



## ARTIKEL PENELITIAN—RESEARCH ARTICLE

# Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Metanol Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Staphylococcus aureus*

Amni Hamid<sup>1\*</sup>, Nisa Isneni Hanifa<sup>1</sup>, Anggit Listyacahyani Sunarwidhi<sup>1</sup>

Fakultas Kedokteran Universitas  
Mataram

\*Korespondensi:  
amnifaraby@gmail.com

### Abstrak

**Latar belakang:** *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat memicu infeksi kulit dan dapat memperpanjang proses penyembuhan luka. Adapun tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah ashitaba (*Angelica keiskei*). Ashitaba banyak tumbuh di daerah Sembalun (Lombok Timur) secara liar dan dibudidayakan oleh masyarakat setempat. Biasanya daun ashitaba dimanfaatkan oleh masyarakat setempat sebagai bahan pangan dan getahnya sebagai penyembuh luka. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi ekstrak metanol ashitaba terhadap *S. aureus*.

**Metode:** Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Fraksinasi ekstrak menggunakan metode partisi cair-cair dengan pelarut air, etil asetat, dan n-heksan. Skrining fitokimia menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan penampak bercak  $AlCl_3$ , Folin-ciocalteu,  $FeCl_3$ , Liebermann Burchard, dan  $H_2SO_4$ . Penentuan aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan mengukur zona hambat bakteri.

**Hasil:** Fraksi air residu ekstrak metanol ashitaba konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% tidak memiliki aktivitas antibakteri. Namun, fraksi etil asetat konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat berturut-turut  $7,76 \pm 0,56$  mm (sedang);  $8,60 \pm 0$  mm (sedang); dan  $16,75 \pm 1,06$  mm (kuat), serta fraksi n-heksan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% memiliki aktivitas bakteri dengan zona hambat berturut-turut  $12,9 \pm 0,49$ ;  $16,2 \pm 8,19$ ; dan  $12,83 \pm 0,58$  mm (kuat).

**Kesimpulan:** Ashitaba berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dan fraksi yang paling potensial dikembangkan adalah fraksi n-heksan konsentrasi 5%.

**Kata Kunci:** *Angelica keiskei*, antibakteri, fraksi, *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Infeksi bakteri merupakan salah satu masalah kesehatan di dunia yang membutuhkan pencegahan segera<sup>1</sup>. Bakteri yang umumnya dapat memicu berbagai infeksi adalah *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)<sup>2</sup>. *S. aureus* merupakan salah satu penyebab meningkatnya penyakit dan kematian setiap tahun<sup>3</sup>. *S. aureus* dapat menginfeksi kulit dan memperpanjang masa penyembuhan luka pada tahap inflamasi<sup>4</sup>.

Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri adalah ashitaba. Studi etnomedisin

tanaman menunjukkan, bahwa ashitaba merupakan tanaman yang digunakan dalam ramuan penyembuh luka di Lombok Timur<sup>5</sup>. Masyarakat setempat menggunakan daunnya sebagai bahan pangan dan menggunakan getahnya untuk mempercepat penyembuhan luka<sup>6</sup>. Ashitaba memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*<sup>7</sup>, *Streptococcus mutans*<sup>6,8</sup> dan *Staphylococcus epidermidis*<sup>9</sup>.

Ekstrak metanol daun ashitaba telah dilaporkan mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin<sup>10</sup>. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri fraksi



ekstrak metanol ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap bakteri *S. aureus* sebagai saintifikasi obat tradisional yang digunakan masyarakat sebagai penyembuh luka dan pengembangan produk antibakteri dari bahan alam.

## METODE PENELITIAN

### Pengambilan Sampel dan Determinasi

Sampel ashitaba (*Angelica keiskei*) segar diambil bagian daun dan batang sebelum jam 10.00 WITA. Sampel diambil di Desa Sembalun Bumbung Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur, NTB. Sampel ashitaba dideterminasi di Laboratorium Biologi Lanjut Ruang Ekologi dan Biofarmasetika Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram.

### Pembuatan Simplisia

Sampel ashitaba (*Angelica keiskei*) segar 2 kg disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir sebanyak 3 kali. Setelah itu, sampel dirajang dan dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dengan cara ditutup menggunakan kain hitam. Sampel yang sudah kering selanjutnya disortasi kering, lalu dihaluskan dengan cara diblender 11.

### Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ditimbang 200 g sampel tanaman dan dilarutkan dengan 2 L metanol 96% (1:10). Sampel direndam selama 24 jam dan dilakukan remaserasi 2 kali. Setelah ekstraksi selesai, maserat disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh filtrat. Seluruh filtrat hasil maserasi digabung. Selanjutnya, filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator (50°C), lalu diuapkan kembali dengan penangas air (30-40°C).

### Pembuatan Fraksi

Ekstrak metanol ashitaba (*Angelica keiskei*) difraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut air, etil asetat, dan n-heksan. 5 g ekstrak kental dilarutkan dengan 10 mL metanol, lalu ditambahkan dengan 40 mL air dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, ekstrak

dipartisi dengan pelarut organik dengan kepolaran bertingkat dimulai dari n-heksan, lalu etil asetat. Masing-masing ditambahkan 50 mL dan difraksi hingga 3 kali. Hasil fraksi air diuapkan di atas cawan porselen dalam penangas air. Sementara itu, fraksi n-heksan dan etil asetat di atas cawan porselen dalam penangas air yang diletakkan di dalam lemari asam 12.

### Skrining Fitokimia

Senyawa yang diidentifikasi adalah senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin dari fraksi ashitaba (*Angelica keiskei*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pelat KLT silika gel yang digunakan dioven dengan suhu 110°C selama 30 menit untuk mengurangi kadar air dalam pelat 13. Larutan fraksi air residu, etil asetat, dan n-heksan masing-masing dibuat dengan melarutkan 1 mg fraksi kental dalam metanol p.a 1 mL (1 mg/mL). Setelah itu, diberi tanda garis batas atas dan batas bawah masing-masing sebesar 1 cm. Selanjutnya, dibuat fase gerak dan dimasukkan ke dalam chamber hingga jenuh. Sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler 10 µL pada pelat KLT, kemudian dimasukkan ke dalam chamber dan dielusi menggunakan eluen masing-masing hingga tanda batas 14.

Tabel 2. Eluen dan Penampak Bercak untuk Uji KLT

Identifikasi senyawa	Eluen	Penampak Bercak
Flavonoid	n-heksan:etil asetat (7:3)	AlCl <sub>3</sub> 10%
Fenolik	n-heksan:etil asetat (4:1)	FeCl <sub>3</sub> 10%
Saponin	n-heksan:etil asetat (4:1)	Liebermann Burchard

### Uji Antibakteri

#### (1) Pembuatan media

Media agar (NA) ditimbang 4 g dan dilarutkan menggunakan akuades sampai 200 mL (20 g/L).

#### (2) Sterilisasi alat dan bahan

Semua alat gelas dan media padat disterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 1,5 jam 15.



(3) Pembuatan Mc Farland 0,5  
0,05 mL BaCl<sub>2</sub> 1% dicampur dengan 9,95 mL  
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%.

(4) Peremajaan Bakteri

Bakteri *S. aureus* dari slant agar diambil  
menggunakan ose dan digoreskan pada media agar.  
Kemudian, dimasukkan ke dalam inkubator dengan  
suhu 37°C dan didiamkan selama 18 jam.

(5) Plating Media Padat (NA)

Media padat yang telah disterilisasi dicairkan  
terlebih dahulu menggunakan hot plate. Ditunggu  
beberapa saat, lalu dipindahkan 20 mL ke petri.

(6) Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan dan  
Kontrol Uji

Setiap fraksi dibuat dengan konsentrasi sebesar  
2,5%, 5%, dan 10%. Dibuat konsentrasi induk (10%)  
terlebih dahulu, 100 mg fraksi ditambahkan dengan  
0,1 mL DMSO+0,9 mL metanol (100 mg/mL), lalu  
dibuat konsentrasi selanjutnya dengan cara  
diencerkan. Kontrol positif yang digunakan adalah  
kloramfenikol sediaan kapsul dengan konsentrasi 1  
mg/mL. Kloramfenikol ditimbang 10 mg dan  
ditambahkan 1 mL Water For Injection (WFI), lalu  
diencerkan 10x. Sementara itu, kontrol negatif yang  
digunakan adalah metanol dan DMSO 10% (1 mL).

(7) Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *S. aureus* yang telah diremajakan diambil  
sedikit koloninya menggunakan ose. Kemudian,  
dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 2 mL  
larutan NaCl 0,9% dan kekeruhan disetarakan  
dengan 0,5 Mc Farland (1,5 x 10<sup>8</sup> CFU/mL).

(8) Uji Aktivitas Antibakteri

Dimasukkan 100 µL suspensi bakteri yang telah  
diencerkan 100x (1,5 x 10<sup>6</sup> CFU/mL) pada media  
agar, lalu diratakan menggunakan spreader.  
Selanjutnya, larutan uji yang telah dibuat diteteskan  
pada kertas cakram dan ditanam pada media agar  
yang telah berisi suspensi bakteri. Kemudian,  
diinkubasi selama 18 jam, lalu diukur diameter zona  
hambat menggunakan penggaris.

## HASIL & PEMBAHASAN

Ashitaba (*Angelica keiskei*) diambil di Desa  
Sembalun Bumbung, Kec. Sembalun, Kab. Lombok  
Timur, NTB. Pemilihan sampel ini berdasarkan hasil

skrining fitokimia tanaman penyembuh luka di  
Lombok tahun 2018<sup>5</sup>. Sampel penelitian ini telah  
dipastikan ashitaba dengan hasil determinasi nomor  
08/UNI18.7/LBL/2022. Diperoleh hasil simplisia  
serbuk ashitaba sebanyak 226 g dari sampel basah  
2 kg. Persentase rendemen simplisia yang dihasilkan  
sebesar 11,3%.

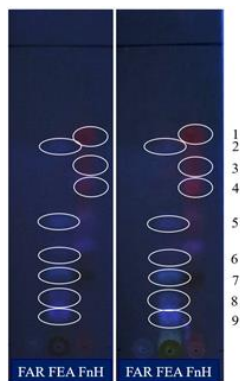
Pembuatan ekstrak ashitaba dilakukan  
dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi  
dengan remaserasi 2 kali menggunakan pelarut  
metanol 96%. Sampel 200 g direndam dengan 2 L  
pelarut metanol 96%. Metanol digunakan karena  
efektif dapat mengekstrak senyawa polar dan  
nonpolar, seperti flavonoid, fenolik dan saponin<sup>16</sup>.  
Ekstrak metanol ashitaba yang dihasilkan sebanyak  
41,726 g dengan persentase rendemen sebesar  
20,863 %.

**Tabel I.** Berat dan Rendemen

Nama	Berat (g)	Rendemen (%)
Simplisia	200	11,3
Ekstrak	41,726	20,863
Fraksi air residu	3,708	0,739
Fraksi etil asetat	0,515	0,102
Fraksi n-heksan	0,41	0,097

Pembuatan fraksi ashitaba dilakukan dengan  
metode partisi cair-cair dengan menggunakan 3  
pelarut, yaitu air, etil asetat, dan n-heksan.  
Pemilihan pelarut ini berdasarkan prinsip *like  
dissolves like*, suatu pelarut akan cenderung  
melarutkan senyawa yang memiliki tingkat  
kepolaran yang sama. Pelarut polar akan  
melarutkan senyawa polar dan sebaliknya<sup>4</sup>. Masing-  
masing fraksi air residu (FAR), fraksi etil asetat  
(FEA), dan fraksi n-heksan (FnH) yang diperoleh  
berturut-turut, yaitu 3,708 g; 0,491 g; dan 0,515 g,  
serta menghasilkan persentase rendemen berturut-  
turut sebesar 0,739% ; 0,097% ; dan 0,102% (Tabel  
I).

Pada uji KLT senyawa flavonoid didapatkan hasil positif mengandung flavonoid pada FEA dan FnH. Hal ini ditandai dengan munculnya bercak berwarna biru dan merah setelah dielusi menggunakan eluen campuran n-heksan : etil asetat (7:3) dan diamati di bawah UV 366 nm terlihat 6 bercak pada FEA dan 3 bercak pada FnH (Gambar 1). Menurut Flavonoid akan berfluoresensi menjadi kuning, biru, atau hijau di bawah UV 366<sup>17</sup>. Warna merah hingga merah lembayung yang timbul menandakan adanya senyawa flavanon, flavonol, flavanonol, dan dihidroflavonol<sup>18</sup>.



Gambar 1. Profil KLT senyawa hasil fraksinasi pada fase diam silika gel F254; fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3); dan penampak bercak  $AlCl_3$  10 % dalam etanol  
Keterangan :

(FAR): Fraksi air residu, (FEA): Fraksi etil asetat, (FnH): Fraksi n-heksan, (a) Pada UV 366 nm dan (b) Pada UV 366 nm dengan penampak bercak  $AlCl_3$  10%

Bercak FEA<sub>2</sub>: Rf = 0,652; bercak FEA<sub>5</sub>: Rf = 0,437; bercak FEA<sub>6</sub>: Rf = 0,312;

bercak FEA<sub>7</sub>: Rf = 0,250; bercak FEA<sub>8</sub>: Rf = 0,187; bercak FEA<sub>9</sub>: Rf = 0,125

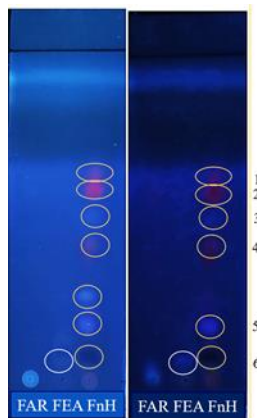
Bercak FnH<sub>1</sub>: Rf = 0,687; bercak FnH<sub>3</sub>: Rf = 0,625; bercak FnH<sub>4</sub>: Rf = 0,562

Setelah disemprot menggunakan  $AlCl_3$  10% dihasilkan bercak tampak lebih terang dan lebih pekat. Penampak bercak  $AlCl_3$  berperan dalam pembentukan kompleks yang stabil terhadap asam dengan gugus keton pada C-4 dan dengan gugus hidroksil pada C-3 ataupun C-5 pada flavon dan

flavonol. Adapun fraksi air residu tidak positif mengandung flavonoid karena tidak adanya bercak sebelum dan setelah disemprot dengan penampak bercak  $AlCl_3$  10% yang diamati di bawah UV 366<sup>19</sup>.

Pada FEA memiliki banyak bercak karena etil asetat dapat melarutkan aglikon flavonoid<sup>20</sup>. Etil asetat merupakan senyawa yang bersifat semipolar, sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat semipolar dari aglikon flavonoid<sup>21</sup>. Contoh senyawa flavonoid yang semipolar yaitu isoflavon, flavanon, flavon termetilasi, dan flavonol<sup>22</sup>. Adapun n-heksan merupakan senyawa yang bersifat nonpolar. Kemungkinan senyawa yang terkandung dalam FnH, yaitu flavonoid nonpolar, seperti flavon, flavanon, isoflavon, dan flavanol<sup>23</sup>.

Pada uji KLT senyawa fenolik, didapatkan hasil positif mengandung fenolik pada FEA dan FnH. Hal ini ditandai dengan munculnya bercak berwarna biru dan merah setelah dielusi menggunakan eluen campuran n-heksan : etil asetat (4:1) dan diamati di bawah UV 366 nm terlihat 1 bercak pada FEA dan 6 bercak pada fraksi FnH. Setelah disemprot dengan penampak bercak  $FeCl_3$  10% dihasilkan bercak berwarna lebih pekat, di mana 1 bercak diduga tidak terlihat setelah disemprot karena bercak menjadi lebih gelap (Gambar 2). Penampak bercak  $FeCl_3$  akan menunjukkan warna biru kehitaman karena karena fenol mereduksi  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  ditandai dengan warna biru kehitaman (besi (III) hesasianoferrat<sup>18</sup>. Adapun FAR tidak mengandung fenolik karena tidak terbentuknya bercak sebelum dan setelah disemprot dengan penampak bercak Folin-ciocalteu maupun  $FeCl_3$  10% yang diamati di bawah UV 366.



Gambar 2. Profil KLT senyawa hasil fraksinasi pada fase diam silika gel GF254; fase gerak n-heksan : etil asetat (4:1); dan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  10%

Keterangan :

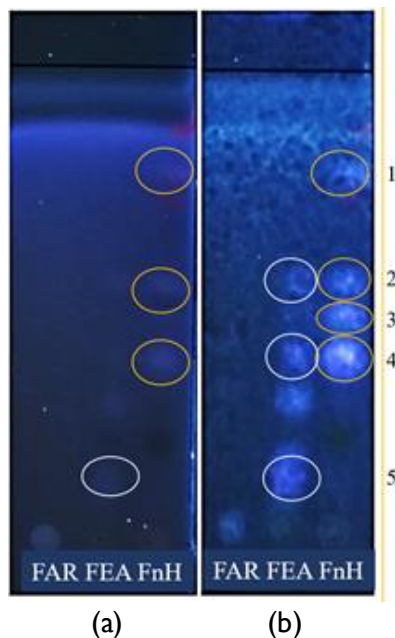
(FAR): Fraksi air residu, (FEA) : Fraksi etil asetat, (FnH) : Fraksi n-heksan, (a) Pada UV 366 nm, dan (b) Pada UV 366 nm dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  10%.

Bercak FEA<sub>6</sub>:  $R_f = 0,031$

Bercak FnH<sub>1</sub>:  $R_f = 0,625$ ; bercak FnH<sub>2</sub>:  $R_f = 0,562$ ; bercak FnH<sub>3</sub>:  $R_f = 0,437$ ; bercak FnH<sub>4</sub>:  $R_f = 0,250$ ; bercak FnH<sub>5</sub>:  $R_f = 0,125$ ; bercak FnH<sub>6</sub>:  $R_f = 0,062$

Pada uji KLT senyawa saponin, didapatkan hasil positif mengandung saponin pada FEA dan FnH. Hal ini ditandai dengan munculnya bercak berwarna violet setelah dielus menggunakan eluen campuran n-heksan : etil asetat (4:1) dan diamati di bawah UV 366 nm terlihat 3 bercak pada FEA dan 3 bercak pada FnH (Gambar 3). Setelah disemprot dengan penampak bercak Liebermann-Burchard dihasilkan bercak berwarna lebih terang. Hasil positif saponin terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau violet, sedangkan saponin steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau biru. Jadi, kemungkinan saponin yang terkandung dalam FEA dan FnH adalah saponin terpenoid<sup>24</sup>.

Liebermann-Burchard menyebabkan reaksi asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. sehingga terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya yang mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation ini menyebabkan adisi elektrofilik yang diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian, gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, sehingga senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya warna merah-ungu<sup>25</sup>



Gambar 3. Profil KLT senyawa hasil fraksinasi pada fase diam silika gel GF254; fase gerak n-heksan : etil asetat (4:1); dan penampak bercak Liebermann-Burchard

Keterangan :

(FAR): Fraksi air residu, (FEA): Fraksi etil asetat, (FnH): Fraksi n-heksan, (a) Pada UV 366 nm dan (b) Pada UV 366 nm dengan penampak bercak Liebermann-Burchard

Bercak FEA<sub>2</sub>:  $R_f = 0,625$ ; bercak FEA<sub>4</sub>:  $R_f = 0,437$ ; bercak FEA<sub>5</sub>:  $R_f = 0,187$

Bercak FnH<sub>1</sub>:  $R_f = 0,812$ ; bercak FnH<sub>2</sub>:  $R_f = 0,625$ ; bercak FnH<sub>3</sub>:  $R_f = 0,500$ ; bercak FnH<sub>4</sub>:  $R_f = 0,437$



**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi ekstrak metanol ashitaba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

NFraksi i	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)	Aktivitas Antibakteri
FAR	2,5	0 <sup>a</sup>	Tidak ada
	5	0 <sup>a</sup>	Tidak ada
	10	0 <sup>a</sup>	Tidak ada
FEA	2,5	7,76±0,56 <sup>*#</sup>	Sedang
	5	8,6±0 <sup>*#</sup>	Sedang
	10	16,75±1,06 <sup>*#c</sup>	Kuat
FnH	2,5	12,9±0,49 <sup>*#</sup>	Kuat
	5	16,2±8,19 <sup>*#a</sup>	Kuat
Kontrol Negatif	10	12,83±0,58 <sup>*#b</sup>	Kuat
		0	Tidak ada
Kontrol Positif		20,99±0,35	Sangat kuat

Keterangan: Diameter zona hambat adalah rerata ± SD (n-3), FAR: fraksi air residu, FEA: fraksi etil asetat, FnH: fraksi n-heksan, \*: p<0,05 terhadap kontrol positif, #: p<0,05 terhadap kontrol negatif, a: p<0,05 terhadap FnH 2,5%, b: p>0,05 terhadap FnH 2,5%, dan c: p>0,05 terhadap FnH 5%.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Prinsip metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri akan berdifusi ke kertas cakram membentuk zona bening di sekitar kertas cakram yang menunjukkan zona hambat bakteri. Uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dilakukan sebanyak 11 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif berupa metanol dan DMSO 10%, kelompok positif berupa kloramfenikol 0,1%, serta kelompok uji berupa FAR, FEA, dan FnH ekstrak metanol ashitaba (*Angelica keiskei*) dengan konsentrasi masing-masing 2,5%, 5%, dan 10%.

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan salah satu antibiotik spektrum luas yang efektif baik terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram<sup>26</sup>. Mekanisme kloramfenikol bekerja dengan menghambat sintesis protein pada bakteri mirip dengan mekanisme antibakteri flavonoid dan fenolik<sup>27</sup>.

Pada Tabel 3 didapatkan hasil bahwa perlakuan pada FEA dan FnH dengan berbagai konsentrasi memiliki zona hambat terhadap *S. aureus*, sedangkan perlakuan pada FAR tidak memiliki zona hambat terhadap *S. aureus*. Dari hasil rerata diameter zona hambat pada perlakuan FEA terlihat semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi pula diameter zona hambat yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi, kadar senyawa yang terkandung di dalamnya juga semakin tinggi, sehingga lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sementara itu, pada perlakuan FnH terlihat diameter zona hambat tidak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi yang diberikan<sup>28</sup>. Hal ini dikarenakan n-heksan bersifat nonpolar, sehingga fraksi n-heksan tidak dapat larut sempurna dengan pelarut metanol yang bersifat polar. Diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Hal ini mungkin terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media





agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda<sup>29</sup>. Sementara itu, zona hambat tertinggi ditunjukkan oleh kontrol positif kloramfenikol dengan diameter rata-rata  $20,99 \pm 0,35$  mm dengan aktivitas antibakteri sangat kuat, sehingga kloramfenikol dapat dikatakan sensitif<sup>30</sup>.

Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* FEA dan FnH dengan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% memiliki zona hambat karena pada uji KLT positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri. Pada FEA diperoleh zona hambat tertinggi pada konsentrasi 10% dengan diameter rata-rata  $16,75 \pm 1,06$  mm (aktivitas antibakteri kuat), sedangkan pada FnH diperoleh zona hambat tertinggi pada konsentrasi 5% dengan diameter rata-rata  $16,2 \pm 8,19$  mm (aktivitas antibakteri kuat). Namun, pada FAR tidak memiliki zona hambat, sehingga dapat dikatakan FAR tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Hal ini juga sesuai dengan hasil uji KLT, bahwa FAR tidak positif mengandung flavonoid, fenolik, dan saponin.

Zona hambat FEA meningkat seiring meningkatnya konsentrasi yang diberikan. Akan tetapi, tidak melebihi zona hambat kontrol positif kloramfenikol. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan, kemungkinan ashitaba bersifat bakteriostatik. Selanjutnya, berdasarkan pengamatan yang dilakukan setelah 24 jam, bakteri dapat tumbuh kembali di area zona bening. Sifat bakteriostatik dapat dilihat dari penurunan diameter zona hambat<sup>31</sup>.

Kloramfenikol memiliki kekurangan, yaitu dapat menyebabkan beberapa efek samping yang serius pada manusia seperti reaksi alergi, gangguan saluran pencernaan, gangguan sumsum tulang, dan sindrom abu-abu pada bayi yang baru lahir. Efek yang paling berbahaya dan berpotensi menyebabkan kematian adalah anemia aplastik<sup>32</sup>.

Hasil uji statistika *Mann-Whitney* menunjukkan kontrol negatif berbeda bermakna terhadap kontrol positif, FEA, dan FnH ( $p < 0,05$ ). Namun, kontrol negatif tidak berbeda bermakna dengan FAR ( $p > 0,05$ ). Hal ini berarti FAR tidak

memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan FEA dan FnH memiliki aktivitas antibakteri. Uji statistika selanjutnya, kontrol positif berbeda bermakna terhadap semua kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Jadi, diketahui bahwa kontrol positif memiliki penghambatan antibakteri yang paling baik. Kemudian, berdasarkan data uji statistik tersebut didapatkan hasil FEA 10% tidak berbeda bermakna terhadap FnH 5% ( $p > 0,05$ ). Hal ini berarti fraksi yang lebih potensial sebagai antibakteri adalah fraksi dengan konsentrasi lebih kecil (FnH 5%).

Hasil uji statistika *Mann-Whitney* juga menunjukkan FnH 2,5% tidak berbeda bermakna terhadap FnH 10% ( $p > 0,05$ ). Jadi, diketahui fraksi yang lebih potensial FnH 2,5%. Jika dilihat aktivitas penghambatan bakteri *S. aureus* antara FnH 2,5% dan FnH 5% menunjukkan berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ), maka dapat diambil kesimpulan bahwa FnH 5% yang memiliki penghambatan paling tinggi yang lebih potensial dikembangkan sebagai antibakteri.

Ashitaba tidak memiliki toksisitas, dilihat dari pengujian ekstrak etanol daun ashitaba dengan dosis 125-1000 mg/kgBB mencit tidak menyebabkan nekrosis pada semua kelompok perlakuan<sup>33</sup>. Fraksi ashitaba juga tidak menyebabkan iritasi kulit akut dan fototoksitas pada kelinci dengan pemberian 100 mg/dosis<sup>34</sup>.

Dengan demikian, ashitaba dapat dijadikan alternatif pengobatan antibakteri yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat pada fraksi etil asetat (FEA) dan n-heksan (FnH). Hal ini berkorelasi dengan hasil identifikasi senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin menggunakan KLT. Berdasarkan analisis uji statistika *Mann-Whitney*, fraksi yang paling potensial untuk dikembangkan sebagai antibakteri adalah fraksi n-heksan konsentrasi 5%.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, dapat diperoleh bahwa fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan ekstrak metanol ashitaba (*Angelica keiskei*) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*, serta fraksi n-heksan konsentrasi 5% paling potensial untuk dikembangkan sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Hasan MN, Bera A, Maji TK, Mukherjee D, & Pal SK. Functionalized nano-MOF for NIR induced bacterial remediation: A combined spectroscopic and computational study. *Inorganica Chimica Acta*. 2020;p. 120733.
2. Guo S. & DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*. 2009;89(3),p. 219-29.
3. Rianti EDD., Tania POA., & Listyawati AF. Kuat medan listrik AC dalam menghambat pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*. 2020;11(1),p. 79-88.
4. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, & Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020;10,p. 107.
5. Atwazzah. Uji potensi antimikroba ekstrak metanol daun kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.). Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Mataram. 2018.
6. Wirasisya DG, Hajrin W. & Muliarsari H. Aktivitas antibakteri ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kedokteran Unram*. 2018;7(2),p. 16-19.
7. Umami R. Variasi konsentrasi ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi: Bioscientist*. 2017;5(2),p. 59.
8. Juliantoni Y & Wirasisya DG. Optimasi formula obat kumur ekstrak herba ashitaba (*Angelica keiskei*) sebagai antibakteri karies gigi. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2018;6(1),p. 40-44.
9. Wardani AK, Fitriana Y, & Malfadinata S. Uji aktivitas antibakteri penyebab jerawat *Staphylococcus epidermidis* menggunakan ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*). *Lambung farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2010; 1(1), p. 14-18.
10. Affandy F, Wirasisya DG, & Hanifa, NI. Skrining fitokimia pada tanaman penyembuh luka di Lombok Timur. *Sasambo Journal of Pharmacy*. 2021;2(1),p. 1-6.
11. Siregar C. Teknologi farmasi sediaan tablet: Dasar-dasar praktis. Jakarta: EGC. 2010.
12. Nasution H & Rahmah M. Pengujian antiradikal bebas difenilpikril hidrazil (DPPH) ekstrak etil asetat daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk). *Jurnal Sains Dasar*. 2014;3(2),p. 137-141.
13. Rosamah E. Kromatografi lapis tipis: Metode sederhana dalam analisis kimia tumbuhan berkayu. Samarinda: Mulawarman University Press. 2019.
14. Majid A. & Nikmah. Identifikasi senyawa antibakteri pada ekstrak akar herba *Acalypha indica* L. asal Kota Kupang. *CHM-K Applied Scientifics Journal*. 2020;3(3),p. 87-90.
15. Maulana AR, Triatmoko B, & Hidayat MA. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun waru gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Pustaka Kesehatan*. 2021;9(1), 48-53.
16. Widyawati PS. Aktivitas antioksidan ekstrak metanolik daun beluntas (*Pluchea indica* Less) dan fraksinya serta kemampuan mencegah warmed over flavor pada daging itik yang telah dipanaskan. [Tesis]. Program Pasca Sarjana. Bogor: IPB. 2011.
17. Harborne JB. Metode fitokimia edisi ke-2. Bandung ITB. 1987.
18. Hanani E. Analisis fitokimia. Jakarta: EGC. 2015.
19. Bag G., Devi P, Bhaigyabati T. Assesment of total flavonoid content and antioxidant activity od methanolic rhizome. *Int. J. Pharm. Sci*. 2014;30(1),p. 154-159.
20. Markham KR. Cara mengidentifikasi flavonoid terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB. 1988.
21. Harborne J. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, edisi keempat. Bandung: ITB Press. 2006.
22. Ferreira O & Pinho S. Solubility of flavonoids in pure solvents. *Ind. Eng. Res*. 2012;41,p. 6586- 6590.
23. Hendryani R, Lutfi M, & Hawa LC. Ekstraksi antioksidan daun sirih merah kering (*Piper croctatum*) dengan metode pra-perlakuan ultrasonic assisted extraction (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 2015;3(2),p. 33-38.
24. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, & Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011;1(1),p. 98-106.
25. Siadi K. Ekstrak bungkil biji jarak pagar *Jatropha curcas* sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. 2012 :35(1),p. 77-83.
26. Maimunah S, Raihana & Silalahi YCE. Aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus*. 2020 :6 (2), p.129-138.
27. Biharee A, Sharma A, Kumar A, & Jaitak V. Fitoterapia antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia*. 2020;146,p. 104720. [CrossRef].
28. Sholichah E, Apriani R, Desnilasari D, & Karim MA. Produk samping kulit kopi arabika dan robusta sebagai sumber polifenol untuk antioksidan dan antibakteri. *Balai Besar Industri Hasil Perkebunan*. 2017;p.57-66.
29. Elifah E. Uji antibakteri fraksi ekstrak metanol daun senggani (*Melastoma candidum*, D.Don) terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* serta profil kromatografi lapis tipisnya. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret. 2010.
30. Andrews JM & Howe RA. Standardized disc susceptibility testing method (Version 100). *Jurnal Antimicrob Chemotherapy*. 2011;66(1),p. 2726-2757.
31. Anita A, Khotimah S, & Yanti AH. Aktivitas antibakteri ekstrak daun benalu jambu air (*Dendrothoe pentandra* (L.) Miq) terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Protobiont*. 2014;3(2),p. 268-272.
32. Thongchai W, Liawruangath B, Liawruangath S, & Greenway GM. A microflow chemiluminescence system for determination of chloramphenicol in honey with preconcentration using a molecularly imprinted polymer. *Talant*. 2010;82,p. 560-566.
33. Wiadnyana IMP, Budiasa K & Berata K. Histopatologi usus halus mencit pasca pemberian ekstrak etanol daun ashitaba. *Buletin Veteriner Udayana*, 2015;7(1),p. 73-79.
34. SH Lee. Evaluation of acute skin irritation and phototoxicity by aqueous and ethanol fractions of *Angelica keiskei*. *Experimental and therapeutic medicine*, 2013;5(1),p. 45-50.