



Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Transparan Putik Saffron (*Crocus sativus* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Emmy Wiriandini¹, Gabena Indrayani Dalimunthe², Minda Sari Lubis³,
Haris Munandar Nasution⁴

^{1,2,3,4}Program Studi Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-washliyah

Korespondensi penulis: emmywiriandini.160700@gmail.com¹

Abstract. *Transparent soap is a variation of solid bar soap that not only functions to clean dirt but also has a scrubbing function. Transparent solid soap is one of the soap innovations that has become an attractive soap. Saffron also has antibacterial properties due to the presence of flavonoids, tannins and saponins. Flavonoids are compounds that can have anti-inflammatory, anticancer and antioxidant effects, because they can inhibit the formation of free radicals. It has been used traditionally to treat various ailments including depression, cardiovascular disease, menstrual disorders, asthma, insomnia, digestive ailments, bone pain and several other ailments. Saffron pistil juice is made by dissolving in CO₂-free distilled water. Phytochemical screening was carried out on saffron pistil extract. Saffron pistil juice is made in various soap formulas, namely formula I, formula II and formula III. The positive control used was chloramphenicol antibiotic and the negative control was DMSO. There were several tests carried out on Saffron pistil extract in addition to phytochemical screening, namely antibacterial testing on transparent soap with Saffron pistil extract as a soap additive. The results of phytochemical screening showed that the pistil of saffron (*Crocus sativus* L) contained secondary metabolites, namely: flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins. And for the results of the antibacterial activity research also showed that the Saffron pistil extract against transparent soap which can be used as a soap additive, the antibacterial results had a strong inhibition at the average value of formula III which was 20.5 and formula II was 18.4 mm and formula I 16.1 mm, against *Staphylococcus aureus* bacteria.*

Keywords: *Saffron (*Crocus sativus* L) pistil, Transparent Soap, Phytochemical Screening, Antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*.*

Abstrak. Sabun transparan merupakan variasi sabun padat batang yang tidak hanya berfungsi untuk membersihkan kotoran, namun memiliki fungsi scrubbing. Sabun padat transparan merupakan salah satu inovasi sabun yang menjadi sabun menarik. Saffron juga memiliki sifat antibakteri. Memiliki senyawa flavonoid, tanin dan saponin. Flavonoid merupakan senyawa yang dapat memiliki efek anti inflamasi, antikanker dan antioksidan, karena dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Telah digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit termasuk depresi, penyakit kardiovaskular, gangguan menstruasi, asama, insomnia, penyakit pencernaan, nyeri tulang dan beberapa penyakit lainnya. Sari putik Saffron dibuat dengan cara dilarutkan menggunakan aquades bebas CO₂. Skrining fitokimia dilakukan terhadap sari putik saffron. Sari putik saffron dibuat dalam berbagai formula Sabun yaitu formula I, formula II dan formula III. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif adalah DMSO. Ada beberapa pengujian yang dilakukan pada sari Putik Saffron selain skrining fitokimia yaitu pengujian antibakteri pada sabun transparan dengan sari putik Saffron sebagai bahan tambahan sabun. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa senyawa putik saffron (*Crocus sativus* L) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu : flavonoid, alkaloid, tanin, saponin. Dan untuk hasil penelitian aktivitas antibakteri juga menunjukkan bahwa sari putik Saffron terhadap sabun transparan dapat dijadikan sebagai bahan tambahan sabun, hasil antibakteri, memiliki daya hambat yang kuat pada nilai rata-rata formula III yaitu 20,5 dan formula II yaitu 18,4 mm dan formula I 16,1 mm, terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: Putik Saffron (*Crocus sativus* L), Sabun Transparan, Skrining fitokimia, aktivitas Antibakteri, *Staphylococcus aureus*.

LATAR BELAKANG

Sabun merupakan bahan yang berfungsi membersihkan kotoran dan bakteri dari kulit. Pemanfaatan sabun sebagai pembersih kulit semakin meningkat dan beragam. Keragaman sabun yang dijual secara komersial terlihat pada jenis, wangi, warna dan manfaat yang ditawarkan. Sabun mandi dibagi menjadi dua jenis yaitu sabun cair dan sabun padat. Sabun padat terdiri dari 3 jenis yaitu sabun opaque, translucent dan transparan. Sabun opaque (sabun padat biasa) adalah sabun yang digunakan sehari-hari, sabun translusen adalah sabun yang sifatnya berada diantara sabun opaque dan transparan (Sukeksi, 2018).

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri yang bertujuan untuk mencegah terjadinya penyakit dan infeksi. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit seperti; infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat, bisul, infeksi pada luka, meningitis, endocarditis, pneumonia, pyelonephritis, osteomyelitis dan pneumonia (Entjang, 2003).

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, formasi staphyle, mengeluarkan endotoxin, Tidak bergerak, tidak mampu membentuk spora, fakultatif anaerob, sangat tahan terhadap pengeringan, merupakan flora normal pada kulit dan saluran pernapasan bagian atas. Pada pemeriksaan padat koloninya berwarna kuning emas, terdapat pada tanah, air dan debu di udara (Biomed, 2017).

Saffron digunakan sebagai pengobatan tradisional, perawatan, dan bahan tambahan pada makanan sejak pada jaman dahulu. Studi pertama mengungkapkan bahwa saffron mengandung asam amino, amina, pati, asam lemak, sterol, dan saponin dan steroid (Ummah, 2018).

Saffron juga memiliki sifat antibakteri karena adanya Flavonoid, tanin, dan saponin. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki efek antiinflamasi, antikanker, antioksidan, dan antibakteri. Karena dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Selain bermanfaat sebagai obat herbal, Saffron juga dapat digunakan untuk produk fermentasi yaitu yoghurt dan bahan tambahan face mist (Musthri, 2017).

Crocus sativus L merupakan rempah-rempah yang termahal di dunia dengan rasa khas sedikit pahit, yang telah digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit termasuk depresi, penyakit kardiovaskular, gangguan menstruasi, asma, hilangnya nyeri pada persendian, insomnia, penyakit pencernaan, dan beberapa penyakit lainnya. Efek menguntungkan dari saffron, adalah sejumlah bahan yang terkandung didalam rempah-rempah ini termasuk. *Safranal*, *crocetin*, dan *crocin*. Terdapat studi eksperimental tahun 2015 oleh Rathore et al pada model mencit Atritis Reumatoid dengan menunjukkan bahwa saffron pada

dosis 100mg/kgBB dapat dibandingkan dengan ASA (*Acetyl Salicylic Acid*) dalam mengatasi inflamasi pada Atritis Reumatoid akibat antioksidan kuat yang dapat memberikan perlindungan yang luas terhadap sitokin inflamasi dan gangguan oksidatif (Karina, 2020).

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, memformulasikan sediaan sabun putik saffron (*Crocus sativus* L). Adapun rancangan penelitian ini dimulai dari persiapan penelitian ataupun penyiapan sampel, dari formulasi sediaan sabun transparan. Variabel bebas dari penelitian ini adalah sabun putik saffron (*Crocus sativus* L) yang digunakan pada formulasi sabun transparan. Variabel terikat dari penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri pada sabun transparan putik saffron (*Crocus sativus* L).

Parameter Penelitian

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu; alkaloid, tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid, glikosida dan saponin, lalu melakukan pengukuran zona hambatan pada pengujian antibakteri (mm).

Jadwal dan lokasi penelitian

Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan januari 2022 sampai dengan Maret 2022.

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Farmasi Univesitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

Bahan-Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Akuades, Alkohol 70%, Biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, Sabun batang putik safron, Media Nutrient Agar (NA), dan Media Nutrient Broth (NB), Air suling, As sulfat, BaCl₂, Spritus.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Alat gelas, Autoklaf , Batang pengaduk, Benang wol, Bunsen, Colony counter, Inkubator, Jangka sorong, Jarum ose, Kapas, Kain kassa, Kakram kertas, Kertas label, Mikro pipet, Neraca analitik, Oven, Pinset, Rak tabung, Alumunium poil, Spatula.

Pembuatan Larutan Pereaksi

Pereaksi Bouchardad

Ditimbang 4 gram kalium iodida, lalu dilarutkan dengan air suling secukupnya kemudian ditimbang 2 gram kalium iodide dan dilarutkan dalam kalium iodida didalam labu tentukur 100 ml dan kemudian dicukupkan volume dengan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1989)

Pereaksi Dragendrof

Ditimbang 8 gram bismuth (II), kemudian dilarutkan kedalam 20 ml asam nitrat pekat. Ditimbang 27,2 gram kalium iodida dan dilarutkan dalam 50ml air suling kemudian dicampurkan kedua larutan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Diambil larutan jernih dengan menggunakan pipet tetes dan dimasukkan kedalam labu tentukur 100 ml kemudian dicukupkan volume dengan air suling hingga 100 ml kemudian disimpan dalam botol gelap (Depkes, RI, 1989)

Pereaksi Mayer

Ditimbang 1,38 gram raksa (II), lalu dilarutkan dalam 60 ml air suling. Kemudian ditimbang 5 gram kalium iodida dan dilarutkan dalam 10 ml air suling. Kedua larutan dicampurkan dalam labu tentukur 100 ml dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1989)

FeCl₃ 1%

Ditimbang 1 gram besi (III) klorida, kemudian dilarutkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas (Depkes RI, 1989)

Larutan H₂SO₄ 2N

Dipipet 18 ml asam sulfat pekat, kemudian diencerkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas (Depkes RI, 1989)

Larutan HCL 2N

Dipipet 17 ml asam klorida pekat, kemudian diencerkan dengan air suling didalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas (Depkes RI, 1989)

Larutan HNO₃ 0,5 N

Dipipet 44,7 ml asam nitrit pekat, lalu diencerkan dengan air suling dalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas (Depkes RI, 1989)

Skrining Fitokimi

Pemeriksaan Alkaloid

Diitimbang sebanyak 0,375 gram putik saffro kemudian ditambahkan 2 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit didinginkan dan disaring. Filtrat yang dipakai untuk alkaloid yang dipakai sebagai berikut:

1. Filtrate sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi mayer reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih kuning.
2. Filtrate sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi bouchardad, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat kehitaman.
3. Filtrate sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi dragendrof, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan warna merah atau jingga Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan sedikitnya 2 reaksi dari 3 percobaan (mercy, 2013)

Pemeriksaan Flavonoid

0,0125 gram putik saffron lalu ditambahkan 5 ml air panas dididihkan selama 2 menit dan disaring dalam keadaan panas kedalam 5 ml filtrate ditambahkan serbuk magnesium 0,003 gram, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil aljohol lalu dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah kuning atau jingga pada amil alcohol (Depkes RI, 1989)

Pemeriksaan Saponin

Ditimbang 0,0125 gram putik saffron dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, dianginkan kocok selama 1 menit, jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI,1989)

Pemeriksaan Tanin

Ditimbang 0,012 gram putik saffron dengan 10 ml air suling lalu disaring, filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Jika terjadi warna biru atau jingga kehitaman menunjukkan adanya tannin (Depkes RI,1989)

Pemeriksaan Glikosida

Ditimbang 0,046 gram sari Saffron disaring dengan 30 ml campuran etanol 96% dengan air (7:3) dan 10 ml H_2SO_4 2N direfluks selama 2 jam didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrate ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4N dikocok, didiamkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran isopropanol dan kloroform (2:3)

dilakukan berulang 3 kali. Dikumpulkan sari lalu diuapkan pada temperature tidak lebih dari 59⁰ C sisanya dilarutkan dalam 2 ml methanol.

Larutan sisa digunakan untuk percobaan sebagai berikut : diambil 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian diuapkan diatas penangas air. Pada sisanya ditambahkan 2 ml air suling dan ditambahkan 5 tetes pereaksi molish, kemudian secara perlahan-lahan ditambahkan 1 ml asam sulfat pekat. Glikosida positif apabila terbentuk cincin berwarna ungu pada larutan cairan (Depkes RI, 1989)

Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Ditimbang 0,0433 gram sari saffron masing-masing dalam 20 ml selama 2 jam, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml diuapkan dalam cawan penguap sampai kering, kedalam residu ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi liberman-bouchardad). Terbentuknya warna ungu atau merah yang berubah menjadi biru-hijau menunjukkan adanya steroid/triterpenoid (Depkes RI, 1989)

Sterilisasi Alat Dan Bahan

Media pertumbuhan disterilkan diautoclaf pada suhu 121 ⁰C selama 15 menit dan alat-alat gelas disterilkan dioven pada suhu 160-170 ⁰C selama 1-2 jam, kecuali untuk bahan yang terbuat dari karet disterilkan dengan cara direndam dalam alcohol 70% dan jarum ose disterilkan dengan cara flambir pada nyala Bunsen (Pratiwi, 2008)

Pembuatan Sabun Transparan

Prosedur pembuatan sabun transparan Formula Hambali

Asam Stearat dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml. dpanaskan hingga mencair. Pada suhu 60-70 ⁰C dimasukkan minyak jarak kemudian diaduk hingga homogen. Pada suhu 70-80 ⁰C ditambahkan NaOH 30% kemudian diaduk hingga terbentuk masa sabun yang homogen. Kemudian ditambahkan etanol diaduk hingga seluruh massa sabun larut, ditambahkan gula yang telah dilarutkan dalam air kemudian diaduk homogen. Selanjutnya ditambahkan gliserin di aduk hingga homogen dinginkan hingga suhu 40 ⁰C lalu dituang ke dalam cetakan, Formula sabun selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula sabun menurut (Hambali, 2007)

| No | Bahan | Jumlah |
|----|--------------|----------|
| 1 | Asam Stearat | 7 gram |
| 2 | Minyak jarak | 20 gram |
| 3 | NaOH 30% | 18 gram |
| 4 | Etanol | 15 gram |
| 5 | Gliserin | 13 gram |
| 6 | Gula | 7,5 gram |
| 7 | Asam Sitrat | 3 gram |
| 8 | Betain/TEA | 5 gram |
| 9 | Air | 4,5 gram |
| | Jumlah | 93 gram |

Keterangan: Pada Formula Hambali (2007) Betain diganti dengan TEA, karena Betain saat ini tidak tersedia di pasaran dan TEA memiliki fungsi yang sama dengan Betain.

Modifikasi formula

Formula yang dibuat merupakan formula modifikasi yaitu dengan menggunakan kombinasi sari putik saffron (*Crocus sativus* L) berbagai variasi. Modifikasi formula dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Orientasi sabun dari sari putik Saffron

| No | Bahan | Formula | | | |
|----|--------------------|---------|-------|-------|-------|
| | | F0 | F1 | F2 | F3 |
| 1 | Sari Putik Saffron | 0 | 6 g | 8 g | 10 g |
| 2 | Minyak Jarak | 20 g | 11 g | 9 g | 7 g |
| 3 | NaOH 30% | 18 g | 18 g | 18 g | 18 g |
| 4 | Etanol 96% | 15 g | 15 g | 15 g | 15 g |
| 5 | Gliserin | 13 g | 13 g | 13 g | 13 g |
| 6 | Gula | 7,5 g | 7,5 g | 7,5 g | 7,5 g |
| 7 | Asam Sitrat | 3 g | 3 g | 3 g | 3 g |
| 8 | TEA | 5 g | 5 g | 5 g | 5 g |
| 9 | Asam Stearat | 7 g | 7 g | 7 g | 7 g |
| 10 | Aquadest ad | 100 g | 100 g | 100 g | 100 g |

Keterangan: F0: Formula tanpa sari (blangko)

F1: Formula dengan konsentrasi 16 g sari saffron

F2: Formulasi dengan konsentrasi 18 g sari saffron

F3: Formulasi dengan konsentrasi 20 g sari saffron

Prosedur Pembuatan sabun transparan

Asam Stearat di masukkan ke dalam beaker glass 250 ml. dipanaskan hingga mencair pada suhu 60-70 °C dimasukkan minyak jarak kemudian diaduk hingga homogen. Pada suhu 70-80 °C ditambahkan NaOH 30% kemudian diaduk hingga terbentuk massa sabun

yang homogen. Kemudian ditambahkan gliserin diaduk hingga seluruh massa sabun larut, ditambahkan gula yang telah dilarutkan ke dalam air kemudian diaduk hingga homogen., selanjutnya ditambahkan asam Sitrat diaduk hingga homogen. Lalu ditambahkan TEA kemudian diaduk hingga homogen, tambahkan etanol kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya dimasukkan sari putik Saffron kemudian diaduk hingga homogen, lalu dituang dalam cetakan, dan biarkan mengeras (Hambali, 2007)

Pengujian Terhadap Sabun

Pengujian Organoleptis

Pengamatan terhadap bentuk, warna, dan bau dilakukan secara visual (Febriyanti, 2014).

Pembuatan Media

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

| | | |
|-------------|---------------|-----------|
| Komposisi : | Beef extract | 3,0 gram |
| | Pepton | 5.0 gram |
| | Agar | 12.0 gram |
| | Air suling ad | 1000 ml |

Cara Pembuatan:

NA (Nutrien Agar) sebanyak 20 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer 1000 ml setelah itu ditambahkan air suling sedikit demi sedikit hingga NA tersebut larut sambil diaduk. Setelah itu larutan tersebut dipanaskan hingga hampir mendidih lalu ditambahkan air suling sedikit demi sedikit kedalam larutan panas tersebut sambil diaduk perlahan hingga tampak larutan jernih. Setelah larutan tersebut terlihat jernih diangkat dan ditambahkan air suling sampai garis kalibrasi (1000 ml) sambil diaduk perlahan , tutup mulut erlenmeyer dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa dan dibungkus dengan kertas perkamen, kemudian disterilkan kedalam autoclave dengan suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit (Silaban, 2009)

Pembuatan Media Muller Hinton Agar (MHA)

| | | |
|------------|---------------|----------|
| Komposisi: | Beef infusion | 3,0 gram |
| | Pati | 1,5 gram |
| | Bakto Agar | 17 gram |

Cara Pembuatan:

Sebanyak 38 gram media MHA dilarutkan ke dalam aquades steril sedikit demi sediki. Kemudian dicukupkan volume hingga 1 L dan dipanaskan sampai terlarut sempurna. Media disterilkan dalam autoklap pada temperature 121⁰C selama 15 menit (Nani, 2014).

Larutan NaCl 0,9 %

| | | |
|-------------|-----------------|----------|
| Komposisi : | Natrium klorida | 9,0 gram |
| | Air suling ad | 1000 ml |

Cara Pembuatan:

Sebanyak 9 gram NaCl ditimbang dan dilarutkan dengan air suling, dimasukkan dalam labu tentukur 1000 ml sampai larut sempurna, ditambahkan air suling steril sampai garis tanda, dimasukkan kedalam erlenmeyer steril yang tertutup kemudian disterilkan kedalam autoclaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Ditjen POM, 1995)

Larutan Standart Mc. Farland

| | | |
|-------------|------------------------|---------|
| Komposisi : | Larutan asam sulfat | 9,95 ml |
| | Larutan bariun klorida | 0,05 ml |

Cara Pembuatan :

Dicampurkan kedua larutan diatas kedalam larutan tabung reaksi dan dikocok homogen. Apabila kekeruhan suspense bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan larutan standart, berat konsentrasi suspense bakteri adalah 10^8 CFU/ml (Mercy, 2013)

Pembuatan Agar Miring

Sebanyak 3 ml NA cair, dimasukkan kedalam tabung reaksi, diletakkan pada sudut kemiringan 30-45 °C dan dibiarkan memadat, kemudian disimpan di dalam lemari pending (Ditjen depkes RI, 1995)

Pembiakkan Bakteri

Pembuatan Stok Kultur (*staphylococcus aureus*)

Diambil satu koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media Nutrient Agar miring dengan mengores, setelah itu di inkubasi dalam incubator pada suhu 36 °C selama 18-24 jam (Silaban, 2009)

Pembuatan Inokulum

Dari stok kultur *Staphylococcus aureus* yang telah ditumbuhi diambil jarum ose steril lalu disuspensikan dalam tabung yang berisi larutan natrium klorida 0,9% sebanyak 10 ml sampai didapat kekeruhan suspense bakteri sama dengan kekeruhan larutan standart Mc.Farland berat konsentrasi bakteri adalah 10^8 CFU/ml. setelah itu dilakukan pengenceran dengan memipet 0,1 ml suspense bakteri, dimasukkan kedalam tabung steril dan ditambahkan natrium klorida 0,9% sebanyak 9,9 ml dan dikocok homogen. Dari sini diperoleh suspense bakteri 10^6 CFU/ml (Silaban, 2009)

Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Untuk membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan cara biakan *Staphylococcus Aureus* diambil dengan kawat ose steril, kemudian disuspensikan kedalam

tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan sama dengan standart kekeruhan larutan *Mc.Farland* (Silaban, 2009)

Larutan Uji Untuk Pemeriksaan Antibakteri 10%

Ditimbang Sabun dengan Kosentrasi Formula Nol dengan 1 gram, untuk Formula I ditimbang 1 gram, untuk Formula II ditimbang 1 gram, dan untuk Formula III 1 gram. lalu masing masing formula di larutkan dalam 10 ml DMSO Dan *Chlorampenicol* sebagai kontrol positif. DMSO sebagai kontrol negatif.

Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Transparan sari Putik Saffron (*Croccus sativus L*) Terhadap Bakteri (*Staphylococcus aureus*)

Uji daya hambat menggunakan metode difusi agar yaitu cakram. Di siapkan cawan petri yang telah disterilkan denga oven. Tuangkan 20 ml media MHA dan ditambah 1 ml suspensi bakteri kemudian dihomogenkan dan diamkan hingga agar memadat. Kemudian diambil kertas cakram menggunakan pinset yang sebelumnya dipanaskan diatas api Bunsen. Dichelupkan pada masing-masing kertas cakram yang telah ditentukan dengan Formula0, FormulaI, FormulaII, dan FormulaIII. DMSO sebagai control negative dan chloramphenocil sebagai control positif. Setelah itu diletakkan diatas permukaan media agar secara hati-hati menggunakan pinset dan ditandai pada setiap letak pengulangannya. Lalu media di inkubasi dalam incubator dengan suhu 37⁰C selama 24 jam. Setelah itu diukur zona hambat yang terbentuk disekitar cakram menggunakan jangka sorong digital. Ditandai dengan zona bening disekitar cakram (Silviana, 2020)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Sampel

Hasil identifikasi sampel dilakukan oleh Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara terhadap putik bunga yang diteliti menunjukkan bahwa bahan uji adalah Saffron (*Crocus sativus L*).

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengenai golongan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman. Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada putik saffron. Pada penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan metode tabung dengan cara mengambil sedikit sari pada putik saffron. Lalu ditambahkan regen sesuai dengan senyawa yang di identifikasi. Hasil uji skrining fitokimia pada Sari putik saffron secara kualitatif disajikan pada Tabel 4.1

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Sari Putik Saffron

| Senyawa aktif | Warna | Hasil |
|----------------------|---|-------|
| Saponin | Berwarna kuning dengan busa dengan tinggi 1cm | + |
| flavonopid | Kuning kehijauan | + |
| Tanin | Hijau kecolatan / biru kehitaman | + |
| Alkaloid | Kuning, Coklat, Jingga | + |
| Steroid/Triterpenoid | Warna hijau/ warna ungu | - |

Keterangan: (+) : Menunjukkan Positif.

(-) : Menunjukkan Negatif

Berdasarkan Table 3.1 diketahui bahwa hasil uji fitokimia methanol sari putik saffron terbukti mengandung senyawa Saponin, Plavonoid, Tanin, dan Alkaloid. Hasil uji fitokimia senyawa dalam penelitian ini, dilakukan dengan menambahkan air (1:1) kemudian dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa maka ditambahkan HCl 1N, Sari positif mengandung saponin jika busa terbentuk dapat bertahan Selama 1 menit degan ketinggian 1 cm. busa yang di timbulkan saponin karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusun yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air. Saponin adalah senyawa aktif yang permukaannya kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin adalah Sebagian organ dalam tubuh yang mempunyai sifat kimia yang sama dengan glikosida triterpenoid dan strol yang menghasilkan busa.

Hasil uji flavonoid dilakukan dengan mengambil sedikit sampel, dilarutkan dengan air panas dan sedikit serbuk Mg kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl(p) dan ditambah amil alcohol dengan volume yg sama kemudian dikocok. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidriksil lebih dari satu reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menimbulkan warna kekuningan/jingga bercincin. Kuning atau jingga pada flavonoid sampel mengalami perubahan warna dari kuning kemerahan.

Adapun hasil senyawa tanin ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman pada sampel putik saffron dengan penambahan FeCl_3 yang berarti sampel putik saffron mengandung senyawa tanin. Tujuan penambahan fecl_3 adalah sebagai menentukan apakah saffron mengandung gugus fenol ditunjukkan dengan bewarna hijau.

Pengujian senyawa alkaloid dimana sampel ditambahkan HCl, adanya senyawa alkaloid di tunjukkan dengan endapan putih kekuningan dengan penambahan pereaksi mayer, endapan merah jingga dengan penambahan dragendroff, dan endapan merah kecoklatan dengan penambahan reaksi bochardad. Sampel dikatakan positif alkaloid apabila terbentuk reaksi pengendapan sekurang-kurangnya dua reaksi dari golongan reaksi pengendapan dan tujuan di tambahkannya HCl pada alkaloid adalah karena alkaloid bersifat basa dengan penambahan HCl akan berbentuk garam, lalu dipanaskan akan bertujuan memecahkan ikatan antara alkaloid yang bukan garamnya. Adapun yang membentuk endapan karena alkaloid senyawa basa nitrogen, dimana jika nitrogen direaksikan dengan asam akan membentuk garam tidak laru.

Adanya steroid/triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau/unggu pada percobaan, namun hal ini menunjukkan bahwa sari Saffron tidak mengandung senyawa steroid/triterpenoid dengan penambahan pereaksi Lieberman-Bochard.

Adanya senyawa glikosida ditunjukkan adanya cincin ungu dengan penambahan molish dan asam sulfat pekat. Tujuan asam sulfat pekat untuk menghidrolisis gula dan menghasilkan fultural yang akan bereaksi dengan reagen molish dan alfanaftol artinya sari Saffron tidak mengandung glikosida.

Hasil Uji Organoleptis Sabun

Pengamatan organoleptis yang dilakukan pada sabun secara visual dengan mengamati bentuk, warna, dan bau dari sabun yang dihasilkan. Untuk Hasil pengujian Organoleptis dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Hasil Uji Organoleptis

| No | Konsentrasi sari putik saffron (g) | Bentuk | Warna | Bau | Kekerasan | Tampilan |
|----|------------------------------------|-----------------------|------------------|------|-----------|------------|
| 1. | Blangko | Persegi padat homogen | Putih kekuningan | Khas | Keras | Transparan |
| 2. | FI (16g) | Persegi padat homogen | Kuning Terang | Khas | Keras | Transparan |
| 3. | FII (18g) | Persegi padat homogen | Kuning | Khas | Keras | Transparan |
| 4. | FIII (20g) | Persegi padat homogen | Kuning | Khas | Keras | Transparan |

Dari hasil uji pada Tabel 4 tampak perbedaan pada warna sabun, dimana sabun yang tidak diberi sampel (blangko) menghasilkan sabun berwarna putih sedikit kekuningan transparan, sedangkan sabun yang diberi sampel ,menghasilkan warna sabun yang berbeda. Dimana semakin besar konsentrasi sari putik saffron maka semakin tua warna sabun yang didapat. Maka dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa konsentrasi sari putik saffron mempengaruhi warna sabun tersebut.

Hasil Uji Antibakteri

Hasil rata-rata zona hambat uji anti bakteri pada sampel ekstrak etanol daun kari dapat dilihat pada Tabel sebagai berikut.

Tabel 5. Hasil Pengujian daya hambat Sabun Transparan sari putik saffron (*Crocus sativus* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

| Sampel Uji | Formula | Zona Hambat (mm) | | | Rata rata-rata zona hambat (mm) |
|---------------------------------|---------|------------------|---------|---------|---------------------------------|
| | | Replikasi | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | |
| Sabun | F0 | 11,5 mm | 10 mm | 13,2 mm | 11,5 mm |
| | FI | 15,2 mm | 18 mm | 15,1 mm | 16,1 mm |
| | FII | 17,5 mm | 20,3 mm | 19,1 mm | 18,9 mm |
| | FIII | 19,2 mm | 21,5 mm | 20,5 mm | 20,4 mm |
| Kontrol Positif Chloramphenicol | - | 14,5 mm | 14,5 mm | 16 mm | 15 mm |
| Kontrol Negatif DMSO | - | - | - | - | - |

Berdasarkan hasil pengujian antibakteri pada Table 4.3 menunjukkan bahwa Sabun putik Saffron memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pembahasan Uji Antibakteri

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar yaitu kertas cakram. Dasar pemilihan metode difusi adalah karena metode yang cepat, mudah dan juga sederhana dalam pengerjaannya.

Kontrol positif yang digunakan adalah chloramphenicol. Hal tersebut menunjukkan bahwa chloramphenicol mengandung antibakteri yang sangat kuat karena chloramphenicol mempunyai sifat antibakteri bakteristatik dan berspektum luas sehingga chloramphenicol mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Mekanisme kerja dengan menghambat pertumbuhan ataupun membunuh bakteri tersebut. Menghambat pertumbuhan bakteri ini adalah dengan langsung menuju fungsi biologis dari bakteri tersebut.

Kontrol negatif yang digunakan adalah larutan DMSO, karena DMSO tidak memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri. Tujuan memakai DMSO adalah sebagai baku pembandingan pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri. DMSO (Dimetil Sulfoksida) adalah senyawa organosulfur, yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air, selain itu DMSO juga tidak bersifat toksik sehingga tidak akan mengganggu penghambatan. Untuk melihat zona hambat bakteri dapat dikategorikan pada Tabel 4.3

Tabel 6. Hasil Pengujian hambatan Katagori Sabun Transparan sari putik saffron (*Crocus sativus L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

| Zona hambat kategori | Kategori |
|----------------------|-------------|
| ≥ 20 mm | Sangat kuat |
| 10-20 mm | Kuat |
| 5-10 mm | Sedang |
| ≤ 5 mm | Lemah |

Pada Tabel 6 menunjukkan bahwa Sabun putik Saffron dengan konsentrasi FI, FII dan FIII masing-masing memiliki zona hambat yang berbeda pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Diameter daya hambat pada rata-rata yang terbentuk disekitar cakram pada masing-masing Formula. F0, FI, FII, dan FIII berbeda. Pada formula 0 didapatkan rata-rata zona hambat bening (11,5mm), pada FI didapatkan zona hambat bening rata-rata (16,1mm), pada FII didapatkan zona hambat bening rata-rata (18,9mm). dan pada FIII didapat zona hambat rata-rata (20,4mm). pada formula 0, FI, FII, dan FIII memberikan respon sangat kuat dan kuat. Zona hambat terbesar yaitu formula III dan FII, lalu kembali menurun daya hambat bening pada Formula I. Sedangkan pada zona hambat bening kontrol positif pada bakteri *Staphylococcus aureus* zona bening terbentuk yaitu (15 mm). Masing-masing kontrol positif memberi respon kuat. Sabun putik Saffron dengan berbagai Formula yang berbeda-beda tersebut mengandung zat antimikroba yang beda, semakin tinggi konsentrasi formula Saffron pada sabun, semakin pekat larutan saffron tersebut dan semakin banyak zat-zat antimikroba yang terkandung didalamnya.

Menurut WHO adapun faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran daya hambat bakteri difusi cakram yaitu: kepekaan inoculum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, ketebalan media agar dan potensi cakram antimikroba. Beberapa senyawa aktif antibakteri terkandung dalam tanaman ini dan mempunyai daya hambat antibakteri yaitu antara lain: Alkaloid, Flavonoid maupun Saponin. Alkaloid merupakan sebuah golongan senyawa basa bernitrogen yang kebanyakan heterosiklik dan terdapat didalam tumbuhan. Mekanisme kerja alkaloid

sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga dapat menyebabkan kematian pada sel tersebut

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri dapat menghambat fungsi membran sel dan membentuk senyawa kompleks dengan protein, terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mitokondria, lisosom, sebagai hasil interaksi dari flavonoid dengan DNA bakteri. Mekanisme Saponin dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin menjadi antibakteri karena memiliki sifat zat aktif permukaannya hampir mirip detergen, sehingga saponin akan dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan yaitu :

1. Kandungan metabolit sekunder pada putik saffron yaitu Tanin, Saponin, Flavonoid, dan Alkaloid.
2. 10 gram sari saffron yang efektif terhadap pengujian antibakteri pada sabun transparan putik saffron.
3. Sabun transparan putik saffron (*Crocus sativus* L) mendapatkan kategori antibakteri sangat kuat, dengan nilai daya hambat sebesar 20,4 mm.

Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk pengujian antibakteri dengan metode lain seperti metode Sumuran, dan uji Bioautografi pada uji sabun Transparan putik saffron (*Crocus sativus* L).

DAFTAR REFERENSI

- Adlini, M.N., dan Hafiza, K.U. (2020). *Karakterisasi Tanaman Jeruk manis (citrus sinensis L.) Di Kecamatan Nibung Kabupaten Batubara*. Hal Vol 4 No 1.
- Afifah, M, N. (2020). *Saffron (Crocus sativus L): Kandungan dan Aktivitas Farmakologinya*. Jatinangor : Universitas Padjadjaran.
- Borges, M.T., dan Bresson, W. (2004). *Delivery Methods for Introducing Endospore Bacteria*. Journal Internasional : Biocontrol. Hal 315-322. *Buah Sentul (Sandaricum koetjoe) Terhadap Beberapa Bakteri Secara in Vitro Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (Coffea canephora Pierre)*. Manado : UNSRAT. Hal 5.
- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 516-519.
- Ditjen POM (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Ditjen POM (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 10-11.
- Ditjen POM. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Emelda. (2021). *Farmakognosi Untuk Mahasiswa Kompetensi Keahlian*.
- Fardani, M, A. (2017). *Budidaya Bunga Saffron (Crocus Sativus L)* . Purwokerto : Universitas Jendral Sudirman.
- Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press. Hal 171-204.
- Fessenden, R.J. (1979). *Kimia Organik*. Jakarta :Erlangga.
- Gunawan, D dan Sri, M. (2004). *Ilmu Obat Alam*. Jakarta : Penebar Swadaya Hal. 74.
- Gunawan, D dan Sri, M. (2004). *Ilmu Obat Alam*. Jakarta : Penebar Swadaya Hal74.
- Harbone., J.B. (1987). *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Harbone., J.B. (1987). *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Harti, A.S. (2015). *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta : Penerbit Andi. Hal 17, 126,215, 148.
- Herda ariyani., dan Muhammad nazemi. (2018). *Uji efektivitas antibakteri ekstrak kulit limau kuit (Cytrus hystrix Dc) terhadap beberapa bakteri*. Banjarmasin: fakultas farmasi universitas Muhammadiyah. Vol 2. Hal 127-128.
- Herliningsih., dan Novia anggraini. (2021). *Formulasi facemist ekstrak etanol buah bengkuang (Pachyrhizus erosus L) dengan menggunakan pewarna alami saffron (Crocus sativus L)*. Jurnal herbal dan farmakologi; Stikes Muhammadiyah kuningan. Hal 49.
- Jawertz, E., Melnick, J. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 267,317-318.
- Karina dwiyanti., dan Hotimah masdan S. (2020). *Efek saffron (Crocus asativus L) terhadap TNF- α pada model Atritis rheumatoid*. Malang; Jurnal Kesehatan Indonesi. Uiversitas islam malang. Vol 9. Hal 37.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Penggunaan Antibiotik*. Jakarta : Bakti Husada. Hal 7.

- Marita Tm S., dan Yelmira zalfiatri., dan Faizah hamza. (2018). *Pembuatan sabun transparan dengan penambahan ekstrak batang papaya sebagai antibakteri*. Pekanbaru; Chempublish jurnal. Fakultas pertanian. Hal 58.
- Mercy ngajow., dan Jemmy abidjulu. (2013). *Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (Pometia pinnata) terhadap bakteri Staphylococcus Aureus secae In vitro*. Manado; Jurnal MIPA. UNSRAT. Hal 129-130.
- Muhammad rifqi., dan Indita M. (2021). *Pembuatan sabun padat antibakteri dari ekstrak daun stevia (Stevia rebaudiana bertonii)*. Surakarta; Universitas Muhammadiyah. Hal 42.
- Neswati., dan Sahadi didi I., dan Vioni derosya. (2019). *Analisis kimia dan sifat antibakteri sabun transparan berbasis minyak kelapa sawit dengan penambahan ekstrak mikropartikel gambir*. Padang; Jurnal agroindustri. Unand Limau manih Padang. Hal 172.
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga. Hal 234.
- Ray, C., Trivedi, P., dan Sharma, V. (2013). *Acne and Its Treatmeant Lines*. Internasional: Journal of Research Pharmaceutiucal. Hal 19.
- Renato, R.S. (2017). *Klasifikasi Jenis-Jenis Jerawat*. Medan : Teknologi dan Informasi. Hal 6.
- Rina, H. (2012). *Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik*. Jakarta:Universitas Indraprasta. Hal 422.
- Rizka Hastari., (2012). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak pelapah dan batang pisang ambon (Musa paradisiaca var.sapientum) terhadap Staphylococcus aureus*. Semarang; Universitas dipenegoro. Akademik kedokteran . Hal 50-53.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan*. Tinggi Edisi VI. Bandung : ITB.
- Silaban L.W. 2009. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Kulit*.
- Silalahi, J. (2006). *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. Hal 40.
- Silviana, H dan Saripa, J. 2020. *Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Cabai Rawit Spesie Capsicum frustencens dan Capsicum anum pada Staphylococcus aerus*. Kendari : STIKES Mandala. Hal 4.
- Stanier, R.H.,Adelberg,E.A. (1982). *Dunia Mikroba*. Penerjemah Agustin Widia. Jakarta: Bharata Karya Aksra. Hal 23-24.
- Sudrawanto, M., Rastina dan Wientaris,I. (2015). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (Murraya koenigii L) Terhadap Staphylococcus aerus, E Coli, dan Pseudomas Sp*. Jakarta: Jurnal Kedokteran. Hal 185.
- Sugianto, A. 2015. *Peningkatan Kualitas Produk Sabun Transluent Dengan Pendekatan Taguchi (Studi Kasus sdi Pt Wilmar Nabati Indonesia)*. Volume XVI No.1, Gresik : Pt Wilmar Nabati Indonesia.
- Traese, E., dan Evan, W.C. (1985). *Pharmacognosi Edisi Keduabelas*. London : Brailiere Tindal. Hal 220-221.
- Ummah, I.K., (2018). *Saffron (Crocus Sativus L) Sebagai Penyedap dan Pewarna Alami Memiliki Antioksidan dan Antikanker*. Surabaya : Institut Teknologi sepuluh November.Vitro. Medan : Universitas Sumatera Utara. Hal 34.
- Widya, A.L., Washifa, A.P. (2019). *Aktivitas Antibakteri Dan Analisi Bioatografi*.

- Yuska novi Y., dan Sucia mitika. (2017). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sambiloto (Andrographis paniculate Nees) terhadap bakteri Staphylococcus Aureus*. Bengkulu; Jurnal ilmiah ibnu sina. Akademik farmsi Yayasan al-fatah. Hal 160-162.
- Zakiah, W. 2021. *Efektivitas Senyawa Antioksidan dalam Saffron (Crocus Sativus L)*. Karawang : Universitas Singaperbangsa Karawang.
- Adriani, A., & Mustafa, I. (2020). *Pengaruh Penambahan Sari Buah Kasemek (Diospyros kaki L.) Pada permen keras*. Banda Aceh : Universitas Syiah Kuala. Vol 3 No 2. Hal 114-118.