

Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Muchson Arroseyid¹, Sutaryono¹, Resia Muliana^{1*}

¹Program Studi D3 Farmasi, STIKES Muhammadiyah Klaten, Indonesia

*Email: resiamuliana@gmail.com

Abstract

Infection is a disease caused by bacteria. For Example of bacteria that can cause infection is bacteria *Staphylococcus aureus*. The development of traditional medicines derived from nature received the attention of people and the government. Green cincau leaves (*Cyclea barbata* Miers) is one of plants containing compound as antibacterial. The purpose of this study was to determine the effectiveness of the ethanol extract of green cincau leaves (*Cyclea barbata* Miers) and to determine the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) on the growth of *Staphylococcus aureus* bacter. This research is a type of experimental research. Green cincau leaves (*Cyclea barbata* Miers) were extracted using maceration method with 96% ethanol obtained by rendering of 4.32% b/b. Microbiology tests use the paper disc diffusion method. Green cincau leaf extract (*Cyclea barbata* Miers) was made into 3 concentrations namely 25%, 50%, 75% and negative controls using aquadestilata. The results of the research on ethanol extract of green cincau leaves (*Cyclea barbata* Miers) effectively inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The 50% concentration has an average of 13.20 mm. The concentration of 75% has an average of 15.99 mm. Statistical results show differences in all concentrations with negative aquadestilata controls.

Keywords: *Cyclea barbata* Miers, *Staphylococcus aureus*, Inhibition zone.

Abstrak

Infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Contoh bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengembangan obat-obat tradisional berasal dari alam mendapat perhatian dari pemerintah maupun masyarakat. Daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers). Daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% diperoleh rendamen sebesar 4,32% b/b. Uji mikrobiologi menggunakan metode difusi cakram kertas. Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) dibuat menjadi 3 konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75% dan kontrol negatif menggunakan aquadestilata. Hasil penelitian ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan diperoleh rata-rata diameter zona hambat ditimbulkan pada konsentrasi 25% memiliki rata-rata 11,12 mm. Konsentrasi 50% memiliki rata-rata 13,20 mm. Konsentrasi 75% memiliki rata-rata 15,99 mm. Hasil statistik menunjukkan adanya perbedaan disemua konsentrasi dengan kontrol negatif aquadestilata.

Kata Kunci: *Cyclea barbata* Miers, *Staphylococcus aureus*, Zona hambat.

1. PENDAHULUAN

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun cincau hijau (*Cyclea barbata* L.Miers) yang dikenal memiliki khasiat untuk mengobati beberapa macam penyakit yaitu penurunan panas, penurunan tekanan darah tinggi, dan mengobati peradangan (Ananta, 2000)..

Bakteri dapat menyebabkan infeksi salah satunya adalah *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini mengujiaktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun cincau hijau terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil uji fitokimia ekstrak daun cincau hijau menunjukkan terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid. Dan diuji antibakteri menunjukkan kemampuan dalam menghambat kedua jenis bakteri. Hasil zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang paling tinggi 80% menghasilkan diameter 7,55 mm. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif terhadap flavonoid dengan hasil kadar flavonoid 70,73 % (b/b). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi adalah metode ekstraksi yang digunakan, dan konsentrasi pelarut (Sutandio, 2017).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi peradangan dan kelainan pada kulit, berupa infeksi bernanah dan keracunan pada manusia (Radji, 2010). *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan diare dan sering menimbulkan penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses, pneumonia, endokarditis, dan septicemia (Setiabudy & Gan, 2008).

Sebagai antibakteri, kandungan metabolit sekunder pada daun cincau hijau berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian pada kemampuan ekstrak etanol 96%, pemilihan pelarut menurut (Harbone, 1987) karena pelarut etanol 96% bersifat polar dibandingkan etanol yang lain, pelarut etanol 96% lebih murni mampu melarutkan hampir seluruh jenis metabolit sekunder yang terkandung dapat mengikat senyawa dengan baik dan efektif tanpa merusak senyawa tersebut serta aman digunakan. Daun cincau

hijau (*Cyclea barbata* Miers) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Tujuannya untuk mengetahui pada konsentrasi berapakah ekstrak daun cincau hijau memberi zona hambat yang paling efektif, dan dilakukan dengan metode maserasi. Pemilihan metode ekstraksi dengan menggunakan maserasi karena cara pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana, dapat digunakan untuk zat yang tidak tahan panas sehingga menghindari kerusakan senyawa (Adrian, 2000)

2. METODE

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental. Untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu. Ciri khusus penelitian eksperimental adalah percobaan atau trial (Notoatmodjo, 2002).

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Muhammadiyah Klaten dan determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan. Waktu Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018-Juli 2019.

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun cincau hijau, etanol 96%, bakteri *Staphylococcus aureus*, disk blank, Media NAP, aquadestilata.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Ose steril atau kapas lidi steril, cawan petri steril, oven, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pinset, inkubator, aluminium foil, waterbath, penggaris, pipet tetes, sarung tangan, masker, timbangan digital, seperangkat alat maserasi, blender, kertas saring, pisau, cawan porselin, batang pengaduk, corong gelas, seperangkat alat gelas

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan ekstrak.

Daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) dengan cara maserasi (Ansel, 1989), daun cincau hijausegar dicuci bersih dengan air

mengalirtujuannya untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun, kemudian ditimbang sebanyak 500 gram lalu daun cincau hijau dicuci, dirajang kemudian diblender, daun cincau hijau yang diekstraksi dengan metode maserasi direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% dalam wadah yang tertutup rapat dan diaduk setiap 24 jam. Larutan direndam selama 5 hari pada suhu ruang (20°C-25°C) dengan diaduk satu kali setiap 24 jam, kemudian larutan difiltrasi dengan kain flanel, sehingga diperoleh filtrat dan ditampung di dalam *beaker glass* ditutup dengan alumunium foil. Filtrat diuapkan diatas penangas air menggunakan cawan porselin hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Uji mikrobiologi

Sterilisasi alat

Alat berupa cawan petri, kapas lidi, dan tabung reaksi disterilkan dengan pemanasan kering. Alat yang hendak digunakan tersebut dicuci terlebih dahulu dengan sabun dan dibilas dengan air mengalir setelah itu keringkan lalu dibungkus dengan kertas atau alumunium foil lalu dimasukkan dalam oven dengan suhu 140°C-170°C selama 1-2 jam (Hasdinah, 2012).

Penyiapan media NAP (*Nutrient Agar Plate*). Media agar pada penelitian ini menggunakan media NAP (*Nutrient Agar Plate*) untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. *Nutrient agarplate* (NAP) dituang sebanyak 15 ml setiap cawan petri steril.

Setelah itu disterilkan dengan autoklav pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian keluarkandan dibiakan memadat (Jawetz dkk, 2012).

3. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri yang akan diuji diambil 1 ose bakteri dan biakan murni *Staphylococcus aureus* disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl 0,9% steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Mpila dkk, 2012).

4. Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) metode Cakram Kertas :

Sebanyak 12 cakram kertas steril yang telah disiapkan, diantaranya merupakan kontrol negatif. 12 cakram kertas steril direndam selama 5 menit dalam ekstrak

etanol 96% daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75% dan kontrol negatif berupa aquadest masing-masing sebanyak 3 cakram kertas steril.

Penyiapan seri konsentrasi (Asmardi dkk, 2014) dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 1. Penyiapan Seri Konsentrasi

Konsentrasi (b/v)	Ekstrak daun cincau hijau	Air suling
25%	1,25 gram	
50%	2,50 gram	Ad 5 ml
75%	3,75 gram	

Cakram kertas yang telah direndam selama 5 menit pada masing-masing konsentrasi kemudian diambil dengan pinset dan diletakkan sambil ditekan pada permukaan media NAP yang telah diinokulasi *Staphylococcus aureus*. Setiap media *Nutrient Agar* diletakkan 4 macam kertas saring dengan variasi konsentrasi ekstrak. Biakan perlakuan dinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati zona hambat yang berbentuk pada media NAP yaitu berupa daerah bening sekitar cakram kertas, setelah diinkubasi selama 24 jam. Dilakukan pengukuran diameter zona bening atau zona hambat untuk setiap konsentrasi. Pengukuran zona hambat dilakukan sebanyak 2 kali pada sisi horizontal dan vertikal, lalu dijumlahkan kemudian dikurangi ukuran diameter *disk blank* dan dibagi 2 (Santosa dkk, 2013).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil

1. Determinasi tanaman

Daun cincau hijau diperoleh dari Rumah Bapak Teguh di Desa Manjung, Kecamatan Ngawen, Kabupaten Klaten. Untuk mengetahui keaslian dan kebenaran tanaman dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan. Hasil determinasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers).

2. Hasil Ekstraksi Daun Cincau Hijau.

Ekstraksi daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) segar dilakukan dengan

metode maserasi selama 5 hari menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml. Dari 500 gram daun cincau hijau yang diekstraksi diperoleh sebanyak 21,6 gram. Ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) diperoleh berupa ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dan berbau khas daun. Dari hasil maserasi didapatkan rendamen ekstrak daun cincau hijau sebesar 4,32%^{b/b}.

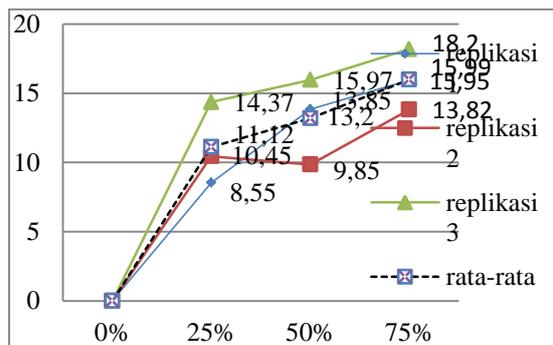
3. Hasil Uji Efektivitas Antibakteri.

Pengujian mikrobiologi untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75% dan aquadestilata sebagai kontrol negatif.

Tabel 2. Uji Efektivitas Antibakteri

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)			
	Kelompok kontrol	Kelompok perlakuan 25%	Kelompok perlakuan 50%	Kelompok perlakuan 75%
I	0	8,5	13,5	15,95
II	0	10,45	9,8	13,82
III	0	14,37	15,97	18,2
\bar{x}	0	11,12	13,2	15,97
SD	0	2,9	3,1	2,1

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan adanya daya hambat di sekitar cakram. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.



Gambar 1. Daya Hambat Bakteri

Dari hasil tersebut ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan ekstrak daun cincau hijau pada konsentrasi 75%. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) semakin besar pula diameter hambat yang dihasilkan.

4. Daya Hambat Daun Cincau Hijau.

Besar daya hambat yang dihasilkan dari penelitian uji mikrobiologi pada tiap konsentrasi ekstrak daun cincau hijau konsentrasi 25%, 50%, 75% dianalisis dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* yang sebelumnya dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Homogeneity of variant*. Dari uji normalitas diperoleh nilai signifikansi 0,651 > 0,05 yang berarti data tersebut terdistribusi normal. Dan hasil pengujian homogenitas diperoleh nilai signifikansi 0,142 > 0,05 yang berarti homogeny, dilanjutkan dengan Uji *One way ANOVA*. Diketahui nilai signifikansi 0,000 < 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter hambat dari ketiga konsentrasi ekstrak daun cincau hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat perbedaan yang bermakna, dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc LSD (Least Significance Difference)* bahwa ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) konsentrasi 25% terhadap konsentrasi 50% atau sebaliknya tidak ada perbedaan yang bermakna. Konsentrasi 25% terhadap konsentrasi 75% atau

sebaliknya memiliki perbedaan yang bermakna. Konsentrasi 50% terhadap konsentrasi 75% atau sebaliknya tidak ada perbedaan yang bermakna, dan pada kontrol negatif (Aquadest) terhadap konsentrasi 25%, 50%, dan 75% atau sebaliknya memiliki perbedaan yang bermakna.

b. Pembahasan

Determinasi tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) diperlukan untuk menegaskan bahwa tanaman yang digunakan asli dan benar-benar tanaman daun cincau hijau. Determinasi juga dimaksudkan untuk menghindari kesalahan penggunaan bahan yang dapat mengakibatkan perubahan hasil yang diperoleh. Hasil determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan menegaskan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini termasuk *family Menispermaceae*, genus *Cyclea*, dan Spesies *Cyclea barbata* Miers.

Pada ekstraksi daun cincau hijau Daun cincau hijau segar dicuci menggunakan air mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Daun yang telah dicuci ditiriskan dan diperkecil ukurannya dengan menggunakan blender, tujuannya adalah untuk memperbesar luas permukaan kontak antara daun cincau hijau dengan cairan penyari. Pemilihan metode maserasi karena memiliki keuntungan cara pengerjaan dan alat yang digunakan sederhana dan dapat digunakan untuk zat yang tidak tahan panas.

Pada proses ini dilakukan pengadukan dan penggojokan yang bertujuan agar dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan didalam cairan karena dalam keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Radji, 2010).

Hasil ekstrak dari daun cincau hijau tersebut ekstrak kental ini berwarna hijau kehitaman dan bau khas daun. Hasil tersebut sesuai dengan literatur yang menyatakan ekstrak kental daun cincau hijau berwarna hijau kehitaman (Sutandio, 2017). Hasil ekstraksi daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) yang diperoleh sebanyak 21,6 gram dan dari hasil maserasi didapatkan rendamen

ekstrak daun cincau hijau sebesar 4,32%^{b/b}. Standar rendamen ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) sebesar 6,4%^{b/b}. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi standar ekstraksi antara lain adalah konsentrasi dan pelarut (Sutandio, 2017).

Pada uji efekstifitas ekstrak etanol daun cincau menggunakan metode difusi cakram kertas. Konsentrasi yang digunakan dibuat dari campuran ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) dengan Aquadestilata. Pemilihan aquadestilata sebagai pelarut karena tidak memiliki sifat antibakteri sehingga tidak mengganggu uji mikrobiologi, dan polaritasnya dimana senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang bersifat polar akan mudah larut saat pencampuran. Pada pengujian ini terbukti bahwa daun cincau hijau memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Area jernih disekitar cakram menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme (Pratiwi, 2007).

Dari hasil tersebut yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada ekstrak daun cincau hijau pada konsentrasi 75%. Pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) semakin besar pula diameter hambat yang dihasilkan.

Efektivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya konsentrasi ekstrak (Jawetz, 2007). Berdasarkan hasil penelitian pada variasi konsentrasi 25%, 50%, dan 75% menimbulkan efek antibakteri, hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut memiliki kandungan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kandungan ini antara lain flavonoid, saponin, dan alkaloid (Asmardi dkk, 2014) senyawa tersebut diketahui memiliki efek sebagai antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina dkk, 2008).

Pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terletak pada ekstrak dengan konsentrasi 25% yaitu rata-rata diameter hambat sebesar 11,12 mm. Perbedaan kemampuan daya hambat yang dihasilkan

pada pengujian efektivitas mikrobiologi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suhu, kepadatan populasi bakteri, dan diameter cakram serta banyaknya resapan zat uji disk.

Pada penelitian masih ada keterbatasan dari jalannya penelitian yaitu dengan proses penguapan menggunakan waterbath yang melibatkan suhu tinggi dan waktu yang lama. Hal ini dimungkinkan ada zat yang hilang atau rusak selama proses pemanasan.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian tentang faktor- Ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 25% dengan ($\bar{x} \pm SD$) nya ($11,12 \pm 2,967$).

REFERENSI

- Adrian, P. 2000. *Analisis Ekstraktif Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian. Universitas Negeri Andalas.
- Ananta E. 2000. *Pengaruh Ekstrak Cincau Hijau (Cyclea barbata L. Miers) Terhadap Poliferasi Alur Sel Kanker k-562 dan Hela*. Skripsi. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- 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.
- Hasdinah, H.R. 2012. *Mikrobiologi Cetakan I*. Nuha Medika. Yogyakarta.
- Jawetz, E., J.L. Melnick., E.A. Eldeberg. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXV*. EGC. Jakarta
- Juliantina F., Dewa A.C.M., Bunga N., Titis N dan Endrawati T.B. 2008. *Manfaat Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bacterial Terhadap Gram Positif dan Gram Negative*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Mpila D.A., Fatimawali, W.I Wiyono. 2012. *Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (Coleusatropurpurseeus L Benth) terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli, dan Pseudomontas aeruginosa secara in vitro*. Jurnal Fakultas MIPA UNSART: Medan.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC : Jakarta.
- Santosa, S., Effendi, M.C., dan Dyka A. D. 2013. *Efektivitas Ekstrak Etanol Lengkuas Putih (Alphinia galangal L willd) dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara in vitro*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Malang.
- Setiabudy, R dan Gan V. N. S. 2008. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, 585-598, Jakarta, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sutandio, R. 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cincau Hijau (Cyclea barbata Miers) Terhadap Staphylococcus aureus dan Vibrio parahaemolyticus*. UAJY. Yogyakarta
- Syamsuhidayat, S.S dan Hutapea, J.R, 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Edisi kedua. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.