

**PENGARUH AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN *Centella asiatica*  
TERHADAP ISOLAT KLINIS *Pseudomonas aeruginosa* MULTIDRUG  
RESISTENCE (MDR)**

**EFFECT OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Centella asiatica* EXTRACT ON  
CLINICAL ISOLATE *Pseudomonas aeruginosa* MULTIDRUG RESISTENCE  
(MDR)**

**Muhammad Fasihul Lisan, Metta Octora, Anggit L. Sunarwidhi**

**ABSTRACT**

Deaths due to antimicrobial resistance are currently estimated at around 1.27 million people worldwide. Respiratory tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* Multidrug Resistance (MDR) have a high mortality rate. Antibiotic resistance treatment requires alternative compounds that have the potential as antibacterial agents, one of which is *Centella asiatica*. *Centella asiatica* has bioactive compounds that function as antibacterials, namely alkaloids, flavonoids, tannins, phenols, and terpenoids. This study aims to determine the phytochemical profile and the effect of antibacterial activity of n-hexane extract of *Centella asiatica* on Clinical Isolate *Pseudomonas aeruginosa* Multidrug Resistance (MDR). The extraction method uses sonication with n-hexane solvent. Testing the antibacterial activity using the disc diffusion method. The positive control used colistin for testing and the negative control used n-hexane solution. The concentration series of *Centella asiatica* n-hexane extract used were 1000 ppm, 3000 ppm and 5000 ppm. The antibacterial activity of the n-hexane extract of *Centella asiatica* was measured based on the diameter of the inhibition zone formed around the disc. The results showed that the n-hexane extract of *Centella asiatica* contained steroid compounds which were identified by test-tube and did not have antibacterial activity because there was no diameter of the inhibition zone at all concentrations. Based on the research results, it can be concluded that the n-hexane extract contains steroid compounds but has no potential to inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa* Multidrug Resistance (MDR).

**Keywords:** Antibiotic resistance, *Centella asiatica*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial activity.

**ABSTRAK**

Kematian akibat resistensi antimikroba saat ini diperkirakan sekitar 1,27 juta orang di seluruh dunia. Infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* *Multidrug Resistance* (MDR) memiliki angka kematian yang tinggi. Penanganan resistensi antibiotik diperlukan senyawa alternatif yang berpotensi sebagai agen antibakteri, salah satunya yaitu *Centella asiatica*. *Centella asiatica* mempunyai senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil fitokimia dan pengaruh aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan *Centella asiatica* terhadap Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* *Multidrug Resistance* (MDR). Metode ekstraksi menggunakan sonikasi dengan pelarut n-heksan. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Kontrol positif menggunakan colistin untuk pengujian dan kontrol negatif menggunakan larutan n-heksan. Seri konsentrasi ekstrak n-heksan *Centella asiatica* yang digunakan sebesar 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm. Aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan *Centella asiatica* diukur berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan *Centella asiatica* mengandung senyawa steroid yang diidentifikasi dengan uji tabung dan tidak mempunyai aktivitas antibakteri dikarenakan tidak ada diameter zona hambat pada semua konsentrasi. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksan mengandung senyawa steroid namun tidak potensial dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* *Multidrug Resistance* (MDR).

**Kata kunci:** Resistensi antibiotik, *Centella asiatica*, *Pseudomonas aeruginosa*, aktivitas antibakteri.

## PENDAHULUAN

Resistensi antimikroba saat ini menjadi masalah kesehatan dengan angka kematian setidaknya 1,27 juta orang di seluruh dunia (CDC, 2022). Bakteri yang sering menyebabkan *multidrug resistance* antara lain yaitu *P. aeruginosa*. *P.aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik dan penyebab umum infeksi nosokomial terbanyak nomor 4 yang menyebabkan pneumonia, infeksi luka operasi, infeksi saluran kemih dan bakteremia (Reynolds & Kollef, 2021; Soedarto, 2016).

Pengobatan infeksi yang disebabkan *Pseudomonas aeruginosa* MDR terkait mutasi memerlukan senyawa yang memiliki potensi sebagai antibakteri, antara lain dengan memanfaatkan zat aktif yang terkandung dalam bahan alam misalnya *Centella asiatica*. Secara empiris *Centella asiatica* digunakan sebagai penyembuh luka, mengobati bisul, dan pengobatan Ulkus Kaki Diabetik (Ikhsan, 2022; Ramandey & Bunei, 2021; Sanjaya et al., 2019). *Centella asiatica* diketahui memiliki senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan terpenoid (Saranya et al., 2017). Ekstrak *Centella asiatica* juga memiliki sifat bakteristatik dan bakterisidal aktivitas, melalui kemampuannya untuk memblokir sistem pompa penghabisan bakteri (Sagbo et al., 2017).

*Centella asiatica* terlebih dahulu diekstraksi untuk mengeluarkan zat-zat yang dapat dimanfaatkan sebagai zat antibakteri. Penentuan jenis pelarut sangat penting dalam suatu metode ekstraksi, yang ditentukan berdasarkan kepolaran senyawa aktif yang diharapkan (Warnis et al., 2023). Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (Murdiyansah et al., 2020).

Beberapa pelarut non polar yang diketahui antara lain n-heksana, dietil eter, dan kloroform. Pelarut n-heksana, dietil eter, dan kloroform masing-masing nilai konstanta dielektrik adalah 2, 4.33, dan 4.8 (Arsa & Achmad, 2020). Pelarut n-heksana lebih rendah dibandingkan nilai konstanta dielektrik pelarut non polar lainnya. Hal ini menunjukkan ikatan terhadap senyawa aktif non polar lebih baik (Rozi et al., 2017). Kepolaran suatu pelarut dapat dilihat dari besarnya nilai konstanta dielektrik pelarut,

semakin besar nilai konstanta dielektrik maka akan semakin polar dan sebaliknya (Sahri & Rahmalia, 2019).

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana *Centella asiatica* terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* masih terbatas, khususnya varian *Pseudomonas aeruginosa Multidrug resistance* (MDR). Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana *Centella asiatica* terhadap isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* MDR.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan antara lain alat gelas laboratorium (Iwaki® dan Pyrex®), *rubber bulb*, timbangan analitik (Pioneer™), cawan porselen, ayakan mesh 40, *magnetic stirrer*, pinset, cawan petri (Iwaki® dan Pyrex®), ose, bunsen, rak tabung reaksi, mikropipet (Labnet), autoklaf (Tomy SX-500), pinset, *spreader*, *Bio Safety Cabinet* (Jisico), *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Labnet), *vortex* (Labnet), *hotplate* (Labnet), dan inkubator (Labnet), blender, pipet tetes, penangas air 6 L (Labnet), mistar, sendok tanduk, kaca preparat, batang pengaduk, dan spuit injeksi.

Bahan yang digunakan antara lain simplisia pegagan (*Centella asiatica*), isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* MDR, NaCl 0,9% (Widatra), HCl 2N, aquadest, n-heksana (Brataco), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), tip kuning, tip biru, cakram antibiotik colistin 10 µg, kertas cakram (Macherey-Nagel), spiritus, larutan *Mc Farland*, media *Mac Conkey Agar*, media *Lactose Broth*, kristal violet, lugol, alkohol 70% (Medika), safranin, sarung tangan (Sensi), dan standar 0,5 Mc Farland.

### 2. Perolehan Sampel Uji

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah herba *Centella asiatica* yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional yang sudah berbentuk simplisia.

### 3. Determinasi Tanaman

*Centella asiatica* dideterminasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat

Tradisional untuk mengetahui kebenaran sampel herba pegagan yang digunakan dalam penelitian.

#### 4. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia *Centella asiatica* dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.

#### 5. Ekstraksi simplisia

Sampel diekstraksi menggunakan metode sonikasi. Simplisia kering dihaluskan kemudian diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 40. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 300 gram dan dimasukkan ke dalam toples kaca dengan menambahkan 1500 ml larutan n-heksana dengan perbandingan (1:5) kemudian di sonikasi menggunakan sonikator dengan suhu 35°C selama 30 menit. Hasil sonikasi disaring untuk memisahkan filtrat dengan ampas menggunakan kain mori dan kertas saring. Ampas dari penyaringan tersebut disonikasi kembali dengan cara yang sama sebanyak 2 kali. Semua filtrat dikumpulkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 50 rpm pada suhu 40°C dan dilanjutkan dengan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk menghitung persen rendemen dan dimasukkan ke dalam wadah tertutup. Penentuan persen rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus (Vifta et al., 2017) :

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental}}{\text{Berat Serbuk Simplisia}} \times 100\%$$

#### 6. Skrining fitokimia

##### a. Uji alkaloid

Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 0,05 gram ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3 sampai 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat lalu dikocok hingga terbentuk 2 lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi Wagner, Mayer, dan Dragendorff masing-masing 4-5 tetes. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid dengan pereaksi Wagner memberikan warna endapan

cokelat, pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning-merah (Aliwu et al., 2020).

##### b. Uji flavonoid

Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 0,05 gram dilarutkan dalam n-heksan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 5 tetes HCl pekat (Ergina et al., 2014). Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna kuning, jingga, dan merah (Octaviani et al., 2019).

##### c. Uji fenolik

Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 0,05 gram dilarutkan dengan n-heksan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan menjadi hijau atau biru (Manongko et al., 2020).

##### d. Uji tanin

Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 0,05 gram dilarutkan dengan n-heksan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Manongko et al., 2020).

##### e. Uji saponin

Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 0,05 gram dilarutkan dengan n-heksan, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL air panas kemudian dikocok kuat selama 15 detik. Ekstrak ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit dengan tinggi 1-10 cm (Mien et al., 2015).

##### f. Uji triterpenoid & steroid

Ekstrak *Centella asiatica* sebanyak 0,05 gram dilarutkan dalam 2 mL kloroform dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrida dan 2 mL

asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Uji dinyatakan positif triterpenoid ditunjukkan adanya perubahan warna merah atau cokelat dan warna biru menandakan positif steroid (Hartati & Karim, 2019).

## 7. Uji aktivitas antibakteri

### a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disterilisasi menggunakan alat autoklaf yang diatur pada suhu 121°C selama 15 menit (Sari *et al.*, 2022). Peralatan lainnya seperti jarum ose dan pinset disterilisasi dengan alkohol 70% dan dilakukan pemijaran menggunakan api bunsen (Armaleni *et al.*, 2019).

### b. Perolehan Isolat Klinis *Pseudomonas aeruginosa* MDR

Bakteri isolasi klinis *Pseudomonas aeruginosa* MDR yang diperoleh berdasarkan hasil uji identifikasi otomatis *BD Phoenix TM Automated Microbiology System* atau *Vitek2 system* dan dimasukkan dalam kriteria MDR (menurut ketersediaan antibiotik setempat).

### c. Karakterisasi Bakteri Uji

Karakterisasi bakteri uji dilakukan dengan cara metode pewarnaan gram. Larutan NaCl fisiologis ditetaskan pada kaca objek isolat, kemudian diambil satu ose isolat dari media. Isolat tersebut disebarkan pada kaca obyek lalu difiksasi. Kristal violet ditetaskan diatas preparat dan dibiarkan selama 1 menit, preparat dicuci dengan air mengalir. Cairan lugol ditetaskan pada preparat kemudian di biarkan selama 1 menit, preparat dicuci dan ditetaskan dengan alkohol selama 30 detik, preparat dicuci dengan air mengalir. Terakhir preparat ditetaskan dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Preparat dicuci dan dikeringkan untuk diamati dibawah mikroskop. Bakteri gram positif akan berwarna ungu dan bakteri gram negatif akan berwarna merah (Amaliah *et al.*, 2018).

### d. Kultur Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR

Kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan menggunakan media LB dan media MCA. Sebanyak 100 µl sampel dimasukkan ke tabung berisi 5 mL LB. Sampel diinkubasi selama 15-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan perubahan kekeruhan media LB. Sampel yang menunjukkan hasil positif kemudian dipindahkan ke media padat. Swab steril dimasukkan ke dalam sampel, kemudian di swab ke media MCA, selanjutnya diinkubasi selama 15-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Aji & Fiani, 2021).

### e. Pembuatan Media Muller Hilton Agar

Serbuk *Muller Hilton Agar* sebanyak 3,8 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 100 ml aquades. Larutan dipanaskan menggunakan *hot plate* dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Larutan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Dewi *et al.*, 2017).

### f. Pembuatan Larutan Uji Antibakteri

Ekstrak n-heksana *Centella asiatica* ditimbang 0.001 gram; 0.003 gram; dan 0.005 gram kemudian masing-masing dilarutkan dengan 1 mL n-heksan. Didapatkan konsentrasi larutan uji masing-masing yaitu 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm (Sutrisno *et al.*, 2014).

### g. Peremajaan Bakteri

Biakan murni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diremajakan pada media *Muller Hinton Agar* dengan metode cawan gores tipe goresan T. Cawan petri dibagi menjadi 3 bagian menggunakan spidol. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diambil 1 ose dan diinokulasikan pada daerah I dengan goresan zig-zag. Jarum ose dipanaskan kembali dan dibiarkan beberapa saat, kemudian dilanjutkan

goresan zig-zag pada daerah II. Perlakuan yang sama pada daerah III (Soraya & Wulandari., 2019). Setelah itu, cawan petri ditutup kembali dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator (Anggraeni & Triajie, 2021).

#### **h. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* hasil peremajaan diambil sebanyak 1 ose dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCl fisiologi 0,9%. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dihomogenkan menggunakan vortex, kemudian kekeruhan suspensi disetarakan dengan standar *Mc Farland* (Misna & Diana, 2016).

#### **i. Pengujian**

Uji kepekaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR terhadap antibakteri dari ekstrak n-heksan *Centella asiatica* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Cakram diteteskan dengan larutan uji sebanyak 20 µL sampai merata ke seluruh permukaan cakram dengan berbagai konsentrasi yang telah disiapkan. Cakram kemudian diletakkan di atas media uji yang telah ditambahkan bakteri. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri dilihat dari terbentuknya zona bening pada cawan petri (Amalia *et al.*, 2016; Mulyadi *et al.*, 2017). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak 4x pengulangan.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **a. Perolehan dan Determinasi Tanaman**

*Centella asiatica* diperoleh di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional dalam bentuk simplisia (**Gambar 1**). Perolehan sampel dengan cara memesan bahan baku yang telah berbentuk simplisia dikarenakan proses pencarian dan pengumpulan tanaman *Centella asiatica* membutuhkan waktu yang lama sehingga tidak efisien. Determinasi tumbuhan dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dengan tepat dari tumbuhan yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Diniatik, 2015).

Determinasi tumbuhan ini dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan *Centella asiatica* (L.) Urb. Dari famili Apiaceae dengan nomor surat : KM.04.01/2/1526/2022.



**Gambar 1.** Simplisia *Centella asiatica*

#### **b. Pembuatan Simplisia *Centella asiatica***

Pembuatan simplisia *Centella asiatica* dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Informasi mengenai waktu dan lokasi pengambilan bahan baku tanaman *Centella asiatica* serta metode pengeringan yang digunakan terbatas. Menurut Luliana *et al.* (2016), pengeringan merupakan tahapan terpenting dalam menjaga kestabilan senyawa pada simplisia. Metode pengeringan lain seperti penggunaan matahari langsung, sinar ultraviolet dari matahari juga dapat merusak kandungan kimia bahan yang dikeringkan (Winangsih & Parman, 2013).

#### **c. Pembuatan Ekstrak N-Heksan *Centella asiatica***

Simplisia *Centella asiatica* dihaluskan menggunakan *blender* yang bertujuan untuk memperkecil ukuran simplisia dan memperluas permukaannya sehingga kontak antara simplisia dengan pelarut menjadi lebih besar pada saat proses ekstraksi. Kontak yang lebih besar akan membantu penyarian yang lebih optimal karena pelarut akan lebih mudah masuk ke dalam sel dan zat aktif yang terlarut dalam pelarut lebih banyak (Maulida & Guntarti, 2015). Sampel *Centella asiatica* diekstraksi selama 30 menit pada suhu 35°C dengan perbandingan simplisia : pelarut (1:5) dan diulangi sebanyak 2 kali.

Perbandingan antara simplisia dengan pelarut yang digunakan adalah 1:5, yang artinya satu bagian simplisia diekstraksi dengan 5 bagian pelarut. Perbandingan jumlah pelarut dengan simplisia ini dapat mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang dapat diekstraksi.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode sonikasi. Metode sonikasi merupakan metode yang memanfaatkan energi gelombang suara dan menghasilkan getaran dengan tujuan untuk mempercepat waktu kontak antara sampel dengan pelarut sehingga proses pemisahan senyawa dari sampel ke pelarut menjadi lebih cepat (Suryanto & Taroreh, 2019).

Data persen rendemen hasil sonikasi ekstrak *Centella asiatica* disajikan dalam **Tabel 1**. Persentase rendemen ekstrak n-heksan *Centella asiatica* sebesar 1,042%. Tujuan

perhitungan persen rendemen yaitu untuk mengetahui banyaknya senyawa aktif yang berhasil terekstrak selama proses ekstraksi, semakin besar persen rendemen yang diperoleh maka kandungan senyawa aktif dalam suatu sampel juga semakin banyak (Hasnaeni & Wisdawati, 2019). Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% dan hal-hal yang mempengaruhi hasil rendemen adalah faktor intensitas cahaya, penanganan, ukuran partikel daun setelah dipanen, lama waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, dan pelarut yang digunakan (Sunnah *et al.*, 2021).

Uji organoleptik dilakukan untuk mendeskripsikan bau, warna, rasa dan tekstur dari ekstrak dengan menggunakan panca indera sehingga akan didapat hasil yang objektif (Depkes, 2000). Data lengkap uji organoleptik ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi *Centella asiatica* Metode Sonikasi

Sampel	Berat serbuk simplisia (g)	Berat ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
<i>Centella asiatica</i>	300	3,126	1,042

**Tabel 2.** Hasil Pengujian Organoleptik Ekstrak

Parameter Organoleptik	Ekstrak N-Heksan
Bau	Bau Khas
Warna	Hijau kehitaman
Rasa	Pahit
tekstur	Kental

#### d. Skrining Fitokimia Ekstrak *Centella asiatica*

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi metabolit sekunder didalam ekstrak. Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan dengan pengujian kualitatif menggunakan metode uji

tabung, yaitu dengan melihat perubahan warna yang terbentuk setelah penambahan pereaksi uji. Hasil identifikasi metabolit sekunder ekstrak n-heksan *Centella asiatica* disajikan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak N-Heksan *Centella asiatica*

Uji	Reagen	Hasil	Warna
Alkaloid	Mayer	-	-
	Wagner	-	-
	Dragendorff	-	-
Fenolik	FeCl <sub>3</sub> 5%	-	-
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	-	-
Flavonoid	Mg + HCl Pekat	-	-
Steroid dan Triterpenoid	Kloroform + asam asetat anhidrat + asam sulfat	+ (steroid)	biru
Saponin	HCl 2 N	-	-

Hasil skrining fitokimia (**Tabel 3**) menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan *Centella asiatica* mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu steroid. Hasil

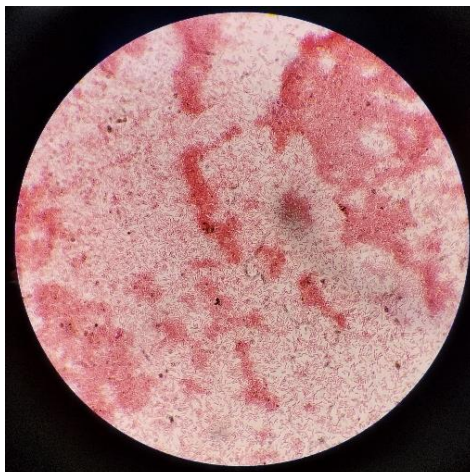
skrining fitokimia yang diperoleh dalam penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, yang dilakukan oleh Mustanir *et al.*, 2013. Dalam penelitian

tersebut, hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil positif alkaloid, terpenoid, steroid, dan saponin. Perbedaan hasil metabolit sekunder ini dapat dikarenakan adanya perbedaan lokasi pengambilan sehingga dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder (Nomer *et al.*, 2019).

Pada uji steroid, hasil positif steroid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi biru kehijauan dengan pereaksi Lieberman Burchard. Perubahan warna terjadi akibat adanya reaksi antara steroid dengan asam asetat anhidrat yaitu adanya reaksi asetilasi gugus OH pada steroid yang akan menghasilkan kompleks asetil steroid (Sulistyarini *et al.*, 2020).

#### e. Karakteristik *Pseudomonas aeruginosa*

Pengamatan bakteri isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa* dengan pewarnaan Gram ditujukan untuk melihat keseragaman bakteri, ketiadaan kontaminan dan memastikan bakteri yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pewarnaan Gram terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa sel bakteri berbentuk basil dan berwarna merah muda (**Gambar 2**). Sel berwarna merah menandakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri Gram negatif.



**Gambar 2.** Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa* (Perbesaran 1000x) (Dokumentasi pribadi).

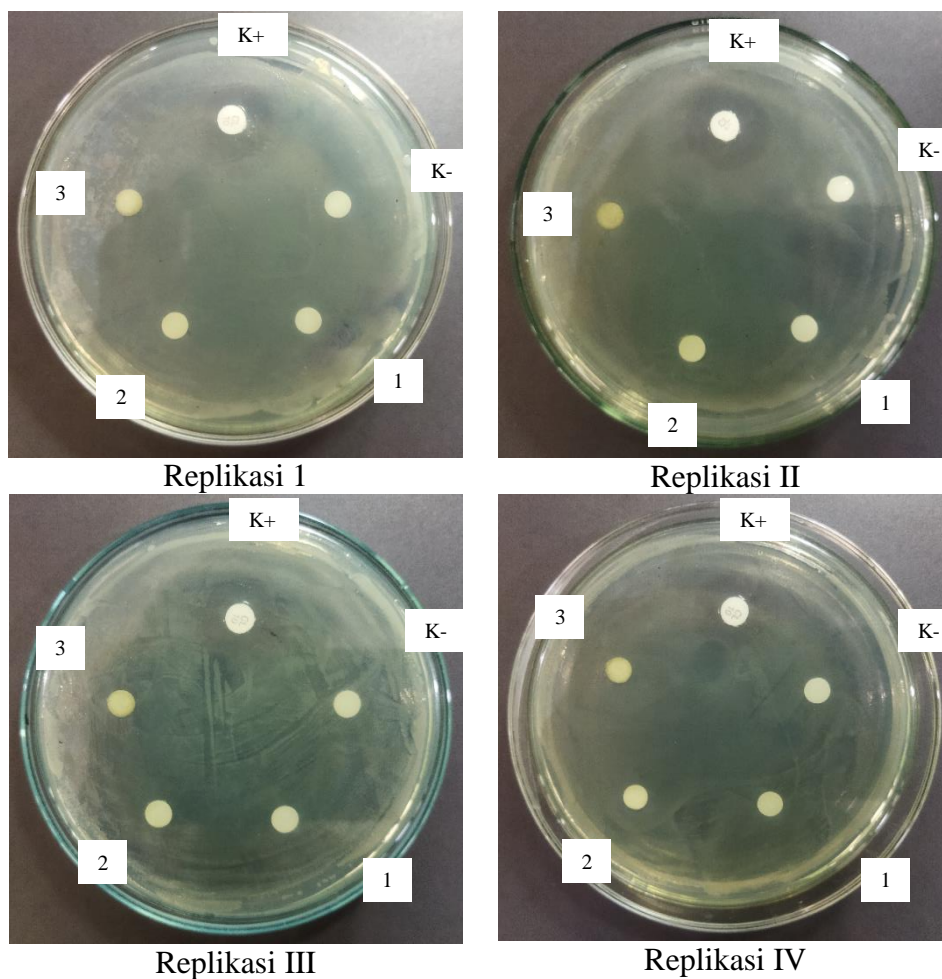
#### f. Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Centella asiatica*

Potensi antibakteri ekstrak n-heksan *Centella asiatica* dilakukan dengan metode difusi cakram. Pemilihan metode ini karena memiliki keunggulan dibandingkan metode lain diantaranya metode ini tidak rumit dalam pengerjaannya, efisien, biaya relatif murah, mudah dan tidak memerlukan keahlian khusus (Intan *et al.*, 2021). Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri

*Pseudomonas aeruginosa* MDR dilakukan pada 5 kelompok, yaitu kontrol positif berupa antibiotik colistin 10 µg, kontrol negatif berupa n-heksan, serta kelompok perlakuan berupa ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm. Kontrol negatif digunakan bertujuan agar pelarut tidak memiliki aktivitas terhadap bakteri. Zona hambat yang dihasilkan dari uji aktivitas antibakteri ekstrak *Centella asiatica* ditunjukkan pada **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak N-Heksan *Centella asiatica* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* MDR

Bahan uji		Rata-rata diameter zona hambat (mm) ± SD	Kategori kekuatan antibakteri
Konsentrasi ekstrak n-heksan	1000 ppm	0 ± 0	Tidak ada aktivitas
	3000 ppm	0 ± 0	Tidak ada aktivitas
	5000 ppm	0 ± 0	Tidak ada aktivitas
Kontrol positif		11 ± 0,82	Kuat
Kontrol negatif		0 ± 0	Tidak ada aktivitas



Keterangan

1 = ekstrak n-heksan 1000 ppm

2 = ekstrak n-heksan 3000 ppm

3 = ekstrak n-heksan 5000 ppm

K+ = kontrol positif (colistin 10 µg)

K- = kontrol negatif (n-heksan)

**Gambar 3.** Diameter Zona Hambat Ekstrak N-Heksan *Centella asiatica* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* MDR (Dokumentasi Pribadi, 2023)



Hasil pengamatan uji antibakteri ekstrak n-heksan *Centella asiatica* menunjukkan bahwa tidak ada diameter zona hambat pada semua konsentrasi yang disajikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan *Centella asiatica* tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR. Hal ini berbeda pada penelitian sebelumnya Octora *et al.* (2022) menyatakan hasil uji antibakteri dari ekstraksi *Centella asiatica* dengan pelarut etanol 96% terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR menunjukkan adanya zona hambat. Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Menurut Tuna (2015), faktor kimia yang dapat memengaruhi aktivitas antibakteri dari suatu tanaman yaitu jenis senyawa kimia, jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi, dan jenis pelarut yang digunakan. Jenis pelarut berdasarkan tingkat kepolaran pelarut dalam penelitian akan mempengaruhi kandungan senyawa yang di ekstrak berdasarkan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014).

N-heksan merupakan pelarut non-polar yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat non-polar seperti steroid, terpenoid, karotenoid, dan triterpenoid (Sitepu *et al.*, 2022). Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksan *Centella asiatica* mengandung senyawa steroid yang merupakan golongan senyawa kolesterol (Xiong *et al.*, 2007). Kolesterol memiliki fungsi antara lain sebagai prekursor untuk banyak hormon, termasuk testosteron dan estrogen, menjaga cairan sel membran, dan berkontribusi terhadap pembentukan asam empedu yang membantu mencerna lemak (Permatasari *et al.*, 2021). Senyawa steroid yang terdapat dalam ekstrak n-heksan *Centella asiatica* tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR dikarenakan bukan senyawa golongan  $\beta$ -sitosterol. Senyawa  $\beta$ -sitosterol berfungsi sebagai antibakteri karena dapat menginaktivasi sistem

enzim bakteri dan merusak membran sitoplasma (Anwar *et al.*, 2021).

Pada kontrol perlakuan berupa konsentrasi ekstrak n-heksan *Centella asiatica* yaitu 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm. Pemilihan seri konsentrasi berdasarkan penelitian Sutrisno *et al.* (2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% *Centella asiatica* mempunyai aktivitas bakteristatik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 1000 ppm aktivitas bakterisidal pada konsentrasi 3000 ppm, dan 5000 ppm. Pada penelitian ini, seri konsentrasi tersebut tidak memiliki aktivitas antibakteri. Penyebab perbedaan hasil tersebut diantaranya jenis pelarut yang digunakan berbeda, perolehan bahan baku sampel, dan bakteri yang bukan varian *Multidrug resistance* (MDR).

Pada kontrol negatif n-heksan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, artinya bahwa zona hambat dari ekstrak *Centella asiatica* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* MDR bukan dikarenakan oleh pelarut kontrol negatif. Larutan n-heksan digunakan untuk melarutkan ekstrak dikarenakan ekstrak n-heksan tidak larut jika menggunakan larutan DMSO. Hal ini disebabkan karena perbedaan kepolaran antara DMSO yang bersifat polar sedangkan ekstrak n-heksan bersifat non polar.

Senyawa pada *Centella asiatica* yang mempunyai fungsi sebagai agen antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan terpenoid (Saranya *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki mekanisme kerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Nomer *et al.*, 2019). Mekanisme kerja terpenoid yaitu dengan merusak membran sel bakteri dan selanjutnya alkaloid yaitu dengan cara menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk utuh (Riyanto & Suhartati, 2019). Senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yaitu membentuk ikatan hidrogen dengan protein yang ada pada sel bakteri sehingga protein akan terdenaturasi dan metabolisme dari bakteri akan terganggu

(Mailoa *et al.*, 2014). Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri yaitu meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler dan koagulasi sitoplasma yang mengakibatkan lisis (Sufiriyanto & Indrajati, 2005).

Untuk dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* MDR diperlukan kombinasi antibiotik karena bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki mekanisme resistensi yang kuat. *Pseudomonas aeruginosa* telah terbukti memiliki resistensi intrinsik tingkat tinggi terhadap sebagian besar antibiotik melalui permeabilitas membran luar yang terbatas, sistem penghabisan yang memompa antibiotik keluar dari sel dan produksi enzim yang menonaktifkan antibiotik seperti  $\beta$ -laktamase (Breidenstein *et al.*, 2011). Selain tingginya tingkat resistensi antibiotik intrinsik *P. aeruginosa*, resistensi yang didapat sangat berkontribusi terhadap perkembangan strain yang resisten terhadap berbagai obat yaitu melalui mutasi gen dan akuisisi gen resisten (Pang *et al.*, 2019). Pada *P. aeruginosa*, mekanisme resistensi adaptif yang paling baik adalah pembentukan biofilm dan pembentukan sel persisten yang mengakibatkan infeksi persisten dan prognosis buruk pada pasien CF (Taylor *et al.*, 2014).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan :

- a. Ekstrak n-heksan *Centella asiatica* mengandung senyawa steroid yang telah diidentifikasi menggunakan uji tabung.
- b. Tidak terdapat aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 1000 ppm, 3000 ppm, dan 5000 ppm ekstrak n-heksan *Centella asiatica*.

## DAFTAR PUSTAKA

Aji, O. R., & Fiani, N. N. (2021). Detection of Coliform and *Escherichia coli* on Ice Cubes from Beverage Sellers around Campus 4 of Universitas Ahmad Dahlan. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(2), 222. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p05>

- Aliwu, I., Rorong, J. A., & Suryanto, E. (2020). SKRINING FITOKIMIA DAN UJI EFEK SEDATIF PELARUT DARI DAUN TAKOKAK (*Solanum Turvum Swartz*) PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR. *CHEMISTRY PROGRESS*, 13(1). <https://doi.org/10.35799/cp.13.1.2020.28795>
- Amalia, S., Wahdaningsih, S., & Untari, E. K. (2016). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI n-HEKSAN KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus Britton & Rose*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(2). <https://doi.org/10.33096/jffi.v1i2.191>
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253–257.
- Anggraeni, A., & Triajie, H. (2021). Uji Kemampuan Bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*) dalam Proses Biodegradasi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb), di Perairan Timur Kamal Kabupaten Bangkalan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 2(3), 176–185.
- Anwar, R., Aisyah, L. S., Lestari, F. P., Ilfani, D., Yun, Y. F., & Prestya, P. D. (2021). Senyawa Steroid dari Cocor Bebek (*Kalanchoe tomentosa*) sebagai Antibakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(2), 202–210.
- Arifianti, L., Oktarina, R. D., & Kusumawati, I. (2014). Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*, 2(1), 1–4.
- Armaleni, N. N., Nasir, N., & Agustien, A. (2019). Antagonis *Pseudomonas fluorescens* indogenous terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum*). *Journal of Biological Sciences*, 6(1), 119.
- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020). Ekstraksi minyak atsiri dari rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dengan pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 83–94.
- CDC. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* in Healthcare Settings. <http://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html>
- Depkes, R. I. (2000). Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta:

- Dewi, D. N., Susanto, A., & Khanifah, F. (2017). GAMBARAN EFEKTIFITAS AIR FERMENTASI BUAH MENKUDU MATANG (*Morinda citrifolia* L.) 13% TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*. *Jurnal Insan Cendekia*, 4(1).
- Diniatik, D. (2015). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus Burahol* (Bl.) Hook F. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1), 1–5.
- Hartati, H., & Karim, H. (2019). Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder klika kayu jawa (*Lannea coromandelica*). *Sainsmat: Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam*, 8(2), 19.
- Hasnaeni, H., & Wisdawati, W. (2019). Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 5(2), 175–182.
- Ikhsan, I. D. (2022). Inventarisasi Penggunaan Tumbuhan Masyarakat Suku Jawa Desa Kare dan Desa Ceremo Kecamatan Kare Kabupaten Madiun Berdasarkan Etnobotani. *Pharmed: Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 5(1), 8–17.
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8(2), 121–127.
- Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., & Djide, N. (2014). Effectiveness of tannins extract from leaf guava (*Psidium guajava* L) on the growth and damage of cell morphology *Escherichia coli*. *International Journal of Advanced Research*, 2(1), 908–914.
- Maulida, R., & Guntarti, A. (2015). Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.) Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Kandungan Total Antosianin.[Influence of black rice particle size (*Oryza Sativa* L.) against rendement extract and total content of antosianin]. *J Pharm*, 5(1), 9–16.
- Misna, M., & Diana, K. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 2(2), 138–144.
- Mulyadi, M., Wuryanti, W., & Sarjono, P. R. (2017). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 130–135. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.3.130-135>
- Murdiyansah, S., Rasmi, D. A. C., & Mertha, I. G. (2020). *Centella asiatica* Activities towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Growth. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(3), 499–506.
- Nomer, N., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 216–225.
- Octora, M., Permatasari, L., Hasbi, N., Sunarwidhi, A. L., & Dirja, B. T. (2022). *Centella asiatica* Extract as Antibacterial Agent against Multidrug Resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa*. *Azerbaijan Medical Journal*, 62(9), 5007–5015.
- Permatasari, S. N. I., Samsuri, S., & Kendran, A. A. S. (2021). THE INCREASE OF BLOOD CHOLESTEROL LEVELS IN WHITE RATS SUPPLEMENTED WITH CASSAVA YEAST. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 21–29. <https://doi.org/10.19087/imv.2021.10.1.21>
- Ramandey, J., & Bunei, P. (2021). Identifikasi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Tanaman Obat Bagi Masyarakat Suku Mee Di Distrik Tigi Timur Kabupaten Deiyai. *Jurnal FAPERTANAK: Jurnal Pertanian Dan Peternakan*, 6(1), 23–31.
- Reynolds, D., & Kollef, M. (2021). The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs*, 81(18), 2117–2131. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6>
- Riyanto, E. F., & Suhartati, R. (2019). Daya hambat ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L) terhadap bakteri perusak pangan. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 19(2), 218–225.
- Rozi, F., Abram, P. H., & Diah, A. W. M. (2017). Pengaruh Kombinasi dan Rasio Pelarut Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak dari Serabut Kelapa Sawit. *Jurnal Akademika Kimia*, 7(3), 146–151.
- Sagbo, I. J., Afolayan, A. J., & Bradley, G. (2017). Antioxidant, antibacterial and phytochemical properties of two

- medicinal plants against the wound infecting bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(9), 817–825. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.08.009>
- Sahri, A. J., & Rahmalia, W. (2019). Efek Pelarut Terhadap Spektra Absorpsi UV-Vis Kurkuminoid. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(1).
- Saranya, S., Nair, A. V., Prathapan, P., Neethu, A. S., & Kumar, N. S. (2017). Phytochemical analysis of *Centella asiatica* L. leaf extracts. *Int. J. Adv. Res*, 5(6), 1828–1832.
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melastoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), 105–114.
- Sitepu, N., Rahman, A. O., & Puspasari, A. (2022). EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KULIT NANAS (*Ananas Comosus*) N-HEKSANA TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 25923. *Journal of Medical Studies*, 2(1), 59–67.
- Sufiriyanto, S., & Indrajati, M. (2005). Aktivitas Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dan Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*. *Jurnal Biologi*, 11(15–23).
- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*, 5(1).
- Sunnah, I., Erwiyani, A. R., Aprilliani, M. S., Maryanti, M., & Pramana, G. A. (2021). Aktivitas Antihiperurisemia dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Sirup Ekstrak Labu Kuning (*Cucurbita maxima*). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 4(1).
- Suryanto, E., & Taroreh, M. R. I. (2019). Ultrasound-assisted extraction antioksidan serat pangan dari tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*, 12(2).
- Sutrisno, E., Adnyana, I. K., Sukandar, E. Y., Fidrianny, I., & Lestari, T. (2014). Kajian aktivitas penyembuhan luka dan antibakteri binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) serta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari pasien luka kaki diabetes. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisika*, 16, 78–82.
- Tuna, M. R. (2015). Uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Pharmakon*, 4(4).
- Warnis, M., Yoyon, P. B., & Marlina, D. (2023). Perbandingan Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Ekstrak Etil Asetat, dan Ekstrak n-Heksan Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research*, 1(1).
- Xiong, Q., Wilson, W. K., & Pang, J. (2007). The Liebermann–Burchard reaction: sulfonation, desaturation, and rearrangement of cholesterol in acid. *Lipids*, 42(1), 87–96.