Efektivitas Ekstrak Daun Cempedak *Artocarpus integer* Sebagai Antibakteri

Frengky Mawea^{1*}, Wilmar Maarisit¹, Olvie Datu¹, Nerni Potalangi²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon ²Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi: maweafrengky13@gmail.com Diterima: 4 Maret 2018, Disetujui: 20 Maret 2018

ABSTRAK

Masalah yang sering dihadapi dalam bidang pengobatan saat ini adalah resistensi bakteri terhadap antibiotik pada negara berkembang maupun negara maju. Oleh karena itu banyak dilakukan riset dalam pembuatan dan pengembangan antibiotik baru untuk menghadapi resistensi bakteri, baik dari bahan sintesis maupun dari sumber alami. A. Integer adalah salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat dan banyak ditemukan di daerah tropis. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis untuk pengamatan nilai MIC dan MBC. Penentuan nilai MIC pada tujuh perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol daun A. integer dibuat pengenceran berseri yakni 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 mg/ml. Analisis spektrofotometer bahwa nilai MIC ekstrak etanol daun A. integer pada bakteri E. coli terdapat pada konsentrasi 150 mg/ml dengan rata-rata absorbansi sebelum inkubasi 0,628 dan sesudah inkubasi 0,502. Nilai MIC pada bakteri S. aureus terdapat pada konsentrasi 250 mg/ml dengan rata-rata absorbansi sebelum inkubasi 0,765 dan sesudah inkubasi 0,529. Nilai MBC yang dianalisis lanjut pada spektrofotometer, bahwa ekstrak etanol daun A. integer belum mampu membunuh bakteri karena setelah diinkubasi menunjukan peningkatan nilai absorbansi. Ekstrak etanol daun A. Integer bersifat bakteriostatik. Nilai MIC pada konsentrasi 150 mg/ml terhadap bakteri E. coli, dan pada bakteri S. aureus terdapat pada konsentrasi 250 mg/ml.

Kata Kunci: Artocarpus integer, Antibakteri, MIC dan MBC

ABSTRACT

One of the most often problems in medicine faced in both developed and developing countries recently is bacterial resistance toward antibiotic. Therefore, there have been so many research conducted to make and develop new antibiotic to face the bacterial resistance from synthetic or natural resources. One of them is A. integer found mostly in tropical areas. This research is categorized as a laboratory experiment using Uv-Vis spectrophotometer to find out MIC and MBC value. To determine MIC on seven treatments of ethanol extract of the leaves A. integer must be done by dilution of 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 mg/ml. The results showed that spectrophotometer's analysis of MIC ethanol extract of the leaves A. integer on E.coli was at concentration of 150 mg/ml with an average absorbance before incubation of 0.628 and after incubation of 0.502. MIC values in S. aureus bacteria were found at a concentration of 250 mg/ml with an average absorbance before incubation of 0.765 and after incubation of 0.529. MBC values were further analyzed on a spectrophotometer. The ethanol extract of A. integer leaves could not be able to kill bacteria because after incubation absorbance value increased. Ethanol extract of A. Integer leaves is bacteriostatic. MIC values at a concentration of 150 mg/ml against E. coli bacteria, and in S. aureus bacteria were found at a concentration of 250 mg/ml.

Keywords: Artocarpus integer, Antibacterial, MIC and MBC

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi menjadi masalah yang serius khususnya di Negara-negara berkembang. Terapi farmakologi untuk mengatasi penyakit infeksi tersebut yaitu menggunakan antimikroba yang terdiri dari antibakteri atau antibiotik, antijamur. antivirus, antiprotozoa. antimikroba yang paling sering digunakan pada terapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan penggunaannya sering salah merupakan antibiotik. Terjadinya infeksi bakteri disebabkan oleh kedua bakteri yakni Escherichia coli dan Staphylococcus aureus (PERMENKES RI 2011).

Munculnya resistensi terhadap antibiotik dalam bakteri patogen merupakan yang perkembangan serius mengancam berakhirnya era antibiotik. Presentase infeksi bakteri lebih dari 70% berhubungan dengan infeksi nosokomial di Amerika Serikat yang resisten terhadap satu atau lebih obat antimikroba sebelumnya digunakan untuk (Brunton, 2008).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik pada negara berkembang maupun negara maju merupakan suatu masalah yang sering dihadapi dalam bidang pengobatan saat ini. Oleh karena itu banyak dilakukan riset dalam pembuatan dan pengembangan antibakteri/antibiotik baru untuk menghadapi resistensi bakteri, baik dari bahan sintesis maupun dari sumber alami (Pervez *et al.*, 2004).

Pembuktian ilmiah melalui uji pra klinik dan uji klinik merupakan suatu pemanfaatan dan pengembangan obat tradisional yang diwariskan turun temurun berdasarkan empiris. Bahan alam yang diproduksi di Indonesia adalah obat tradisional. Berdasarkan proses pembuatan, jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat obat dikelompokkan menjadi jamu didasarkan pada pendekatan empiris atau turun temurun. Obat herbal terstandar didasarkan pada pendekatan secara ilmiah yang produk jadinya telah dilakukan standarisasi terhadap bahan baku yang digunakan. Dan yang telah dilakukan standarisasi terhadap bahan baku dalam produk jadi yang digunakan serta klaim khasiatnya dibuktikan dengan uji klinik disebut fitofarmaka (Privanto, 2010)

Tanaman yang digunakan sebagai obat adalah cempedak *Artocarpus integer* yang banyak ditemukan di daerah tropis. Dalam pengobatan tradisional, kulit batang cempedak digunakan sebagai obat antimalaria, disentri dan penyakit kulit (Iwasaki dan Ogata, 1995)

Sebelumnya pernah dilakukan penelitian bahwa ekstrak fraksi etil asetat daun cempedak memiliki aktivitas antibakteri tehadap *Salmonella thyposa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus mutans* dengan konsentrasi 1000 ppm adalah zona hambat terbesar (Sahib, 2017)

Berdasarkan latar belakang yang dijelaskan, maka penulis melakukan penelitian untuk menentukan nilai MIC (Minimum Inhibitory Concentration), dan MBC (Minimum Bactericidal Concentration), ekstrak etanol daun A. integer terhadap bakteri E. coli, dan S. aureus.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fakultas MIPA UKIT, laboratorium fitokimia dan mikrobiologi Fakultas MIPA UNSRAT.

Aquades, etanol 70%, NaCl 0,9%, larutan Mc. Farland, medium Nutrien Agar (NA), medium Nutrient Broth (NB), sampel daun A. integer, strain bakteri Escherichia coli, dan Staphylococcus aureus adalah bahan yang digunakan dalam penelitian ini.

Autoklaf, spektrofotometer UV-Vis, batang pengaduk, *alumunium foil*, kain kasa steril, kapas, kertas label, korek api, kertas perkamen, api bunsen, erlenmeyer, *laminar air flow* (LAF), desikator, *hot plate*, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung, lemari pendingin, *water bath*, gelas ukur, gunting, inkubator, jarum ose, plastik *wrap*, pinset, pipet volume, mikropipet, *rotary evaporator*, *sentrifuge* (GS 150), seperangkat alat maserasi dan timbangan analitik.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium. Pada penelitian ini digunakan spektrofotometer UV-Vis untuk pengamatan nilai MIC dan MBC. Penentuan nilai MIC pada tujuh perlakuan, yaitu dengan konsentrasi ekstrak etanol daun cempedak yang dibuat pengenceran berseri yakni 50,

100, 150, 200, 250, 300, 350 mg/ml. Perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (Replikasi).

Tanaman diperoleh dari Halmehara Barat, Ibu tengah. Daun *A. integer* merupakan bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sampel daun cempedak diambil segar dan ditimbang 500 gr, kemudian dikumpulkan, disortasi, lalu dicuci dengan air mengalir. Sampel segar dibuat pengecilan ukuran dan dimasukan ke wadah maserasi dengan tambahkan pelarut etanol hingga 2 L atau lebih hingga semua sampel

terendam. Pada proses meserasi, setiap 24 jam dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan didapatkan filtrat. Waktu penyaringan setiap 24 jam dilakukan 3 hari. Filtrat hasil penyaringan yang diperoleh diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak daun cempedak ditimbang sebanyak 2000 mg dan larutkan dalam 20 ml aquades, kemudian dibuat seri konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 mg/ml.

Bakteri uji diperoleh dari laboratorium mikrobiologi farmasi Fakultas MIPA UNSRAT. Satu koloni bakteri E. coli diambil dengan jarum ose yang steril, kemudian jarum digores pada media NA miring, setelah penggoresan, media tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah selesai inkubasi, dari media kultur bakteri E. coli yang telah tumbuh diambil dengan jarum ose yang disterilkan lalu di suspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9%, sampai didapatkan kekeruhan suspensi bakteri sama dengan larutan standar 0.5 Mc. Farland, dari sini konsentrasi suspensi bakteri yang didapatkan adalah 108 cfu/ml. Setelah itu tabung steril yang berisi 9,9 ml NaCl 0,9% dimasukan 0,1 ml suspensi bakteri yang dipipet dari suspensi bakteri 108 cfu/ml lalu dikocok hingga homogen. Dari sini diperoleh suspensi bakteri 10⁶ cfu/ml. Untuk penyiapan suspensi bakteri S. aureus dilakukan seperti E. coli (Oonmetta-aree et al., 2005)

Metode dilusi cair digunakan pada penelitian ini untuk penentuan nilai MIC dan MBC menggunakan media cair NB dan absorbansi diukur sebelum dan sesudah inkubasi pada spektrofotometer UV-Vis guna melihat pertumbuhan bakteri yang diuji (Lennette *et al.*, 1991)

Sebanyak 16 ml media NB yang sudah disterilkan dimasukkan ke masing-masing erlenmeyer yang sudah diberi label konsentrasi, kemudian ditambahkan 2 ml ekstrak dengan masing-masing ekstrak yang telah dibuat konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 mg/ml, setelah itu tambahkan lagi 2 ml suspensi bakteri E. coli pada 106 cfu/ml yang sudah disesuaikan dengan standar 0,5 Mc. Farland dan dihomogenkan (Dikocok perlahan). Setelah itu dipindahkan ke masing-masing tabung reaksi yang telah diberi label konsentrasi dengan tiap tabung volume 5 ml. Untuk perlakuan pada bakteri S. aureus dilakukan sama dengan bakteri E. coli.

Sebanyak 21 tabung reaksi yang berisi media NB, suspensi bakteri dan ekstrak, masingmasing sebelum inkubasi diukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 600 nm dengan spektrofotometer UV-Vis, setelah itu 21 tabung uji tersebut diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam, dan suhu yang digunakan adalah 37°C. Setelah selesai 24 jam diinkubasi, dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm, diukur lagi nilai absorbansi pada masing-masing 21 tabung uji. MIC dengan membuat Penentuan cara perbandingan absorbansi setelah perlakuan inkubasi dikurangi absorbansi sebelum perlakuan inkubasi. Bila terdapat konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukan dengan tidak adanya kekeruhan atau absorbansi= ≤ 0, maka didapatkan nilai MIC. Kemudian pada penentuan nilai MBC, semua tabung yang digunakan pada penentuan nilai MIC yang tidak ada pertumbuhan bakteri (Bakteriostatik), diambil sebanyak 200 µl menggunakan mikropipet dari suspensi, lalu ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media NB steril, kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam, selanjutnya diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Setelah itu jika hasil pengukuran menunjukkan konsentrasi terendah ekstrak mempunyai absorbansi=0 maka didapatkan nilai MBCnya (Lennette et al., 1991)

Pada penelitian ini, hasil analisis spektrofotometer nilai MIC sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi pada kedua bakteri di analisis statistik dengan uji Kruskal Wallis non parametrik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi digunakan metode maserasi, karena metode ini sangat sederhana dan umum digunakan, yakni dengan merendam material/simplisia di dalam pelarut pada suhu kamar (tanpa pemanasan) untuk mencegah atau meminimalisir kerusakan metabolit pada simplisia.

Berbagai senyawa yang terkandung dalam daun *A. integer* dengan struktur kimia yang berbeda dapat mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap berbagai faktor seperti pemanasan, udara, cahaya, serta logam berat. Dengan menggunakan wadah yang terbuat dari kaca dilakukan proses maserasi untuk mencegah terjadinya reaksi kimia antara senyawa yang terkandung dalam daun *A. integer*, dan juga pelarut yang digunakan, karena stabilitas kaca yang baik dan atau tidak mudah bereaksi secara kimia, berbeda dengan plastik ataupun logam. Selama proses maserasi, wadah selalu dalam keadaan tertutup rapat untuk menghindari

terjadinya proses oksidasi oleh udara dari luar. Maserasi juga dilakukan di dalam ruangan tertutup untuk menghindari pengaruh cahaya sinar matahari terhadap stabilitas senyawa-senyawa yang akan diekstraksi (DEPKES RI, 2000; Srijanto *et al.*, 2004; Tensiska *et al.*, 2007).

Dalam melakukan ekstraksi, pelarut yang digunakan yakni etanol 70%. Dengan memiliki extracting power (daya ekstraksi) yang luas sehingga pelarut etanol 70% dapat mengekstraksi hampir semua senyawa metabolit sekunder pada daun A. integer dalam tiga kali maserasi (Saifudin, 2014). Etanol digunakan sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak daun A. integer dapat melarutkan kandungan senyawa-senyawa alkaloid, polifenol, tanin, terpenoid (Cowan, 1999)

Penguapan menggunakan *rotary evaporator*, umumnya dilakukan pada suhu rendah sekitar 40-50°C dan dibantu dengan alat vakum udara sehingga titik didih pelarut lebih rendah. Penguapan berlansung cepat sehingga kemungkinan terjadinya penguraian senyawa yang termolabil dapat dihindari (Hanani, 2014). Hasil dari evaporasi didapatkan ekstrak dengan bobot 51 gr.

MIC (Minimum Inhibitory Concentration) merupakan kadar antimikroba terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan Untuk menghasilkan mikroorganisme tertentu. antimikroba yang efektif, kadar antimikroba di dalam cairan tubuh secara klinis harus lebih tinggi dari nilai MIC. Apabila kadar tertentu tersebut tidak tercapai, antimikroba tersebut tidak dapat mengatasi infeksi. Sebagai contohnya suatu mikroorganisme dengan MIC 20 µg/ml rentan terhadap kadar tersebut secara in vitro. Namun, apabila kadar antimikroba yang dicapai dalam pertumbuhan darah hanya 5 μg/ml, mikroorganisme tidak dapat dihambat oleh antimikroba tersebut. **MBC** (Minimum **Bactericidal** Concentration) adalah kadar terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% mikroorganisme setelah inkubasi 18 jam (Radji, 2014)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, bahwa dengan menggunakan metode difusi, aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun *A. integer* paling besar terhadap bakteri *S. aureus* adalah konsentrasi 1000 ppm dengan rata-rata diameter zona hambat 7,5 mm. Yang tidak menunjukan adanya zona hambat terdapat pada bekteri *E. coli* (Sahib, 2017) Nilai MIC pada bakteri uji berbanding terbalik dengan zona hambat antimikroba cakram metode difusi, semakin kecil nilai MIC pada bakteri uji, maka

semakin luas zona hambat pada bakteri uji (Sahib, 2017). Pada penelitian lanjutan ini ekstrak etanol daun *A. integer* dipilih untuk pengujian MIC dan MBC dengan menggunakan metode dilusi cair.

Suspensi bakteri yang digunakan untuk pengujian adalah 10⁶ cfu/ml yang diencerkan dari 10⁸ cfu/ml sesuai larutan standar 0,5 *Mc. Farland.* Jumlah bakteri 10⁵–10⁸ cfu/ml telah memenuhi syarat digunakan untuk uji kepekaan (Carter dan Cole, 1990)

Pada penentuan nilai **MIC** dapat digunakan metode turbidimetri secara visual tetapi metode tersebut tidak dapat digunakan pada penelitian ini karena larutan ekstrak yang berwarna kecoklatan, dan juga hal ini cenderung bersifat subjektif dari penglihatan manusia, sehingga akan mempersulit pada pengamatan, karena itu untuk hasil yang akurat harus dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang yang dipakai untuk mengukur absorbansi dari jumlah mikroba yaitu 600 nm, menurut APHA (1998) umumnya pada 600 nm banyak sel-sel menyerap pada panjang gelombang

Berdasarkan hasil analisis yang terlihat pada Tabel 1 bahwa larutan ekstrak yang menunjukan efek bakteriostatik terhadap bakteri *E. coli* adalah konsentrasi 300 mg/ml dan 150 mg/ml. Berdasarkan analisis data spektrofometer bahwa nilai MIC pada bakteri *E. coli* terdapat pada konsentrasi 150 mg/ml. Hasil analisis yang terlihat pada Tabel 2 bahwa larutan ekstrak yang menunjukan efek bakteriostatik terhadap bakteri *S. aureus* adalah konsentrasi 350, 300 dan 250 mg/ml. Berdasarkan analisis data tersebut, nilai MIC pada bakteri *S. aureus* terdapat pada konsentrasi 250 mg/ml.

Menurut Benson (2002) bahwa ada hubungan sebanding antara jumlah sel bakteri dengan nilai absorbansi. Dengan demikian maka semakin jernih larutan uji maka nilai absorbansi juga semakin rendah dan sebaliknya semakin keruh larutan uji maka nilai absorbansi juga semakin tinggi.

Efek Antibakteri dari ekstrak daun *A. integer* pada bakteri bekerja tidak stabil yang menunjukan kenaikan nilai absorbansi pada konsentrasi yang lebih tinggi, yang seharusnya semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar aktivitas penghambatannya (Penurunan nilai absorbansi), tetapi pada penelitian ini tidak demikian.

Kenaikan nilai absorbansi yang terlihat pada konsentrasi tidak sepenuhnya karena pertumbuhan bakteri, tetapi dapat juga dipengaruhi oleh kepekatan dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, sehingga dapat mempengaruhi absorpsi cahaya oleh sel-sel bakteri yang mati di dalam larutan (Watson, 2012: Eckschlager. 1994: Astuningsig, 2014). Kekurangan dari alat spektrofotometer UV-Vis yaitu cahaya yang diabsorpsi tidak dapat membedakan antara sel-sel bakteri yang mati dan yang hidup. Kenaikan nilai absorbansi dapat juga konsentrasi ekstrak daun disebabkan oleh cempedak yang masih memiliki senyawa yang kompleks di dalamnya sehingga menyebabkan adanya senyawa-senyawa yang mempengaruhi Kelemahan spektrofotometer absorbsi cahava. **UV-Vis** diminimalisasi dapat dengan menggunakan alat high performance liquid chromatography (HPLC). Kromatografi adalah teknik analisis yang berbasis pada pemisahan molekul-molekul berdasarkan perbedaan struktur dan atau komposisinya (Astuningsih, 2014)

Hasil uji analisis spektrofotometer pada kedua bakteri didapatkan nilai MIC yang berbeda, Hal ini disebabkan karena perbedaan komponen penyusun dinding sel pada bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif. Dinding sel merupakan bagian yang terpenting dari sel bakteri karena berfungsi menyediakan komponen struktural yang kaku dan kuat sehingga memberi bentuk sel. Dinding sel bakteri gram positif strukturnya lebih sederhana, berbeda dengan struktur dinding sel pada bakteri gram negatif yang lebih kompleks. Kompleksitas dinding sel bakteri tersebut dapat menghambat senyawa antimikroba yang diujikan. Pada kuman gram positif, dinding sel terutama terdiri peptidoglikan yang relatif lebih tebal daripada bakteri gram negatif dan dikelilingi oleh lapisan asam teikoat dan lipoteikoat. Peptidoglikan merupakan molekul polimer yang terdiri dari rantai polisakarida paralel yang dihubungkan oleh ikatan polipeptida. Pada bakteri gram negatif, dinding selnya mempunyai lapisan peptidoglikan yang relatif tipis, dan dikelilingi lapisan lipoprotein, lipopolisakarida, fosfolipid, dan protein. Membran terluar menyatukan komponenkomponen spesifik bakteri gram negatif dan bersifat hidrofobik (Astuningsig, 2014).

Berdasarkan penelitian sebelumnya metabolit sekunder pada daun A. integer yang berperan sebagai antibakteri yaitu senyawa flavonoid dan senyawa fenol (Sahib, 2017). Kandungan senyawa-senyawa flavonoid dengan kerangka yang beragam salah satunya turunan prenilflavon telah berhasil di isolasi senyawa tunggal dari kulit akar Artocarpus rigida Blume, Artonin E (Gambar 1) kelas senyawa 3prenilflavon, dengan konsentrasi 250 µg/disc memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap E. coli dan Bacillus subtilis menghasilkan zona bening pada diameter 1,2 cm (E. coli) dan 0,9 cm (B. subtilis), kanamisin sulfat dengan konsentrasi 240 µg/disc menghasilkan zona bening dengan diameter zona hambat 2,2 cm. Senyawa ini dapat digunakan sebagai antibakteri (Suhartati et al, 2008). Dua isoprenilflavon Artocarpin dan Artocarpesin (Gambar 1) yang diisolasi dari Artocarpus heterophyllus dapat menghambat pertumbuhan bakteri kariogenik primer pada 3,13-12,15 konsentrasi µg/ml dan juga penghambatan menunjukan efek terhadap pertumbuhan Streptococci. Kedua senyawa ini potensial untuk pencegahan karies gigi (Jagtap dan Bapat, 2010

Gambar 1. Metabolit sekunder dari Artocarpus integer

Tabel 1. Data analisis nilai MIC pada bakteri $E.\ coli$

	Minimum Inhibitory Concentration							
	Absorbansi				Absorbansi			
		elum Inku			Sesudah Inkubasi			
		Replikasi			Replikasi			
K	I	II	III	Rata-rata	I	II	III	Rata-rata
50 mg/ml	0,375	0,373	0,373	0,373	0,857	0,764	0,814	0,811
$100 \ \mathrm{mg/ml}$	0,532	0,531	0,534	0,532	0,760	0,868	0,798	0,808
$150\ \mathrm{mg/ml}$	0,632	0,626	0,627	0,628	0,598	0,478	0,430	0,502
$200~{\rm mg/ml}$	0,665	0,663	0,665	0,664	0,881	0,896	0,878	0,885
$250\ \mathrm{mg/ml}$	0,674	0,675	0,675	0,674	1,167	1,187	1,107	1,153
$300 \ \mathrm{mg/ml}$	0,629	0,629	0,631	0,629	0,602	0,616	0,617	0,611
$350 \; \mathrm{mg/ml}$	0,793	0,785	0,793	0,790	1,255	1,171	1,277	1,234

Tabel 2. Data analisis nilai MIC pada bakteri S. aureus

	Minimum Inhibitory Concentration								
	Absorbansi					Absorbansi			
_			elum Inku			Sesudah Inkubasi			
			Replikasi			Replikasi			
	K	I	II	III	Rata-Rata	I	II	III	Rata-rata
_	50 mg/ml	0.361	0,364	0.364	0,363	0.750	0.750	0.903	0.801
	$100\ \text{mg/ml}$	0.575	0,574	0.573	0.574	0.836	0.885	0.945	0.888
	$150\ \mathrm{mg/ml}$	0.682	0.690	0.690	0.687	0.583	0.811	0.945	0.779
	$200 \ \mathrm{mg/ml}$	0.706	0.706	0.704	0.705	0.934	0.837	0.811	0.860
	$250\ \mathrm{mg/ml}$	0.720	0.787	0.790	0.765	0.551	0.486	0.551	0.529
	$300 \; \rm mg/ml$	0.933	0.915	0.913	0.920	0.575	0.424	0.557	0.518
	$350 \; \rm mg/ml$	1.050	1.053	1.048	1.050	0.925	0.708	0.835	0.822

Keterangan:

K = Konsentrasi Ekstrak

Berdasarkan hasil analisis lanjut yang terlihat pada tabel **3** dan **4**, pengujian MBC konsentrasi ekstrak daun *A. integer* belum menunjukan nilai MBC, hal ini ditunjukan setelah inkubasi adanya pertumbuhan bakteri atau kenaikan absorbansi pada tabung uji lanjut tersebut, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *A. integer* belum memiliki sifat bakterisidal, tetapi hanya bersifat bakteriostatik pada bakteri uji.

Tabel 3. Data analisis lanjut nilai mbc pada bakteri *E. Coli*

Minimum Bactericidal Concentration						
Absorbansi Sesudah Inkubasi						
Replikasi						
K	I	II	III	Rata-rata		
150 _{mg/ml}	0.330	0.386	0.479	0.398		
$300_{mg/ml}$	0.102	0.111	0.101	0.104		

Tabel **4**. Data Analisis Lanjut Nilai MBC Pada Bakteri *S. aureus*

Minin	Minimum Bactericidal Concentration					
Α	Absorbansi Sesudah Inkubasi					
Replikasi						
K	I	II	III	Rata-rata		
$250_{mg/ml}$	0.118	0.173	0.116	0.135		
$300_{mg/ml}$	0.118	0.117	0.114	0.116		
$350_{mg/ml}$	0.117	0.114	0.154	0.128		

Tabel 5. Hasil analisis kruskal wallis (MIC E. coli)

	MIC Sebelum	MIC Sesudah
	Inkubasi	Inkubasi
Chi-square	19,338	19,152
Df	6	6
Asymp.Sig.	0,004	0,004

Tabel **6**. Hasil analisis kruskal wallis (MIC *S. aureus*)

	MIC Sebelum	MIC Sesudah
	Inkubasi	Inkubasi
Chi-square	19,675	13,546
Df	6	6
Asymp.Sig.	0,003	0,035

Hasil analisis Kruskal Wallis non parametrik pada tabel 5 bahwa pada bagian MIC sebelum dan sesudah inkubasi, terlihat nilai signifikan (0,004) kurang dari nilai alpha $(\alpha=0,05)$, oleh karena itu H_0 ditolak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan dari tiap perlakuan konsentrasi ekstrak terhadap nilai MIC sebelum dan sesudah inkubasi pada bakteri $E.\ coli.$

Analisis Kruskal Wallis non parametrik pada tabel 6 bahwa pada bagian MIC sebelum

inkubasi terlihat nilai signifikan (0,003) dan sesudah inkubasi nilai signifikan (0,035) kurang dari nilai alpha $(\alpha=0,05)$, oleh karena itu H_0 ditolak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan dari tiap perlakuan konsentrasi ekstrak terhadap nilai MIC sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi pada bakteri *S. aureus*.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, secara *in vitro* ekstrak etanol daun cempedak (A. Integer) bersifat bakteriostatik dengan nilai Minimum Inhibitory Concentration (MIC) pada konsentrasi 150 mg/ml terhadap bakteri E. coli, dan pada bakteri S. aureus terdapat pada konsentrasi 250 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

Astutiningsih, C. Setyani, W. Hindratna, H. 2014. Uji Daya Antibakteri Dan Identifikasi Isolat Senyawa Katekin Dari Daun Teh (*Camellia* sinensis L. var Assamica). Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas. p50-57.

American Public Health Association (APHA). 1989.
Standard methods for the examination of water and wastewater. American Water Works Association (AWWA) and Water Pollution Control Federation (WPCF). 17th ed. Washington.

Benson, H.J. 2002. Microbiological Applications Laboratory Manual In General Microbiology Eight Edition. Pasadena City College. Pasadena.

Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A., Mietzer. T.A., Jawets, Melnick, and Adelberg's 2010. Medical Microbiology. Twenty-fifth Edition. The McGraw-Hill Medical. United States of America.

Brunton, L.L., Parker, K.L., Blumenthal D.K., Buxton, L.L.O. 2008. Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics, United States of America.

Carter, G.R. and Cole, J.R. 1990.Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology. 5th edition. Academic Press. Inc. San Diego California.

Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. Journal Microbiology Reviews. 12(4): p564-582.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. Parameter Umum Standar Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama.

- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Eckschlager, K. 1994. Kesalahan Pengukuran dan Hasil dalam Analisis Kimia. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Hanani. E. 2014. Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Iwasaki, T. and Ogata, Y. 1995. Medicinal Herbs Index in Indonesia, 2nd edition. PT. Eisai Indonesia.
- Jagtap, U.B, and Bapat, V.A. 2010. *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 129:, p142–166.
- Lennette, T. H., Barilows, A., Hausler, W.J.J., Shadoni, H. J. 1991. Manual Clinical Microbiology (5th edition). Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Oonmetta-aree, J.S., 2005. Tomoko, G., Piyaman, Griangsak. E. Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga Linn.*) on *Staphylococcus aureus*, 39, p1214-1220.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406/MENKES/ PER/XII/2011 Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik.
- Pervez, M.K.U., Hakim, M.A., Chowdhury, D.K., Rahman, M.S. 2004. Study on Antibiotic Resistence by Pathogenic Bacteria Isolated from Clinical Specimen, , *Pak. J. Biol. Sci.* 7(11).
- Priyanto. 2010. Farmakologi Dasar Untuk Mahasiswa Farmasi & Keperawatan, Edisi 2, Penerbit LESKONFI, Jakarta.
- Saifudin, A. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Deepublish. Edisi 1. Yogyakarta.
- Sahib, N.A. 2017. Uji Aktivitas Antimikroba Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Cempedak (*Artocarpus champeden* L) Terhadap Mikroba Patogen, Uin Alauddin Makassar.
- Suhartati, T., Yandri, S. Hadi. 2008. The bioactivity test of artonin E from the bark of *Artocarpus rigida* Blume. *European Journal of Scientific Research* 23:, p330–337.
- Srijanto, B., Rosidah, I., Ris, E., Syabirin, G. Aan, Mahreni. 2004. Pengaruh Waktu, Suhu dan Perbandingan Bahan Baku-Pelarut pada Ekstraksi Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorizza* Roxb.) dengan Pelarut Aseton. Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses, p1-5.

- Soleha. T.U. 2015. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. Jurnal Kedokteran Universitas Lampung. 5(9), p119-123.
- Radji, M. 2014. Mekanisme Aksi Molekuler Antibiotik dan Kemoterapi. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta,
- Tensiska, Marsetio., S., Yudiastuti. 2007. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. Laporan Penelitian. FTIP Universitas Padjadjaran, Bandung
- Watson D.G. 2012. Pharmaceutical Analysis 3nd edition. A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists. London: Elsevier.