ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel utama yang sengaja diubah-ubah untuk pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel bebas yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun ashitaba dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat dan tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus*, kondisi laboratorium (meliputi: kondisi inkubasi, alat dan bahan yang digunakan harus steril), serta media yang digunakan dalam penelitian.

Variabel terikat merupakan titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dipengaruhi oleh fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak daun Ashitaba.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun ashitaba adalah daun ashitaba yang masih segar, tidak busuk, belum berubah warna yang diambil dari desa Ketapan Rame, Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur.

Kedua, serbuk daun ashitaba adalah serbuk yang diperoleh dari daun ashitaba yang sudah dicuci bersih, dijemur, dipotong-potong dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C dengan parameter kadar air kurang dari 10%. Selanjutnya diblender dan diayak dengan pengayak nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanolik daun ashitaba adalah hasil ekstraksi dari daun ashitaba dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu dipekatkan dengan evaporator.

Keempat, fraksi *n*-heksan daun ashitaba adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol menggunakan pelarut *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat daun ashitaba adalah hasil fraksinasi dari residu *n*-heksan dengan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air daun ashitaba adalah residu hasil proses fraksinasi ekstrak etil asetat yang dipekatkan di waterbath.

Ketujuh, bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi yaitu mengukur luas daerah hambatan yaitu daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif adalah DMSO 1% dan kontrol positif antibiotik amoksisilin. Metode dilusi yaitu berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi dengan cara penapisan hingga konsentrasi akhir sebagai berikut: 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%; 0,078%. Kontrol negatif adalah antibiotik amoksisilin dan kontrol positif adalah suspensi bakteri.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dalam kondisi yang masih segar, tidak busuk, belum berubah warna dan bersih dari kotoran yang diperoleh dari desa Ketapan Rame, Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah BHI (*BrainHeart Infusion*), MHA (Mueller Hinton Agar) dan plasma sitrat.

Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut *n*-heksan, etil asetat, aquadest, etanol 96%, amil alkohol, etil asetat, hidrogen peroksida, asam sitrat, pelarut DMSO, HCl, besi (III) klorida, larutan Mayer, larutan Dragendrof, kalium tellurite, asetat anhidrida, asam sulfat pekat, asam asetat pekat, cat kristal violet, larutan lugol, iodine dan safranin, amoksisilin dan larutan standart Mc Farland 0,5.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling, timbangan analisa, oven, ayakan nomor 40, botol coklat, inkas, ose platina, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume (1ml dan 0,5ml), siring, pinset, inkubator, kain flanel, kapas, corong kaca, autoclave, corong pisah, kertas saring, waterbath, lampu spiritus, alat *Moisture Balance*, *Rotary evaporator*, kaca objek dan mikroskop.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tahapan pertama penelitian adalah melakukan identifikasi tanaman ashitaba yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri makroskopis dan mikroskopis, selain itu juga berfungsi untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada daun ashitaba sesuai kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Pembuatan serbuk daun Ashitaba

Pembuatan serbuk daun ashitaba dilakukan dengan cara daun ashitaba dibersihkan dari cecair atau kotoran, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai kering. Pembuatan serbuk dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan nomer mash 40 kemudian diperoleh serbuk daun ashitaba yang diinginkan.

3. Penetapan susut pengeringan dari serbuk daun Ashitaba

Penetapan susut kering daun ashitaba dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Caranya temperatur diatur yaitu pada suhu 95°C serta waktu pengeringan secara manual yaitu 15 menit kemudian dimasukkan pada neraca timbang dengan skala 0,00 maka sampel serbuk daun ashitaba 2 gram dimasukkan. Menunggu sampai alat *Moisture Balance* berbobot konstan yang dimana menandakan hasil analisa telah selesai. Konsentrasi air akan memenuhi syarat apabila konsentrasi air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%.

4. Pembuatan ekstrak daun Ashitaba

Serbuk daun ashitaba sebanyak 1500 gram dimaserasi. Serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap, kemudian ditambah etanol 96% sebanyak 11250 ml. Tutup dan didiamkan selama 5 hari dengan pengocokan berulang. Setelah 5 hari maserasi disaring dan residu diperas. Sari yang diperoleh dipekatkan dengan *vacum rotari evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun Ashitaba

5.1 Flavonoid. Serbuk, ekstrak, fraksi sebanyak 0,5 gram ditambah 10 ml aquadest dipanaskan selama satu menit, diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1

gram larutan Mg, ditambahkan 1 ml pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978).

5.2 Alkaloid. Diambil serbuk, ekstrak dan fraksi daun ashitaba, lalu ditambah dengan sedikit larutan HCl 2N, dipanaskan kemudian ditambah dengan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan Dragendorf terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 2005).

5.3 Tanin. Diambil serbuk, ekstrak dan fraksi daun ashitaba ditimbang 1 g, ditambahkan 1 mL FeCl₃ 10% lalu dikocok sampai homogen. Jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru tua menunjukkan adanya kandungan tanin (Robinson 1995).

5.4 Saponin. Diambil sebanyak 10 mL air panas dalam tabung reaksi didinginkan kemudian ditambah dengan 0,5 gram serbuk simplisia, ekstrak dan fraksi lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 2005).

6. Uji Bebas Etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji bebas etanol dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah dengan asam asetat pekat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol ditandai dengan tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 2006).

7. Fraksinasi Ekstrak

Fraksinasi dari ekstrak etanol daun ashitaba yang telah dikentalkan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak etanol kental dari hasil maserasi di dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan pelarut air 75 ml, difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan sebanyak tiga kali dengan masing-masing 75 ml, fraksi *n*-heksan yang didapat dipekatkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksan dilanjutkan fraksinasi tiga kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang dapat dipekatkan dengan *rotary evaporator*,

dan fraksi air kemudian dipekatkan dengan *waterbath* sampai pekat lalu ditimbang.

8. Sterilisasi

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian harus dalam kondisi yang steril. Cawan petri, pipet volume, tabung reaksi, dan pinset disterilkan dengan oven. Jarum ose disterilkan dengan pembakaran, yaitu dengan membakarnya sampai berwarna kemerahan dengan lampu spiritus. Media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu mencapai 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1-2 atm.

9. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

9.1 Identifikasi morfologi. Suspensi bakteri diinokulasikan pada medium VJA yang sudah ditambahkan kalium tellurite 3% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi mannitol menjadi asam dan adanya indikator phenol red menyebabkan warna medium disekitar koloni kuning. Koloni warna hitam karena *Staphylococcus aureus* dapat mereduksi tellurit.

9.2 Identifikasi mikroskopis pewarnaan gram. Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol:aseton = 1:1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara dibuat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram B, didiamkan kurang lebih 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 45 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan didiamkan selama kurang lebih 1 menit. Dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian dikeringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

9.3 Uji katalase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair ditambah dengan 2 tetes hidrogen peroksida 3%. Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 hasil dinyatakan positif bila terlihat gelembung udara di sekitar koloni, hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al.* 2007).

9.4 Uji koagulase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menyiapkan plasma kelinci dan asam sitrat yang telah diencerkan 1:5 ditambah 1 ose biakan bakteri dan diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 1-4 jam. Hasilnya positif jika tabung uji dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2007).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Staphylococcus aureus ATCC 25923 diambil dari biakan murni sebanyak beberapa ose, kemudian digoreskan pada media VJA yang kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $37^\circ C$. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok bakteri uji. Beberapa ose biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair BHI, dicampur sehingga homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart McFarland 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ juta per ml.

11. Pengujian antibakteri daun ashitaba secara difusi

Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang diperoleh diuji secara mikrobiologi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian daya antibakteri dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam medium MHA dengan metode perataan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Pada media tersebut terdapat 6 cakram dengan jarak yang sama. Masing-masing cakram diisi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, amoksisilin sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi fraksi dalam tiap petri masing-masing 40%; 30%; 20%. Pembuatan konsentrasi fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air menggunakan pelarut DMSO 1%. Masa inkubasi selama

24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri disekitar sumuran menandakan bahwa kandungan kimia daun ashitaba memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

12. Pengujian antibakteri daun ashitaba secara dilusi

Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 10 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis. Metode dilusi dilakukan dengan bahan uji dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan tabung sebagai kontrol negatif. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 1%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%; 0,078%. Medium BHI dimasukkan ke dalam masing-masing tabung uji secara aseptis, tabung pertama ditambahkan 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung kesepuluh.

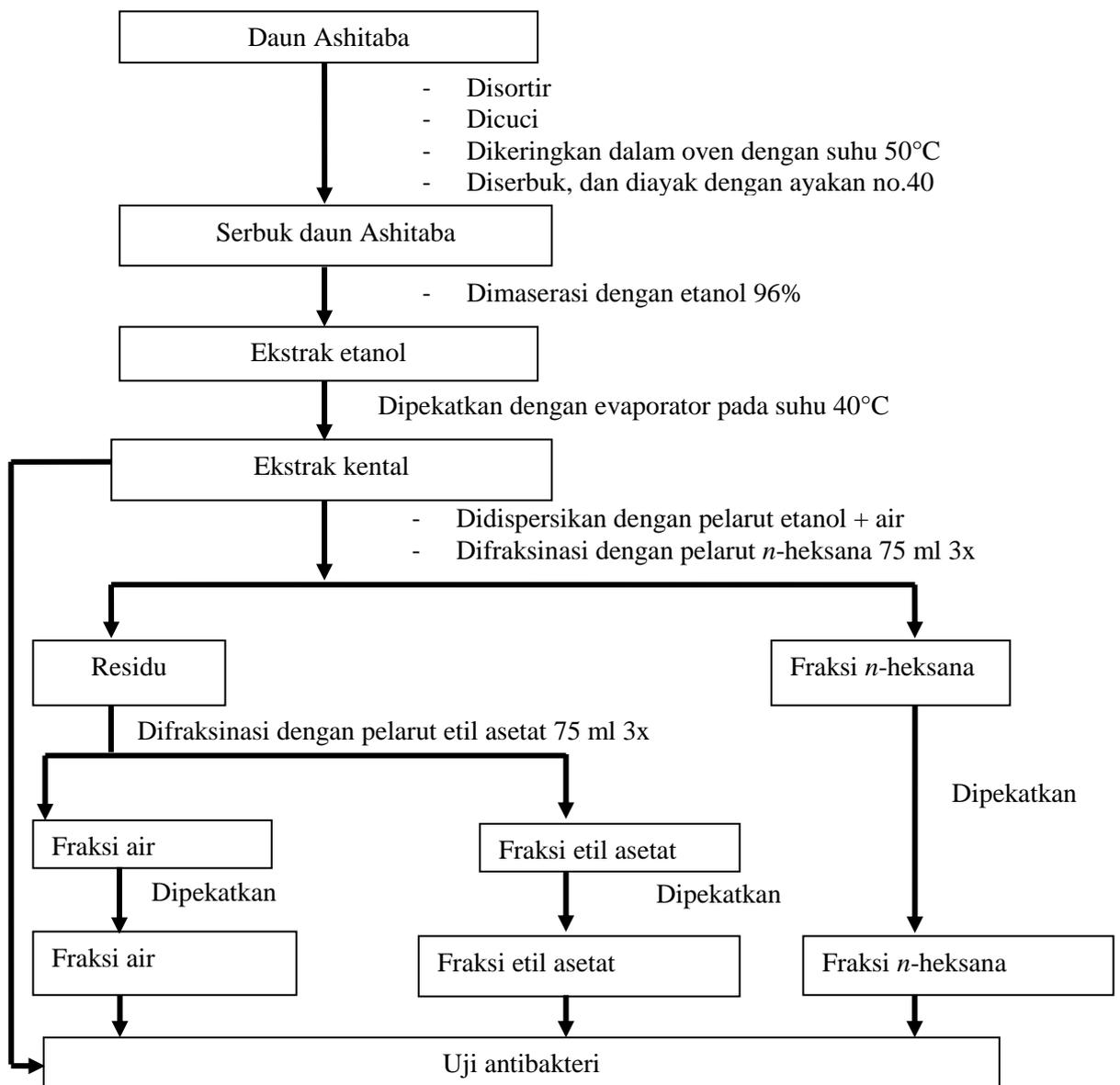
Suspensi bakteri dalam medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dimasukkan ke dalam tiap tabung uji sebanyak 0,5 mL. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) yaitu batas terendah tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif. Kemudian menentukan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan cara menginokulasi sediaan dari tabung uji pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media MHA yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

13. Analisis Hasil

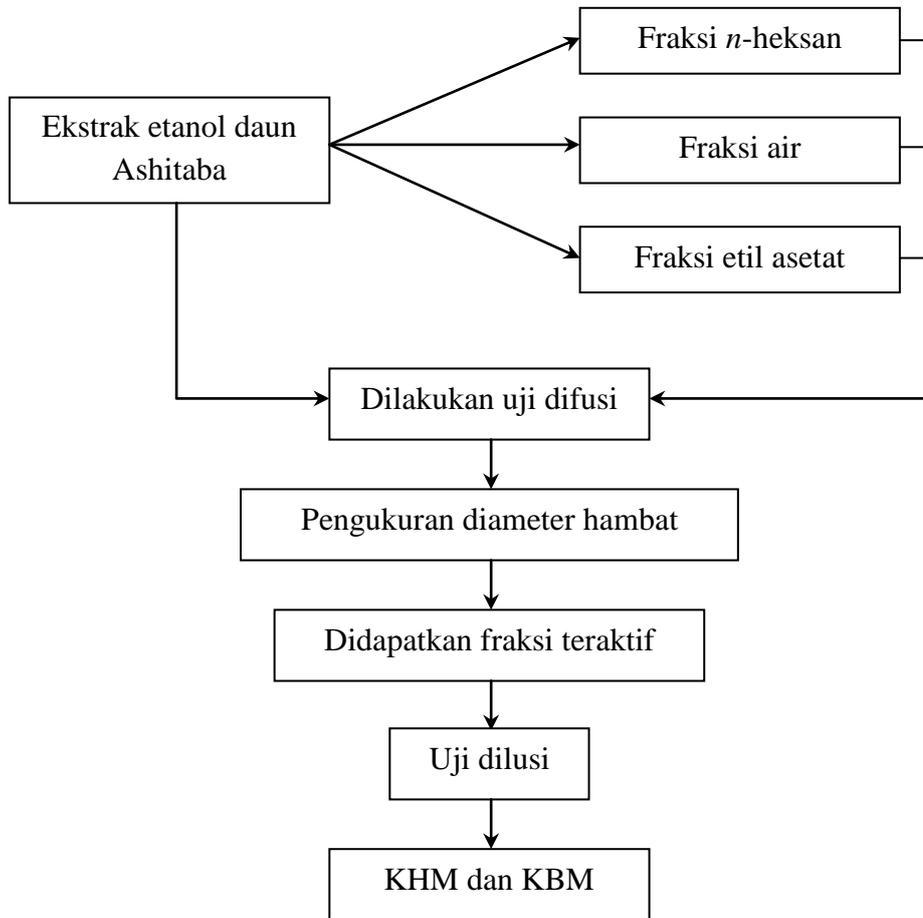
Analisis data yang diperoleh dari uji aktivitas fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari daun ashitaba, serta kontrol positif dan kontrol negatif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi secara

statistik dengan Analisis of Varians (ANOVA) satu jalan dengan menggunakan software SPSS 18. Analisa data dengan statistik dilakukan untuk mengetahui beda nyata atau tidak diameter hambat antara fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari ekstrak daun ashitaba dalam berbagai konsentrasi serta kontrol positif dan kontrol negatif.

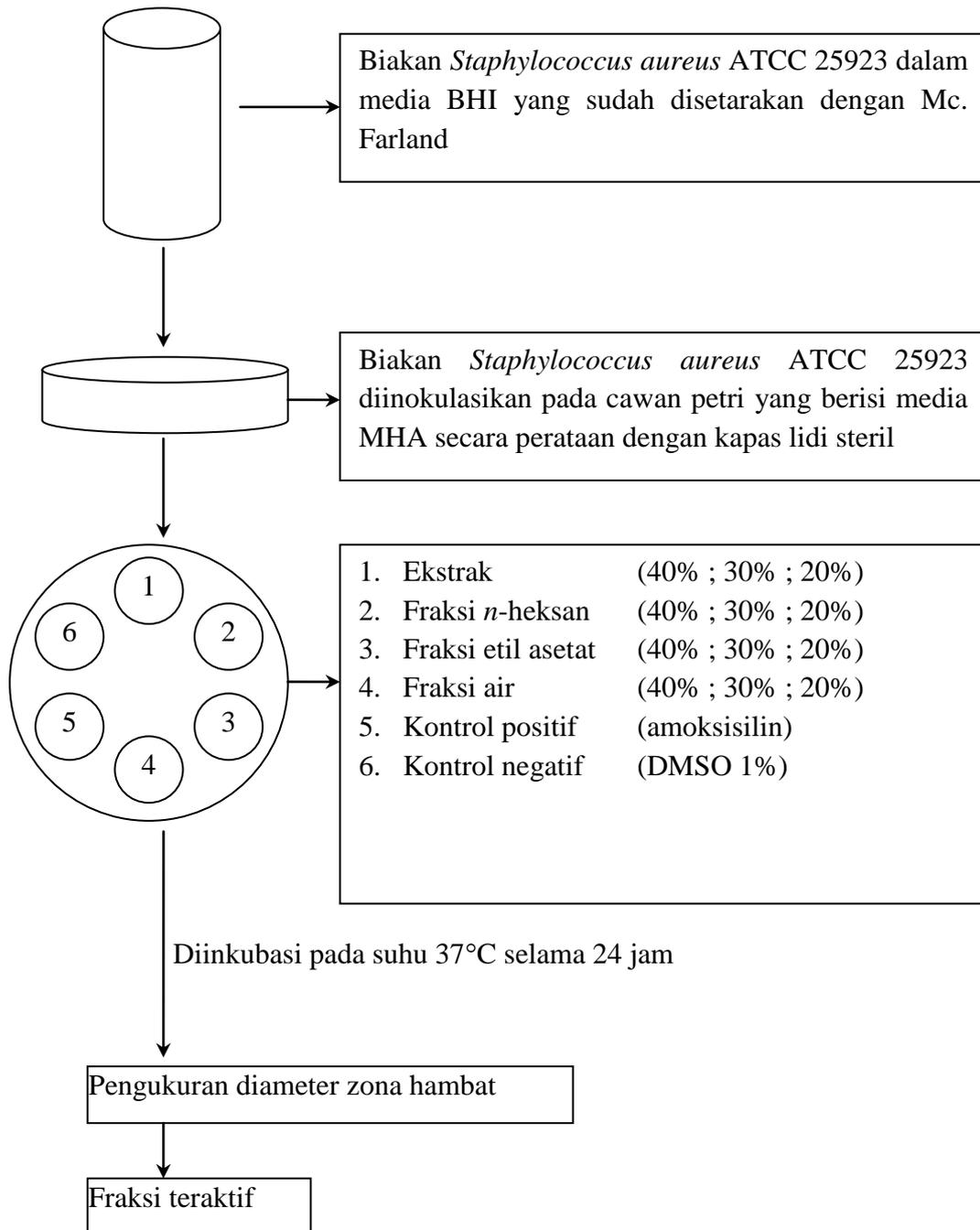
E. Skema Penelitian



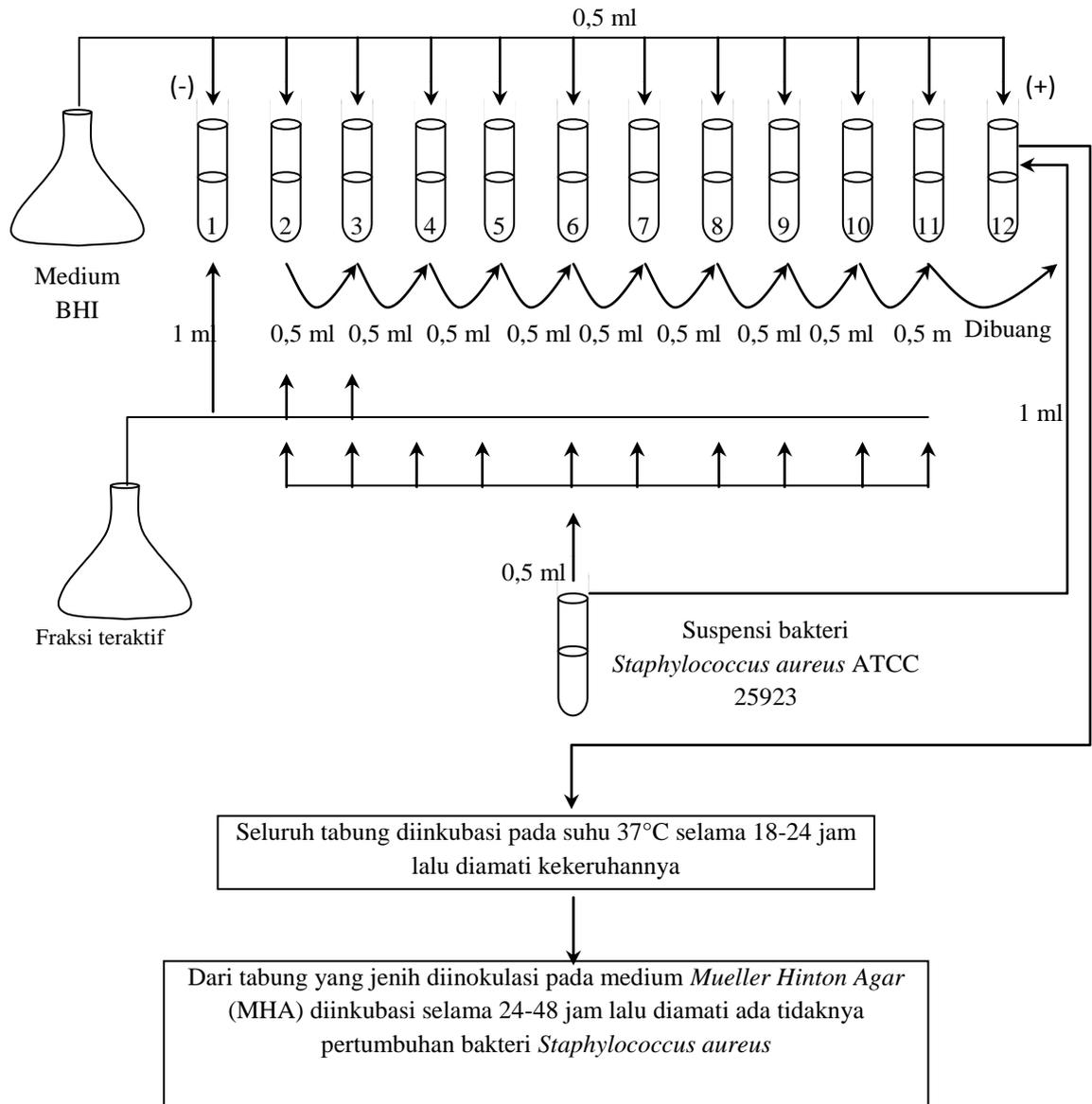
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksi daun Ashitaba(*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz)



Gambar 3. Skema uji aktivitas antibakteri



Gambar 4. Prosedur pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi



Gambar 5. Prosedur pengujian aktivitas antibakteri metode dilusi

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasitanamanashitaba

1.1. Determinasi tanaman ashitaba. Determinasi tanaman merupakan langkah awal dalam suatu penelitian. Tujuan determinasi pada penelitian ini yaitu untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain serta menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan/ pengambilan bahan. Determinasi tanaman ashitaba dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Berdasarkan hasil determinasi tersebut menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman *Angelica keiskei* (Miq.) Koidz. Dengan hasil kunci determinasi sebagai berikut : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631a_____148.

Apiaceae 1b-4b-6b-8a-9b-53a-54b-57b-58b-59b-60b_____82.

Angelica 1_____ **Angelica keiskei**

(Miq.) Koidz. Hasil determinasi tanaman selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

1.2. Deskripsi tanaman ashitaba. Tanaman ashitaba merupakan tanaman terna. Berdasarkan morfologi ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yaitu mempunyai akar tunggang, bercabang, bentuk cabang akar hampir silindris, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Mempunyai batang tumbuh tegak, tidak berkayu, bersegi, beralur dalam, beruas, bercabang, permukaan gundul, berwarna hijau hingga hijau pucat. Mempunyai daun majemuk menyirip ganjil, anak daun 3 helai, helaian anak daun bulat telur, panjang 3,5-9 cm, lebar 4-6 cm, pangkal tumpul hingga membulat, ujung daun runcing, tepi daun bercangap

menyirip hingga berbagi menyirip, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau tua mengkilat, permukaan bawah hijau keputih-putihan, jika digerus aromatik, ibu tangkai daun bulat, hijau, gundul, panjang 7,5-12 cm, tangkai anak daun bulat, hijau, gundul, panjang 3,5- 5 cm. Mempunyai bunga majemuk berbentuk payung, di ujung, dalam satu payung besar terdapat 20-25 bunga payung kecil, dengan panjang tangkai payung 2-4 cm, masing-masing bunga payung kecil bertangkai pendek, panjang 2-3 mm, masing-masing bunga payung dilindungi oleh daun pembalut (involukrum) berwarna hijau, kelopak bunga berbagi 5, berwarna hijau, mahkota berbagi 5, bagian pangkat berlekatan, warna putih kehijauan atau putih kekuningan, benang sari 5, berlepasan, tangkai putih pendek. Hasil deskripsi tanaman selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Sampel daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang diambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, berwarna hijau, segar, belum berubah warna dan bersih dari kotoran yang diperoleh dari desa Ketapan Rame, Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa timur sebanyak 8,6 kg pada tanggal 15 Januari 2017.

3. Pembuatan serbuk daun ashitaba

Pembuatan serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dilakukan dengan memetik daun ashitaba dari batangnya kemudian dicuci dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel kemudian ditiriskan. Kemudian daun ashitaba dikeringkan dengan dioven pada suhu 50°C dan diserbuk dengan menggunakan mesin penggiling dan diayak dengan pengayak no. 40 hingga didapat serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz). Penyerbukan yang dilakukan bertujuan untuk memperluas partikel bahan kontak dengan pelarut penyarian dapat berlangsung efektif.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
8600	1600	18,60 %

Berdasarkan tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa persentase pengeringan daun ashitaba dilakukan sebanyak 8600 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan didapat bobot kering 1600 gram, diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 18,60 % b/b. Perhitungan persentase bobot basah terhadap bobot kering dapat dilihat pada lampiran 12.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba

Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk memperoleh persentase air yang terdapat dalam serbuk yang diekstraksi. Penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dapat ditentukan dengan alat *moisture balance*. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun ashitaba

No	Bobot awal	Susut kering
1	2,00	6,9%
2	2,00	6,6%
3	2,00	5,4%
	Rata-rata	6,3%

Susut pengeringan serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) memenuhi syarat dimana susut pengeringan suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Susut pengeringan yang kurang dari 10% dapat mencegah pertumbuhan kapang dan aktivitas enzim sehingga bahan lebih awet dan kandungan zat aktifnya tidak berkurang (Katno *et al.* 2008). Berdasarkan tabel 2 perhitungan susut pengeringan serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) yang dilakukan 3 kali replikasi, dapat dilihat bahwa prosentase rata-rata susut pengeringan serbuk daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) adalah 6,3%.

5. Pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba

Serbuk daun ashitaba dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun ashitaba dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rendemen ekstrak etanol daun ashitaba

Berat serbuk	Berat ekstrak	Rendemen (%b/b)
1500 g	173,096 g	11,54 %

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh adalah 173,096 gram dengan rendemen 11,54%. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 13. Organoleptis ekstrak berwarna hijau tua, berbentuk kental. Ekstrak kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan air untuk mendapatkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang terkandung dalam ekstrak daun ashitaba.

6. Uji bebas etanol ekstrak daun ashitaba

Ekstrak daun ashitaba dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan uji esterifikasi etanol. Hasil uji bebas etanol dalam ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun ashitaba

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + H ₂ SO ₄ conc + CH ₃ COOH, dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol (Depkes 1987)

Hasil uji bebas etanol pada tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak daun ashitaba sudah bebas terbebas dari pelarutnya yaitu etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak tersebut sudah tidak mengandung etanol yang memiliki aktivitas antibakteri, sehingga tidak mengganggu aktivitas antibakteri dari ekstrak daun ashitaba.

7. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun ashitaba

Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun ashitaba dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam daun ashitaba. Hasil identifikasi secara kualitatif dengan reaksi warna terhadap serbuk dan ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak

Kandungan kimia	Hasil				Pustaka	Interpretasi data	
	Serbuk		Ekstrak			Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Kuning pada lapisan alkohol	pada amil	Kuning pada lapisan alkohol	pada amil	Warna merah/kuning/ jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995)	(+)	(+)
Alkaloid	HCl 2N + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorf endapan jingga kecoklatan	putih	HCl 2N + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorf endapan jingga kecoklatan	putih	HCl 2N + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorf endapan jingga kecoklatan (Depkes 2005)	(+)	(+)
Tanin	Biru kehitaman		Biru kehitaman		Biru kehitaman atau hijau kehitaman (Robinson 1995)	(+)	(+)
Saponin	Terbentuk tetap	buih	Terbentuk tetap	buih	Terbentuk tetap selama kurang 10 menit + HCl buih tidak hilang (Depkes 2005)	(+)	(+)

Hasil identifikasi kandungan kimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun ashitaba mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Gambar hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun ashitaba dapat dilihat pada lampiran 7.

8. Identifikasi fraksi daun ashitaba

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun ashitaba

Senyawa	Pustaka	Interpretasi hasil fraksi		
		<i>n</i> -Heksan	Etil asetat	Air
Flavonoid	Warna merah/kuning/ jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995)	-	+	+
Alkaloid	HCl 2N + mayer endapan putih sampai kuning, Dragendorf endapan jingga kecoklatan (Depkes 2005)	+	+	-
Tanin	Biru kehitaman atau hijau kehitaman (Robinson 1995)	-	+	+
Saponin	Terbentuk buih tetap selama tidak kurang 10 menit + HCl buih tidak hilang (Depkes 2005)	+	+	+

Berdasarkan hasil identifikasi tersebut disimpulkan bahwa fraksi *n*-heksan terdapat senyawa alkaloid dan saponin yang menunjukkan hasil positif. Sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Fraksi air menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Gambar hasil identifikasi senyawa kimia fraksi ekstrak etanol daun ashitaba dapat dilihat pada lampiran 8.

9. Fraksinasi

9.1 Fraksi *n*-Heksana. Hasil sediaan ekstrak yang telah didapatkan ditimbang 10 gram kemudian ditambahkan aquadest sebanyak 75 ml, setelah itu ditambah 75 ml *n*-heksan dan dipisahkan dengan corong pisah sehingga didapat fraksi *n*-heksan. Fraksinasi dilakukan 3 kali replikasi. Residu yang didapat dilakukan ekstraksi lanjutan dengan pelarut etil asetat. Berikut ini adalah tabel 6 rendemen hasil fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan.

Tabel 7. Rendemen fraksi *n*-Heksan daun ashitaba

Bobot ekstrak etanol	Bobot fraksi	Rendemen (%)
140 gram	47,011 gram	33,58%

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan persentase rendemen fraksi *n*-heksan daun ashitaba didapat persentase 33,58%. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksan daun ashitaba dapat dilihat pada lampiran 13.

9.2 Fraksi etil asetat dan air. Residu dari fraksinasi *n*-heksan daun ashitaba ditambahkan 75 ml etil asetat dipisahkan dengan corong pisah. Fraksinasi dilakukan 3 kali replikasi, sehingga didapat fraksi etil asetat dan air. Berikut ini adalah tabel 8 rendemen hasil fraksinasi etil asetat dan tabel 9 hasil fraksinasi air.

Tabel 8. Rendemen fraksi etil asetat daun ashitaba

Bobot ekstrak etanol	Bobot fraksi	Rendemen (%)
140 gram	4,013 gram	2,87%

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa perhitungan persentase rendemen fraksi etil asetat daun ashitaba didapat persentase 2,87%. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat daun ashitaba dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 9. Rendemen fraksi air daun ashitaba

Bobot ekstrak etanol	Bobot fraksi	Rendemen (%)
140 gram	35,929 gram	25,66%

Berdasarkan tabel 9 dapat dilihat bahwa perhitungan persentase rendemen fraksi air daun ashitaba didapat persentase 25,66%. Hasil perhitungan rendemen fraksi air daun ashitaba dapat dilihat pada lampiran 13.

Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanolik daun ashitaba. Hasil rendemen yang diperoleh jauh dari yang diharapkan yaitu 100% atau mendekati 100%. Hal ini kemungkinan disebabkan ekstrak banyak yang menempel pada wadah dan corong pisah.

10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

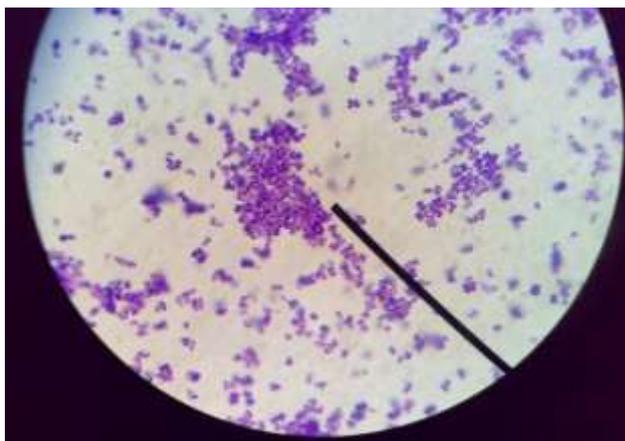
10.1 Hasil identifikasi morfologi. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dengan diinokulasikan suspensi bakteri pada medium selektif *Vogell Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi kalium tellurit 1% dalam cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian dinyatakan positif apabila koloni berwarna hitam dan disekitar koloni berwarna kuning (Jawetz *et al.* 2012).

Berdasarkan identifikasi morfologi yang dilakukan menunjukkan hasil positif yang dibuktikan dengan adanya warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. Koloni yang berwarna hitam disebabkan oleh kemampuan dari *Staphylococcus aureus* dalam mereduksi kalium tellurit menjadi metalik tellurit. Sedangkan untuk warna medium di sekitar koloni berwarna kuning, hal ini disebabkan oleh kemampuan dari *Staphylococcus aureus* dalam memfermentasi manitol menjadi asam. Fermentasi manitol dideteksi oleh perubahan warna indikator fenol red dari merah (alkali) menjadi kuning (asam) (Power dan Mc Queen 1988). Hasil identifikasi bakteri secara makroskopis dapat dilihat pada lampiran 9.



Gambar 6. Hasil identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

10.2 Identifikasi mikroskopis pewarnaan Gram. Uji identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan gram. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pewarnaan gram menunjukkan hasil koloni berbentuk bulat, berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur. Pengecatan Gram bertujuan untuk melihat bentuk sel bakteri dan morfologi bakteri. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mempertahankan warna Gram A (Kristal Violet) sehingga *Staphylococcus aureus* berwarna ungu, sedangkan Gram negatif akan berwarna merah karena warna ungu pada kristal violet dilunturkan sehingga mengikat warna Gram D (safranin) menyebabkan sel berwarna merah pada bakteri Gram negatif. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 9.



Gambar 7. Hasil identifikasi pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

10.3 Uji Katalase. Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Hasil uji katalase dinyatakan positif apabila terbentuk gelembung udara atau buih sesaat koloni ditetesi dengan H_2O_2 . Berdasarkan uji katalase yang dilakukan menunjukkan hasil positif yang dibuktikan dengan terbentuknya gelembung udara atau buih, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase yang apabila ditambah dengan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 , dimana hal tersebut ditandai dengan adanya gelembung udara. Uji katalase ini digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Streptococcus* karena

Streptococcus tidak dapat menghasilkan enzim katalase (Hadioetomo 1990). Hasil identifikasi bakteri dengan uji katalase dapat dilihat pada Lampiran 9.



Gambar 8. Hasil uji katalase

10.4 Uji Koagulase. Berdasarkan hasil uji koagulase yang dilakukan diperoleh hasil positif yang dibuktikan dengan terdapatnya gumpalan putih. Menurut Jawetz *et al.* (2007) hasil uji koagulase dinyatakan positif kuat apabila tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

Tujuan uji koagulase adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim koagulase. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat mengkoagulasi plasma. Reaksi *clumping factor* (pengumpulan) terjadi berdasarkan reaksi antara *Staphylococcus aureus* dengan fibrinogen yang terdapat dalam serum dan hal tersebut menunjukkan dengan adanya gumpalan koagulase (Jawetz *et al.* 2007). Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 9.



Gambar 9. Hasil uji koagulase

11. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari biakan murni, diambil beberapa ose steril dan ditanam dalam tabung yang berisi 5 ml medium Brain Heart Infusion (BHI) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standart Mc Farland 0,5 ekuivalen dengan suspense sel bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Bonang & Koeswando 1882).

12. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksinasi daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi

Hasil sediaan dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun ashitaba dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya daerah jernih di sekeliling cakram (disk) yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui mana yang mempunyai daya hambat yang paling baik terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pengujian aktivitas sediaan dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun ashitaba dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi masing-masing 40%; 30%; 20% dan amoksisilin sebagai kontrol positif serta DMSO 1% sebagai kontrol negatif.

Perhitungan konsentrasi larutan dapat dilihat pada lampiran 14. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksinasi daun ashitaba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara difusi

		Diameter daya hambat (mm)				
Sampel	Konsentrasi	Replikasi			Rata-rata (mm) ± SD	
		1	2	3		
Ekstrak etanol	40%	16	17	16,5	16,5 ± 0,5	
	30%	13,5	14	13	13,5 ± 0,5	
	20%	11,5	11	10	10,83 ± 0,76	
Fraksi <i>n</i> -heksan	40%	8,5	8	8,5	8,33 ± 0,28	
	30%	8	7	7,5	7,5 ± 0,5	
	20%	7,5	7	7,5	7,33 ± 0,28	
Fraksi etil asetat	40%	20	21	20,5	20,5 ± 0,5	
	30%	18,5	18	19	18,5 ± 0,5	
	20%	17	16	16,5	16,5 ± 0,5	
Fraksi air	40%	15	16	15,5	15,5 ± 0,5	
	30%	13,5	13	13,5	13,33 ± 0,28	
	20%	11	11,5	11	11,17 ± 0,28	
Kontrol (+)	2,5%	27	28,5	28	27,83 ± 0,76	
Kontrol (-)		-	-	-	-	

Keterangan :

(-) : tidak terbentuk daerah hambatan bakteri pada media selektif

Kontrol (-) : DMSO 1%

Kontrol (+) : amoksisilin 2,5%

Fraksi dan ekstrak pada konsentrasi 40% memiliki diameter daerah hambat yang lebih besar daripada konsentrasi 30% dan 20%. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak, maka akan semakin besar efek yang ditimbulkannya (Pelczar & Chan 1988). Fraksi etil asetat pada konsentrasi 40% merupakan fraksi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata diameter daerah hambat yang diperoleh yaitu 20,5 mm.

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan hasil penelitian bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang efektif terhadap bakteri uji dibandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Fraksi etil asetat dan kontrol positif (amoksisilin) lebih efektif menghambat bakteri uji karena memiliki diameter daerah hambat yang besar. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi menggunakan kontrol negatif DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat bakteri uji.

Uji statistik menunjukkan bahwa pada data uji One-Sample Kolmogorov-Smirnov diperoleh signifikansi = $0,832 > 0,05$ maka H_0 diterima. Berdasarkan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis of variansi (ANOVA). Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik Analisis of Varians (ANOVA) *oneway*. Anova *oneway* untuk membandingkan ekstrak dan fraksi pada setiap konsentrasi dan membandingkan hubungan besar diameter daya hambat antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, kontrol negatif, dan kontrol positif.

Hubungan diameter daya hambat dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, kontrol negatif, dan kontrol positif, dapat dilihat pada tabel tukey test. Tabel tersebut menjelaskan bahwa ada tanda * pada Mean Difference, maka perbedaan tersebut signifikan dengan maksud memiliki perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri, sedangkan tidak ada tanda * maka perbedaan signifikan dengan maksud tidak memiliki perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri. Tabel Homogeneous Subsets untuk mencari grup atau subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Terlihat keempat belas sediaan uji terbagi dalam 8 subset.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antibakteri lebih optimal dalam membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 jika dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksan dan fraksi air karena kemungkinan dalam fraksi etil asetat, zat yang tersari didalamnya yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.

Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein, menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologinya, akibatnya fungsi permeabilitas sel terganggu dan sel bakteri menjadi pecah yang berakibat pada kematian sel bakteri (Kusdarwati *et al.* 2010).

Senyawa flavonoid juga memiliki mekanisme kerja dengan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Substansi yang dapat

mendenaturasikan protein dan merusak sel tanpa dapat diperbaiki sehingga pertumbuhan mikroba terhambat (Gunawan & Mulyani 2004). Alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina 2008). Tanin mempunyai mekanisme kerja dengan cara merusak permeabilitas barrier dalam mikroorganisme sehingga bersifat sebagai antibakteri (Harborne 1987). Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Harborne 2006).

13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun ashitaba dan amoksisilin dengan metode dilusi

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi daun ashitaba dan amoksisilin dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat dan amoksisilin dengan metode dilusi

No.	Konsentrasi % Fraksi etil asetat	Replikasi			Konsentrasi % Amoksisilin	Replikasi		
		1	2	3		1	2	3
1	Kontrol (-) fraksi etil asetat	-	-	-	Kontrol (-)	-	-	-
2	40%	-	-	-	2,5%	-	-	-
3	20%	-	-	-	1,25%	-	-	-
4	10%	-	-	-	0,625%	+	+	+
5	5%	+	+	+	0,313%	+	+	+
6	2,5%	+	+	+	0,156%	+	+	+
7	1,25%	+	+	+	0,078%	+	+	+
8	0,625%	+	+	+	0,0039%	+	+	+
9	0,313%	+	+	+	0,00195%	+	+	+
10	0,516%	+	+	+	0,000975%	+	+	+
11	0,078%	+	+	+	0,0004875%	+	+	+
12	Kontrol (+) suspensi bakteri	+	+	+	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(+) : ada pertumbuhan koloni bakteri

(-) : tidak ada pertumbuhan koloni bakteri

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilanjutkan dengan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Konsentrasi bunuh minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasi sediaan dari tabung uji pada medium

Mueller Hinton Agar (MHA) pada cawan petri. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan pada medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi dilakukan 3 kali replikasi. Konsentrasi fraksi etil asetat yang digunakan yaitu 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,313%; 0,156%; 0,078%. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil KHM daun ashitaba tidak dapat ditentukan karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan fraksi yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri fraksi yang dapat dilihat dari pengujian fraksi terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasikan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan dilihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media MHA. Pada penelitian ini fraksi etil asetat menunjukkan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 10%.

Fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif. Hasil tersebut diduga disebabkan oleh adanya kandungan senyawa semipolar di fraksi etil asetat yang lebih optimum dibandingkan senyawa di dalam fraksi *n*-heksan dan fraksi air daun ashitaba dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sehingga diduga aktivitas antibakteri yang efektif dari fraksi etil asetat daun ashitaba adalah flavonoid, alkaloid dan tanin/ polifenol.

Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginaktivasi protein (enzim) pada membrane sel (Rinawati 2011). Selain itu, flavonoid juga mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada di dalam sel (Ngajow *et al.* 2013).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mekanisme yaitu diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada

sel bakteri, sehingga pada lapisan dinding sel tidak lagi terbentuk secara utuh dan dapat menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al.* 2009).

Ajizah (2004) dan Juliantina *et al.* (2009) menyatakan bahwa tanin/polifenol memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga permeabilitas dinding sel bakteri dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) amoksisilin digunakan sebagai pembandingan pengujian aktivitas antibakteri. Hasil inokulasi amoksisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilihat dari konsentrasi terendah yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Amoksisilin merupakan antibakteri yang berspektrum luas, bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri Gram positif dan beberapa bakteri Gram negatif yang patogenik. Staphylococci merupakan salah satu bakteri yang bersifat patogenik yang sensitif terhadap amoksisilin (Werckenthin 2001; Pengov 2003). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) amoksisilin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 1,25%.

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas amoksisilin dalam membunuh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 lebih optimal dibandingkan fraksi etil asetat daun ashitaba. Hal tersebut mengindikasikan bahwa daya antibakteri pada fraksi etil asetat daun ashitaba tidak seefektif amoksisilin apabila digunakan sebagai antibakteri. Penggunaan antibiotik amoksisilin juga lebih efektif digunakan dimasyarakat karena mekanisme kerja amoksisilin dengan menghambat mukopeptida yang diperlukan dalam sintesis dinding sel bakteri dibanding dengan hasil ekstrak maupun fraksi dari daun ashitaba.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air daun ashitaba mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun ashitaba merupakan fraksi teraktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun ashitaba mempunyai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak dapat ditentukan karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan fraksi yang digunakan dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu 10%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz) dengan bakteri yang berbeda.

Kedua, disarankan menggunakan pelarut yang tidak mempengaruhi aktivitas tetapi masih mempertahankan kelarutannya.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pembandingan antibiotik yang sesuai dengan mekanisme senyawa-senyawa yang terkandung di dalam daun ashitaba (*Angelica keiskei* (Miq.) Koidz).

DAFTAR PUSTAKA

- Adewoye E. O., A. T. Salami, and V. O Taiwo. 2010. Anti-pasmodial and toxicological effects of *Chrysophyllum albidum* in albino mice. *Journal of Psyology and Pathophysiology*. Vol. 1
- Alamsyah HK, Widowati I, Sabdono A. 2014. Aktivitas Antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) dari perairan pulau panjang jepara terhadap bakteri *Esherichia coli* dan *Staphylococcus epidermis*. *Journal Of Maine research* 3:69-78.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: UI Pres.
- Antika Wella, GustinaIndriati, Irdawati. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bunga Tanjung (*Mimusopselengi L.*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. Padang. Program Studi Pendidikan Biologi Sekolah Tinggi Keguruan dan Ilmu Pendidikan (STIKIP) PGRI Sumatera Barat.
- Baba, K.1995. Healthy vegetable Ashitaba. *Chikuya Shuubansha*. 125 p.
- Bagem Br. Sembiring & Feri Monai. 2011. Identifikasi Mutu Tanaman Ashitaba. *Bul. Littro* 22 (2). Halaman 177-185.
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik pada pasien ISPA Rawat Jalan di Rumah Sakit Profesor dr Aloe Saboe Kota Gorontalo [Thesis]. Universitas Negri Gorontalo
- Bassett J, Denney RC, Jeffery G.H, Mendham J. 1994. *Buku ajar vogel: Kimia AnalisisKuantitatifOrganik*. Edisi 4. Jakarta: EGC. Hlm 228-229.
- Baumann. 2008. Angelica:Part II, Skin & Allergy News, www.literature search.net diakses 21 Maret 2016.
- Bennett JE. 2006. Antimicrobial Agents: Antifungal Agents. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th Edition. New York: McGraw-Hill.
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta.: PT.Gramedia. Hlm 77-78, 176-191
- Boyd, R.F, and J.J. Marr, 1980, *Medical Microbiologi*, Little, Brown and Company Inc, New York.
- Chiller, K., Selkin, B.A., Murakawa, GJ., 2001. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. *JIDSP*. 6: 170-174.
- Cosgrove, S.E., Sakoulas, G.,Perencevich, E.N., Schwaber, M.J., Karchemer, A.W., et al., 2003. Comparison of Mortality Associated With Methicillin-

- Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-Analysis. CID. 36 : 53-59.
- Cristy N. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Darmandi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. Hlm 80-81
- Darsana I, Besung I, Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara in Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 337-351.
- Djide, M. N., 2003, *Mikrobiologi Farmasi*, 90, 96-97, Makassar, Jurusan Farmasi UNHAS.
- [Depkes RI]. 1985. *Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm 4-11, 25-26.
- [Depkes RI] 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 1999. *Good Laboratory Practices*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 301-304.
- [Depkes RI]. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Penelitian Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dewoto, Hedi. R. 2007. Majalah Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57 : 205.
- Dianasari N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpiniasappan* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigelladysentriae* Serta Bioautografinya [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Dwicandra, N.M.O., Astuti, M.A.P., Ariantari, N.P. Yowani, S.C, 2006 *Skrining Kandungan Kimia Ekstrak Etanol 80% Kulit Batang Michelia champaca* L. Universitas Udayana, Bali.

- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Fardiaz, Srikandi. 2001. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. hlm 190.
- Ganiswara S, Setiabudy R, Suyatna F. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: UI Press. Hlm. 571-573.
- Garrity, G.M., Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzebly, and B.J. Tindall. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364, 464.
- Gillespie, S., Bamford, K., 2009. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi Edisi Ketiga*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Goodman and Gilman. 2007. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: EGC
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hadioetomo, R.S. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia.
- Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia. Hal 103-104.
- Harborne JB. 2006. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, penerjemah; Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah; Patmawinata K, Soediro I, Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytichemical Methods*.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 2005, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, Diterjemahkan Oleh Bonang G., Edisi XXIV, EGC., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Jawetz E, JL Melnick, EA Adelberg, GF Brooks, JS Butel, LN Ornston. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23, Nugroho, Maulany RF, penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Edelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Review of Medical Mikrobiologi*. 14th Edition. Bonang G, penerjemah: Jakarta: UI. Hlm 25-263.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., E.A., 2012, *Medical Microbiology*, 26rd. Ed. Elferia Nr, Penerjemah : Jakarta

- Juliantina, F.R., 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *JKKI- Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Kusdarwati R, Sari I, Taufiq AM. 2010. Antibacterial effort of adas fruits (*Feonicum vulgare*) extract on *Micrococcus Luteus* bacterial by in vitro. *Junal ilmiah perikanan dan kelautan*. 2 (1) : 31-35
- Lenny. S. 2006. Senyawaflavonoida, FenilPropanoida, Alkaloid. USU Repository.
- Madduluri, Suresh R, Babu K, Sitaram B. 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigeneous plants extract againts five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(4):679-684.
- Mardiastuti H, Karuniawati A, Kiranasari A, Kadarsih R. 2007. Emerging Resistance Pathogen: Situasiterkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *MajalahKedokteran Indonesia*. 57 (3): 75-79.
- Ma'mun, Bagem S. Sembiring, F. Manoi, Shinta S., E.Hayani, M. Sukmasari dan Wahyudiono. 2009. *Laporan Teknis Penelitian, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*. Tidak diterbitkan. 12 hlm.
- Mulholland M.W., 2012. Incidence of clinical mastitisindairy herds grouped in three categories bybulk milk somatic cell counts. *Journal Dairy Scient*. 81:411-419.
- Nagata J, Morino T, Saito M. 2007. "Effects of dietary Angelicakeiskei on serum and liver lipidprofi les, and body fataccumulations in rats", *Journal of Nutrition Scientific Vitaminology, National Institute of Health andNutrition*, Tokyo.
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat online* 2(2): 128-132
- Pelczer, M.J dan E. C. S. Chan. 1988. *Dasar- DasarMikrobiologi*. Jilid 2. Universitas Indonesia. Jakarta
- Pengov A an Ceru S. 2003. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolate from bovine and ovine mammary glands. *J. Dairy Sciences* 86: 3157-3163.
- Praeparandi. 2006. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung :Seksi Diktat Stenhl. Hlm 9.

- Prastowo, Eko Andri. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya : Universitas Airlangga
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga. Hlm. 188
- Putra A.B.W. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap *Propionibacterium acne*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* Serta Uji Bioautografi [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Udayana, Bali.
- Radji M. 2002. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Radji M., 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Refdinata., A. Maksum., A. Nurganidan P. Endang. 2002. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Jurnal Makara Kesehatan* 8 (2): 41-48.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Rochmanah Suhartuti & Dewi Peti. V, 2015, Daya Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Luka Diabetes. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* 14 (1).
- Sari DRAP, Yudistianara PS, Paramita NLPV, Wirasuta IMAG. 2011. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* [Skripsi]. Bali: Fakultas Farmasi, Udayana.
- Shibata, S. 1994. *Antitumorogenic chalcones*. *Stem cells*. 12: 44-52.
- Shulman, S.T., Phair, J.P., Sommers, H.M., 1994. *Dasar Biologi dan Klinis Penyakit Infeksi Edisi Keempat*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Soepomo G.C. 1997, *Morfologi Tumbuhan*, yogyakarta : UGM - IKAPI http://www.academia.edu/7142066/Efek_Nefrotoksik_Ekstrak_Air_dan_Etanol_Daun_Ashitab#

- Sumastuti, R dan M. Sonlimar. 2002. Efek sitotoksik ekstrak buah dan daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*(Scheff) Boerl.) terhadap sel hela. *Medika* 28 (12): 773-777.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas SinarSinanti. Jakarta.
- Suriawiria, U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa. Bandung. Hal 60-61, 57-58.
- Suryono B. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Hal:137.
- Suzuki, R., Iwasaki, S., Ito, Y., Hasegawa, T., Yamamoto, T., et al., 2003. Adult Staphylococcus Scalded Skin Syndrome in Peritoneal Dialysis Patient. *JSN*. 7: 77-80.
- Tamlikha, M. 2011. Lokasi Budidaya Ashitaba di Desa Sembalun. <http://rinjaniAshitaba.com/lokasibudidaya>.
- Tiwari P., Bimleshk., Mendeeep K., Gurpreet K., Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimiadan ekstraksi. Internasional Pharmaceutical Science Jan-Maret 2011* : Vol. 1 Halaman 113-116
- Tjay, T.H., Rahardja, K. (2002). *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.
- Todar's K., Medison P., Wisconsin. 2004. Online Textbook of Bacteriology, Science Megazine. Vol.304, (Online), (http://www.text_book_of_bacteriology.net/) [28 September 2016]
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press. Hlm 41-47
- Wardani AK. 2008. Uji Aktivitas antibakteri fraksi residu ekstrak etanolik daun arbenan (*Duchesnea indica* (Andr. Facke.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik beserta profil kromatografi lapis tipis [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Warsa UC. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. Hal: 103-124.
- Werckentin C, Cardoso M, Loismartel J, Schawarz S. 2011. Antimicrobial resistance in Staphylococci from animal with particular reference to bovine *S.aureus*, porcine *S.hyicus* and *S.intermedius*. *J. Vet. Res* 32:341-362.
- Widiyati, E. 2006. *Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu*. *Jurnal Gradien* 2(1) : 116-122

Yang, R., S. Lin dan G. Kuo. 2005. Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. *Asia Pacific J. Clin Nutr.* 17 : 257-279.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Determinasi tanaman ashitaba



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 156/UN27.9.6.4/Lab/2016
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : Purwanita Indah Kusuma
NIM : 19133966A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.
Familia : Apiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) dan She *et al.* (2005) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74b-631a **148. Apiaceae**
1b-4b-6b-8a-9b-53a-54b-57b-58b-59b-60b **82. Angelica**
1 ***Angelica keiskei* (Miq.) Koidz.**

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tegak, tinggi bisa mencapai 0.5-1.5 m. Akar : tunggang, bercabang, bentuk cabang akar hampir silindris, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : tumbuh tegak, tidak berkayu, bersegi, beralur dalam, beruas, bercabang, permukaan gundul, berwarna hijau hingga hijau pucat. Daun : majemuk menyirip ganjil, anak daun 3 helai; helaian anak daun bulat telur, panjang 3.5-9 cm, lebar 4-6 cm, pangkal tumpul hingga membulat, ujung daun runcing, tepi daun bercangap menyirip hingga berbagi menyirip, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau tua mengkilat, permukaan bawah hijau keputih-putihan, jika digerus aromatik; ibu tangkai daun bulat, hijau, gundul, panjang 7.5-12 cm; tangkai anak daun bulat, hijau, gundul, panjang 3.5-5 cm. Bunga : majemuk berbentuk payung, di ujung, dalam satu payung besar terdapat 20-25 bunga payung kecil, dengan panjang tangkai payung 2-4 cm, masing-masing bunga payung kecil bertangkai pendek, panjang 2-3 mm, masing-masing bunga payung dilindungi oleh daun pembalut (involukrum) berwarna hijau; kelopak bungaberbagi 5, berwarna hijau; mahkota berbagi 5, bagian pangkal berlekatan, warna putih kehijauan atau putih kekuningan; benang sari 5, berlepasan; tangkai putik pendek.

Surakarta, 14 Oktober 2016

Kepala Lab Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Foto daun ashitaba



Gambar daun ashitaba diambil dari dokumentasi pribadi

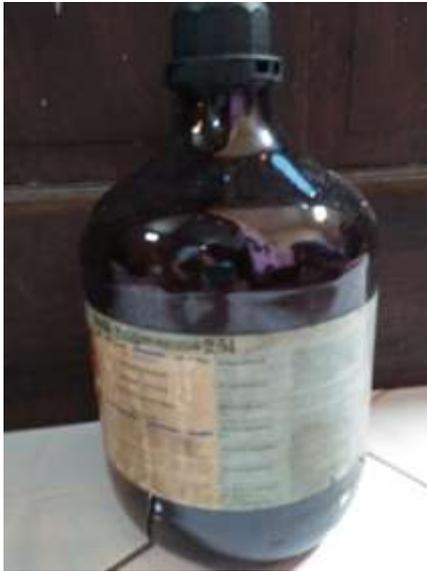
Lampiran 3. Foto daun ashitaba kering dan serbuk daun ashitaba



Foto daun ashitaba kering



Foto serbuk daun ashitaba

Lampiran 4. Gambar alat**Botol maserasi****Evaporator****Alat Moisture balance****Corong pisah**

Lampiran 5. Foto ekstrak cair dan ekstrak kental daun ashitaba



Foto ekstrak cair daun ashitaba

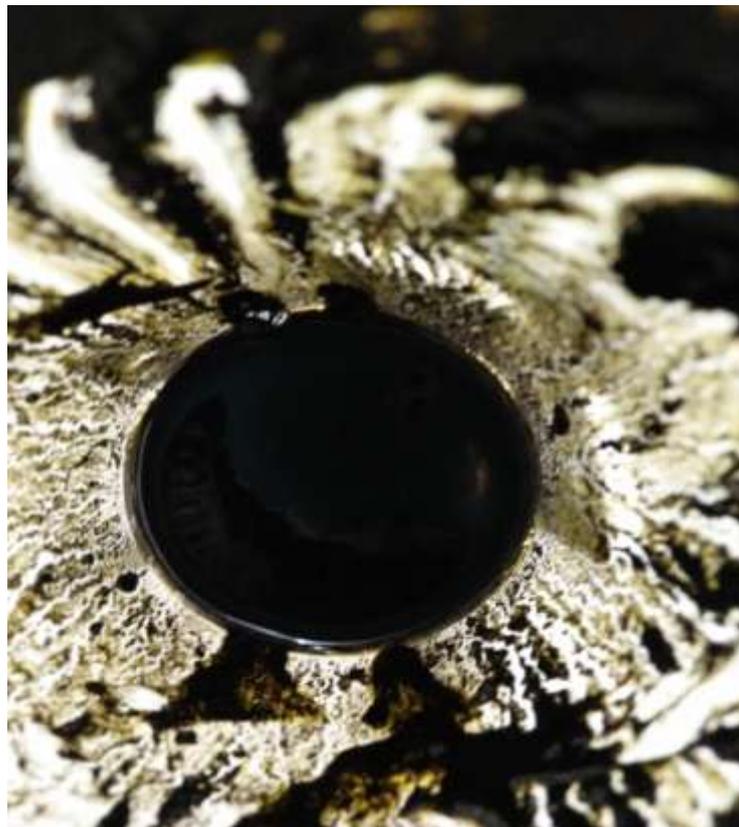


Foto ekstrak kental daun ashitaba

Lampiran 6. Foto fraksinasi dan hasil fraksinasiFoto fraksinasi *n*-heksan

Foto fraksinasi etil asetat, air

Hasil fraksi *n*-heksan

Hasil fraksi etil asetat



Hasil fraksi air

Lampiran 7. Foto identifikasi kandungan serbuk dan ekstrak

Senyawa	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid		
Alkaloid		
Tanin		
Saponin		

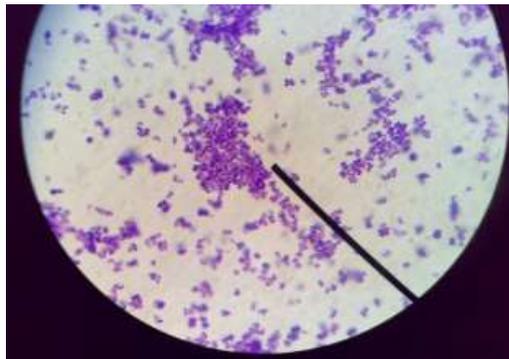
Lampiran 8. Foto identifikasi senyawa fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun ashitaba

Senyawa	Hasil fraksi		
	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air
Flavonoid			
Alkaloid			
Tanin			
Saponin			

Lampiran 9. Foto hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Pengamatan morfologi



Pengamatan mikroskopis pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

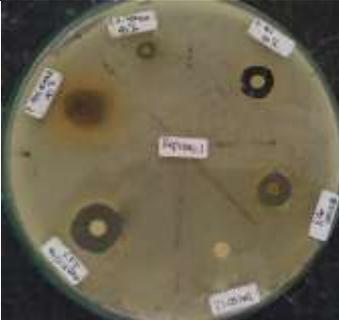
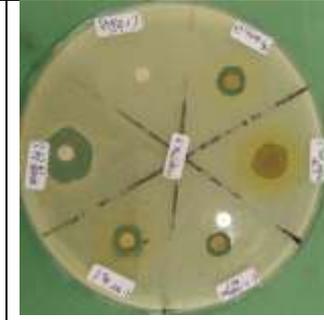
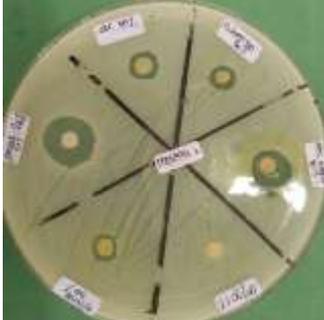
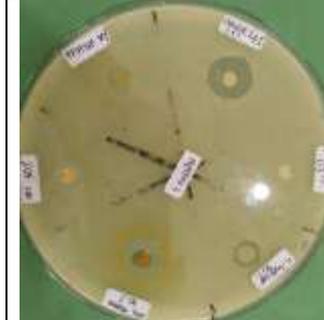
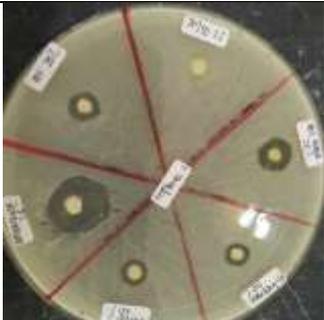
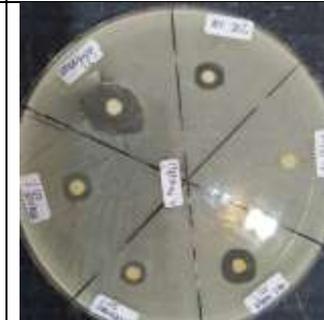


Uji katalase



Uji koagulase

Lampiran 10. Hasil difusi

	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
Konsentrasi 40 %			
Konsentrasi 30%			
Konsentrasi 20%			

Lampiran 11. Hasil dilusi fraksi teraktif etil asetat dan amoksisilin

A. Hasil dilusi fraksi teraktif etil asetat



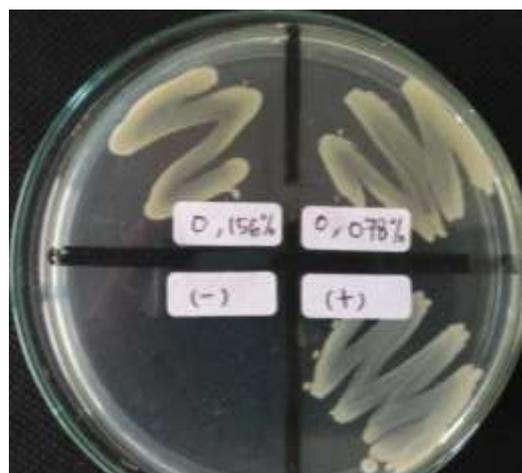
A



B



C



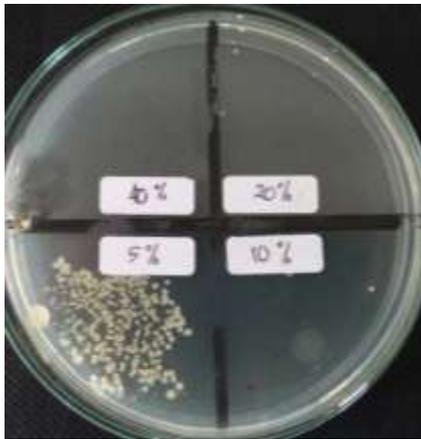
D

Keterangan : A = Hasil dilusi fraksi etil asetat replikasi pertama

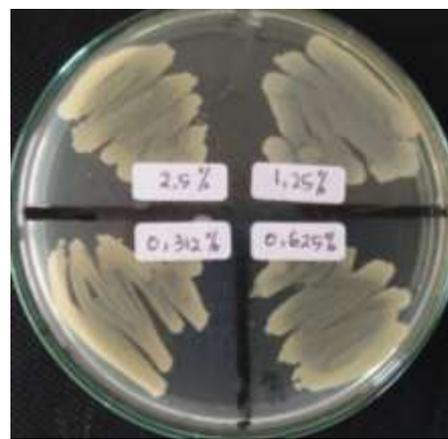
B, C, D = Hasil inokulasi fraksi etil asetat replikasi pertama



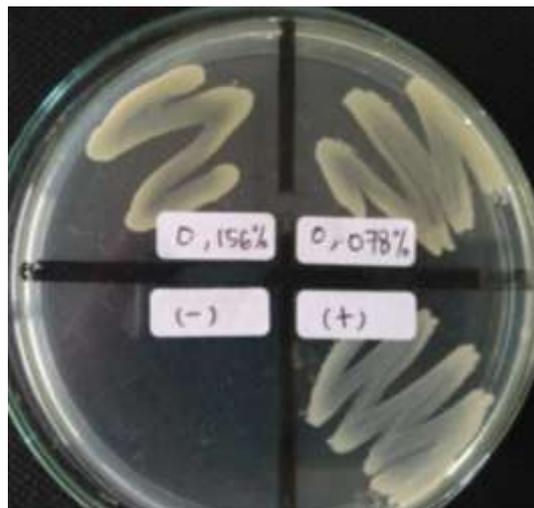
A



B



C

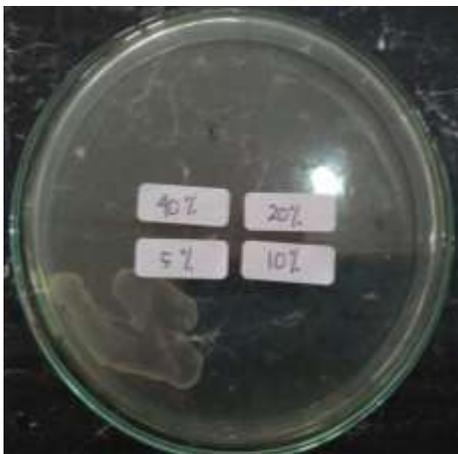


D

Keterangan : A = Hasil dilusi fraksi etil asetat replikasi kedua
 B, C, D = Hasil inokulasi fraksi etil asetat replikasi kedua



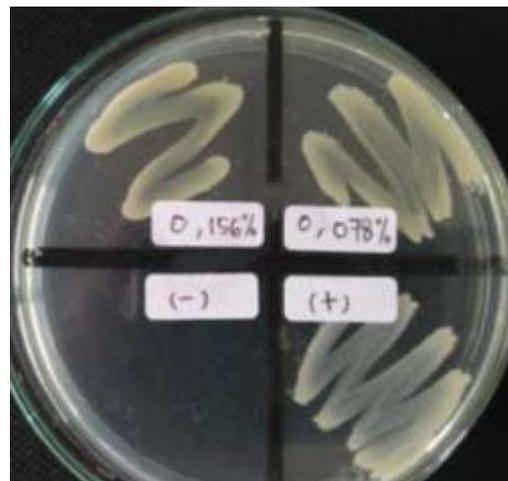
A



B



C



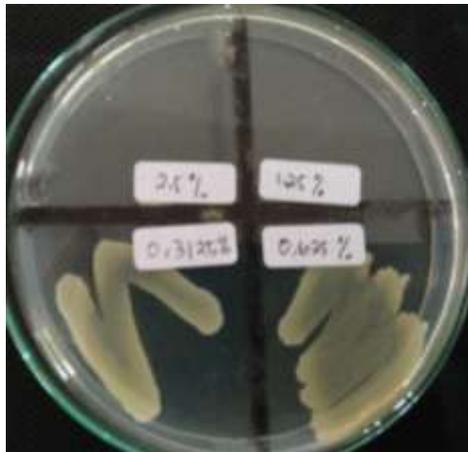
D

Keterangan : A = Hasil dilusi fraksi etil asetat replikasi ketiga
 B, C, D = Hasil inokulasi fraksi etil asetat replikasi ketiga

B. Hasil dilusi amoksisilin



A



B



C

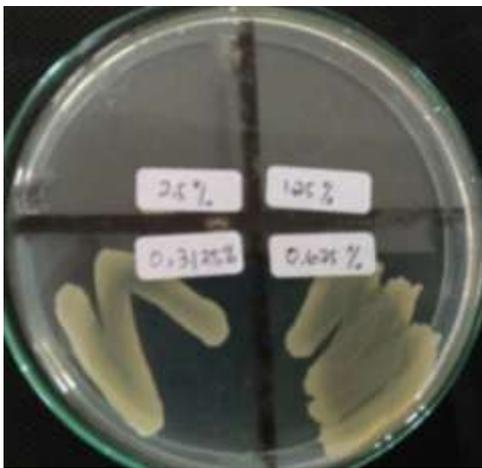


D

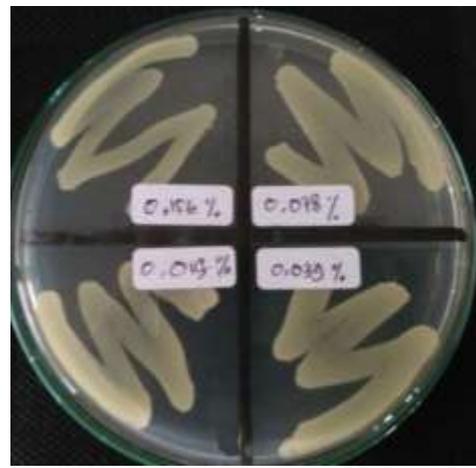
Keterangan : A = Hasil dilusi antibiotik amoksisilin replikasi pertama
 B, C, D = Hasil inokulasi antibiotik amoksisilin replikasi pertama



A



B



C



D

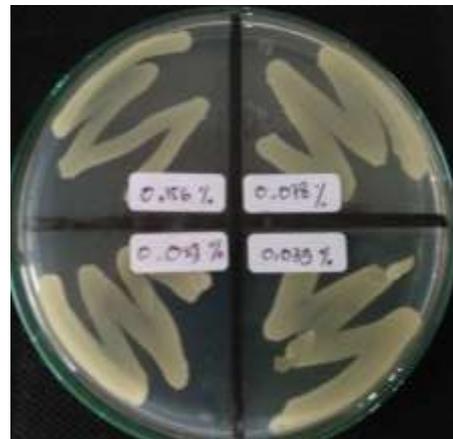
Keterangan : A = Hasil dilusi antibiotik amoksisilin replikasi kedua
 B, C, D = Hasil inokulasi antibiotik amoksisilin replikasi kedua



A



B



C



D

Keterangan : A = Hasil dilusi antibiotik amoksisilin replikasi ketiga
 B, C, D = Hasil inokulasi antibiotik amoksisilin replikasi ketiga

Lampiran 12. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
8600	1600	18,60 %

Perhitungan bobot kering terhadap bobot basah adalah

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{1600 \text{ g}}{8600 \text{ g}} \times 100\% = 18,60 \%$$

Rata-rata prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun ashitaba adalah 18,60 %.

Lampiran 13. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun ashitaba

Prosentase bobot ekstrak etanol daun ashitaba

Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1500	173,096	11,54 %

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak etanolik} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental(g)}}{\text{bobot serbuk(g)}} \times 100\% \\ &= \frac{173,096 \text{ g}}{1500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 11,54 \% \end{aligned}$$

Nama pelarut	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Prosentase % (b/b)
<i>n</i> -heksan	140	47,011	33,58
Etil asetat	140	4,013	2,87
Air	140	35,929	25,66

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi } n\text{-heksan} &= \frac{\text{bobot fraksi(g)}}{\text{bobot ekstrak etanolik(g)}} \times 100\% \\ &= \frac{47,011 \text{ g}}{140 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 33,58 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi etil asetat} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanolik (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{4,013 \text{ g}}{140 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 2,87\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen fraksi air} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanolik (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{35,929 \text{ g}}{140 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 25,66\% \end{aligned}$$

Lampiran 14. Pembuatan larutan stok uji difusi dan dilusi

A. Larutan stok difusi

Pembuatan konsentrasi 40%

$$40\% = \frac{40 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

$$= \frac{0,4 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

Menimbang 0,4 g hasil ekstrak etanolik atau fraksi kemudian masing-masing ditambahkan DMSO 1% sampai volume 1 ml, kecuali fraksi air menggunakan aquadest steril.

Pembuatan konsentrasi 30%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.40\% = 1 \text{ ml}. 30\%$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ml}.30\%}{40\%}$$

$$V_1 = 0,75 \text{ ml}$$

Dipipet 0,75 ml sediaan awal 40% kemudian ditambah DMSO 1% sampai volume 1 ml.

Pembuatan konsentrasi 20%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1.30\% = 1 \text{ ml}. 20\%$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ml}.20\%}{30\%}$$

$$V_1 = 0,66 \text{ ml}$$

Dipipet 0,66 ml sediaan awal 30% kemudian ditambah DMSO 1% sampai volume 1 ml.

B. Larutan stok dilusi

Larutan stok 40% = 40 gram/100 ml

Konsentrasi 40% = 4 gram/10 ml

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 20\% &= V_1.C_1 &&= V_2.C_2 \\ &0,5. 40\% &&= 1. C_2 \\ &C_2 &&= 20\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 10\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 20\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 10\% \\
 \text{Konsentrasi 5\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 10\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 5\% \\
 \text{Konsentrasi 2,5\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 5\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 2,5\% \\
 \text{Konsentrasi 1,25\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 2,5\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 1,25\% \\
 \text{Konsentrasi 0,625\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 1,25\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 0,625\% \\
 \text{Konsentrasi 0,313\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 0,625\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 0,313\% \\
 \text{Konsentrasi 0,156\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 0,313\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 0,156\% \\
 \text{Konsentrasi 0,078\%} &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\
 &0,5. 0,156\% &= 1. C_2 \\
 &C_2 &= 0,078\%
 \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 ml fraksi

Kontrol positif (+) berisi 1 ml suspensi bakteri

Lampiran 15. Lampiran pengujian dosis antibiotik Amoksisilin

$$\begin{aligned} \text{Kontrol amoksisilin} &= 125 \text{ mg/5 ml} \\ &= 2500 \text{ mg/100 ml} = 2,5\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi } 2,5\% = 2,5\%$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 1,25\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 2,5\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 1,25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,625\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 1,25\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,625\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,313\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 0,625\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,313\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,156\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 0,313\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,156\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,078\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 0,156\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,078\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,0039\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 0,078\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,0039\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,00195\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 0,0039\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,00195\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,000975\% &= V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ 0,5. 0,00195\% & &= 1 \text{ ml. } C_2 \\ & &C_2 &= 0,000975\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,0004875\% &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 0,5 \cdot 0,000975\% & &= 1 \text{ ml} \cdot C_2 \\ C_2 & &= 0,0004875\% \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) : 1 mL antibiotik amoksisilin

Kontrol positif (+) : 1 mL suspensi bakteri

Lampiran 16. Hasil data difusi secara ANNOVA *one way*

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	42	13.381	6.6202	.0	28.5

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter
N		42
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	13.381
	Std. Deviation	6.6202
Most Extreme Differences	Absolute	.096
	Positive	.078
	Negative	-.096
Kolmogorov-Smirnov Z		.623
Asymp. Sig. (2-tailed)		.832

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.943	13	28	.525

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1790.405	13	137.723	593.270	.000
Within Groups	6.500	28	.232		
Total	1796.905	41			

Post Hoc Tests

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable:diameter

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD ekstrak etanol 40%	ekstrak etanol 30%	3.0000 [*]	.3934	.000	1.560	4.440
	ekstrak etanol 20%	5.6667 [*]	.3934	.000	4.227	7.107
	fraksi n-heksan 40%	8.1667 [*]	.3934	.000	6.727	9.607
	fraksi n-heksan 30%	9.0000 [*]	.3934	.000	7.560	10.440
	fraksi n-heksan 20%	9.1667 [*]	.3934	.000	7.727	10.607
	fraksi etil asetat 40%	-4.0000 [*]	.3934	.000	-5.440	-2.560
	fraksi etil asetat 30%	-2.0000 [*]	.3934	.001	-3.440	-.560
	fraksi etil asetat 20%	.0000	.3934	1.000	-1.440	1.440
	fraksi air 40%	1.0000	.3934	.417	-.440	2.440
	fraksi air 30%	3.1667 [*]	.3934	.000	1.727	4.607
	fraksi air 20%	5.3333 [*]	.3934	.000	3.893	6.773
	amoksisilin 2,5%	-11.3333 [*]	.3934	.000	-12.773	-9.893
	DMSO 1%	16.5000 [*]	.3934	.000	15.060	17.940
ekstrak etanol 30%	ekstrak etanol 40%	-3.0000 [*]	.3934	.000	-4.440	-1.560
	ekstrak etanol 20%	2.6667 [*]	.3934	.000	1.227	4.107
	fraksi n-heksan 40%	5.1667 [*]	.3934	.000	3.727	6.607
	fraksi n-heksan 30%	6.0000 [*]	.3934	.000	4.560	7.440
	fraksi n-heksan 20%	6.1667 [*]	.3934	.000	4.727	7.607
	fraksi etil asetat 40%	-7.0000 [*]	.3934	.000	-8.440	-5.560
	fraksi etil asetat 30%	-5.0000 [*]	.3934	.000	-6.440	-3.560
	fraksi etil asetat 20%	-3.0000 [*]	.3934	.000	-4.440	-1.560
	fraksi air 40%	-2.0000 [*]	.3934	.001	-3.440	-.560
	fraksi air 30%	.1667	.3934	1.000	-1.273	1.607
	fraksi air 20%	2.3333 [*]	.3934	.000	.893	3.773
amoksisilin 2,5%	-14.3333 [*]	.3934	.000	-15.773	-12.893	
DMSO 1%	13.5000 [*]	.3934	.000	12.060	14.940	
ekstrak etanol 20%	ekstrak etanol 40%	-5.6667 [*]	.3934	.000	-7.107	-4.227
	ekstrak etanol 30%	-2.6667 [*]	.3934	.000	-4.107	-1.227
	fraksi n-heksan 40%	2.5000 [*]	.3934	.000	1.060	3.940
	fraksi n-heksan 30%	3.3333 [*]	.3934	.000	1.893	4.773
	fraksi n-heksan 20%	3.5000 [*]	.3934	.000	2.060	4.940
	fraksi etil asetat 40%	-9.6667 [*]	.3934	.000	-11.107	-8.227
	fraksi etil asetat 30%	-7.6667 [*]	.3934	.000	-9.107	-6.227
fraksi etil asetat 20%	-5.6667 [*]	.3934	.000	-7.107	-4.227	

	fraksi air 40%	-4.6667	.3934	.000	-6.107	-3.227
	fraksi air 30%	-2.5000	.3934	.000	-3.940	-1.060
	fraksi air 20%	-.3333	.3934	1.000	-1.773	1.107
	amoksisilin 2,5%	-17.0000	.3934	.000	-18.440	-15.560
	DMSO 1%	10.8333	.3934	.000	9.393	12.273
fraksi n-heksan 40%	ekstrak etanol 40%	-8.1667	.3934	.000	-9.607	-6.727
	ekstrak etanol 30%	-5.1667	.3934	.000	-6.607	-3.727
	ekstrak etanol 20%	-2.5000	.3934	.000	-3.940	-1.060
	fraksi n-heksan 30%	.8333	.3934	.684	-.607	2.273
	fraksi n-heksan 20%	1.0000	.3934	.417	-.440	2.440
	fraksi etil asetat 40%	-12.1667	.3934	.000	-13.607	-10.727
	fraksi etil asetat 30%	-10.1667	.3934	.000	-11.607	-8.727
	fraksi etil asetat 20%	-8.1667	.3934	.000	-9.607	-6.727
	fraksi air 40%	-7.1667	.3934	.000	-8.607	-5.727
	fraksi air 30%	-5.0000	.3934	.000	-6.440	-3.560
	fraksi air 20%	-2.8333	.3934	.000	-4.273	-1.393
	amoksisilin 2,5%	-19.5000	.3934	.000	-20.940	-18.060
	DMSO 1%	8.3333	.3934	.000	6.893	9.773
	fraksi n-heksan 30%	ekstrak etanol 40%	-9.0000	.3934	.000	-10.440
ekstrak etanol 30%		-6.0000	.3934	.000	-7.440	-4.560
ekstrak etanol 20%		-3.3333	.3934	.000	-4.773	-1.893
fraksi n-heksan 40%		-.8333	.3934	.684	-2.273	.607
fraksi n-heksan 20%		.1667	.3934	1.000	-1.273	1.607
fraksi etil asetat 40%		-13.0000	.3934	.000	-14.440	-11.560
fraksi etil asetat 30%		-11.0000	.3934	.000	-12.440	-9.560
fraksi etil asetat 20%		-9.0000	.3934	.000	-10.440	-7.560
fraksi air 40%		-8.0000	.3934	.000	-9.440	-6.560
fraksi air 30%		-5.8333	.3934	.000	-7.273	-4.393
fraksi air 20%		-3.6667	.3934	.000	-5.107	-2.227
amoksisilin 2,5%		-20.3333	.3934	.000	-21.773	-18.893
DMSO 1%		7.5000	.3934	.000	6.060	8.940
fraksi n-heksan 20%		ekstrak etanol 40%	-9.1667	.3934	.000	-10.607
	ekstrak etanol 30%	-6.1667	.3934	.000	-7.607	-4.727
	ekstrak etanol 20%	-3.5000	.3934	.000	-4.940	-2.060
	fraksi n-heksan 40%	-1.0000	.3934	.417	-2.440	.440
	fraksi n-heksan 30%	-.1667	.3934	1.000	-1.607	1.273
	fraksi etil asetat 40%	-13.1667	.3934	.000	-14.607	-11.727
	fraksi etil asetat 30%	-11.1667	.3934	.000	-12.607	-9.727
	fraksi etil asetat 20%	-9.1667	.3934	.000	-10.607	-7.727
	fraksi air 40%	-8.1667	.3934	.000	-9.607	-6.727
	fraksi air 30%	-6.0000	.3934	.000	-7.440	-4.560

	fraksi air 20%	-3.8333	.3934	.000	-5.273	-2.393
	amoksisilin 2,5%	-20.5000	.3934	.000	-21.940	-19.060
	DMSO 1%	7.3333	.3934	.000	5.893	8.773
fraksi etil asetat 40%	ekstrak etanol 40%	4.0000	.3934	.000	2.560	5.440
	ekstrak etanol 30%	7.0000	.3934	.000	5.560	8.440
	ekstrak etanol 20%	9.6667	.3934	.000	8.227	11.107
	fraksi n-heksan 40%	12.1667	.3934	.000	10.727	13.607
	fraksi n-heksan 30%	13.0000	.3934	.000	11.560	14.440
	fraksi n-heksan 20%	13.1667	.3934	.000	11.727	14.607
	fraksi etil asetat 30%	2.0000	.3934	.001	.560	3.440
	fraksi etil asetat 20%	4.0000	.3934	.000	2.560	5.440
	fraksi air 40%	5.0000	.3934	.000	3.560	6.440
	fraksi air 30%	7.1667	.3934	.000	5.727	8.607
	fraksi air 20%	9.3333	.3934	.000	7.893	10.773
	amoksisilin 2,5%	-7.3333	.3934	.000	-8.773	-5.893
	DMSO 1%	20.5000	.3934	.000	19.060	21.940
	fraksi etil asetat 30%	ekstrak etanol 40%	2.0000	.3934	.001	.560
ekstrak etanol 30%		5.0000	.3934	.000	3.560	6.440
ekstrak etanol 20%		7.6667	.3934	.000	6.227	9.107
fraksi n-heksan 40%		10.1667	.3934	.000	8.727	11.607
fraksi n-heksan 30%		11.0000	.3934	.000	9.560	12.440
fraksi n-heksan 20%		11.1667	.3934	.000	9.727	12.607
fraksi etil asetat 40%		-2.0000	.3934	.001	-3.440	-.560
fraksi etil asetat 20%		2.0000	.3934	.001	.560	3.440
fraksi air 40%		3.0000	.3934	.000	1.560	4.440
fraksi air 30%		5.1667	.3934	.000	3.727	6.607
fraksi air 20%		7.3333	.3934	.000	5.893	8.773
amoksisilin 2,5%		-9.3333	.3934	.000	-10.773	-7.893
DMSO 1%		18.5000	.3934	.000	17.060	19.940
fraksi etil asetat 20%		ekstrak etanol 40%	.0000	.3934	1.000	-1.440
	ekstrak etanol 30%	3.0000	.3934	.000	1.560	4.440
	ekstrak etanol 20%	5.6667	.3934	.000	4.227	7.107
	fraksi n-heksan 40%	8.1667	.3934	.000	6.727	9.607
	fraksi n-heksan 30%	9.0000	.3934	.000	7.560	10.440
	fraksi n-heksan 20%	9.1667	.3934	.000	7.727	10.607
	fraksi etil asetat 40%	-4.0000	.3934	.000	-5.440	-2.560
	fraksi etil asetat 30%	-2.0000	.3934	.001	-3.440	-.560
	fraksi air 40%	1.0000	.3934	.417	-.440	2.440
	fraksi air 30%	3.1667	.3934	.000	1.727	4.607
	fraksi air 20%	5.3333	.3934	.000	3.893	6.773
	amoksisilin 2,5%	-11.3333	.3934	.000	-12.773	-9.893

	DMSO 1%	16.5000	.3934	.000	15.060	17.940
fraksi air 40%	ekstrak etanol 40%	-1.0000	.3934	.417	-2.440	.440
	ekstrak etanol 30%	2.0000	.3934	.001	.560	3.440
	ekstrak etanol 20%	4.6667	.3934	.000	3.227	6.107
	fraksi n-heksan 40%	7.1667	.3934	.000	5.727	8.607
	fraksi n-heksan 30%	8.0000	.3934	.000	6.560	9.440
	fraksi n-heksan 20%	8.1667	.3934	.000	6.727	9.607
	fraksi etil asetat 40%	-5.0000	.3934	.000	-6.440	-3.560
	fraksi etil asetat 30%	-3.0000	.3934	.000	-4.440	-1.560
	fraksi etil asetat 20%	-1.0000	.3934	.417	-2.440	.440
	fraksi air 30%	2.1667	.3934	.000	.727	3.607
	fraksi air 20%	4.3333	.3934	.000	2.893	5.773
	amoksisilin 2,5%	-12.3333	.3934	.000	-13.773	-10.893
	DMSO 1%	15.5000	.3934	.000	14.060	16.940
fraksi air 30%	ekstrak etanol 40%	-3.1667	.3934	.000	-4.607	-1.727
	ekstrak etanol 30%	-.1667	.3934	1.000	-1.607	1.273
	ekstrak etanol 20%	2.5000	.3934	.000	1.060	3.940
	fraksi n-heksan 40%	5.0000	.3934	.000	3.560	6.440
	fraksi n-heksan 30%	5.8333	.3934	.000	4.393	7.273
	fraksi n-heksan 20%	6.0000	.3934	.000	4.560	7.440
	fraksi etil asetat 40%	-7.1667	.3934	.000	-8.607	-5.727
	fraksi etil asetat 30%	-5.1667	.3934	.000	-6.607	-3.727
	fraksi etil asetat 20%	-3.1667	.3934	.000	-4.607	-1.727
	fraksi air 40%	-2.1667	.3934	.000	-3.607	-.727
	fraksi air 20%	2.1667	.3934	.000	.727	3.607
	amoksisilin 2,5%	-14.5000	.3934	.000	-15.940	-13.060
	DMSO 1%	13.3333	.3934	.000	11.893	14.773
fraksi air 20%	ekstrak etanol 40%	-5.3333	.3934	.000	-6.773	-3.893
	ekstrak etanol 30%	-2.3333	.3934	.000	-3.773	-.893
	ekstrak etanol 20%	.3333	.3934	1.000	-1.107	1.773
	fraksi n-heksan 40%	2.8333	.3934	.000	1.393	4.273
	fraksi n-heksan 30%	3.6667	.3934	.000	2.227	5.107
	fraksi n-heksan 20%	3.8333	.3934	.000	2.393	5.273
	fraksi etil asetat 40%	-9.3333	.3934	.000	-10.773	-7.893
	fraksi etil asetat 30%	-7.3333	.3934	.000	-8.773	-5.893
	fraksi etil asetat 20%	-5.3333	.3934	.000	-6.773	-3.893
	fraksi air 40%	-4.3333	.3934	.000	-5.773	-2.893
	fraksi air 30%	-2.1667	.3934	.000	-3.607	-.727
	amoksisilin 2,5%	-16.6667	.3934	.000	-18.107	-15.227
		DMSO 1%	11.1667	.3934	.000	9.727

amoksisilin 2,5%	ekstrak etanol 40%	11.3333	.3934	.000	9.893	12.773
	ekstrak etanol 30%	14.3333	.3934	.000	12.893	15.773
	ekstrak etanol 20%	17.0000	.3934	.000	15.560	18.440
	fraksi n-heksan 40%	19.5000	.3934	.000	18.060	20.940
	fraksi n-heksan 30%	20.3333	.3934	.000	18.893	21.773
	fraksi n-heksan 20%	20.5000	.3934	.000	19.060	21.940
	fraksi etil asetat 40%	7.3333	.3934	.000	5.893	8.773
	fraksi etil asetat 30%	9.3333	.3934	.000	7.893	10.773
	fraksi etil asetat 20%	11.3333	.3934	.000	9.893	12.773
	fraksi air 40%	12.3333	.3934	.000	10.893	13.773
	fraksi air 30%	14.5000	.3934	.000	13.060	15.940
	fraksi air 20%	16.6667	.3934	.000	15.227	18.107
	DMSO 1%	27.8333	.3934	.000	26.393	29.273
DMSO 1%	ekstrak etanol 40%	-16.5000	.3934	.000	-17.940	-15.060
	ekstrak etanol 30%	-13.5000	.3934	.000	-14.940	-12.060
	ekstrak etanol 20%	-10.8333	.3934	.000	-12.273	-9.393
	fraksi n-heksan 40%	-8.3333	.3934	.000	-9.773	-6.893
	fraksi n-heksan 30%	-7.5000	.3934	.000	-8.940	-6.060
	fraksi n-heksan 20%	-7.3333	.3934	.000	-8.773	-5.893
	fraksi etil asetat 40%	-20.5000	.3934	.000	-21.940	-19.060
	fraksi etil asetat 30%	-18.5000	.3934	.000	-19.940	-17.060
	fraksi etil asetat 20%	-16.5000	.3934	.000	-17.940	-15.060
	fraksi air 40%	-15.5000	.3934	.000	-16.940	-14.060
	fraksi air 30%	-13.3333	.3934	.000	-14.773	-11.893
	fraksi air 20%	-11.1667	.3934	.000	-12.607	-9.727
	amoksisilin 2,5%	-27.8333	.3934	.000	-29.273	-26.393
Bonferroni ekstrak etanol 40%	ekstrak etanol 30%	3.0000	.3934	.000	1.466	4.534
	ekstrak etanol 20%	5.6667	.3934	.000	4.133	7.201
	fraksi n-heksan 40%	8.1667	.3934	.000	6.633	9.701
	fraksi n-heksan 30%	9.0000	.3934	.000	7.466	10.534
	fraksi n-heksan 20%	9.1667	.3934	.000	7.633	10.701
	fraksi etil asetat 40%	-4.0000	.3934	.000	-5.534	-2.466
	fraksi etil asetat 30%	-2.0000	.3934	.002	-3.534	-.466
	fraksi etil asetat 20%	.0000	.3934	1.000	-1.534	1.534
	fraksi air 40%	1.0000	.3934	1.000	-.534	2.534
	fraksi air 30%	3.1667	.3934	.000	1.633	4.701
	fraksi air 20%	5.3333	.3934	.000	3.799	6.867
	amoksisilin 2,5%	-11.3333	.3934	.000	-12.867	-9.799
	DMSO 1%	16.5000	.3934	.000	14.966	18.034
ekstrak etanol 30%	ekstrak etanol 40%	-3.0000	.3934	.000	-4.534	-1.466
	ekstrak etanol 20%	2.6667	.3934	.000	1.133	4.201
	fraksi n-heksan 40%	5.1667	.3934	.000	3.633	6.701

	fraksi n-heksan 30%	6.0000	.3934	.000	4.466	7.534
	fraksi n-heksan 20%	6.1667	.3934	.000	4.633	7.701
	fraksi etil asetat 40%	-7.0000	.3934	.000	-8.534	-5.466
	fraksi etil asetat 30%	-5.0000	.3934	.000	-6.534	-3.466
	fraksi etil asetat 20%	-3.0000	.3934	.000	-4.534	-1.466
	fraksi air 40%	-2.0000	.3934	.002	-3.534	-.466
	fraksi air 30%	.1667	.3934	1.000	-1.367	1.701
	fraksi air 20%	2.3333	.3934	.000	.799	3.867
	amoksisilin 2,5%	-14.3333	.3934	.000	-15.867	-12.799
	DMSO 1%	13.5000	.3934	.000	11.966	15.034
ekstrak etanol 20%	ekstrak etanol 40%	-5.6667	.3934	.000	-7.201	-4.133
	ekstrak etanol 30%	-2.6667	.3934	.000	-4.201	-1.133
	fraksi n-heksan 40%	2.5000	.3934	.000	.966	4.034
	fraksi n-heksan 30%	3.3333	.3934	.000	1.799	4.867
	fraksi n-heksan 20%	3.5000	.3934	.000	1.966	5.034
	fraksi etil asetat 40%	-9.6667	.3934	.000	-11.201	-8.133
	fraksi etil asetat 30%	-7.6667	.3934	.000	-9.201	-6.133
	fraksi etil asetat 20%	-5.6667	.3934	.000	-7.201	-4.133
	fraksi air 40%	-4.6667	.3934	.000	-6.201	-3.133
	fraksi air 30%	-2.5000	.3934	.000	-4.034	-.966
	fraksi air 20%	-.3333	.3934	1.000	-1.867	1.201
	amoksisilin 2,5%	-17.0000	.3934	.000	-18.534	-15.466
	DMSO 1%	10.8333	.3934	.000	9.299	12.367
fraksi n-heksan 40%	ekstrak etanol 40%	-8.1667	.3934	.000	-9.701	-6.633
	ekstrak etanol 30%	-5.1667	.3934	.000	-6.701	-3.633
	ekstrak etanol 20%	-2.5000	.3934	.000	-4.034	-.966
	fraksi n-heksan 30%	.8333	.3934	1.000	-.701	2.367
	fraksi n-heksan 20%	1.0000	.3934	1.000	-.534	2.534
	fraksi etil asetat 40%	-12.1667	.3934	.000	-13.701	-10.633
	fraksi etil asetat 30%	-10.1667	.3934	.000	-11.701	-8.633
	fraksi etil asetat 20%	-8.1667	.3934	.000	-9.701	-6.633
	fraksi air 40%	-7.1667	.3934	.000	-8.701	-5.633
	fraksi air 30%	-5.0000	.3934	.000	-6.534	-3.466
	fraksi air 20%	-2.8333	.3934	.000	-4.367	-1.299
	amoksisilin 2,5%	-19.5000	.3934	.000	-21.034	-17.966
	DMSO 1%	8.3333	.3934	.000	6.799	9.867
fraksi n-heksan 30%	ekstrak etanol 40%	-9.0000	.3934	.000	-10.534	-7.466
	ekstrak etanol 30%	-6.0000	.3934	.000	-7.534	-4.466
	ekstrak etanol 20%	-3.3333	.3934	.000	-4.867	-1.799
	fraksi n-heksan 40%	-.8333	.3934	1.000	-2.367	.701
	fraksi n-heksan 20%	.1667	.3934	1.000	-1.367	1.701
	fraksi etil asetat 40%	-13.0000	.3934	.000	-14.534	-11.466
	fraksi etil asetat 30%	-11.0000	.3934	.000	-12.534	-9.466
	fraksi etil asetat 20%	-9.0000	.3934	.000	-10.534	-7.466

	fraksi air 40%	-8.0000	.3934	.000	-9.534	-6.466
	fraksi air 30%	-5.8333	.3934	.000	-7.367	-4.299
	fraksi air 20%	-3.6667	.3934	.000	-5.201	-2.133
	amoksisilin 2,5%	-20.3333	.3934	.000	-21.867	-18.799
	DMSO 1%	7.5000	.3934	.000	5.966	9.034
fraksi n-heksan 20%	ekstrak etanol 40%	-9.1667	.3934	.000	-10.701	-7.633
	ekstrak etanol 30%	-6.1667	.3934	.000	-7.701	-4.633
	ekstrak etanol 20%	-3.5000	.3934	.000	-5.034	-1.966
	fraksi n-heksan 40%	-1.0000	.3934	1.000	-2.534	.534
	fraksi n-heksan 30%	-.1667	.3934	1.000	-1.701	1.367
	fraksi etil asetat 40%	-13.1667	.3934	.000	-14.701	-11.633
	fraksi etil asetat 30%	-11.1667	.3934	.000	-12.701	-9.633
	fraksi etil asetat 20%	-9.1667	.3934	.000	-10.701	-7.633
	fraksi air 40%	-8.1667	.3934	.000	-9.701	-6.633
	fraksi air 30%	-6.0000	.3934	.000	-7.534	-4.466
	fraksi air 20%	-3.8333	.3934	.000	-5.367	-2.299
	amoksisilin 2,5%	-20.5000	.3934	.000	-22.034	-18.966
	DMSO 1%	7.3333	.3934	.000	5.799	8.867
fraksi etil asetat 40%	ekstrak etanol 40%	4.0000	.3934	.000	2.466	5.534
	ekstrak etanol 30%	7.0000	.3934	.000	5.466	8.534
	ekstrak etanol 20%	9.6667	.3934	.000	8.133	11.201
	fraksi n-heksan 40%	12.1667	.3934	.000	10.633	13.701
	fraksi n-heksan 30%	13.0000	.3934	.000	11.466	14.534
	fraksi n-heksan 20%	13.1667	.3934	.000	11.633	14.701
	fraksi etil asetat 30%	2.0000	.3934	.002	.466	3.534
	fraksi etil asetat 20%	4.0000	.3934	.000	2.466	5.534
	fraksi air 40%	5.0000	.3934	.000	3.466	6.534
	fraksi air 30%	7.1667	.3934	.000	5.633	8.701
	fraksi air 20%	9.3333	.3934	.000	7.799	10.867
	amoksisilin 2,5%	-7.3333	.3934	.000	-8.867	-5.799
	DMSO 1%	20.5000	.3934	.000	18.966	22.034
fraksi etil asetat 30%	ekstrak etanol 40%	2.0000	.3934	.002	.466	3.534
	ekstrak etanol 30%	5.0000	.3934	.000	3.466	6.534
	ekstrak etanol 20%	7.6667	.3934	.000	6.133	9.201
	fraksi n-heksan 40%	10.1667	.3934	.000	8.633	11.701
	fraksi n-heksan 30%	11.0000	.3934	.000	9.466	12.534
	fraksi n-heksan 20%	11.1667	.3934	.000	9.633	12.701
	fraksi etil asetat 40%	-2.0000	.3934	.002	-3.534	-.466
	fraksi etil asetat 20%	2.0000	.3934	.002	.466	3.534
	fraksi air 40%	3.0000	.3934	.000	1.466	4.534
	fraksi air 30%	5.1667	.3934	.000	3.633	6.701
	fraksi air 20%	7.3333	.3934	.000	5.799	8.867
	amoksisilin 2,5%	-9.3333	.3934	.000	-10.867	-7.799
	DMSO 1%	18.5000	.3934	.000	16.966	20.034

fraksi etil asetat 20%	ekstrak etanol 40%	.0000	.3934	1.000	-1.534	1.534
	ekstrak etanol 30%	3.0000	.3934	.000	1.466	4.534
	ekstrak etanol 20%	5.6667	.3934	.000	4.133	7.201
	fraksi n-heksan 40%	8.1667	.3934	.000	6.633	9.701
	fraksi n-heksan 30%	9.0000	.3934	.000	7.466	10.534
	fraksi n-heksan 20%	9.1667	.3934	.000	7.633	10.701
	fraksi etil asetat 40%	-4.0000	.3934	.000	-5.534	-2.466
	fraksi etil asetat 30%	-2.0000	.3934	.002	-3.534	-.466
	fraksi air 40%	1.0000	.3934	1.000	-.534	2.534
	fraksi air 30%	3.1667	.3934	.000	1.633	4.701
	fraksi air 20%	5.3333	.3934	.000	3.799	6.867
	amoksisilin 2,5%	-11.3333	.3934	.000	-12.867	-9.799
	DMSO 1%	16.5000	.3934	.000	14.966	18.034
	fraksi air 40%	ekstrak etanol 40%	-1.0000	.3934	1.000	-2.534
ekstrak etanol 30%		2.0000	.3934	.002	.466	3.534
ekstrak etanol 20%		4.6667	.3934	.000	3.133	6.201
fraksi n-heksan 40%		7.1667	.3934	.000	5.633	8.701
fraksi n-heksan 30%		8.0000	.3934	.000	6.466	9.534
fraksi n-heksan 20%		8.1667	.3934	.000	6.633	9.701
fraksi etil asetat 40%		-5.0000	.3934	.000	-6.534	-3.466
fraksi etil asetat 30%		-3.0000	.3934	.000	-4.534	-1.466
fraksi etil asetat 20%		-1.0000	.3934	1.000	-2.534	.534
fraksi air 30%		2.1667	.3934	.001	.633	3.701
fraksi air 20%		4.3333	.3934	.000	2.799	5.867
amoksisilin 2,5%		-12.3333	.3934	.000	-13.867	-10.799
DMSO 1%		15.5000	.3934	.000	13.966	17.034
fraksi air 30%		ekstrak etanol 40%	-3.1667	.3934	.000	-4.701
	ekstrak etanol 30%	-.1667	.3934	1.000	-1.701	1.367
	ekstrak etanol 20%	2.5000	.3934	.000	.966	4.034
	fraksi n-heksan 40%	5.0000	.3934	.000	3.466	6.534
	fraksi n-heksan 30%	5.8333	.3934	.000	4.299	7.367
	fraksi n-heksan 20%	6.0000	.3934	.000	4.466	7.534
	fraksi etil asetat 40%	-7.1667	.3934	.000	-8.701	-5.633
	fraksi etil asetat 30%	-5.1667	.3934	.000	-6.701	-3.633
	fraksi etil asetat 20%	-3.1667	.3934	.000	-4.701	-1.633
	fraksi air 40%	-2.1667	.3934	.001	-3.701	-.633
	fraksi air 20%	2.1667	.3934	.001	.633	3.701
	amoksisilin 2,5%	-14.5000	.3934	.000	-16.034	-12.966
	DMSO 1%	13.3333	.3934	.000	11.799	14.867
	fraksi air 20%	ekstrak etanol 40%	-5.3333	.3934	.000	-6.867
ekstrak etanol 30%		-2.3333	.3934	.000	-3.867	-.799
ekstrak etanol 20%		.3333	.3934	1.000	-1.201	1.867
fraksi n-heksan 40%		2.8333	.3934	.000	1.299	4.367
fraksi n-heksan 30%		3.6667	.3934	.000	2.133	5.201

	fraksi n-heksan 20%	3.8333	.3934	.000	2.299	5.367
	fraksi etil asetat 40%	-9.3333	.3934	.000	-10.867	-7.799
	fraksi etil asetat 30%	-7.3333	.3934	.000	-8.867	-5.799
	fraksi etil asetat 20%	-5.3333	.3934	.000	-6.867	-3.799
	fraksi air 40%	-4.3333	.3934	.000	-5.867	-2.799
	fraksi air 30%	-2.1667	.3934	.001	-3.701	-.633
	amoksisilin 2,5%	-16.6667	.3934	.000	-18.201	-15.133
	DMSO 1%	11.1667	.3934	.000	9.633	12.701
amoksisilin 2,5%	ekstrak etanol 40%	11.3333	.3934	.000	9.799	12.867
	ekstrak etanol 30%	14.3333	.3934	.000	12.799	15.867
	ekstrak etanol 20%	17.0000	.3934	.000	15.466	18.534
	fraksi n-heksan 40%	19.5000	.3934	.000	17.966	21.034
	fraksi n-heksan 30%	20.3333	.3934	.000	18.799	21.867
	fraksi n-heksan 20%	20.5000	.3934	.000	18.966	22.034
	fraksi etil asetat 40%	7.3333	.3934	.000	5.799	8.867
	fraksi etil asetat 30%	9.3333	.3934	.000	7.799	10.867
	fraksi etil asetat 20%	11.3333	.3934	.000	9.799	12.867
	fraksi air 40%	12.3333	.3934	.000	10.799	13.867
	fraksi air 30%	14.5000	.3934	.000	12.966	16.034
	fraksi air 20%	16.6667	.3934	.000	15.133	18.201
	DMSO 1%	27.8333	.3934	.000	26.299	29.367
DMSO 1%	ekstrak etanol 40%	-16.5000	.3934	.000	-18.034	-14.966
	ekstrak etanol 30%	-13.5000	.3934	.000	-15.034	-11.966
	ekstrak etanol 20%	-10.8333	.3934	.000	-12.367	-9.299
	fraksi n-heksan 40%	-8.3333	.3934	.000	-9.867	-6.799
	fraksi n-heksan 30%	-7.5000	.3934	.000	-9.034	-5.966
	fraksi n-heksan 20%	-7.3333	.3934	.000	-8.867	-5.799
	fraksi etil asetat 40%	-20.5000	.3934	.000	-22.034	-18.966
	fraksi etil asetat 30%	-18.5000	.3934	.000	-20.034	-16.966
	fraksi etil asetat 20%	-16.5000	.3934	.000	-18.034	-14.966
	fraksi air 40%	-15.5000	.3934	.000	-17.034	-13.966
	fraksi air 30%	-13.3333	.3934	.000	-14.867	-11.799
	fraksi air 20%	-11.1667	.3934	.000	-12.701	-9.633
	amoksisilin 2,5%	-27.8333	.3934	.000	-29.367	-26.299

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

		diameter							
		Subset for alpha = 0.05							
perlakuan	N	1	2	3	4	5	6	7	8
Tukey HSD ^a									
DMSO 1%	3	.000							
fraksi n-heksan 20%	3		7.333						
fraksi n-heksan 30%	3		7.500						
fraksi n-heksan 40%	3		8.333						
ekstrak etanol 20%	3			10.833					
fraksi air 20%	3			11.167					
fraksi air 30%	3				13.333				
ekstrak etanol 30%	3				13.500				
fraksi air 40%	3					15.500			
ekstrak etanol 40%	3					16.500			
fraksi etil asetat 20%	3					16.500			
fraksi etil asetat 30%	3						18.500		
fraksi etil asetat 40%	3							20.500	
amoksisilin 2,5%	3								27.833
Sig.		1.000	.417	1.000	1.000	.417	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 17. Formulasi dan pembuatan media

1. Brain Hearth Infusion (BHI)

Infus dari otak sapi	200,0 g
Infus dari hati sapi	250,0 g
Protose pepton	10,0 g
Dektrosa	2,0 g
NaCl	5,0 g
Dinatrium fosfate	5,0 g
Aquadest	ad 1000,0 ml
pH	7,4

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dilarutkan, kemudian disterilkan dengan autoklaf padu suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH 7,4 (Depkes 1994).

2. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Pepton from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potassium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4 (Depkes 1994).

3. Formulasi dan pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Beef, dehydrated infusion	300 g
Casein Hydrolysate	17,5 g
Strach	1,5 g
Agar-agar	17 g

Suspensi 38 g bahan diatas dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna, sterilisasi pada autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Depkes 1994).