

JURNAL SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CINCAU
HIJAU (*Cyclea barbata* Miers) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan
*Vibrio parahaemolyticus***

**Disusun oleh:
Ryan Febri Sutandio
NPM: 130801340**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017**

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN CINCAU HIJAU (*Cyclea barbata* Miers) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF GREEN GRASS JELLY LEAVES ETHANOL EXTRACT (*Cyclea barbata* Miers) TO *Staphylococcus aureus* AND *Vibrio parahaemolyticus*

Ryan Febri Sutandio¹, B. Boy Rahardjo Sidharta¹, L. M. Ekawati
Purwijantiningih¹

¹Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Jalan Babarsari no. 44, Yogyakarta 55281
ryanfebri881@gmail.com

ABSTRAK

Cincau hijau merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat terutama bagian daunnya. Daun cincau hijau mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang memiliki efek farmakologis dan salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian ini menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cincau hijau terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* dengan variasi besarnya konsentrasi ekstrak terhadap pelarut etanol. Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi selama lima hari. Rendemen ekstrak yang diperoleh adalah 6,4 %. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak etanol daun cincau hijau menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid. Aktivitas antibakteri diujikan menggunakan metode sumuran. Hasil yang diperoleh pada uji antibakteri menunjukkan ekstrak etanol daun cincau hijau memiliki kemampuan dalam menghambat kedua jenis bakteri. Ekstrak etanol daun cincau hijau dengan konsentrasi 80 % memiliki luas zona hambat yang paling besar jika dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak yang lain dibuktikan dengan adanya beda nyata secara statistik pada tingkat kepercayaan 95 %. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun cincau adalah sebesar 0,4 g/ml terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Ekstrak etanol daun cincau hijau mengandung flavonoid sebesar 70,73% (b/b) yang diujikan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan standar rutin pada panjang gelombang 510 nm.

Kata kunci: cincau hijau, ekstrak etanol, antibakteri, flavonoid

ABSTRACT

Green grass jelly is a plant that has many benefits especially the leaves. Green grass jelly leaves contain secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins that have pharmacological effects and one of them is antibacterial. This research examined the antibacterial activity of green grass jelly leaves against *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus* with variation of extract concentration on ethanol solvent. The extraction was performed using maceration method for five days. The yield of the extract was 6,4%. Phytochemical test result of green grass jelly leaves indicate that there were flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, and steroids. Antibacterial activity was tested using well diffusion method. The result obtained on the antibacterial test showed that green grass jelly ethanol extract has an ability to inhibit both types of bacteria. Green grass jelly leaves ethanol extract with 80% concentration had largest inhibition zone area compared with other extract concentrations proved by statistically significant different at 95% confidence level. Minimum inhibitory concentration of green grass jelly ethanol extract was 0,4 g/ml on growth of *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*. Green grass jelly ethanol extract contains flavonoids of 70,73% (w/w) tested by UV-Vis spectrophotometric with a quercetin standard at 510 nm wavelength.

Keywords: green grass jelly, ethanol extract, antibacteria, flavonoids

PENDAHULUAN

Infeksi adalah proses invasif oleh mikroorganisme dan berproliferasi di dalam tubuh yang menyebabkan sakit, mikroorganisme yang menyebabkan timbulnya infeksi ini adalah organisme patogenik (Smeltzer dan Brenda, 2002). Sudah selayaknya masalah infeksi mikrobial menjadi perhatian bagi para praktisi kesehatan agar di masa mendatang tidak menimbulkan masalah yang lebih rumit lagi. Perkembangan ilmu pengetahuan saat ini telah memacu banyaknya produsen untuk menciptakan antibakteri sebagai perlawanan terhadap bakteri yang bersifat patogen (Nugraheni dkk, 2012).

Kandungan senyawa aktif dalam tanaman tertentu merupakan bahan penting dalam produksi obat tradisional. Bahan aktif merupakan bahan yang ditujukan untuk menghasilkan khasiat farmakologi atau efek langsung lain dalam diagnosis, penyembuhan, peredaan, pengobatan atau pencegahan penyakit (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 2006). Tanaman obat

mampu mensintesis dan mengakumulasi beberapa metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida, tanin, minyak atsiri, dan senyawa aktif lainnya yang memiliki efek terapeutik, salah satunya sebagai antibiotik dan antibakteri (Ramproshad dkk., 2012). Senyawa antimikrobia diperlukan untuk menanggulangi penyakit infeksi yang semakin meningkat akibat semakin besarnya tingkat persebaran mikroorganisme dalam jangka waktu pendek. Infeksi tersebut disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, riketsia, dan protozoa (Nursidika dkk., 2014).

Secara umum kerja antibakteri adalah menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi (Pelczard dan Chan, 1998). Mikroorganisme kelompok bakteri yang menyebabkan infeksi terdiri dari dua kelompok utama yaitu bakteri Gram positif dan negatif. Contoh dari bakteri Gram positif adalah *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan infeksi supuratif pada hewan maupun manusia (Hermawan dkk., 2007), sedangkan contoh bakteri Gram negatif adalah *Vibrio parahaemolyticus* yang secara umum dikenal dapat menyebabkan penyakit gastroenteris (Bonang dkk., 1974).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) yang dikenal memiliki khasiat untuk mengobati beberapa macam penyakit yaitu penurunan panas dalam, penurunan tekanan darah tinggi, dan mengobati radang lambung (Ananta, 2000). Beberapa kandungan bioaktif yang terdapat dalam daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) ini antara lain alkaloid, saponin, dan flavonoid. Senyawa alkaloid dan saponin dalam dunia medis memiliki khasiat sebagai senyawa antibakteri (Aksara dkk., 2013). Namun, konsentrasi optimal daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) sebagai antibakteri belum diketahui secara pasti. Oleh karena itu, perlu digunakan variasi konsentrasi dalam ekstrak untuk mengetahui kisaran konsentrasi optimal ekstrak daun cincau (*Cyclea barbata*) sebagai antibakteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental ini dilaksanakan di Laboratorium Teknobiologi Industri dan Laboratorium Teknobiologi-Pangan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Uji kuantitatif flavonoid dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Agustus 2017. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan perlakuan variasi konsentrasi dan lima kali pengulangan pada setiap perlakuan yang diujikan pada *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Kontrol positif menggunakan ampisilin sedangkan, kontrol negatif menggunakan DMSO dan pelarut etanol.

Daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) yang masih muda berwarna hijau muda dengan diameter kurang lebih 5-6 cm diambil dengan sedikit sisa tangkai pada daun. Daun dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan hingga permukaan menjadi kering. Daun kemudian dirajang menjadi bagian yang lebih kecil menggunakan pisau kemudian daun cincau hijau dikeringkan menggunakan oven 50°C dan dilakukan pengamatan terhadap kadar air menggunakan *moisture balance*. Daun yang telah kering dihaluskan menggunakan *blender* hingga halus kemudian disaring menggunakan ayakan dengan *mesh 77* (Matheos dkk., 2014; Salamah dan Widayari, 2015; Yulianti, dkk., 2014 dengan modifikasi).

Serbuk daun cincau hijau sebanyak 100 gram direndam dengan pelarut tersebut dengan volume 500 ml (1:5) hingga serbuk daun terendam seluruhnya. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari dengan menggunakan *shaking incubator*. Larutan disaring untuk dilakukan remaserasi pada hari ketiga, kemudian filtrat yang dihasilkan digabungkan. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak. Proses penguapan disempurnakan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga terbentuk ekstrak kental (Smallwood, 1996 dengan modifikasi).

Uji kemurnian bakteri untuk mengidentifikasi bakteri uji meliputi pengamatan morfologi koloni pada medium agar petri secara *streak plate* dan agar

tegak, pengamatan morfologi sel dengan pengecatan Gram, uji sifat biokimia yang terdiri dari uji katalase, fermentasi karbohidrat, dan reduksi nitrat. Bakteri uji yang telah murni diperbanyak dengan cara diinokulasikan ke medium agar miring secara *streak*. Bakteri juga diinokulasikan ke medium cair untuk kultur bakteri guna uji antibakteri dan uji konsentrasi hambat minimum (KHM) (Cappuccino dan Sherman, 2011).

Identifikasi fitokimia ekstrak daun cincau hijau antara lain uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid atau steroid. Uji alkaloid dengan cara penambahan kloroform dan amoniak, kemudian ditambah H_2SO_4 pada fraksi kloroform dan direaksikan dengan pereaksi Dragendorff, Meyer, dan Wagner (Ayoola dkk., 2008). Uji flavonoid dengan penambahan amoniak dan H_2SO_4 lalu dihomogenisasi (Edeoga dkk., 2005). Uji tanin dengan penambahan akuades dan $FeCl_3$ (Zohra dkk., 2012), uji saponin dengan penambahan akuades, kemudian dikocok (Matheos dkk., 2014), dan uji triterpenoid atau steroid dengan penambahan pereaksi *Lieberman Burchard* yang terdiri dari asetat anhidrat dan H_2SO_4 (Sangi dkk., 2012). Uji kuantitatif flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan standar quarcetin pada panjang gelombang 510 nm (Wahyulianingsih dkk., 2012).

Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran dengan cara biakan bakteri uji diinokulasikan pada medium NA petri sebanyak 100 μ l secara *spread plate*. Enam buah sumuran dibuat dengan menggunakan perforator nomor 3. Ekstrak kental cincau hijau dengan konsentrasi 20, 40, 60, dan 80% ditambahkan pada masing-masing satu sumuran yang berbeda sebanyak 50 μ l. Kontrol negatif DMSO dan etanol 70% diambil sebanyak 50 μ l kemudian diletakkan pada dua sumuran yang berbeda. Kertas cakram ampisilin diletakkan pada medium sebagai kontrol positif, setelah itu biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk di sekeliling sumuran dan kertas cakram diamati, kemudian diukur (Jayakumari dkk., 2014; Handayani, dkk., 2012 dengan modifikasi). Luas zona hambat dihitung dengan rumus:

$$L = 3,14 \times \left[\left(\frac{d_2}{2} \right)^2 - \left(\frac{d_1}{2} \right)^2 \right]$$

Keterangan:

d_2 = rata-rata jumlah diameter terpanjang dan terpendek

d_1 = diameter sumuran (0,6 cm)

Lima gelas timbang diisi ekstrak 80, 40, 20, 10, dan 5 g/ml. Dua gelas timbang diisi dengan ampisilin (100 mg/ml) sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Tabung reaksi diisi 1 ml medium NB dan ditambah 100 μ l ekstrak, ampisilin, dan DMSO, kemudian dihomogenisasi. Biakan bakteri (setara dengan Mc Farland 0,5) sebanyak 10 μ l diinokulasikan ke tiap tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-20 jam. Medium yang telah diinkubasi diambil sebanyak 100 μ l, selanjutnya diinokulasikan pada medium NA secara *spread plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-20 jam. Ada atau tidaknya koloni bakteri yang tumbuh diamati dan jumlah yang tumbuh dihitung (Wiegand dkk., 2008; Jayakumari dkk, 2014; Andrews, 2006 dengan modifikasi).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANAVA dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%. Apabila hasil ANAVA menunjukkan hasil yang beda nyata, analisis dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui beda nyata antarperlakuan. Analisis ANAVA dan DMRT menggunakan program SPSS 18.0 (Korompis dkk., 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pembuatan ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) diawali dengan pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam daun (Endrasari dkk., 2011). Proses pengeringan dilakukan setelah sebelumnya daun yang akan digunakan terlebih dahulu diperkecil ukurannya dengan cara dirajang kecil-kecil. Kegiatan perajangan ini bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan pada daun cincau hijau. Suhu pada saat proses pengeringan sangat mempengaruhi waktu pengeringan, semakin tinggi suhu

pengeringan akan berdampak pada semakin cepatnya proses transpirasi yang terjadi pada sampel (Winangsih dkk, 2013). Pembuatan serbuk daun cincau hijau dilakukan menggunakan *blender* yang dilakukan untuk mengecilkan ukuran dari sampel sehingga akan memperbesar luas permukaan pada sampel. Luas permukaan yang besar pada sampel akan turut memperbesar kontak permukaan sampel dengan pelarut yang digunakan sehingga akan mengoptimalkan proses ekstraksi (Diniatik dkk., 2016).

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan waktu maserasi yang digunakan secara keseluruhan adalah 5 hari. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi ini juga akan menghindari kerusakan bahan alam dan rusaknya senyawa-senyawa termolabil dalam bahan. Proses pengadukan secara terus menerus ini dilakukan dengan menggunakan *Shaking incubator* dengan menggunakan suhu ruang yaitu suhu 27°C. Proses ekstraksi dilakukan dengan perbandingan serbuk daun dengan pelarut adalah 1:5. Remaserasi dilakukan untuk meningkatkan efektivitas ekstraksi. Penggantian pelarut dalam remaserasi ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kejenuhan pada pelarut. Adanya kejenuhan dalam pelarut akan menghambat proses larutnya senyawa aktif dalam bahan (Febriani dkk., 2015).

Proses selanjutnya adalah pembuatan ekstrak dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak hasil penguapan *rotary evaporator* kemudian dipanaskan kembali dengan menggunakan *oven* yang bertujuan untuk menyempurnakan proses penguapan pelarut pada ekstrak sehingga akan didapat hasil ekstrak yang lebih kental (Salamah dan Widyasari, 2015). Hasil akhir ekstrak daun cincau hijau ini diperoleh ekstrak kental yang berwarna hitam. Berat ekstrak total yang didapatkan setelah proses ekstraksi adalah sebesar 6,45 gram (6,4%). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi antara lain adalah metode ekstraksi yang digunakan, jenis dan konsentrasi pelarut (Senja dkk., 2014).

Uji fitokimia ekstrak daun cincau hijau dilakukan secara kualitatif terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, serta triterpenoid dan steroid. Seluruh ekstrak daun cincau hijau bereaksi positif terhadap reagen Dragendorff yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan warna jingga. Reaksi

positif terhadap reagen Meyer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan warna coklat. Terbentuknya endapan warna putih pada ekstrak merupakan reaksi positif uji alkaloid terhadap reagen Wagner. Hasil pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi merah. Pengujian tanin menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya warna hitam pada larutan ekstrak. Pengujian saponin menunjukkan hasil positif dengan adanya busa yang terbentuk pada ekstrak. Hasil pengujian uji triterpenoid atau steroid menunjukkan warna hijau yang berarti positif terhadap senyawa steroid.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cincau hijau terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar sumuran. Kontrol positif yang digunakan adalah ampisilin dan kontrol negatif yang digunakan adalah etanol dan DMSO. Hasil analisis uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cincau hijau terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Luas zona hambat ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*

Perlakuan	Luas Zona Hambat terhadap Bakteri Uji (cm ²)		Rata-rata
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	
Ekstrak etanol 20%	0,192	0,305	0,249 ^{a,b}
Ekstrak etanol 40%	0,284	0,327	0,306 ^{a,b}
Ekstrak etanol 60%	0,482	0,433	0,458 ^b
Ekstrak etanol 80%	0,755	1,027	0,891 ^c
Kontrol positif ampisilin	1,816	1,311	1,563 ^d
Kontrol negatif DMSO	0	0	0 ^a
Kontrol negatif etanol	0,005	0,064	0,035 ^a
Rata-rata	0,505 ^x	0,495 ^x	

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun cincau hijau menunjukkan bila terdapat perbedaan luas zona hambat antara tiga konsentrasi ekstrak 20, 40, dan 60%, dengan konsentrasi ekstrak 80%. Hasil yang diperoleh menunjukkan jika variasi konsentrasi ekstrak 80% menjadi variasi konsentrasi yang memiliki luas zona hambat yang paling besar diantara variasi konsentrasi yang lain. Hasil ini

didukung oleh ANAVA yang menunjukkan bahwa minimal ada satu perlakuan yang memiliki beda nyata dengan perlakuan lainnya. Berdasarkan uji DMRT diketahui jika perlakuan variasi konsentrasi 80% memiliki perbedaan signifikan bila dibandingkan dengan perlakuan variasi konsentrasi ekstrak 20, 40, dan 60%.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cincau hijau terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* memiliki hasil yang mirip dengan pengujian oleh Asmardi dkk (2014). Hasil penelitian terdahulu yaitu semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak akan meningkatkan daya hambat terhadap bakteri. Peningkatan ini disebabkan oleh senyawa antibakteri yang terkandung dalam tumbuhan akan semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak (Pelczar dan Chan, 1998).

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian aktivitas antibakteri diketahui jika pelarut DMSO yang berperan sebagai kontrol negatif tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening pada cawan petri. Hal ini menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun cincau hijau tidak terpengaruh oleh kemampuan antibakteri dari dimetil sulfoksida (DMSO).

Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cincau ini adalah ampisilin. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri diketahui jika ampisilin memiliki luas zona hambat sebesar 1,563 cm³, hasil yang didapatkan oleh ampisilin ini merupakan luas zona hambat yang paling besar jika dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi variasi maupun dengan kontrol negatif. Uji DMRT yang dilakukan menunjukkan jika aktivitas antibakteri pada kontrol positif ampisilin memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan perlakuan lainnya.

Dari hasil yang diperoleh dapat diketahui jika luas zona hambat yang terdapat bakteri Gram positif lebih besar dibandingkan dengan luas zona hambat yang terdapat dalam bakteri dengan Gram negatif, meskipun kedua bakteri ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik adanya perbedaan hambatan pertumbuhan pada bakteri Gram positif dan negatif dikarenakan adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel. Pada bakteri Gram positif terdiri atas

lapisan peptidoglikan yang lebih tebal, asam teikoat, dan sedikit lipid, sedangkan pada bakteri Gram negatif dilapisi membran luar yang terdapat protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida (Widyasanti dkk., 2015).

Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka akan meningkatkan luas zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jawa (2016), yang menyatakan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi ekstrak, maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar atau luas. Peningkatan konsentrasi ini mempengaruhi daya kerja zat anti bakteri terhadap pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan oleh kadar senyawa aktif yang terkandung dalam konsentrasi tinggi lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi yang rendah.

Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak daun cincau hijau 80% (0,8 g/ml), 40% (0,4 g/ml), 20% (0,2 g/ml), 10% (0,1 g/ml), dan 5% (0,05 g/ml). Ampisilin yang digunakan memiliki konsentrasi 100 mg/ml sebagai kontrol positif sedangkan, kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO. Hasil pengujian KHM dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran KHM ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*

Perlakuan	Jumlah Koloni	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Ekstrak 0,8 g/ml	0	0
Ekstrak 0,4 g/ml	0	0
Ekstrak 0,2 g/ml	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>
Ekstrak 0,1 g/ml	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>
Ekstrak 0,05 g/ml	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>
Kontrol positif	0	0
Kontrol negatif	<i>Spreader</i>	<i>Spreader</i>

KHM ekstrak ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang mampu menahan pertumbuhan bakteri ditandai dengan tidak adanya koloni bakteri yang tumbuh. Berdasarkan hasil pengujian diketahui jika konsentrasi hambat minimum ekstrak daun cincau hijau terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* adalah 0,4 g/ml (40%). Adanya kesamaan dalam nilai

konsentrasi hambat minimum antara kedua bakteri ini sesuai dengan pengujian luas zona hambat yang telah dilakukan. Pada pengujian luas zona hambat diketahui jika luas zona hambat pada *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahemolyticus* tidak menunjukkan beda nyata secara statistik.

Uji kuantitatif pada penelitian ini dilakukan terhadap senyawa flavonoid. Pengujian flavonoid dilakukan dengan dasar flavonoid merupakan salah satu zat aktif yang dominan yang dimiliki oleh daun cincau hijau (Anwar dan Triasmoro, 2016). Pengujian ini dilakukan melalui metode spektrofotometri dengan instrumen utama spektrofotometer UV-Vis dengan standar yang digunakan adalah quarcetin pada panjang gelombang 510 nm.

Hasil pengujian secara kuantitatif senyawa flavonoid diperoleh hasil bahwa kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun cincau hijau yaitu 70,73% (b/b) terhadap rutin ekuivalen. Hasil ini menunjukkan bahwa kandungan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun cincau hijau merupakan senyawa metabolit sekunder yang cukup dominan. Menurut Neldawati dkk (2013), kadar flavonoid dan senyawa fenolik lain yang ada di dalam tanaman berbeda-beda di antara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan antara lain suhu, sinar ultraviolet, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar karbondioksida.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam kegiatan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* dengan adanya perlakuan variasi konsentrasi dapat disimpulkan bahwa: 1) Ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada kedua bakteri uji, 2) Ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) yang sama pada bakteri Gram negatif dan Gram positif yaitu sebesar 0,4 g/ml.

Saran yang diajukan untuk penelitian yang akan dilakukan selanjutnya terkait dengan aktivitas antibakteri daun cincau hijau antara lain: 1) Diperlukan pengujian secara kuantitatif senyawa flavonoid pada daun cincau hijau yang tumbuh di tempat dan kondisi yang berbeda untuk mengetahui pengaruh tempat tumbuh cincau hijau terhadap jumlah flavonoid, 2) Diperlukan pengujian daya antibakteri ekstrak daun cincau hijau terhadap jenis bakteri lain penyebab penyakit gastroenteritis seperti *Bacillus cereus*, *Shigella*, atau *Escherichia coli*, 3) Diperlukan pengembangan lebih lanjut ekstrak daun cincau hijau menjadi produk kesehatan yang lebih aplikatif bagi masyarakat luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aksara, R., Weny, J., dan Alio, M. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Magnifera indica* L.). *Jurnal Entropi* vol VIII(1):1-6.
- Ananta, E. 2000. Pengaruh ekstrak cincau hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap proliferasi alur sel kanker k-265 dan hela. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Andrews, J. M. 2006. *Determination of Minimum Inhibitory Concentrations*. Department of Microbiology, City Hospital NHS Trust, Birmingham. Halaman 4-6.
- Anwar, K dan Triyasmoro, L. 2016. Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience* vol 3(1):83-92.
- Asmardi, A., Mustika, R., dan Fitmawati. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak daun *Cyclea barbata* (L) Miers. terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *JOM FMIPA* 1(2):1-9
- Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Bello, A. A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., dan Atangbayla, T. O. 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7(3):1019-1024.
- Bonang G., Lintong, M., dan Santoso, U. S. 1974. The isolation and susceptibility to various antimicrobial agents of *Vibrio parahaemolyticus* from acute gastroenteritis cases and from seafood in Jakarta. *Journal of Microbiology Methods* 36:215-225.

- Cappuccino, J dan Sherman, N. 2011. *Microbiology a laboratory Manual Ninth Edition*. Pearson Benjamin Cumming, San Fransisco. Halaman 23-26, 69, 71, 121, 134, 191-191, dan 195.
- Diniatik, Suparman, Anggraeni, D., dan Amar, I. 2016. Uji antioksidan ekstrak etanol daun dan kulit batang manggis *Garcinia mangostana* L. *Jurnal Pharmacia* 6(1):21-30.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2006. *Instruksi Kerja Penetapan Kadar Pewarna Rhodamin B Dalam Makanan*. Badan POM RI, Jakarta. Halaman 56-61.
- Edeoga, H. O., Okwu, D. E., dan Mbaebie, B. O. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 4(7):685-688.
- Endrasari, R., Qanytah, dan Prayudi, B. 2011. Pengaruh pengeringan terhadap simplisia temulawak di kecamatan Tembalang Kota Semarang. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Tengah, Semarang. Halaman 435-443.
- Febriani, D., Mulyanti, D., dan Rismawati, E. 2015. Karakteristik simplisia dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn). *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan dan Farmasi)* 2:475-480.
- Handayani, N., Wartono, M. W., Murti, R. K. 2012. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia* 8(1):57-69.
- Hermawan, A., Eliyani, H., dan Tyasningsih, W. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *JOM FMIPA* vol 2(1):1-13.
- Jawa, T. 2016. Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap pertumbuhan Bakteri Pembentuk Karies Gigi *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Jayakumari, S., Ravichandiran, V., dan Rao, N. 2014. Antimicrobial activity of *Pisonia grandis* R. Br leaf extract and its fraction. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3(2):2290-2302.
- Korompis, G. E. C., Danes, V. R., dan Sumampouw. 2010. Uji *in vitro* aktivitas antibakteri dari *Lansium domesticum* Correa (Langsat). *Chem Prog* 3(1):13-19.
- Matheos, H., Runtuwene, M., dan Sudewi, S. 2014. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kayu bulan (*Pisonia alba*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 3(3):235-246.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics* 2(2):76-83.

- Nugraheni, R, Suhartono, dan Winarni, S. 2012. Infeksi Nosokomial di RSUD Setjonegoro Kabupaten Wonosobo. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia* Vol 11(1):1-7.
- Nursidika, P., Saptarini, O., dan Rafiqua, N. 2014. Aktivitas antimikrobia fraksi ekstrak etanol buah pinang (*Areca catechi* L) pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *MKB* 46(2):94-99.
- Pelczar, M dan Chan, E. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi II*. UI Press, Jakarta. Halaman 324-332.
- Ramproshad, S., Afroz, T., Mondal, B., Khan, R., dan Ahmed, S. 2012. Screening of phytochemical and pharmacological activities of leaves of medicinal plant *Plumeria rubra*. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry* 2(4):1001-1007.
- Salamah, N dan Widayari, E. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Jurnal Pharmacia* 5(1):25-34.
- Sangi, M., Momuat, L. I., dan Kumaunang. 2012. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren. *Jurnal Ilmiah Sains* 12(2):127-134.
- Senja, R. Y., Issusilaningtyas, E., Nugroho, A. K., dan Setyowati, E. P. 2014. Perbandingan metode ekstraksi dan variasi pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata f. rubra*). *Traditional Medicine Journal* 19(1):43-48.
- Smallwood, I. M. 1996. *Handbook of Organic Solvent properties*. John Wiley and Sons inc., New York. Halaman 116-119.
- Smeltzer, C dan Brenda, B. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner dan Suddarth*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Halaman 231.
- Wahyulianingsih, Handayani, S., dan Malik, A. 2012. Penetapan kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 3(2):1-7.
- Widiasanti, A., Hajar, S., dan Rohdiana, D. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak teh putih terhadap bakteri Gram positif dan negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 18(1):55-60.
- Wiegand, I., Hilpert, K, dan Hancock, R. E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols* 3(2):163-175.
- Winangsih, Prihastanti, E., Parman, S. 2013. Pengaruh metode pengeringan terhadap kualitas simplisia lempuyang (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* vol XXI(1):19-26.
- Yulianti, D., Susilo, B., dan Yulianingsih, R. 2014. Pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap sifat fisika-kimia ekstrak daun stevia

(*Stevia rebaudiana* Bertoni M.) dengan metode *microwave assisted extraction* (Mae). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* 2(1):35-41.

Zohra, S. F., Meriem, B., Samira, S., dan Muneer, A. 2012. Phytochemical screening and identification of some compounds from Mallow. *Journal of Natural Product and Plant Resources* 2(4):512-516.

