PENETAPAN KADAR POLIFENOL DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SINTRONG (*Crassocephalum crepidiodes* (Benth.) S. moore)

Tresna Lestari, Agnis Nurmala, Mira Nurmalasari
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
Jl. Cilolohan No 36 Tasikmalaya

Abstrak

Sintrong merupakan satu jenis tanaman yang banyak dikonsumsi sebagai lalapan oleh masyarakat sunda. Sintrong diketahui memiliki kandungan senyawa polifenol yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar polifenoldan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sintrong. Penetapan kadar polifenol dilakukan dengan metode Jeong et al (2005) menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil pengujian diperoleh kadar total senyawa fenolik ekstrak etanol daun sintrong adalah 1,8581 g GAE/100 g ekstrak dan konsentrasi hambat minimum ekstrak terhadap *Escherichia coli* ATCC 89391 sebesar 8% setara dengan konsentrasi Tetrasiklin HCl 8,698 µg/ml serta konsentrasi hambat minimum terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 65381 sebesar 8% setara dengan konsentrasi Tetrasiklin HCl 11,913 µg/ml.

Kata kunci : Sintrong, ekstrak etanol, polifenol, antibakteri

PENDAHULUAN

Sintrong berasal dari Afrika tropis, kini telah menyebar ke seluruh wilayah tropika di Asia. Kemudian menyebar ke India, Indonesia, Filipina dan Thailand. Dan sekarang menyebar ke Miyanmar dan Vietnam. Kerap ditemui di tanah-tanah terlantar yang subur, tepi sungai, tepi jalan, perkebunan, di sawah-sawah yang mengering, terutama di bagian yang lembab, hingga ketinggian 250-2.500 m dpl (Galinato *et al*, 1999).

Selain dapat digunakan sebagai lalapan, daun sintrong digunakan sebagi obat bisul (Kusdianti *et al*, 2008). Secara tradisional sintrong juga digunakan sebagai *nutraceutikal* dan juga dipercaya bisa mengobati berbagai macam penyakit, seperti untuk mengatasi gangguan pencernaan, sakit kepala, sakit perut, mengobati luka, antelmentik, antiinflamasi, antidiabetes, dan antimalaria (Adjatin *et al*, 2013).

Kandungan kimia yang terdapat dalam daun sintrong adalah saponin, flavonoid dan polifenol (Kusdianti *et al*, 2008). Sedangkan berdasarkan hasil penelitian Adjatin *et al* (2013) sintrong juga mengandung senyawa tanin, flavonoid dan steroid.

Polifenol berperan dalam memberi warna pada tumbuhan seperti warna daun. Kandungan polifenol dapat melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif dan bekerja sebagai antibakteri (Pourmouran, 2006).

METODE PENELITIAN

Alat

Autoklaf, inkubator, oven, ose bulat, cawan petri, maserator, *rotary evaporator* (IKA HB10), mikropipet dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1240).

Bahan

daun sintrong *(Crassocephalum crepidioides,* bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 65381 dan *Escherichia coli* ATCC 89391, asam galat, tetrasiklin HCl, reagen Folin-Ciocalteu, Na_2CO_3 p.a, methanol p.a, Mueller Hinton Agar (MHA), Nutrient Agar (NA), NaCl fisiologis, pereaksi Mayer, Dragendorf, Lieberman-Burchard, $FeCl_3$, larutan gelatin 1%, NaOH, Serbuk Zn, H_2SO_4p, akuades, vanilin 10%, CH_3COOH anhidrid, HCl 2N, larutan H_2SO_4 1%, larutan $BaCl_2$ 1%, toluena, kloroform, etanol 96% dan etanol 70%.

Preparasi Sampel

Bahan berupa tanaman sintrong *(Crassocephalum crepidioides)* dalam keadaan segar dikumpulkan dan dibersihkan dengan air. Bagian daun diseleksi dan dirajang dan dikeringkan. Simplisia kering dihaluskan dengan

menggunakan blender, sehingga diperoleh serbuk daun sintrong.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan dengan metode menurut Fransworth (1966) terhadap golongan senyawa alkaloid, falvonoid, polifenol dan tannin, kuinon, steroid dan triterpenoid, saponin, monoterpenoid dan seskuiterpenoid.

Ekstraksi

Timbang 250 g daun sintrong, kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% pada suhu kamar. Filtrat kemudian disaring dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak etanol daun sintrong dihitung dengan membandingkan bobot awal simplisia dengan bobot akhir ekstrak yang dihasilkan.

Penetapan Kadar Polifenol Total

Penetapan kada polifenol total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Sebanyak 0,3 mL larutan ekstrak ditambahkan dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu 10%. Campuran didiamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Selanjutnya 4 mL Na_2CO_3 7,5% ditambahkan ke dalam campuran. Campuran didiamkan pada suhu kamar selama 70 menit. Absorbansi sampel diukur pada 750 nm menggunakan spektrofotmeter UV-Vis. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg/100g ekuivalen asam galat (Jeong *et al*, 2005).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara in vitro dengan metode difusi agar yang menggunakan metode sumuran pada media *Muller Hilton Agar* (MHA).

Masukan 1 ml suspensi bakteri ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan 20 ml MHA yang steril. Cawan digerakan memutar supaya bakteri dan agar tercampur secara homogen dan didiamkan sampai membeku. Kemudian dibuat 4 lubang, jarak antar lubang diatur sedemikian rupa dan diberi tanda untuk masing-masing lubang. Ekstrak daun sintrong dengan berbagai konsentrasi sebanyak 50 µl pada masing-masing lubang dengan menggunakan mikropipet. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, kemudian diamati dan diukur diameter zona hambatnya dengan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi sampel

Daun sintrong yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini diperoleh dari daerah Karangnunggal Kabupaten Tasikmalaya. Pengumpulan daun dilakukan dengan cara dipetik dan dipilih daun yang segar dan masih utuh, bagian lain yang tidak digunakan dipisahkan. Daun sintrong yang telah dikumpulkan selanjutnya dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Selanjutnya, daun sintrong dikeraingkan menggunakan oven pada suhu 40 °C. Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang awet dan tidak mudah ditumbuhi mikroba dalam penyimpanan jangka lama, proses pengeringan juga dapat menghentikan rekasi enzimatik sehingga kandungan senyawa yang terdapat dalam daun sintrog lebih stabil.

Daun sintrong yang telah kering kemudian diserbukkan untuk memperbesar luas permukaan simplisia sehingga dapat mempermudah proses penarikan senyawa kimia dalam simplisia pada saat ekstraksi. Proses penyerbukan juga memudahkan pengepakan dan penyimpanan simplisia.

Ekstraksi

Ekstraksi daun sintrong dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan, selain itu senyawa yang terkandung pada daun sintrong belum diketahui dengan pasti stabilitasnya terhadap pemanasan, sehingga metode maserasi lebih dipilih untuk digunakan. Proses maserasi juga sangat menguntungkan, karena dengan perendaman, pelarut akan mempunyai waktu interaksi dengan sampel lebih lama untuk melakukan pemecahan dinding dan membran sel sampel. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi senyawa antara di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder

yang ada di dalam sitoplasma akan keluar dan terlarut dalam pelarut.

Pelarut yang dipilih untuk ekstraksi adalah etanol karena etanol merupakan pelarut yang lebih efisien dalam menarik komponen polar hingga semi polar. Pada penelitian ini senyawa target yang akan dianalisis adalah polifenol yang cenderung bersifat polar sehingga pelarut etanol lebih sesuai untuk digunakan. Sebagai pelarut etanol juga mempunyai beberapa kelebihan yakni relatif tidak bersifat racun, tidak eksplosif bila bercampur dengan udara, tidak korosif, absorbsinya baik, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit dan mudah didapatkan.

Maserat yang diperoleh berupa ekstrak etanol daun sintrong diuapkan dengan *rotary evaporator*. Penggunaan *rotary evaporator* karena pelarut dapat menguap dibawah titik didihnya dengan bantuan penurunan tekanan (vakum) sehingga senyawa kimia yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak atau terdekomposisi. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak kental etanol daun sintrong. Dari hasil ekstraksi dihasilkan rendemen sebesar 16,768%.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia tertentu yang terdapat di dalam sampel. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol daun sintrong. Hasil fitokimia menunjukkan simplisia dan ekstrak etanol daun strong memiliki kandungan senyawa flavonoid, polifenol, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan kuinon (Table 1).

Tabel 4.1 Hasil Penapisan Fitokimia

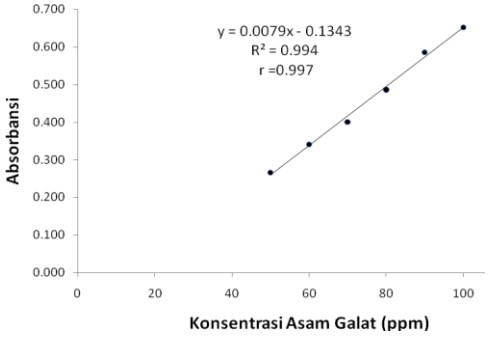
Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Tanin	-	-
Polifenol	+	+
Saponin	-	-
Monoterpenoid	+	+
Seskuiterpenoid	+	+
Steroid	+	+
Triterpenoid	-	-
Kuinon	+	+

Keterangan: (+) Teridentifikasi, (-) Tidak Teridentifikasi

Penetapan Kadar Fenol Total

Penetapan kadar polifenol dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu (FC). Reagen ini mengandung fosfomolibdat-fosfotungstat yang akan mengoksidasi gugus hidroksil (-OH) dari senyawa fenol menghasilkan senyawa komlek berwarna biru. Reaksi ini berjalan lambat pada suasan asam sehingga pada saat reaksi ditambhkan Na_2CO_3 untuk membentuk suasan basa sehingga reaksi dapat berjalan lebih cepat (Agustiningsih, 2010).

Pada penelitian ini digunakan asam galat sebagai senyawa fenol pembanding. Asam galat merupakan golongan asam fenolik C_6-C_1 atau hidroksibenzoat yang mudah diperoleh dalam kondisi stabil dan murni, serta lebih murah dibandingkan dengan senyawa standar lainnya. Pada pengukuran asam galat dengan variasi konsentrasi diperoleh persamaan regresi linier y = 0,0079x – 0,1343 dengan nilai R^2 = 0,994 dan nilai r = 0,997 (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva Pembanding Asam Galat

Untuk menghitung kadar fenol dari sampel dilakukan dengan cara memasukkan nilai absobansi sampel ke dalam persamaan regresi kurva kalibrasi asam galat, hasil yang diperoleh dinyatakan sebagai mg/100g ekuivalen asam galat. Dari data penelitian diperoleh kadar polifenol ekstrak daun sintrong dengan cara maserasi sebesar 1,8581 g GAE/ 100 g.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sintrong dilakukan dengan metode difusi agar. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 65381 untuk mewakili bakteri golongan gram positif dan *Escherichia coli* ATCC 89391 untuk mewakili bakteri golongan gram negatif. Hasil pengujian

menunjukan ekstrak etanol daun sintrong memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *S. aureus* dibandingkan terhadap *E. coli*. Hal ini terlihat dari besarnya diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing bakteri pada konsentrasi yang sama.

Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun sintrong memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 10% dengan diameter zona hambat sebesar 3,16 mm pada *S. aureus* dan 2,77 mm pada *E. coli* (Tabel 2).

Tabel 2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Konsentrasi (%)	Diameter Hambat (mm)	
	Staphylococcus aureus **ATCC 65381**	***Escherichia coli*** **ATCC 89391**
0	0,00	0,00
10	**3,16**	**2,77**
20	3,34	2,92
30	4,11	3,00
40	5,05	5,00
50	5,17	5,22
60	9,22	6,00
70	9,66	6,49
80	10,05	9,00
90	13,00	10,00
100	15,33	12,11

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Untuk mengetahui konsentrasi terendah dari ekstrak etanol daun sintrong yang masih dapat memberikan aktivitas sebagai antibakteri, selanjutnya dilakukan penetapan KHM dengan range konsentrasi yang lebih rendah dari konsentrasi yang memberikan aktivitas antibakteri, yaitu 1%-10%.. Hasil pengujian konsentrasi hambat minimum terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 terlihat bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, masing-masing adalah 8% dengan diameter hambat 3,01 mm pada *S. aureus* dan 2,33 mm pada *E. coli*. Dari data tersebut diketahui bahwa *S. aureus* memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi terhadap ekstrak etanol daun sintrong dibandingkan *E. coli.* Perbedaan tingkat sensitivitas ini ditandai dengan perbedaan diameter hambat yang yang terbentuk pada *S. aureus* lebih besar dibandingkan *E. coli.* Hal ini dapat dipengaruhi karena adanya perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri.

Tabel 3. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi (%)	Diameter Hambat (mm)	
	Staphylococcus aureus **ATCC 65381**	***Escherichia coli*** **ATCC 89391**
10	3,16	2,70
9	3,07	2,60
8	**3,01**	**2,33**
7	0,00	0,00
6	0,00	0,00
5	0,00	0,00
4	0,00	0,00
3	0,00	0,00
2	0,00	0,00
1	0,00	0,00
0	0,00	0,00

Bakteri *E. coli* memiliki lapisan dinding sel yang lebih tebal dibandingakan *S. aureus*. Dinding sel *E. coli* dilapisi oleh membran luar yang terdapat protein, fosfolipid dan lipoposakarida dan ruang periplasmik sementara dinding sel *S. aureus* terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal, asam teikoat dan sedikit lipid (Ibrahim, 2007) yang dapat lebih mudah ditembus oleh ekstrak etanol daun sintrong.

Mekanisme penghambatan ekstrak etanol daun sintrong terhadap p rtumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder flavonoid dan polifenol. Dimana flavonoid dan pilifenol merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga lebih mudah untuk menembus lapisan peptidoglikan pada bakteri *S. aureus* yang bersifat lebih polar dibandingkan lapisan lipid pada bakteri *E. coli* (Dewi, 2010).

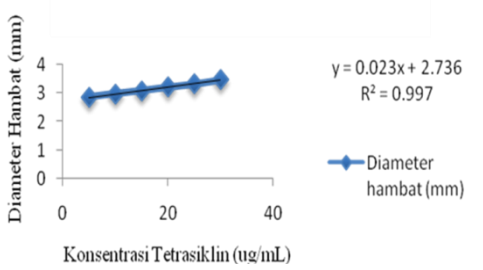
Penentuan Kesetaraan Aktivitas dengan Antibiotik Pembanding

Antibiotik yang digunakan pada penelitian ini adalah tetrasiklin HCl. Antibiotik pembanding dibuat dalam berbagai macam variasi konsentrasi menggunakan pelarut yang sesuai seperti yang tertera pada Farmakope Indonesia Edisi IV. Uji aktivitas pembanding tetrasiklin HCl masing-masing dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli.* Hasil penentuan kesetaraan antibiotik tetrasiklin HCl dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Penentuan Kesetaraan Aktivitaas dengan Tetrasiklin HCl

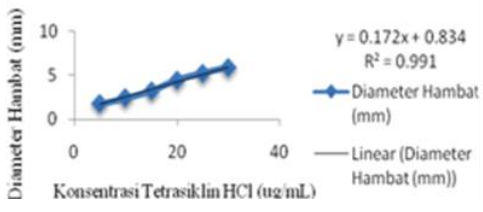
Staphylococcus aureus **ATCC 65381**		***Escherichia coli*** **ATCC 89391**	
Konsentrasi (µg/mL)	**Diameter Hambat (mm)**	**Konsentrasi (µg/mL)**	**Diameter Hambat (mm)**
5	2,86	5	1,79
10	2,98	10	2,43
15	3,09	15	3,26
20	3,21	20	4,47
25	3,32	25	5,23
30	3,47	30	5,89

Hasil pengujian selanjutnya dibuat kurva regresi linier antara konsentrasi tetrasiklin HCl (µg/mL) dengan diameter hambat (mm). Grafik kurva baku dari tetrasiklin HCl dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Grafik Penghambatan Tetrasiklin HCl Terhadap *S. aureus*

Nilai perbandingan ativitas ekstrak etanol daun sintrong dengan Tetrasiklin HCl terhadap *S. aureus* dihitung menggunakan persamaan pada kurva baku Tetrasiklin HCl. Berdasarkan data diperoleh bahwa pada konsentrasi 8% b/v ekstrak etanol daun sintrong dapat memberikan diameter hambat terhadap bakteri *S. aureus* setara dengan 11,913 µg/ml tetrasiklin HCl.



Gambar 3. Grafik Penghambatan Tetrasiklin HCl Terhadap *E. coli*

Sementara nilai perbandingan ekstrak dengan Tetrasiklin HCl terhadap bakteri *E. coli* yang dihitung menggunakan persamaan pada kurva baku Tetrasiklin HCl, diperoleh bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun sintrong sebesar 8% b/v memiliki aktivitas yang setara dengan konsentrasi tetrasiklin HCl sebesar 8,698 µg/ml.

Berdasarkan data yang diperoleh ekstrak etnol daun sintrong memiliki potensi sebagai antibakteri yang lebih rendah jika dibandingkan dengan antibiotik tetrasiklin HCl. Penajaman aktivitas antibakteri dari ekstrak masih mungkin dilakukan dengan cara memurnikan ekstrak, sehingga dapat diperoleh senyawa yang terbebas dari pengotor-pengotornya yang mungkin menghambat terhadap aktivitas zat aktif sebagai antibakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Simplisia dan ekstrak etanol daun sintrong mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, polifenol, monoterpenoid, seskuiterpenoid dan steroid.
2. Nilai kandungan senyawa fenolik total daari ekstrak etanol daun sintrong yang diperoleh secara maserasi adalah sebesar 1,8581 g GAE/ 100 g
3. Ekstrak etanol daun sintrong memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM terhadap *S. aureus* sebesar 8% b/v yang setara dengan 11,913 µg/ml tetrasiklin HCl, sementara nilai KHM terhadap *E. coli* sebesar 8% yang setara dengan 8,698 µg/ml.

Saran

Untuk penelitian lebih lanjut disarankan :

1. Melakukan isolasi senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri dari ekstrak etanol daun sintrong.
2. Melakukan skrining aktivitas yang lain terhadap ekstrak etanol daun sintrong.

DAFTAR PUSTAKA

Adjatin A *et al*. 2013. *Phytochemical screening and toxicity studies of Crassocephalum rubens (Juss. ex Jacq.) S. Moore and Crassocephalum crepidioides (Benth.) S. Moore Consumed as vegetable in Benin.*Volume

2.Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci, 2(8): 1-13.

Dewi F K, 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta.Latief A. 2012. *Obat Tradisiona*l. Jakarta: EGC.

Fransworth,N.R., (1966), *Biological and Phytochemical Screening of Plants*, J.Pharm.Sci, 55(3) : 243-269.

Galinato IM, Moody.K, Piggin CM, Hardy B, editor. 1999. *Upland Rice Weeds of South and Sotheast Asia*. Philippines: International Rice Research Institute. p. 19.

Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia: *Penuntun Cara Modern menganalisis Tumbuhan*, terjemahan K. Padmawinata dan I. Sudiro, Cetakan ke II. Bandung: ITB.

Hudaya A. 2010. Uji Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang *(Etlingeraelatior)* Sebagai Pangan Fungsional Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* .[Skripsi]. Jakarta. Fakultas Sains danTeknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Ibrahim M, 2007. *Mikrobiologi: Prinsip dan Aplikasi*. Surabaya: Unesa Universitas Press

Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi-23.Alih Bahasa Huriawatihartono *et al*. Jakarta: EGC.

Kee L.J., E.R Hayes. 1996. *Farmakologi: Pendekatan proses keperawatan*. Alih Bahasa Peter Anugrah. Jakarta: EGC.

Kusmiyati dan Agustini, N. W. R. 2007.Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari

Mikroalga *Porphyridium cruentum*. Biodiversitas, 8(1): 48-53.

Saputra N.S. 2013. Analisis Sekuen Poliketida Sintase Domain Ketosintase Pada Bakteri Endopit Akar *Ageratum conyzeides* L. [Skripsi]. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengrtahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

Kusdianti*et al*. 2008.*Tumbuhan Obat Di LegokJero Situ Lembang*. Bandung. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

Pourmouran, F, Hosseinimehr, S.J, Shahabimajd, N. 2006. *AntioxidantActivity, Phenol And Flavonoid Contents Of Some Selected Iranian Medicinal Plants.*African journal of Biotechnology Vol. 5(11) : 1142-1145, 2006.

Pratiwi, TS. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga.

Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB.

Sabir, A. 2003. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III.* Surabaya: Airlangga University Press.