

POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KECIPIR (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* IN VITRO

Adudin H. Henaulu^{1*}, Martha Kaihena^{2*}

^{1,2*}Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura, Ambon

^{2*}Corresponding Author e-mail: makaihena@gmail.com

Informasi.	Abstrak.
<p>Kata kunci. Antibakteri, <i>Escherichia coli</i>, <i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (L.) DC), <i>Staphylococcus aureus</i>,</p>	<p>Kecipir (<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (L.) DC) merupakan tanaman polong-polongan (fabaceae) yang sudah lama di kenal masyarakat Indonesia. Buahnya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran dan pengobatan seperti obat bisul, daunnya secara empiris digunakan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari daun kecipir (<i>P.tetragonolobus</i>(L.) DC)) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>. Penelitian ini menggunakan daun kecipir segar yang dikeringanginkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji aktivitas antibakteri terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> menggunakan metode difusi agar dengan pembandingan ceftazidime 30 µg. Penelitian terdiri dari 6 perlakuan dan 3 kali ulangan yaitu P0 (menggunakan aquades steril sebagai control negatif), P1 (konsentrasi EEDK 20%), P2 (konsentrasi EEDK 40%), P3 (konsentersasi EEDK 60%), K4 (konsentersasi EEDK 80%), P5 (konsentrasi EEDK 100%) dan P6 (menggunakan ceftazidime 30 µg) sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kecipir berpotensi sebagai antibakteri terhadap <i>E. coli</i> dan <i>St. aureus</i>, hal ini dibuktikan dengan adanya zona bening yang dihasilkan EEDK dengan konsentrasi 20;40;60;80 dan 100% untuk <i>E.coli</i> berturut turut dari P0 sampai P6 sebesar 0,00; 3.83; 9.86; 12,17;15,63;17;17 dan 17.69. sedangkan besar zona hambat untuk <i>St.aureus</i> berturut turut dari P0 sampai P6 sebesar 0,00; 0,00; 3,67; 4,55; 5,33; 6.17 dan 13.83 dimana EEDK lebih berpotensi menghambat <i>E. coli</i> dibandingkan <i>St. aureus</i></p>

Received: 7 Mei 2020

Accepted: 18 Mei 2020

© 2020 Jurusan Biologi FMIPA Unpatti, IAIFI Cab. Ambon

A. PENDAHULUAN

Penyakit pada manusia dapat ditimbulkan oleh berbagai macam penyebab, salahsatunya adalah karena infeksi mikroorganisme. Dewasa ini, penyakit yang disebabkan karena infeksi mikroorganisme telah menjadi permasalahan yang sangat serius di tengah masyarakat luas. Mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia dapat berupa bakteri, jamur, virus dan lain sebagainya. Bakteri merupakan jenis mikroorganisme penyebab infeksi paling umum pada manusia. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri mendominasi potensi terjadinya infeksi berat, sepsis, syok septik dan disfungsi multiorgan (Nasroruddin, 2007). Bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia diantaranya *Escherichia coli* dan *St. aureus*. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat mengakibatkan infeksi klinis apabila mencapai jaringan di luar intestinal normal atau tempat flora normal yang kurang umum. *Escherichia coli* merupakan penyebab paling banyak untuk infeksi saluran kencing terutama pada wanita muda. *Escherichia coli* juga sering menyebabkan diare yang sering terjadi di seluruh dunia (Jawetz *et al.*, 2005), Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan.

Staphylococcus aureus dapat mengakibatkan infeksi kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh (Anwar, 1994 dalam Melki *et al.*, 2011). Dalam dunia kedokteran pengobatan terhadap penyakit infeksi digunakan berbagai macam antibiotik yang spesifik membunuh kuman tertentu. Antibiotik yang banyak dipakai dan digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yaitu: penisilin, ampicilin, streptomisin, aureomisin (klortetrasiklin), kloromisetin (kloramfenikol), teramisin (oksitetrasiklin), akromisin (tetrasiklin), Eritromisin, basitramisin, polimiksin, Neomisin, Novobiosin, nistatin dan masih banyak lagi obat-obat antibiotik baru yang ditemukan (Prabu, 1996). Pemakaian antibiotik secara berlebihan dan kurang terarah dapat mengakibatkan terjadinya resistensi. Timbulnya resistensi pada beberapa antibiotik tertentu dapat mengakibatkan kegagalan dalam pengobatan berbagai jenis penyakit infeksi, sehingga untuk mengatasinya diperlukan pencarian bahan alami sebagai alternatif pengobatan (Josodiwondo, 1996 dalam Poeloengan *et al.*, 2007).

Saat ini, obat-obatan yang bersumber dari bahan alam kian marak. Masyarakat kota mulai beralih dari obat-obatan kimia ke obat-obatan herbal. Salah satu alasan beralihnya preferensi tersebut karena efek samping dari obat herbal tidak berbahaya seperti obat-obatan kimia (Wirjowidagdo 1995 dalam Sabir 2005, Dewoto 2007). Pemanfaatan tanaman obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit merupakan warisan turun-temurun berdasarkan pengalaman dan kemudian dikembangkan melalui pembuktian-pembuktian ilmiah. Penelitian mengenai obat tradisional dibutuhkan untuk memberikan bukti ilmiah mengenai suatu tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat dan juga dapat digunakan sebagai sumber senyawa penuntun untuk sintesis senyawa obat baru. Pengembangan obat tradisional dimaksudkan agar diperoleh obat tradisional yang bermutu tinggi, aman, memiliki khasiat nyata yang teruji secara ilmiah dan dapat dimanfaatkan secara luas baik untuk pengobatan sendiri ataupun digunakan dalam pelayanan kesehatan formal.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan tradisional adalah tanaman kecipir. Penjelasan Djatmiko (1986) dalam Handayani (2013) bahwa bagian daun tanaman kecipir dapat digunakan sebagai obat penyakit mata dan telinga serta obat bisul. Tanaman kecipir ini mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoida, dan tannin (Jhonny, 1993). Wijayakusuma (2006) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid, saponin dan tanin memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Tujuan dari penelitian ini ingin mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kecipir (*P.tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *St. aureus*.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian bersifat eksperimen laborototrik dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 6 perlakuan dan 3 kali ulangan.

Alat dan bahan yang digunakan :

Alat. Peralatan yang digunakan antara lain: seperangkat alat soxchlet, evaporator, blender, autoklaf, oven, LAF (*Lamina Air Flow*), inkubator, timbangan analitik, gunting, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, labu erlenmeyer, gelas ukur, beaker gelas, mikropipet dan tip, pipet volume, pinset, pipet ukur, jarum ose bulat dan lurus, spatula, silinder logam, lampu bunsen, mistar, hot plate stirrer + magnetic stirrer, alat tulis menulis dan Kamera. Semua alat yang digunakan harus bersih dan alat-alat tertentu harus disterilkan.

Bahan. Bahan yang digunakan antara lain: Daun tanaman kecipir, etanol 70%, Alkohol 70%, spirtus, kapas, cling wrap, aluminium foil, kertas kopi, kertas label, kertas saring, aquades,

media Nutrien Agar (NA), media Nutrien Broth (NB), biakan murni *E. coli*, biakan murni *St. aureus* dan ceftazidime 30 µg.

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kecipir

1. Daun kecipir sebanyak 1 kg dibersihkan dibawah air mengalir dan dikeringanginkan .
2. Daun kecipir kering, kemudian dijadikan serbuk menggunakan blender.
3. Sebanyak 400 gram serbuk daun kecipir dimaserasi dengan cara dimasukkan kedalam erlenmeyer dan di tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter dan dibiarkan selama 2 hari.
4. Selanjutnya, ekstrak dipekatkan dengan rotary evaporator
5. Dari hasil pemekatan tersebut, maka diperoleh ekstrak etanol pekat daun kecipir.

Penentuan Stok Variabel Konsentrasi

Stok konsentrasi ekstrak daun kecipir yang digunakan divariasikan mulai dari 100%, 80%, , 60% 40% 20% (b/v), aquades steril sebagai kontrol negatif dan ceftazidine 30 µg sebagai kontrol positif .

Pembuatan Media

Medium Nutrien Agar (NA). Timbang 10,8 gram medium NA dan masukan kedalam labu erlenmeyer. Kemudian larutkan dengan aquades steril sebanyak 540 ml dan dipanaskan sambil diaduk hingga larut diatas hotplate stirrer. Ukur nilai pH dengan menggunakan indikator universal pada 7,0. Medium yang sudah dipanaskan dibiarkan dingin sebentar dan ditutup dengan alumunium foil kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit, pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Tuangkan masing-masing 20 ml medium yang sudah disterilkan ke dalam 2 cawan petri untuk dibuat peremajaan kultur murni bakteri. Medium yang tersisah sebanyak 500 ml digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Media Nutrien Broth (NB). Timbang 0,08 gram medium NB masukan kedalam Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dalam aquades 10 ml, dan dipanaskan sambil diaduk diatas hotplate stirrer. Ukur nilai pH dengan menggunakan indikator universal pada 7,0. Kemudian pipet masing-masing 5 ml ke dalam 2 tabung reaksi untuk dibuat suspensi bakteri uji dari masing-masing bakteri uji. Setelah itu medium disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit, pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C.

Penyiapan Bakteri

Peremajaan Kultur Murni Bakteri. Masing-masing bakteri uji berupa biakan murni *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*, diambil satuose kemudian diinokulasi pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji. Kedua bakteri uji yang sudah diremajakan di ambil 1 ose dan disuspensikan dengan cara di masukkan ke dalam media NB sebanyak 10 ml kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah bakteri pada suspensi yang disesuaikan dengan tingkat kekeruhan pada larutan standar Mc Farland 0,5 adalah 10^6

Tahapan Pengujian

Penentuan diameter zona hambat dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan teknik sumuran.

Langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Sebanyak 20 ml media NA steril yang telah didinginkan hingga suhu 50°C, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dicampur dengan 0,2 ml suspensi bakteri dari media NB secara aseptis didalam Lamina Air Flow (LAF).

2. Kemudian campuran tersebut dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat
3. Gunakan silinder logam dengan diameter 6 mm dan tinggi 10 mm, untuk membuat sumuran pada media-media tersebut.
4. Pada setiap cawan petri yang telah berisi media, dibuat 3 sumuran dengan jarak yang sama untuk tiga kali ulangan. Tiap sumuran ditetesi dengan larutan ekstrak yang telah disiapkan konsentrasinya sebanyak 0,1 ml. Sumuran yang berfungsi sebagai kontrol negatif hanya ditetesi aquades dan untuk

Tahapan Pengujian

Penentuan diameter hambat dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan teknik sumuran. Langkah-langkahnya sebagai berikut:

1. Sebanyak 20 ml media NA steril yang telah didinginkan hingga suhu 50°C, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dicampur dengan 0,2 ml suspensi bakteri dari media NB secara aseptis didalam Lamina Air Flow (LAF).
2. Kemudian campuran tersebut dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat
3. Gunakan silinder logam dengan diameter 6 mm dan tinggi 10 mm, untuk membuat sumuran pada media-media tersebut.
4. Pada setiap cawan petri yang telah berisi media, dibuat 3 sumuran dengan jarak yang sama untuk tiga kali ulangan.
5. Tiap sumuran ditetesi dengan larutan ekstrak yang telah disiapkan konsentrasinya sebanyak 0,1 ml. Sumuran yang berfungsi sebagai kontrol negatif hanya ditetesi aquades dan untuk kontrol positif digunakan disk antibiotik ceftazidim 30 µg. perlakuan ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.
6. Kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator.
7. Ukur diameter zona hambat menggunakan mistar dengan skala milimeter (mm). Setelah diameter zona hambat diukur maka dapat ditentukan sensitivitas klinik dari bakteri berdasarkan klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri.
8. Penentuan zona hambat menggunakan rumus:

Diameter zona hambat =

$$\frac{(D1 - DS) + (D2 - DS)}{2}$$

Keterangan: D1: Diameter Vertikal, D2: Diameter Horizontal, DS: Diameter Sumur.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut, kemudian ditentukan sensitivitas dari bakteri dengan menggunakan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Davis dan Stout (1971) dikutip Kumesan *et al.*, (2013), klasifikasi daya hambat pertumbuhan dibagi atas: sangat kuat (>20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah (<5 mm).

Analisa Data

Data hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan hystogram

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kecipir (*P. tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *St. aureus* menggunakan metode difusi agar, dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat Pertumbuhan dari kedua bakteri tersebut pada medium Nutrien Agar (NA) dengan 7 perlakuan yaitu P0 (kontrol negatif) P1 (Konsentrasi 20%), P2

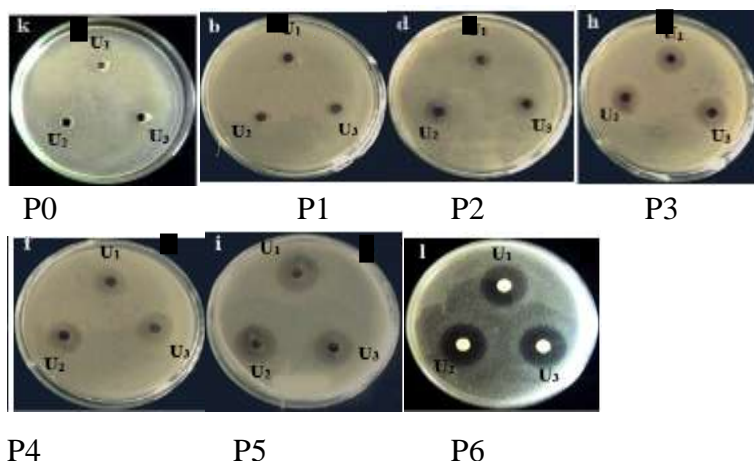
(Konsentrasi 40%), P3 (Konsentrasi 60%) , P4 (Konsentrasi 80%), P5(Konsentrasi 100%) dan P6 (Kontrol Positif menggunakan ceftazidime 30 µg), dengan 3 kali i pengulangan. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat kemudian ditentukan sensitivitasnya berdasarkan klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri (Davis dan Stouth, 1971 *dikutip* Kumesan *et al.*, 2013).

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun kecipir (*P.tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S.aureus* dapat dilihat pada table 1 dan 2 berikut ini.

Table 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun kecipir (*P.tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *E. coli*

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Rata-rata Diameter zona hambat (mm)	Respon hambat pertumbuhan
P0	Kontrol -	0	Tidak ada
P1	20	3,83	Sedang
P2	40	9,86	Kuat
P3	60	12,17	Kuat
P4	80	15,63	Kuat
P5	100	17	Kuat
P6	Kontrol	17,69	Kuat

Berdasarkan tabel 1 diatas, terlihat bahwa pemberian ekstrak etanol daun kecipir (EEDK) terhadap *E. coli* dengan konsentrasi 20% memiliki respon hambat pertumbuhan sedang dengan rata-rata diameter zona hambat 3,83 mm atau kurang dari 5 mm berdasarkan klasifikasi daya hambat. Konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% termasuk dalam respon hambat pertumbuhan kuat dengan rata-rata diameter zona hambat masing-masing yaitu 9.86 mm, 12,17 mm, 15.63 mm, dan 17 mm Sedangkan untuk perlakuan kontrol positif yaitu dengan pemberian ceftazidime 30 µg menunjukkan rata-rata zona hambat pertumbuhan *E. coli* sebesar 17,69 mm yang termasuk dalam respon kuat sementara pemberian aquades sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya respon hambat pertumbuhan, sehingga dikategorikan dengan angka 0 . Zona hambat yang ditunjukkan ekstrak etanol daun kecipir terhadap Pertumbuhan *E. coli* dapat dilihat pada gambar 1.



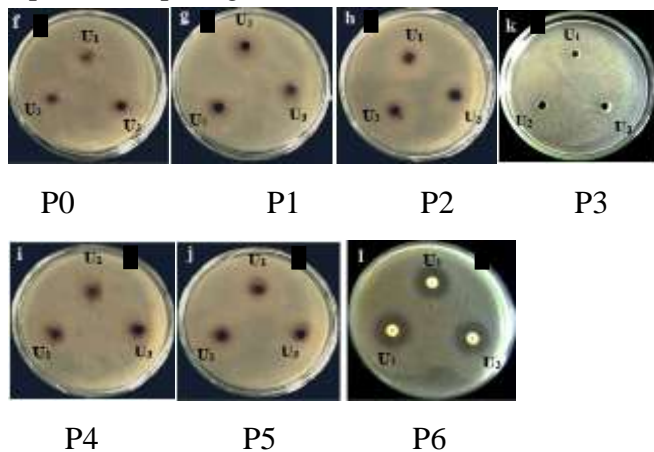
Gambar 1. Zona hambat EEDK (*P.tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *E. coli*: pada konsentrasi (P0), (P1), (P2), (P3), (P4), (P5), dan (P6) dalam 3 kali ulangan yaitu (U₁), (U₂), dan (U₃).

Tabel 2 berikut ini ditampilkan hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun Kecipir (EEDK) terhadap *S. aureus* yang menunjukkan potensi EEDK dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*

Table 2. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun kecipir (*P.tetragonolobus* (L.) DC) terhadap pertumbuhan *Staphilococcus aureus*

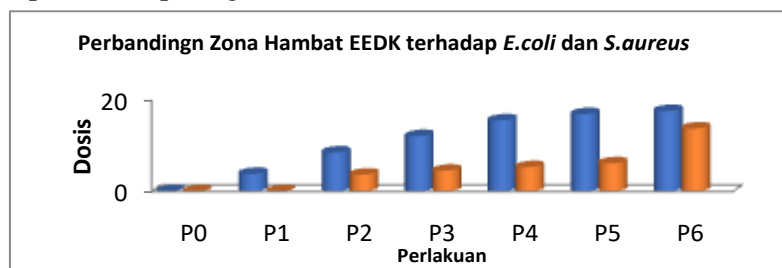
No	Konsentrasi (%)	Rata-rata Diameter zona hambat (mm)	Respon hambat pertumbuhan
P0	Kontrol -	0	Tidak ada
P1	20	0	Tidak ada
P2	40	3.67	Lemah
P3	60	4.55	Lemah
P4	80	5.33	Lemah
P6	100	6.17	Lemah
P7	Kontrol	13.83	Kuat

Data yang ditampilkan pada table 2 diatas menunjukkan bahwa EEDK dengan konsentrasi 20% tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *S.aureus* karena tidak memperlihatkan adanya zona bening disekitar plong yang berisi ekstrak, hal yang sama terlihat pada kontrol negative. Sedangkan pada konsentrasi 40% , 60% , 80% dan 100% semuanya menunjukkan adanya potensi penghambatam pertumbuhan *St. aureus*, walaupun menurut kriteria termasuk lemah Yaitu berturut -turut 3,67 ,4,55,5.33 dan 6.17 mm yang berbeda dengan kontrol positif yang menggunakan antibiotic ceftazidime sebesar 13,83 mm dengan kategori zona hamabt kuat, seperti yang dapat dilihat pada gambar 2 berikut:



Gambar 2. Zona hambat ekstrak etanol daun kecipir (*P. tetragonolobus* L.) terhadap Pertumbuhan *S. aureus*:(P0). kontrol negatif, (P1). konsentrasi 20%, (P2). konsentrasi 40%, (P3) konsentrasi 60%, (P4) konsentrasi 80%, (P5) konsentrasi 100%, (P6) kontrol positif, (U₁). ulangan ke-1, (U₂), ulangan ke-2, (U₃), ulangan ke-3

Pengukuran rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *E coli* dan *S.aureus* yang diberi EEDK dengan konsentrasi 20% , , 40% , , 60% , , 80% , dan 100% seperti terlihat pada table 3 dan 4 diatas, menunjukkan bahwa EEDK memiliki zona hambat yang lebih kuat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dibandingkan *S. aureus*. Perbandingan rata-rata diameter zona hambat tersebut dapat dilihat pada gambar 3 berikut :



Gambar 3. Diagram perbandingan rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* yang diberi ekstrak etanol daun kecipir (*P.tetragonolobus*(L.) DC). Keterangan : P0.= Kontrol negatif, P1.= Konsentrasi EEDK 20%, P2. = Konsentrasi EEDK 40%, P3.= Konsentrasi EEDK 60%, P4.= Konsentrasi EEDK 80%, P5 = Konsentrasi EEDK 100%, P6. = Kontrol Positif

Pembahasan

Hasil pengujian aktivitas antibakteri EEDK (*P tetragonolobus*(L.) DC) terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *St. aureus* menggunakan metode difusi agar menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kecipir mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan kategori respon hambat pertumbuhan kuat yang terjadi pada konsentrasi diatas 40%, sedangkan pada konsentrasi 20% termasuk kategori respon hambat lemah. Respon hambat EEDK terhadap pertumbuhan *S. aureus* termasuk dalam kategori lemah sampai sedang, karena pada konsentrasi 40% hanya mampu menghambat sebesar 3.67mm. Pada konsentrasi 60% baru EEDK mampu menghambat sebesar 4.5mm dan dikategorikan dalam zona hambat lemah. Sedangkan konsentrasi ekstrak diatas 80%, di kategorikan sedang karena mampu menghambat sebesar 5.33mm. Davis dan Stout (1971) dalam Kumesan (2013) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-20 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Perbedaan konsentrasi ekstrak etanol daun kecipir yang diujikan terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *St. aureus* menunjukkan hasil pengukuran zona hambat yang berbeda pula. Secara umum hasil yang ditunjukkan dalam penelitian ini yaitu ukuran zona hambat yang dihasilkan semakin kecil seiring menurunnya konsentrasi ekstrak. Pada pengenceran ekstrak etanol daun kecipir dengan aquadest dari konsentrasi 100% menjadi 100%, 80%, 60%, 40%, 20% dan terjadi pengurangan zat aktif yang terlarut dalam masing-masing konsentrasi tersebut, sehingga pengaruh ekstrak semakin berkurang dengan semakin kecilnya konsentrasi ekstrak yang diuji. Hal ini sehubungan dengan penjelasan Fraizer dan Westhop (1979) dalam Suprianto (2008), bawa menurunnya zona hambat dikarenakan efektivitas senyawa antimikroba dari konsentrasi ekstrak yang digunakan. Peningkatan konsentrasi ekstrak meyebabkan semakin besar jumlah senyawa antimikroba yang berdifusi dalam medium agar, sehingga zona penghambatan akan meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Akan tetapi pada pertumbuhan *E. coli* diameter zona hambat ekstrak etanol daun kecipir mengalami penurunan pada konsentrasi ekstrak 100% jika dibandingkan dengan konsentrasi 80%. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak 80% merupakan konsentrasi optimum EEDK dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Konsentrasi efektif suatu bahan tidak selalu merupakan konsentrasi yang paling tinggi, karena bisa jadi pada konsentrasi tertentu yaitu bukan pada konsentrasi yang paling tinggi, ekstrak lebih efektif sebagai antibakteri. Hal tersebut sehubungan dengan penjelasan Irianto (2007) yang mengemukakan bahwa apabila konsentrasi senyawa kimia antibakteri melewati suatu konsentrasi tertentu maka peningkatan daya disinfeksi akan berkurang.

Terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran yang ditetesi EEDK membuktikan bahwa adanya aktivitas senyawa antibakteri dari daun kecipir yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *St. aureus*. Senyawa antibakteri yang dimiliki merupakan hasil metabolit sekunder dari tanaman kecipir yang tersimpan pada organ tanaman tersebut seperti daun, batang, buah, biji dan lain-lain. Menurut Lakitan (1993) dalam Hastari (2012), kandungan metabolit sekunder suatu tanaman tergantung pada spesies dari tanaman tersebut dan kadarnya tergantung dari lingkungan tempat tanaman itu hidup. Tanaman kecipir mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoida dan tanin (Jhonny, 1993). Wijayakusuma (2006) menjelaskan bahwa senyawa saponin, flavonoida dan tanin memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan dan diketahui mempunyai efek sebagai antimikroba (Suparjo, 2008). Saponin yang dihasilkan tumbuhan berupa

glukosida yang bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri kemudian mengakibatkan kerusakan membran sel bakteri dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu, protein, asam nukleat, dan nukleotida (Ganiswara, 1995 *dalam* Nampasnea, 2014).

Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan dan berada dalam bentuk aglikon (tanpa gula terikat) maupun terikat pada gula sebagai glikosida (Harbone, 1987 *dalam* Leuhery, 2010). Adanya gula yang terikat pada flavonoid, menyebabkan flavonoid mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, dimetilformamida, dimetilsulfoksida, aseton, dan air. Flavonoid dalam tumbuhan berfungsi sebagai pengatur tubuh, pengatur fotosintesis serta memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus (Robinson 1995). Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Gisvold, 1982 *dalam* Sabir, 2005). Naim (2004) juga menjelaskan bahwa flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri.

Senyawa metabolit sekunder lain dari tanaman kecipir yang merupakan senyawa antimikroba adalah tanin. Tanin biasanya berada pada bagian spesifik tumbuhan seperti daun, buah, akar dan batang. Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki mekanisme sama dengan senyawa fenolik lainnya dalam menghambat dan membunuh bakteri. Kerusakan dinding sel bakteri akibat mekanisme senyawa fenol disebabkan oleh gugus –OH yang dimiliki oleh fenol. Apabila terjadi ikatan hidrogen antara gugus –OH dalam senyawa fenol dengan dinding sel bakteri, maka struktur dinding sel bakteri akan mengalami perubahan sehingga protein struktural pada dinding sel bakteri dapat terdenaturasi (Montgomery, 1993 *dalam* Fariha 2010). Hal tersebut sehubungan dengan penjelasan Harbone (1987) *dalam* Rusyaid (2012) yang menyatakan bahwa tanin memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein dan mengendapkannya dengan membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen. Selain itu, Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Cowan (1999) *dalam* Rijayanti (2014) juga menjelaskan bahwa Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuan untuk menginaktivkan adhesi sel mikroba, menginaktivkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Selain itu tanin juga mempunyai daya antiseptik yaitu mencegah kerusakan yang disebabkan bakteri atau jamur (Claus dan Tyler, 1965 *dalam* Rohmawati, 2008).

Aktivitas ekstrak etanol daun kecipir lebih efektif menghambat pertumbuhan *E. coli* dibanding *St. aureus*, hal tersebut berarti bahwa *E. coli* memiliki sensitivitas lebih tinggi terhadap ekstrak etanol daun kecipir dibandingkan *St. aureus*. Perbedaan sensitivitas tersebut disebabkan karena kemampuan setiap bakteri dalam melawan aktivitas antibakteri berbeda-beda, tergantung ketebalan dan komposisi dinding selnya. Menurut Radji (2011) hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel dari kedua jenis bakteri tersebut.

Escherichia coli merupakan golongan bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan, sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan golongan bakteri Gram positif yang dinding selnya terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat (Radji 2011). Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap perlakuan fisik seperti

pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya (Mpila *et al.*, 2012). Selain itu, tanaman kecipir diduga mengandung senyawa antibakteri berupa asam-asam organik yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif seperti *E.coli*. Hal tersebut sehubungan dengan penjelasan Davidson *et al.*, (2005) yang menyatakan bahwa senyawa antibakteri yang berupa asam-asam organik memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri Gram negatif.

Berdasarkan pengukuran zona hambat yang terbentuk pada pertumbuhan *Escherichia coli* dan *St. aureus* maka dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari konsentrasi ekstrak etanol daun kecipir yang digunakan. Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol daun kecipir terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* yaitu 20% dengan rata-rata zona hambat sebesar 4,83 mm, sedangkan pada pertumbuhan *St. aureus* yaitu pada konsentrasi 30% dengan rata-rata zona hambat 2,83 mm. Perbedaan konsentrasi hambat minimum pada pertumbuhan kedua bakteri tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri dapat terhambat meskipun diameter zona hambat yang dihasilkan kecil dan tergolong lemah. Hal tersebut seperti dijelaskan oleh Ramadanti (2008) dalam penelitiannya bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil dimana terdapat perbedaan bermakna dalam pertumbuhan bakteri setelah dibandingkan dengan kontrol positif. Konsentrasi hambat minimum terhadap kedua bakteri tersebut yang berada pada konsentrasi yang masih dikatakan rendah menunjukkan keunggulan dari tanaman kecipir sebagai obat antibakteri tradisional yang bersifat alami.

Faktor lain dalam penelitian yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri adalah pelarut ekstrak. Pelarut ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, hal tersebut dikarenakan pelarut tersebut merupakan pelarut yang mudah didapat, universal dan sering digunakan dalam melakukan ekstraksi. Etanol merupakan pelarut yang bersifat polar karena mudah larut dalam air dan mempunyai gugus hidroksida (OH), sehingga zat aktif lebih mudah tersari dalam jumlah yang besar (Poelongan *et al.*, 2007).

Penelitian ini menggunakan perlakuan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding terhadap respon hambat dari EEDK. Pada perlakuan kontrol positif digunakan ceftazidime karena merupakan antibiotik semisintetik yang bersifat bakterisidal. Ceftazidime adalah golongan ketiga dari sefalosporin yang memiliki aktivitas spektrum antibakteri paling luas diantara generasi-generasi dari sefalosporin (Puspitasari 2011). Mekanisme kerja dari antibiotik ini yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel mikroba dimana yang dihambat adalah reaksi transpeptidase tahap ketiga dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel. Golongan sefalosporin umumnya aktif terhadap kuman Gram positif maupun Gram negatif, tetapi spektrum antimikroba masing-masing derivat bervariasi (Departemen Farmakologi dan Terapi FK UI, 2007). Hal tersebut dibuktikan dengan hasil penelitian yang menunjukkan respon hambat pertumbuhan kuat pada kedua bakteri uji. Pada pertumbuhan *E coli* rata-rata diameter zona hambat yang ditunjukkan ceftazidime adalah 17,6 mm, sedangkan rata-rata diameter zona hambat tertinggi yang ditunjukkan ekstrak etanol daun kecipir adalah 17 mm yaitu pada konsentrasi optimum 90%. Berdasarkan klasifikasi daya hambat keduanya tidak memiliki perbedaan karena termasuk dalam kategori respon hambat pertumbuhan kuat. Sementara pada pertumbuhan *St. aureus*, ceftazidime dan ekstrak etanol daun kecipir berbeda berdasarkan klasifikasi daya hambat. Hal tersebut ditunjukkan dengan rata-rata diameter zona hambat dari ceftazidime adalah 11,83 mm yang tergolong respon hambat kuat, sedangkan rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun kecipir tertinggi adalah 7,5 mm yaitu pada konsentrasi 100% yang menyatakan respon hambat sedang. Sedangkan perlakuan kontrol negatif digunakan aquades karena merupakan senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan

tidak adanya respon hambat pertumbuhan *E coli* dan *S. aureus* yang ditetesi aquades. Dengan demikian sehingga aquades dinyatakan aman sebagai pelarut pada pengencer konsentrasi ekstrak etanol daun kecipir.

D. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan. Ekstrak etanol daun kecipir (*Psopocarpus tetragonolobus* (L.) DC) berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dimana Dosis yang efektif berpotensi menghambat pertumbuhan *E. coli* adalah 80%, dibandingkan bakteri gram *Staphylococcus aureus* yaitu 100%.

Saran. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kecipir terhadap jenis bakteri pathogen selain *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, menguji potensi antibakteri dari buah maupun biji kecipir dan pengujian secara *In Vivo* untuk lebih memperjelas Potensi antibakterinya.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Davidson P.M., J.N. Sofos, A.I. Branen. 2005. Antimicrobial in Food third edition. New York. Taylor and Francis Group.
- Departemen Farmakologi dan Terapi FK UI. 2007. Farmakologi dan Terap. Gaya Baru. Jakarta:
- Fariha, Y. 2010. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Tempuyung (*Sancusarvensis* L.) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Shigelladysenteriae* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro. [Skripsi] Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Handayani, T. 2013. Kecipir (*Psophocarpus Tetragonolobus* L.), Potensi Lokal Yang Terpinggirkan. Kelompok Peneliti Pemuliaan Dan Plasma Nutfah, Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Lembang: Bandung Barat.
- Hastari, R. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak pelepah dan Batang tanaman pisang Ambon (*musa paradisiaca var.sapientum*) terhadap *staphylococcus aureus*. Laporan karya Tulis Ilmiah. Fakultas kedokteran, universitas Diponegoro. Semarang.
- Irianto, K. 2007. Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme. Bandung: Cv Yarama Medium.
- Jawetz, Melnick, Adelberg, 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Salemba Medika. Jakarta.
- Jhonny, R.H. (1993). Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid II. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Kumesan, Paulina, Yamlean, Supriati. 2013. Formulasi dan Uji Aktifitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum asiaticum* L.) terhadap Bakteri *Stafhylococcus aureus* Secara in Vitro. Jurnnal Program Studi FMIPA. Unsrat. Manado.
- Leuhery, E.A. 2010. Daya Hambat Ekstrak Etanol Alga Merah *Kappaphycus alvarezii* Doty Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Stafhylococcus Aureus*.
- Melki, Wike Ayu, E.P., Dan Kurniati, 2011. Uji Antibakteri Ekstrak *Gracilaria Sp.* (Rumput Laut) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Stafhylococcus Aureus*.
- Mpila, D.A., Fatimawali, dan Wiyono, W.I., 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleusatropurpureus* [L] *benth*) terhadap *Staphylococsaureus*, *Escherichiacoli* dan *Pseudomonasaeruginosa* Secara In-Vitro. [Skripsi] Program Study Farmasi Fakultas MIPA Universitas Samratulagi Manado.
- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tanaman. Bakteri *Escherichia coli* In Vitro. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rijayanti, R.P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida* L.) terhadap *Staphylococsaureus* Secara In Vitro. [Naskah Publikasi] Program Study Pendidikan Dokter. Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organic Tumbuhan Tingkat Tinggi (Terjemahan Kosasih Padmawinata). Institut Teknologi Bandung.

- Rohmawati, N. 2008. Efek Penyembuhan luka Bakar dalam Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70% Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) pada Kulit Punggung Kelinci New Zealand. Penelitian mandiri Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor.
- Rusyaid, M. 2012. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nepheliumlappaceum* L.) terhadap *Streptococcusmutans* dan *Escherichiacoli*. [Skripsi] jurusan Biologi Fakultas MIPA Unpatti. Ambon.
- Sabir, A. 2005. Aktifitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona Sp.* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In Vitro). Jurnal Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Hassanudin. Makasar.
- Suparjo. 2008. Saponin Peran dan Pengaruhnya bagi Ternak dan Manusia. Fakultas Peternakan. Universitas Negeri Jambi. Jambi.
- Suprianto. 2008. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) sebagai Anti *Streptococcusmutans*. [Skripsi] Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Program Study Biokimia. Institut Pertanian Bogor.
- Wijayakusuma, H. 2006. Ramuan tradisional untuk pengobatan darah tinggi. Penebar Swadaya. Jakarta.