



Uji Aktivitas Anti-Bakteri Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei*) Terhadap Bakteri *Acinetobacter Baumannii* dan *Klebsiella Pneumoniae*

Maretha Ezra Tabitha Sinaga^{1*}, Samuel Joshua Hamonangan Tua Rajagukguk², Suandy³

¹Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia

^{2,3}PUI Phyto Degenerative & Lifestyle Medicine, Universitas Prima Indonesia

Email: marethaezra@gmail.com^{1*}, dr.samuel.rajagukguk@gmail.com²,

suandy76@gmail.com³

Kata kunci:

Resistensi antibiotik, infeksi nosokomial, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*)

ABSTRAK

Masalah resistensi antibiotik yang semakin meningkat, terutama pada infeksi nosokomial, telah menjadi masalah kesehatan global yang signifikan. *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae* termasuk di antara patogen paling berbahaya yang berkontribusi pada resistensi ini, sehingga infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini sulit diobati. Penelitian ini menyelidiki ekstrak etanol Ashitaba (*Angelica keiskei*), tanaman obat yang dikenal memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri, sebagai agen antibakteri alternatif potensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri ekstrak etanol Ashitaba terhadap patogen resisten seperti *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Potensi antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) untuk mengukur diameter zona hambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae* pada berbagai konsentrasi ekstrak. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan berharga tentang potensi Ashitaba sebagai sumber alami agen antibakteri, menawarkan alternatif bagi antibiotik konvensional dalam mengobati infeksi bakteri resisten.

Keywords:

Antibiotic resistance, nosocomial infections, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, Ashitaba (*Angelica keiskei*)

ABSTRACT

The growing problem of antibiotic resistance, especially in nosocomial infections, has become a significant global health issue. *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* are among the most dangerous pathogens contributing to this resistance, making infections caused by these bacteria difficult to treat. This study investigates ethanol extracts of Ashitaba (*Angelica keiskei*), a medicinal plant known for its antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial properties, as a potential alternative antibacterial agent. The aim of this study is to evaluate the antibacterial effectiveness of Ashitaba ethanol extracts against resistant pathogens such as *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. Antibacterial potential was tested using the disk diffusion (Kirby-Bauer) method to determine the inhibition zone diameter of *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* at various extract concentrations. The results of this study are expected to offer helpful information regarding the potential of Ashitaba as a natural source of antibacterial agents, offering an alternative to conventional antibiotics in treating resistant bacterial infections.

PENDAHULUAN

Bakteri yang resisten terhadap antibiotik adalah masalah kesehatan global yang semakin serius. Salah satu kelompok bakteri yang berkontribusi terhadap peningkatan resistensi antibiotik adalah *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Kedua bakteri ini dikenal sebagai penyebab utama infeksi nosokomial yang sulit diobati, terutama pada pasien dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Resistensi tinggi terhadap banyak kelas antibiotik, seperti beta-laktam dan karbapenem, membuat infeksi yang disebabkan oleh kedua bakteri ini sangat sulit diobati dan meningkatkan morbiditas serta mortalitas. Karena itu, perlu mencari agen antibakteri lain yang efektif dalam mengatasi masalah resistensi ini (Kyriakidis et al., 2021; Karami-Zarandi et al., 2023).

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pengembangan agen antibakteri baru adalah penyelidikan senyawa aktif dari sumber makanan, seperti tanaman obat. Ashitaba (*Angelica keiskei*), anggota keluarga Apiaceae, dikenal memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk sifat antioksidan, anti-inflamasi, dan antibakteri. Menurut Halid dan Rahmawati (2023), tanaman mengandung zat bioaktif seperti flavonoid, kalkon, dan kumarin yang telah terbukti memiliki aktivitas biologis yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Namun, penelitian tentang efektivitas ekstrak etanol Ashitaba terhadap bakteri patogen resisten, khususnya *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*, masih kurang dan perlu penelitian lebih lanjut.

Untuk mengidentifikasi potensi antibakteri ekstrak etanol Ashitaba, diperlukan metode yang dapat menilai efektivitasnya secara kuantitatif. Salah satu metode yang sering digunakan adalah uji aktivitas antibakteri, seperti metode difusi cakram atau dilusi, yang dapat mengurangi area tempat bakteri tumbuh sebagai akibat dari paparan senyawa aktif (Hossain, 2024).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menilai aktivitas antibakteri Ashitaba terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Diharapkan hasil penelitian ini akan memberikan wawasan tentang potensi ekstrak etanol Ashitaba sebagai agen antimikroba dan mendukung terapi alternatif untuk infeksi bakteri resisten.

Seiring meningkatnya masalah resistensi antibiotik, penelitian tentang agen antibakteri menjadi semakin penting. Diharapkan penggunaan ekstrak tanaman sebagai terapi alternatif dapat memberikan solusi terhadap masalah resistensi antibiotik konvensional. Jika ekstrak etanol Ashitaba efektif dalam menghambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*, penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian di masa depan untuk mengembangkan formulasi obat yang lebih efektif dan aman berdasarkan bahan alam.

Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, penelitian ini merumuskan permasalahan sebagai berikut:

- Apakah ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*?
- Sejauh mana ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*?

Maksud dan Tujuan Penelitian

Mengacu pada rumusan masalah di atas, penelitian ini memiliki maksud dan tujuan sebagai berikut:

- Mengetahui aktivitas anti-bakteri dari ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*.
- Menentukan efektivitas ekstrak etanol daun Ashitaba pada berbagai konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Manfaat Penelitian

Secara teoretis, penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dalam bidang mikrobiologi dan farmakologi, khususnya terkait potensi antibakteri dari ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). Hasil penelitian ini dapat memperkaya literatur mengenai aktivitas antibakteri bahan alam terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu, penelitian ini dapat menjadi referensi bagi penelitian lanjutan yang bertujuan mengembangkan agen antibakteri berbasis bahan alami sebagai alternatif dalam menghadapi permasalahan resistensi antibiotik.

Secara praktis, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar dalam eksplorasi dan pengembangan obat herbal berbasis ekstrak tanaman untuk mengatasi infeksi bakteri yang resistan terhadap antibiotik. Jika ekstrak etanol daun Ashitaba terbukti memiliki efektivitas antibakteri yang signifikan, maka tanaman ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku dalam formulasi sediaan farmasi yang lebih aman dan ramah lingkungan. Selain itu, penelitian ini juga dapat memberikan informasi bagi tenaga medis dan peneliti dalam mencari solusi alternatif terhadap keterbatasan antibiotik konvensional dalam mengatasi infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Desain yang diterapkan adalah *post-test only control group design*, yaitu ekstrak diuji pada bakteri uji dalam variasi konsentrasi, kemudian zona hambat pertumbuhan bakteri diamati sebagai indikator efektivitas antibakteri.. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap utama, yaitu: preparasi sampel (ekstraksi daun Ashitaba menggunakan metode ekstraksi etanol), uji aktivitas antibakteri (menggunakan metode difusi cakram/Kirby-Bauer untuk mengukur diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak, dan analisis data (data hasil uji antibakteri dianalisis untuk menentukan efektivitas ekstrak yang berperan dalam aktivitas antibakteri).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler Terpadu Universitas Prima Indonesia (UNPRI) pada bulan Agustus tahun 2025.

Populasi dan Sampel

Populasi Sampel

Populasi penelitian ini adalah daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) yang dikumpulkan dari Desa Sembalun, Nusa Tenggara Barat, Indonesia.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yaitu ekstrak daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%.

Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan

Pada penelitian ini digunakan sampel berupa daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). Penetapan jumlah replikasi sampel dalam penelitian ini didasarkan pada rumus Federer: $(t - 1)(r - 1) \geq 15$, dimana t = jumlah perlakuan dan r = jumlah replikasi. Penelitian ini menggunakan lima macam konsentrasi dari ekstrak etanol daun Ashitaba dan dua kontrol bakteri maka didapatkan jumlah pengulangan: $(7-1)(r-1) \geq 15$, sehingga $6r - 6 \geq 15$, maka $6r \geq 21$, dan $r \geq 3,5 \approx 4$. Mengacu pada rumusan di atas, jumlah pengulangan minimal dalam penelitian ini adalah tiga kali. Selanjutnya, peneliti menetapkan empat kali pengulangan untuk meningkatkan ketepatan hasil.

Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel bebas merupakan variabel yang variasinya mempengaruhi variabel terikat. Yang termasuk dalam variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol 70% daun

Ashitaba (*Angelica keiskei*) yang digunakan sebesar 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Variabel terikat merupakan suatu variabel yang di pengaruhi oleh adanya variabel bebas. Yang termasuk variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat.

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel Daun

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) yang diambil dari Desa Sembalun, Nusa Tenggara Barat, Indonesia.

Pengolahan Sampel

Daun Ashitaba yang telah dipetik dibersihkan, dipisahkan dari kotoran yang menempel padanya, dicuci dengan air mengalir, dan kemudian diangin-anginkan di tempat yang tidak terkena langsung sinar matahari untuk mencegah senyawa aktifnya terurai selama 2-3 hari. Sampel siap untuk diekstraksi setelah kering dan diserbukkan.

Ekstraksi Sampel

Ekstrak daun Ashitaba dibuat melalui metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Proses maserasi diawali dengan memasukkan 500 gram serbuk daun Ashitaba ke dalam bejana maserasi. Selanjutnya, serbuk tersebut direndam menggunakan pelarut etanol 70% dalam wadah tertutup dan dilakukan pengadukan secara berkala (Rahmawati et al. 2024). Hasil dari maserasi dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan corong, hasil dari penyaringan dikumpulkan dalam labu erlenmeyer. Maserat yang telah terkumpul selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak semi kental.

Sterilisasi Alat

Peralatan yang diperlukan selanjutnya dicuci, kemudian dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka sebelum dibungkus menggunakan kertas tahan panas. Selain itu, tabung reaksi dan gelas Erlenmeyer disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat yang terbuat dari kaca dibersihkan selama dua jam dalam oven pada suhu 140°C.

Pembuatan Media dan Peremajaan Kultur Bakteri

Untuk membuat media Mueller Hinton Agar (MHA), bubuk MHA dilarutkan dengan air suling steril sesuai dengan prosedur bakteriologi biasa. Timbang 19–20 gram bubuk MHA dan campurkan dengan 500 mL hingga 1 L aquadest steril. Kemudian, aduk hingga larut sempurna. Larutan media ditutup dengan aluminium foil dan dibersihkan selama 15 menit dalam autoklaf pada suhu 121°C. Kultur murni *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae* diremajakan dengan metode inokulasi zigzag pada media MHA.

Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebelum pengujian difusi cakram, isolat murni *A. baumannii* dan *K. pneumoniae* pertama kali diperoleh dari media padat, seperti agar Mueller-Hinton/MHA, yang bertahan selama 18 hingga 24 jam. 3–5 koloni bakteri diambil dan disuspensikan dalam pelarut fisiologis steril (NaCl 0,85–0,9%). Kekentalan suspensi bakteri menjadi 0,5 McFarland (sekitar $1,5 \times 10^8$ CFU/mL), yang setara dengan absorbansi (OD) 0,08–0,10 pada panjang gelombang 600 nm.

Pembuatan Larutan Ekstrak

Dalam penelitian ini, metode Cakram Kirby-Bauer digunakan, yang merupakan teknik yang sederhana dan mudah digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroba dengan melihat zona hambat yang terbentuk pada uji cakram. Ekstrak kental yang didapatkan merupakan ekstrak etanolik daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). Pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun Ashitaba dengan konsentrasi sebesar 10%, 20%, 30%, 40%, 50% volume yang diinginkan yaitu 5 mL. Pembuatan konsentrasi ekstrak dengan cara menimbang ekstrak kental daun Ashitaba sejumlah 0,71 mL/g, 1,4 mL/g, 2,1 mL/g, 2,8 mL/g, dan 3,5 mL/g. Selanjutnya, masing-masing konsentrasi ekstrak daun Ashitaba yang sudah dibuat dilarutkan menggunakan pelarut DMSO (Dimetil sulfoksida).

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kirby Bauer

Uji antibakteri dilaksanakan dengan metode Kirby Bauer. Pertama, bakteri dimasukkan secara merata ke dalam tabung Mueller Hinton Agar (MHA) secara aseptis dengan cotton swab. Kemudian, selama 15 menit, di inkubasi pada suhu 37 derajat Celcius. Selanjutnya, rendam kertas cakram steril dalam larutan ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% selama 1 menit. Setelah itu, diletakkan pada permukaan. Kemudian, sebagai kontrol negatif kedua bakteri, rendam kertas cakram dalam larutan DMSO selama satu menit pada permukaan media. Kontrol positif untuk *A. baumannii* menggunakan cakram doxycycline 30 mcg dan untuk *K. pneumoniae* menggunakan cakram ciprofloxacin 5 mcg, kemudian simpan selama 24 jam di suhu 37°C.

Pengamatan Zona Hambat

Aktivitas antibakteri diamati setelah bakteri diinkubasi selama 1×24 jam. Zona hambat kemudian diukur sebagai indikator untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap bahan uji. Zona hambat ditetapkan berdasarkan terbentuknya atau tidak terbentuknya zona bening di sekitar bahan uji. Hasil dinyatakan positif bila terdapat zona bening yang terbentuk di sekeliling disk. Pengukuran dilakukan dengan jangka sorong.

Rancangan Analisis dan Uji Hipotesis

Dalam penelitian ini, analisis data dilakukan untuk mengukur dan membandingkan efektivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun Ashitaba. Data yang diperoleh berupa ukuran zona hambat (dalam mm). Uji hipotesis dilakukan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) dan kelompok kontrol (kontrol positif: antibiotik standar; kontrol negatif: pelarut). Metode analisis yang digunakan meliputi: analisis deskriptif untuk menggambarkan hasil uji aktivitas antibakteri dalam bentuk tabel dan grafik, dan uji statistik menggunakan uji ANOVA satu arah untuk membandingkan efektivitas antibakteri antara kelompok perlakuan dan kontrol (jika data terdistribusi normal), atau uji Kruskal-Wallis sebagai alternatif non-parametrik (jika data tidak terdistribusi normal). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, dilakukan uji post-hoc Tukey atau uji Mann-Whitney jika data non-parametrik. Interpretasi hasil: jika terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$), maka hipotesis alternatif diterima dan ekstrak dianggap memiliki aktivitas antibakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Anti-Bakteri dari Ekstrak Etanol Daun Ashitaba

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran (well diffusion method) untuk mengamati pembentukan zona hambat di sekitar sumur yang berisi ekstrak pada berbagai konsentrasi. Terbentuknya zona hambat merefleksikan efektivitas ekstrak dalam menekan pertumbuhan bakteri uji. Diameter zona hambat yang semakin luas mengindikasikan daya antibakteri ekstrak yang semakin kuat.

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada diameter zona hambat yang dihasilkan dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun Ashitaba. Nilai rerata daya hambat aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* disajikan pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Rerata Daya Hambat Aktivitas Antibakteri *Klebsiella pneumoniae*

Konsentrasi	P1	P2	P3	P4	Rerata	Kriteria
K (-)	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas

Uji Aktivitas Anti-Bakteri Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica Keiskei*) Terhadap Bakteri *Acinetobacter Baumannii* dan *Klebsiella Pneumoniae*

Konsentrasi	P1	P2	P3	P4	Rerata	Kriteria
K (+)	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5	Sangat Kuat
10%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
20%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
30%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
40%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
50%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas

Berdasarkan Tabel 1, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Ashitaba pada seluruh konsentrasi yang diuji, yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*, yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat (0 mm) pada semua ulangan. Kontrol negatif (K-) juga tidak menghasilkan zona hambat, sesuai fungsinya sebagai pembanding tanpa zat antibakteri. Sebaliknya, kontrol positif (K+), yang menggunakan antibiotik standar, menunjukkan daya hambat sangat kuat dengan diameter zona hambat sebesar 21,5 mm. Perbedaan yang mencolok ini menegaskan bahwa ekstrak daun Ashitaba tidak mampu menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10–50%.

Tabel 2. Rerata Daya Hambat Aktivitas Antibakteri *Acinetobacter baumannii*

Konsentrasi	P1	P2	P3	P4	Rerata	Kriteria
K (-)	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
K (+)	26	26	26	26	26	Sangat Kuat
10%	6	0	5,5	3	3,625	Lemah
20%	0	0	0	3	0,75	Lemah
30%	0	0	0	2	0,5	Lemah
40%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas
50%	0	0	0	0	0	Tidak ada aktivitas

Berdasarkan Tabel 2, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Ashitaba hanya memberikan aktivitas antibakteri yang sangat terbatas terhadap *Acinetobacter baumannii*. Pada konsentrasi 10% terlihat adanya zona hambat dengan rerata 3,625 mm yang masih termasuk kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi 20% dan 30% rerata zona hambat semakin kecil, yaitu 0,75 mm dan 0,5 mm, yang juga berada pada kategori lemah. Namun, pada konsentrasi 40% dan 50% ekstrak tidak menunjukkan aktivitas antibakteri sama sekali, ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat. Kontrol negatif (K-) tidak menimbulkan zona hambat,

sesuai dengan fungsinya sebagai pembanding tanpa zat aktif, sedangkan kontrol positif (K+) menghasilkan zona hambat sebesar 26 mm yang dikategorikan sangat kuat.

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ashitaba

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi tidak berdistribusi normal, yang terlihat dari nilai signifikansi (p -value) $< 0,05$. Kondisi ini menandakan bahwa asumsi normalitas pada uji parametrik seperti ANOVA tidak terpenuhi. Dengan demikian, tahap analisis berikutnya dilakukan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Uji ini merupakan metode nonparametrik untuk membandingkan lebih dari dua kelompok data, khususnya ketika data tidak berdistribusi normal atau varians antar kelompok tidak homogen.

Hasil analisis untuk uji antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil Uji Kruskal-Wallis Antibakteri *Klebsiella pneumoniae*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Statistik (H)	Nilai p (Sig. 5%)
Kelompok (r)	3	15,00	0,008

Berdasarkan hasil uji Kruskal–Wallis pada Tabel 3, diperoleh nilai H sebesar 15,00 dengan nilai signifikansi 0,002, yang berarti nilai dari $p < 0,05$. Temuan ini mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara variasi konsentrasi ekstrak etanol daun Ashitaba dalam memengaruhi pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Dengan demikian, perbedaan konsentrasi ekstrak memberikan pengaruh nyata terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Karena data tidak berdistribusi normal, maka analisis lanjutan dilakukan menggunakan uji Mann–Whitney untuk membandingkan dua kelompok secara berpasangan. Hasil uji Mann-Whitney pada Tabel 4 berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Mann-Whitney Beda Nyata Antibakteri *Klebsiella pneumoniae*

Pasangan Perbandingan	U	Z	Sig. (2-tailed)	Keterangan
K (-) vs K (+)	0,000	-2,646	0,008	Berbeda signifikan
K (-) vs 10%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 20%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 30%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 40%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 50%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan

Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney pada Tabel 4, diketahui bahwa hanya pasangan K(-) vs K(+) yang menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p = 0,008$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif (antibiotik standar) memberikan daya hambat yang jauh lebih besar dibandingkan kontrol negatif. Pada pasangan K(-) vs seluruh konsentrasi ekstrak (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%), nilai p yang dihasilkan adalah 1,000 ($p > 0,05$). Ini merujuk

bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara kontrol negatif dan masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun Ashitaba.

Tabel 5. Hasil Uji Kruskal-Wallis Antibakteri *Acinetobacter baumannii*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Statistik (H)	Nilai p (Sig. 5%)
Kelompok (r)	1	7,000	0,008

Berdasarkan hasil uji Kruskal–Wallis pada Tabel 5, diperoleh nilai statistik $H = 7,000$ dengan nilai signifikansi $p = 0,008$ ($p < 0,05$). Ini merujuk pada perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun Ashitaba dalam menghambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii*. Hasil uji Mann–Whitney disajikan pada Tabel 6 berikut:

Tabel 6. Hasil Uji Mann-Whitney Beda Nyata Antibakteri *Acinetobacter baumannii*

Pasangan Perbandingan	U	Z	Sig. (2-tailed)	Keterangan
K (-) vs K (+)	0,000	-2,646	0,008	Berbeda signifikan
K (-) vs 10%	2,000	-1,984	0,047	Berbeda signifikan
K (-) vs 20%	6,000	-1,000	0,317	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 30%	6,000	-1,000	0,317	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 40%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan
K (-) vs 50%	8,000	0,000	1,000	Tidak berbeda signifikan

Berdasarkan Tabel 6, hasil uji Mann–Whitney menunjukkan bahwa terdapat beberapa pasangan perlakuan yang berbeda secara signifikan. Pasangan K(-) vs K(+) memiliki nilai signifikansi 0,008 ($p < 0,05$), sehingga keduanya berbeda signifikan. Selanjutnya, pasangan K(-) vs 10% juga menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,047$ ($p < 0,05$). Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 10% sudah mampu memberikan efek penghambatan yang berbeda dibandingkan kontrol negatif, meskipun kategori aktivitasnya masih lemah. Untuk pasangan lainnya, yaitu K(-) vs 20%, K(-) vs 30%, K(-) vs 40%, dan K(-) vs 50%, nilai dari p seluruhnya lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), yang artinya tidak terdapat perbedaan signifikan antar kontrol negatif dan konsentrasi-konsentrasi tersebut.

Pembahasan

Aktivitas Anti-Bakteri dari Ekstrak Etanol Daun Ashitaba. Fenomena tidak munculnya aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan rendahnya aktivitas terhadap *Acinetobacter baumannii* dapat dijelaskan melalui karakteristik kedua bakteri Gram-negatif tersebut. Struktur dinding sel Gram-negatif memiliki lapisan lipopolisakarida yang tebal dan kuat, sehingga menjadi penghalang bagi difusi senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan kumarin yang terdapat dalam ekstrak Ashitaba. Hambatan permeabilitas ini membuat senyawa aktif tidak mampu mencapai target aksi di dalam sel bakteri, sehingga tidak dapat

menyebabkan kerusakan membran, gangguan metabolisme, atau kebocoran isi sel secara signifikan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Putri et al. (2021) yang melaporkan bahwa efektivitas senyawa flavonoid dari ekstrak tanaman lebih rendah terhadap bakteri Gram-negatif akibat lapisan membran luar yang sulit ditembus. Penelitian Kusuma dan Dewi (2022) juga melaporkan bahwa *Ashitaba* memiliki efektivitas yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram-positif dibandingkan Gram-negatif. Hal ini diduga karena struktur dinding sel Gram-positif lebih sederhana sehingga lebih mudah mengalami disrupsi. Selain itu, Rahmawati et al. (2020) melaporkan bahwa meskipun ekstrak *Angelica* sp. mengandung fenolik dan kumarin yang bersifat antibakteri, aktivitasnya terhadap bakteri Gram-negatif tetap lemah karena resistensinya yang tinggi.

Efektivitas ekstrak etanol daun *Ashitaba* dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney. Hasil dari uji Kruskal-Wallis pada *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan nilai $H = 15,00$ dengan signifikansi $0,008$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi. Namun, hasil uji lanjut Mann-Whitney memperlihatkan temuan yang lebih spesifik. Hanya pasangan K(-) vs K(+) yang menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p = 0,008$, membuktikan bahwa kontrol positif memberikan daya hambat yang jauh lebih besar dibandingkan kontrol negatif. Sementara itu, seluruh konsentrasi ekstrak (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan kontrol negatif, dengan nilai $p = 1,000$ ($p > 0,05$) untuk semua pasangan perbandingan.

Hasil yang berbeda ditemukan pada pengujian terhadap *Acinetobacter baumannii*. Berdasarkan uji Kruskal-Wallis, diperoleh nilai statistik $H = 7,000$ dengan nilai signifikansi $p = 0,008$ ($p < 0,05$), menghasilkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri ini. Hasil uji Mann-Whitney memberikan informasi yang lebih detail mengenai pasangan konsentrasi yang berbeda secara nyata. Pasangan K(-) vs K(+) memiliki nilai signifikansi $0,008$ ($p < 0,05$), mengkonfirmasi efektivitas kontrol positif. Yang menarik, pasangan K(-) vs 10% juga menunjukkan perbedaan signifikan dengan nilai $p = 0,047$ ($p < 0,05$), mengindikasikan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 10% sudah mampu memberikan efek penghambatan yang berbeda dibandingkan kontrol negatif terhadap *Acinetobacter baumannii*, meskipun aktivitasnya masih dalam kategori lemah.

Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang lemah terhadap *Klebsiella pneumoniae*, yang sejalan dengan beberapa penelitian lain terhadap bakteri gram negatif serupa. Dalam penelitian skrining aktivitas antibakteri, Qolbi dan Yuliani (2018) menguji ekstrak etanol 70% dari sepuluh daun tanaman terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan menemukan bahwa tidak semua ekstrak tanaman memperlihatkan aktivitas yang bermakna terhadap bakteri ini, mengindikasikan bahwa *K. pneumoniae* memiliki resistensi intrinsik yang tinggi terhadap berbagai ekstrak herbal. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, karena variasi kandungan senyawa bioaktif pada bahan tanaman yang dipengaruhi oleh lokasi tumbuh, usia tanaman, metode ekstraksi, serta tingkat resistensi isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian.

Hasil penelitian terhadap *Acinetobacter baumannii* yang menunjukkan aktivitas lemah pada konsentrasi rendah juga konsisten dengan temuan penelitian lain. Saputra et al. (2023) dalam penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak bawang putih dan bawang hitam siung tunggal terhadap *Acinetobacter baumannii* melaporkan bahwa ekstrak etanol bawang putih hanya menghasilkan zona hambat kategori sedang (7,5-9,8 mm) pada konsentrasi 50-100%, menunjukkan bahwa bakteri ini memerlukan konsentrasi tinggi untuk mencapai penghambatan yang memadai. Resistensi *Acinetobacter baumannii* terhadap agen antimikroba, termasuk ekstrak herbal, berkaitan erat dengan kemampuannya membentuk biofilm, memiliki sistem

pompa efluks yang efisien, dan struktur membran luar yang kompleks yang membatasi penetrasi senyawa antibakteri.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Ashitaba memiliki potensi antibakteri yang terbatas terhadap *Klebsiella pneumoniae*, namun menunjukkan aktivitas yang lebih menjanjikan terhadap *Acinetobacter baumannii*, khususnya pada konsentrasi 10%. Aktivitas yang lemah ini mengindikasikan bahwa mekanisme kerja ekstrak kemungkinan bersifat bakteriostatik ringan atau memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi dari yang diuji untuk mencapai efek penghambatan yang optimal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Uji Aktivitas Anti-Bakteri Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap Bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Klebsiella pneumoniae*, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Ashitaba tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* pada seluruh konsentrasi yang diuji (10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%), yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat (0 mm) pada semua ulangan, sama dengan kontrol negatif (K-). Kontrol positif (K+) menunjukkan daya hambat sangat kuat dengan zona hambat 21,5 mm. Ketidakefektifan ini dipengaruhi oleh dinding sel Gram-negatif *K. pneumoniae* yang kompleks dan resisten terhadap senyawa aktif dalam ekstrak. Untuk *Acinetobacter baumannii*, ekstrak hanya menunjukkan aktivitas terbatas pada konsentrasi 10% dengan zona hambat 3,625 mm (kategori lemah). Konsentrasi lebih tinggi justru menurun: 20% (0,75 mm), 30% (0,5 mm), sedangkan 40% dan 50% tidak menunjukkan aktivitas (0 mm). Kontrol positif menghasilkan zona hambat 26 mm dan kontrol negatif 0 mm. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai signifikansi $p = 0,008$ untuk *Klebsiella pneumoniae* dan $p = 0,008$ untuk *Acinetobacter baumannii*, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Namun, uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan bahwa untuk *K. pneumoniae*, tidak ada perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan seluruh konsentrasi ekstrak ($p = 1,000$ untuk semua pasangan), hanya K(-) vs K(+) yang berbeda signifikan ($p = 0,008$). Untuk *A. baumannii*, hanya konsentrasi 10% yang menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif ($p = 0,047$), sedangkan konsentrasi lainnya (20%-50%) tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

REFERENSI

- Andiri, M., Mulyaningsih, R., Naldi, Y., Wahdini, M., Risman, M., & Afifah, H. (2025). Perbandingan efektivitas ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linnaeus) dan ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *Tunas Medika: Jurnal Kedokteran & Kesehatan*, 11. <https://doi.org/10.33603/tumed.v11i1.10048>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay: I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665.
- Donadio, G., Mensitieri, F., Santoro, V., Parisi, V., Bellone, M. L., De Tommasi, N., & Dal Piaz, F. (2021). Interactions with microbial proteins driving the antibacterial activity of flavonoids. *Pharmaceutics*, 13(5), 660.
- Halid, M., & Rahmawati, S. (2023). Effect of Ashitaba (*Angelica keiskei*) in lowering blood glucose levels in mice (*Mus musculus* L.). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 7(2), 6–13.
- Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 14(2), 97–115.

- Huang, W., Wang, Y., Tian, W., Cui, X., Tu, P., Li, J., Shi, S., & Liu, X. (2022). Biosynthesis investigations of terpenoid, alkaloid, and flavonoid antimicrobial agents derived from medicinal plants. *Antibiotics*, 11(10), 1380. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101380>
- Karami-Zarandi, M., Rahdar, H. A., Esmaili, H., & Ranjbar, R. (2023). *Klebsiella pneumoniae*: An update on antibiotic resistance mechanisms. *Future Microbiology*, 18(1), 65–81.
- Khoiriyah, R. A., Marliyati, S. A., Ekayanti, I., & Handharyan, E. (2024). Evaluation of Ashitaba (*Angelica keiskei*) crackers formulations as α -glucosidase enzyme inhibitors. *National Nutrition Journal (Media Gizi Indonesia)*, 19(2).
- Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3), 373.
- Li, J.-L., Gao, L.-X., Meng, F.-W., Tang, C.-L., Zhang, R.-J., Li, J.-Y., Luo, C., Li, J., & Zhao, W.-M. (2015). PTP1B inhibitors from stems of *Angelica keiskei* (Ashitaba). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(10), 2028–2032. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.04.003>
- Li, Y., Kumar, S., Zhang, L., Wu, H., & Wu, H. (2023). Characteristics of antibiotic resistance mechanisms and genes of *Klebsiella pneumoniae*. *Open Medicine*, 18(1), 20230707.
- Rahmawati, R., Nazabullah, A., Zain, D. N., & Salasanti, C. D. (2024). Uji aktivitas ekstrak etanol daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) sebagai nefroprotector terhadap tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin. *Journal of Pharmacopolium*, 7(1).
- Rangel, K., & De-Simone, S. G. (2024). Treatment and management of *Acinetobacter pneumonia*: Lessons learned from recent world event. *Infection and Drug Resistance*, 507–529.
- Raza, S., Matuła, K., Karoń, S., & Paczesny, J. (2021). Resistance and adaptation of bacteria to non-antibiotic antibacterial agents: Physical stressors, nanoparticles, and bacteriophages. *Antibiotics*, 10(4), 435.
- Rodríguez-Melcón, C., Alonso-Calleja, C., García-Fernández, C., Carballo, J., & Capita, R. (2021). Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for twelve antimicrobials (biocides and antibiotics) in eight strains of *Listeria monocytogenes*. *Biology*, 11(1), 46.



© 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY SA) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).