

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis*

Antibacterial Activity Test of Cassava Peel Ethanol Extract (Manihot esculenta Crantz) against Staphylococcus epidermidis

Syafia Farihatul Uzma¹, Khairul Anam¹, Widyaningrum Utami^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Universitas Diponegoro Semarang

*Corresponding author : widyaningrumutami@lecturer.undip.ac.id

ABSTRAK

Kulit singkong dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri karena mengandung metabolit sekunder seperti tanin dan kuinon. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit singkong terhadap *S. epidermidis*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap faktorial (2 faktor). Sampel penelitian ini adalah kulit singkong yang dimaserasi dengan berbagai pelarut (E1: etanol 50%, E2: etanol 70%, E3: etanol 96%), masing-masing dibuat berbagai konsentrasi (5%, 10%, 15%, 20%). Pengujian antibakteri menggunakan metode *disk diffusion*. Penentuan kesetaraan ekstrak terhadap antibiotik dilakukan dengan membuat kurva baku tetrasiklin. Penentuan KHM menggunakan metode dilusi cair. Diameter hambat dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Ekstrak etanol kulit singkong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. epidermidis*. Diameter hambat ekstrak E3 memberikan perbedaan bermakna ($P < 0,05$) terhadap ekstrak E1 dan E2. Ekstrak E1 (200 mg/mL) setara dengan 2,69 $\mu\text{g/mL}$ tetrasiklin HCl, ekstrak E2 (200 mg/mL) setara dengan 3,74 $\mu\text{g/mL}$ tetrasiklin HCl, ekstrak E3 (200 mg/mL) setara dengan 6,62 $\mu\text{g/mL}$ tetrasiklin HCl. KHM ekstrak E1 (100 mg/mL), KHM ekstrak E2 (50 mg/mL), KHM ekstrak E3 (25 mg/mL).

Kata Kunci: diameter zona hambat, *disk diffusion*, dilusi cair, KHM

ABSTRACT

Cassava peel can be used as an antibacterial, because it contains secondary metabolites such as tannins and quinones. This study aimed to find out the antibacterial activity of cassava peel's ethanol extract against *Staphylococcus epidermidis*. This study is experimental research with a factorial completely randomized design research (2 factors). The sample in this research is cassava peel macerated with various solvents (E1: ethanol 50%, E2: ethanol 70%, E3: ethanol 96%), each made in various concentrations (5%, 10%, 15%, 20%). Antibacterial testing using disk diffusion method. Equivalence determination of the extract against antibiotics is carried out by making a standard tetracycline curve. MIC determination using broth dilution method. Inhibition diameter is analyzed using the *Kruskal-Wallis* test and followed by the *Mann-Whitney* test. Ethanolic extract of Cassava peel has antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis*. The diameter inhibition of the E3 extract gives a significant difference ($P < 0,05$) to the E1 and E2 extracts. Extract E1 (200 mg/mL) is equivalent to 2,69 $\mu\text{g/mL}$ tetracycline HCl, extract E2 (200 mg/mL) is equivalent to 3,74 $\mu\text{g/mL}$ tetracycline HCl, extract E3 (200 mg/mL) is equivalent to 6,62 $\mu\text{g/mL}$ tetracycline HCl. MIC extract E1 (100 mg/mL), MIC extract E2 (50 mg/mL), MIC extract E3 (25 mg/mL).

Keywords: inhibition zone diameter, disk diffusion, broth dilution, MIC

PENDAHULUAN

Infeksi adalah suatu penyakit yang banyak dialami masyarakat di Indonesia (Irwan, 2017). Salah satu jenis infeksi yang mengakibatkan peningkatan angka kesakitan dan kematian di rumah sakit yaitu infeksi nosokomial. Infeksi ini merupakan penyakit yang didapatkan oleh pasien saat pasien menjalani perawatan medis di suatu fasilitas kesehatan dan belum muncul ketika pasien masuk ke fasilitas kesehatan tersebut (Sikora and Zahra, 2020).

Salah satu bakteri patogen nosokomial utama yaitu *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri ini menyebabkan sekitar 40 - 90% kejadian infeksi nosokomial yang berkaitan dengan peralatan rumah sakit (Timothy, Lusida and Hermanto, 2017). Antibiotik yang dapat dikonsumsi untuk terapi infeksi nosokomial di antaranya tetrasiklin, penisilin, sefalosporin, makrolida, vankomisin, dan lain-lain (Herawati and Irawati, 2014). Namun, penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat meningkatkan kejadian resistensi. Maka dibutuhkan agen lain sebagai penghambat pertumbuhan bakteri agar dapat menghindari kejadian resistensi tersebut.

Bahan tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu kulit singkong. Kulit singkong memiliki kandungan tanin dan kuinon yang dapat berfungsi sebagai zat antibakteri (Asiah, Mulkiya and Syafnir, 2019). Produksi singkong di Indonesia mencapai 21 juta ton sedangkan kulit singkong yang dihasilkan akan terbuang menjadi limbah (Badan Pusat Statistik, 2015). Maka dari itu, pemanfaatan kulit singkong sebagai antibakteri juga dapat mengurangi pencemaran lingkungan.

METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2021 hingga Agustus 2022 bertempat di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. Penelitian ini merupakan

jenis penelitian eksperimental dengan Rancangan acak lengkap faktorial (2 faktor). Sampel kulit singkong diperoleh dari Kecamatan Turi, Kabupaten Sleman dengan kriteria inklusi yaitu singkong yang dipanen saat berumur 7 – 9 bulan

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi seperangkat alat gelas, jarum ose, oven, *rotary evaporator*, autoklaf, *herb grinder*, *magnetic stirrer*, vortex, alat sentrifugasi, inkubator, tanur, *waterbath*, bunsen, jangka sorong, spektrofotometer UV-Vis, UV 254 nm, dan UV 366 nm. Bahan yang digunakan yaitu kulit singkong segar, aquabidest, asam asetat glasial, butanol, kloroform, etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, etanol 95%, media *Mueller Hinton Agar*, media *Nutrient Agar*, media *Mueller Hinton Broth*, darah manusia, antikoagulan natrium sitrat 3,8 %, biakan murni bakteri *S. epidermidis*, larutan NaCl 0,9%, larutan standar 0,5 McFarland, tetrasiklin HCl, *blank sterile antibiotic disk*, *disk* antibiotik tetrasiklin 30 µg, larutan DMSO, larutan H₂O₂, larutan H₂SO₄, plat KLT silica gel F₂₅₄.

Pembuatan Simplisia

Kulit singkong bagian dalam dikumpulkan dan dilakukan sortasi basah. Kulit singkong dicuci dengan air bersih dan ditiriskan. Bahan simplisia dipotong dan dikering-anginkan selama 6 hari. Simplisia kulit singkong disortasi kering dan diserbukkan. Serbuk simplisia diayak menggunakan pengayak nomor 40.

Karakterisasi simplisia

Pemeriksaan Mikroskopis Simplisia

Serbuk simplisia kulit singkong diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia Kulit Singkong

Jenis Pengujian	Hasil
Pemeriksaan mikroskopis	Terdapat amilum
Penetapan kadar sari larut air	18,48% ± 0,39
Penetapan kadar sari larut etanol	16,59% ± 0,35
Penetapan kadar air	7,07% ± 0,04
Penetapan kadar abu total	3,23% ± 0,12
Penetapan kadar abu tak larut asam	0,06% ± 0,01

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk Simplisia Kulit Singkong

Jenis Uji	Pereaksi	Hasil	Kontrol Positif
Flavonoid	HCl pekat Serbuk Mg Amil alkohol	Positif	Kuersetin
Alkaloid	Bouchardat Dragendorf	Negatif Negatif	Kafein
Tanin	FeCl ₃ 1%	Positif	Asam galat
Saponin	Akuades	Positif	Daun waru
Kuinon	NaOH	Positif	Lidah buaya
Steroid	Liebermann Bourchard	Negatif	Daun katuk
Terpenoid	Liebermann Bourchard	Negatif	Eugenol

Tabel 3. Hasil ekstrak etanol kulit singkong

Jenis ekstrak etanol kulit singkong	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
50%	67,27	22,42
70%	64,87	21,62
96%	57,46	19,15

Penetapan Kadar Air

Sejumlah 10 gram serbuk simplisia dimasukkan dalam kurs porselin yang sebelumnya telah ditara. Sampel dipanaskan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 5 jam, lalu ditimbang. Pemanasan selanjutnya dilakukan selama 60 menit berturut-turut sampai selisih antara 2 penimbangan ≤ 0,25% dan % kadar air dihitung.

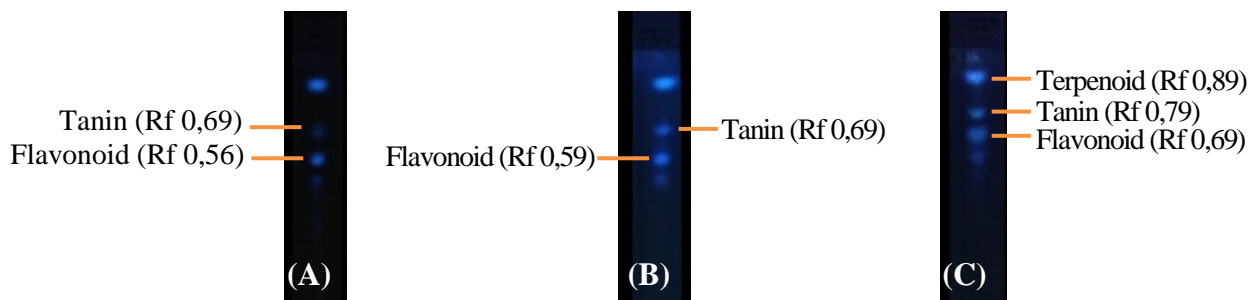
Penetapan Kadar Sari Larut Air dan Etanol

Masing-masing 5 gram serbuk simplisia dimaserasi menggunakan 100 mL air jenuh kloroform (larut dalam air) dan 100 mL etanol 95% (larut dalam etanol) selama 24 jam. Dilakukan

pengocokan pada 6 jam pertama, didiamkan selama 18 jam, lalu disaring. Sebanyak 20 filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan porselen yang sudah ditara. Residu dipanaskan dengan suhu 105°C hingga bobot tetap.

Penetapan Kadar Abu Total dan Abu Tak Larut Asam

Sejumlah 2 gram serbuk simplisia ditempatkan ke dalam kurs porselin (sebelumnya kurs telah dipijar dan ditara). Kurs yang berisi serbuk simplisia tersebut dipijarkan perlahan sampai arang tak tersisa dan didiamkan hingga dingin, lalu ditimbang dan kadar abu total dihitung.



Gambar 1. Hasil uji KLT terhadap ekstrak di bawah lampu UV 366 nm dengan fase gerak butanol : asam asetat : air (6 : 2 : 2) dan penampak bercak H₂SO₄ ((A) Ekstrak Etanol 50% KS, (B) Ekstrak Etanol 70% KS, (C) Ekstrak Etanol 96% KS)

Tabel 4. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Singkong

Uji Fitokimia	Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak		
	50%	70%	96%
Flavonoid	Positif	Positif	Positif
Alkaloid	Negatif	Negatif	Negatif
Tanin	Positif	Positif	Positif
Saponin	Negatif	Negatif	Positif
Kuinon	Positif	Positif	Positif
Steroid	Negatif	Negatif	Negatif
Terpenoid	Negatif	Negatif	Positif

Tabel 5. Rata-rata Diameter Hambat Ekstrak Etanol Kulit Singkong

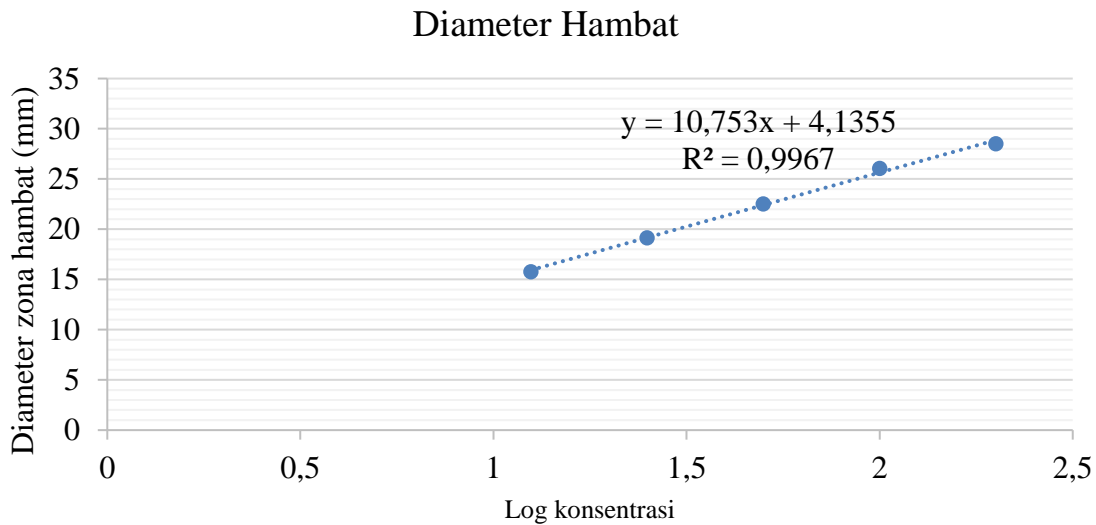
Konsentrasi	Rata-rata Diameter Hambat (mm ± SD)		
	Ekstrak Etanol 50%	Ekstrak Etanol 50%	Ekstrak Etanol 50%
5%	0,00 ^a ± 0,00	6,68 ^b ± 0,19	10,32 ^f ± 0,27
10%	6,96 ^b ± 0,52	7,49 ^c ± 0,21	11,57 ^g ± 0,55
15%	7,70 ^c ± 0,20	8,62 ^d ± 0,41	12,17 ^h ± 0,18
20%	8,76 ^d ± 0,59	10,3 ^f ± 0,49	12,96 ⁱ ± 0,61
K+	32,37 ^e ± 0,21	31,42 ^e ± 0,25	31,81 ^e ± 0,21
K-	0,00 ^a ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00

Keterangan: Angka yang diikuti superscript huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak bermakna

Sisa abu dari pengujian kadar abu total dididihkan dengan HCl encer sejumlah 25 mL selama 5 menit. Abu tidak larut asam disatukan dan disaring menggunakan kertas saring bebas abu, dibilas dengan air panas, kemudian dipijarkan pada suhu 800° ± 25°C sampai bobotnya konstan. Kadar abu tidak larut asam dihitung.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia diekstraksi dengan pelarut etanol berbagai konsentrasi (50%, 70%, 96%). Serbuk simplisia direndam pelarut etanol pada bejana tertutup (1 : 10). Maserasi dilakukan selama 1 x 24 jam dan sesekali disertai pengadukan pada 6 jam pertama. Maserat disaring melalui kertas saring dan ampas maserat diremaserasi sebanyak dua kali. Maserat dipisahkan dengan *rotary evaporator*.



Gambar 2. Kurva Baku Tetrasiklin HCl

Tabel 6. Hasil Kesetaraan Ekstrak Etanol Kulit Singkong terhadap Tetrasiklin HCl

Ekstrak Etanol Kulit Singkong	Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)	Nilai Kesetaraan (mg/mL)
50%	200	2,69
70%	200	3,74
96%	200	6,62

Penapisan Fitokimia

Uji Flavonoid

0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental ditambahkan 10 mL aquades, dididihkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat diambil 5 mL, ditambah 1 mL HCl pekat, 0,1 gram serbuk Mg, 3 tetes amil alkohol, dan dikocok. Hasil positif terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah pada lapisan amil alkohol.

Uji Alkaloid

0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental ditimbang, ditambahkan 9 mL aquades dan 1 mL HCl 2N, dipanaskan selama 5 menit dan didinginkan. Larutan dibagi ke dalam 2 tabung reaksi, tabung 1 ditetesi pereaksi Bouchardat dan tabung 2 ditetesi pereaksi Dragendorff. Hasil positif yaitu adanya endapan coklat pada pereaksi

Bouchardat dan endapan coklat muda, jingga-merah bata pada pereaksi Dragendorff.

Uji Saponin

0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental ditambahkan 10 mL aquades panas, dikocok kuat selama \pm 10 detik. Sampel didiamkan selama 10 menit dan diamati busa yang terbentuk. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang bertahan stabil.

Uji Kuinon

0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental ditambahkan 10 mL aquades, dipanaskan selama 5 menit, dan disaring. Filtrat ditambahkan 3 tetes NaOH. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna coklat kemerahan.

Uji Tanin

0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental ditambahkan 10 mL aquades panas, ditetesi FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tua.

Uji Steroid/Terpenoid

0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental diekstraksi dengan 10 mL eter selama 2 jam. Ditambahkan pereaksi *Liebermann-Bouchard* ke dalam larutan. Hasil positif terbentuknya warna hijau atau biru untuk steroid, warna ungu untuk terpenoid.

Penapisan Fitokimia Ekstrak secara KLT

Chamber diisi dengan eluen dan dijenuhkan. Plat KLT silica gel F₂₅₄ dipotong dan dipanaskan dengan oven selama 30 menit pada suhu 110°C. Plat KLT silica gel F₂₅₄ diberi tanda batas atas dan bawah. Sampel ditotolkan pada batas bawah dan dikeringkan. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber dalam posisi tegak lurus, lalu didiamkan hingga eluen sampai pada batas atas. Plat KLT diambil dari chamber dan dikeringkan pada udara terbuka. Plat KLT diamati pada sinar UV 254 nm dan 366 nm dan nilai R_f dihitung. Senyawa fitokimia diidentifikasi dengan penampak noda.

Identifikasi Flavonoid

Penampak noda yang digunakan adalah uap amonia. Hasil positif menunjukkan adanya warna kuning coklat

Identifikasi Tanin

Penampak noda yang digunakan adalah FeCl₃ 5%. Hasil positif menunjukkan adanya warna hitam.

Identifikasi Terpenoid

Penampak noda yang digunakan adalah *Liebermann-Bouchard*. Hasil positif menunjukkan

adanya warna merah atau ungu setelah dipanaskan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 5 menit.

Pembuatan Media Nutrient Agar

Nutrient Agar dilarutkan dengan akuades di dalam erlenmeyer. Larutan tersebut dididihkan menggunakan *hotplate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga larut sempurna. Setelah suhunya turun, media dituang sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, ditutup, dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, selama 15 menit dalam posisi tegak. Selanjutnya, tabung reaksi tersebut dimiringkan dan didinginkan.

Pembuatan Media Mueller Hinton Agar dan Mueller Hinton Broth

Masing-masing media dilarutkan dengan akuades di dalam erlenmeyer. Larutan tersebut dididihkan menggunakan *hotplate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai larut sempurna. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sejumlah 15 mL media MHA dituang secara aseptis ke dalam cawan petri, lalu didiamkan hingga memadat.

Plasma Sitrat

Darah manusia dihomogenkan dengan antikoagulan natrium sitrat 3,8 % (9 : 1). Campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Plasma sitrat yang bebas eritrosit dipisahkan ke dalam tabung reaksi steril yang lain.

Peremajaan Bakteri *S. epidermidis*

Koloni bakteri *S. epidermidis* diambil dari biakan murni pada media *Nutrient Agar* dengan jarum ose steril, lalu diinokulasikan ke dalam media *Nutrient Agar* miring secara aseptis. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C menggunakan inkubator selama 24 jam.

Karakterisasi Bakteri Uji

Pewarnaan Gram

Sebanyak 1 ose bakteri *S. epidermidis* hasil peremajaan berumur 24 jam diletakkan ke dalam *object glass* yang telah ditetesi akuades. Preparat apusan dibuat pada *object glass*, dikeringkan, dan difiksasi di atas bunsen. Preparat ditetesi kristal violet selama 60 detik dan dicuci dengan akuades. Preparat ditetesi iodium selama 60 detik dan dibilas dengan akuades. Preparat ditetesi dengan etanol 95% selama 15 detik dan dicuci dengan akuades. Preparat ditetesi safranin selama 60 detik dan dicuci dengan akuades. Preparat ditetesi minyak imersi dan diamati dibawah mikroskop mulai dari perbesaran 40x.

Uji Koagulase

Plasma sitrat ditetaskan di atas gelas objek, lalu ditambahkan dengan koloni bakteri *S. epidermidis*. Campuran di atas gelas objek tersebut dihomogenkan menggunakan ose dan diamati gumpalannya. Bakteri *S. epidermidis* bersifat koagulase negatif sehingga tidak dapat membentuk gumpalan pada plasma sitrat.

Uji Katalase

Larutan H₂O₂ 3% ditetaskan pada gelas objek. Satu ose isolat bakteri uji diambil, diletakkan di atas gelas objek, dan diamati pembentukan gelembungnya. Bakteri *S. epidermidis* merupakan katalase positif sehingga dapat membentuk gelembung udara pada tetesan H₂O₂ di atas gelas objek tersebut.

Pembuatan Standar McFarland

Sebanyak 0,05 mL larutan BaCl₂ 1% ditambahkan 9,95 mL H₂SO₄ 1%. Larutan divortex hingga homogen.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri *S. epidermidis* hasil peremajaan pada media *Nutrient Agar* miring yang berumur 24 jam diinokulasikan secara aseptis menggunakan jarum ose ke dalam tabung reaksi yang telah diisi NaCl 0,9% sebanyak 10 mL. Suspensi tersebut dihomogenkan dengan vortex dan kekeruhannya disetarakan dengan larutan 0,5 Mc Farland (10⁸ CFU/mL).

Pembuatan Larutan Uji

Larutan Uji Ekstrak Etanol Kulit Singkong

Pembuatan larutan stok ekstrak etanol kulit singkong (konsentrasi 50% b/v) dilakukan dengan cara: sebanyak 5 gram ekstrak etanol kulit singkong dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, selanjutnya ditambahkan larutan DMSO 75% ad 10 mL, dan digojok hingga homogen. Larutan stok tersebut akan dibuat variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% (b/v).

Larutan Uji Kurva Standar Tetrasiklin

Sejumlah 10 mg tetrasiklin HCl dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, lalu ditambahkan larutan DMSO 75% hingga mencapai tanda batas (10 mL), kemudian dihomogenkan. Larutan stok tersebut (1000 µg/mL) dibuat menjadi 5 variasi konsentrasi yaitu 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL (tiap konsentrasi dibuat 10 mL).

Uji Aktivitas Antibakteri

Lidi kapas steril dicelupkan dalam suspensi bakteri uji *S. epidermidis* dan dihilangkan kelebihan cairannya. Lidi kapas tersebut dioleskan ke semua permukaan petri yang berisi media MHA sebanyak tiga kali. Distribusi inokulum dipastikan merata, lalu dibiarkan mengering selama 3 – 5 menit. Sejumlah 20 µL larutan uji ditetaskan ke dalam *blank sterile antibiotic disk*. Disk antibiotik tetrasiklin 30 µg sebagai kontrol positif dan larutan DMSO 75%

sebagai kontrol negatif. Masing-masing *disk* ditempatkan di atas media dan ditekan ke bawah. Setelah 15 menit, cawan petri yang berisi *disk* tersebut diinkubasi selama 16 – 18 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Pengujian dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Diameter hambat (termasuk diameter *disk*) diukur dengan jangka sorong.

Uji Kesetaraan terhadap Antibiotik Pemanding

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan cara nilai logaritma konsentrasi antibiotik pemanding (sumbu x) diplotkan terhadap diameter zona hambat antibiotik (sumbu y). Persamaan garis dinyatakan dalam bentuk linier $y = mx + b$. Nilai diameter hambat ekstrak etanol kulit singkong dimasukkan terhadap persamaan garis tersebut untuk menghitung kesetaraan ekstrak.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi terkecil ekstrak etanol kulit singkong yang menghasilkan zona hambat pada metode *disk diffusion* diencerkan berturut-turut menjadi 4 variasi konsentrasi. Sejumlah 0,1 mL suspensi bakteri uji *S. epidermidis* (10^8 CFU/mL) diencerkan ke dalam 9,9 mL media MHB untuk mendapatkan suspensi bakteri uji dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL. Sebanyak 5 mL suspensi bakteri uji (10^6 CFU/mL) ditambahkan 5 mL masing-masing ekstrak etanol kulit singkong di dalam tabung reaksi yang berbeda untuk mendapatkan konsentrasi akhir (5×10^5 CFU/mL). Tetrasiklin HCl ($32 \mu\text{g/mL}$) sebagai kontrol positif dan larutan DMSO 75% sebagai kontrol negatif. Konsentrasi larutan yang ditambahkan harus dilipatgandakan 2x dari konsentrasi larutan uji yang telah ditentukan. Setiap tabung reaksi diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 630 \text{ nm}$), kemudian semua tabung reaksi diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 16 – 20

jam. Setelah inkubasi, absorbansi tiap larutan uji diukur kembali.

Analisis Data

Data diameter zona hambat ekstrak etanol kulit singkong terhadap *S. epidermidis* diuji normalitas dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas dengan uji Levene. Hasil pengujian tersebut tidak memenuhi syarat sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Simplisia Kulit Singkong

Susut pengeringan simplisia kulit singkong yaitu sebesar 80,77%. Proses pengeringan menyebabkan berkurangnya kandungan air pada kulit singkong (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

Karakterisasi Simplisia

Serbuk simplisia dilakukan karakterisasi untuk menjamin dan mengetahui mutu simplisia kulit singkong. Hasil karakterisasi disajikan pada Tabel 1. Pengamatan mikroskopis pada serbuk simplisia menunjukkan bahwa preparat serbuk kulit singkong berisi pati/amilum. Hal ini sesuai dengan sebuah penelitian yang menyatakan bahwa pengamatan mikroskopis pada serbuk kulit singkong menunjukkan adanya butiran pati (Mohd-Asharuddin *et al.*, 2017). Nilai kadar sari larut air yang lebih tinggi menunjukkan bahwa lebih banyak senyawa yang larut dalam pelarut air daripada dalam etanol.

Kadar air pada serbuk simplisia kulit singkong yaitu sebesar 7,07%. Kandungan air yang besar pada simplisia dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme sehingga memengaruhi mutu simplisia (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985). Berdasarkan hasil penetapan kadar

air, dapat diprediksi bahwa kemungkinannya kecil untuk terjadi pertumbuhan mikroba pada simplisia kulit singkong.

Hasil penetapan kadar abu total pada serbuk simplisia kulit singkong yaitu sebesar 3,23%. Penetapan kadar abu total dilakukan untuk mengetahui banyaknya pengotor (pasir dan tanah) yang tersisa setelah pemijaran. Kadar abu tak larut asam pada serbuk simplisia kulit singkong yaitu sebesar 0,06%. Penetapan kadar abu tak larut asam dilakukan untuk mengetahui banyaknya residu yang tidak hilang pada suhu tinggi dan tidak dapat larut dengan asam (World Health Organization, 2011). Nilai kadar abu total dan abu tak larut asam yang rendah menunjukkan bahwa residu pada simplisia memiliki kadar yang rendah juga.

Kandungan Fitokimia Kulit Singkong

Hasil skrining fitokimia kulit singkong disajikan pada Tabel 2. Serbuk simplisia kulit singkong mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan kuinon. Penelitian lain menunjukkan bahwa simplisia kulit singkong memiliki kandungan senyawa kuinon dan tanin (Asiah, Mulkiya and Syafnir, 2019). Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder disebabkan metode pengeringan yang berbeda. Metode pengeringan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kering angin, sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan oven. Pengeringan menggunakan oven pada suhu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada senyawa yang terkandung dalam simplisia. Selain itu, perbedaan faktor genetik dan lingkungan juga memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga berpengaruh terhadap biosintesis dari metabolit primer dan sekundernya (Mohammadi Bazargani, Falahati-Anbaran and Rohloff, 2021). Perbedaan proses biosintesis menyebabkan variasi kandungan senyawa pada tiap tumbuhan.

Ekstrak Kulit Singkong

Hasil ekstraksi serbuk simplisia kulit singkong dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol disajikan dalam Tabel 3. Pembuatan ekstrak kulit singkong dilakukan dengan metode maserasi. Semakin besar nilai konstanta dielektrik suatu pelarut, maka polaritas pelarut tersebut semakin tinggi (Harborne, 1987). Konstanta dielektrik etanol 50%, etanol 70%, dan etanol 96% berturut-turut adalah 48,1; 35,34; 18,75. Berdasarkan hasil, maka dapat disimpulkan bahwa nilai rendemen ekstrak bertambah seiring dengan meningkatnya polaritas pelarut ekstraksi.

Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Singkong

Hasil penapisan fitokimia masing-masing ekstrak etanol kulit singkong disajikan pada Tabel 4. Ekstrak etanol 96% kulit singkong mengandung senyawa saponin dan terpenoid yang tidak terkandung pada ekstrak lain. Perbedaan polaritas pelarut memengaruhi kelarutan senyawa bioaktif dalam kulit singkong, maka dapat diartikan bahwa senyawa bioaktif kulit singkong lebih mudah larut dalam pelarut etanol dengan polaritas yang rendah. Senyawa terpenoid tidak dapat terdeteksi pada serbuk simplisia, namun dapat terdeteksi pada ekstrak etanol 96% kulit singkong. Hal ini dikarenakan saat ekstraksi, terdapat proses pemekatan yang menyebabkan jumlah senyawa dalam ekstrak meningkat sehingga senyawa terpenoid dapat terdeteksi (Dewatisari, 2020).

Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Singkong secara KLT

Hasil pengujian KLT ekstrak etanol kulit singkong disajikan pada Gambar 1. Nilai R_f ekstrak etanol 50% lebih kecil, maka dapat dimungkinkan senyawa yang terkandung lebih polar dibandingkan dengan senyawa yang terkandung pada ekstrak lain.

Polaritas pelarut memengaruhi karakteristik senyawa yang diekstraknya (Ahmad *et al.*, 2017). Perbedaan polaritas antar pelarut ekstrak kulit singkong inilah yang menyebabkan karakteristik senyawa antar ekstrak berbeda.

Karakterisasi Bakteri Uji

Hasil karakterisasi bakteri menunjukkan bahwa *S. epidermidis* merupakan bakteri gram positif, bersifat negatif koagulase, dan positif katalase.

Uji Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan Tabel 5, ekstrak etanol 96% memberikan aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan ekstrak lain. Hal ini disebabkan pelarut etanol 96% secara kualitatif mampu menarik senyawa metabolit sekunder lebih banyak, ekstrak etanol 96% kulit singkong mengandung senyawa terpenoid dan saponin yang tidak dimiliki ekstrak lain. Semakin besar nilai konstanta dielektrik suatu pelarut, maka polaritas pelarut tersebut semakin tinggi. Pelarut etanol 96% ($\epsilon = 18,75$) memiliki polaritas yang lebih rendah daripada pelarut etanol 50% ($\epsilon = 48,1$) dan pelarut etanol 70% ($\epsilon = 35,34$). Perbedaan polaritas pelarut memengaruhi kelarutan senyawa bioaktif dalam kulit singkong, hal inilah yang menyebabkan perbedaan aktivitas antibakteri antar ekstrak etanol kulit singkong.

Kesetaraan Aktivitas Antibakteri Ekstrak terhadap Antibiotik Pemanding

Kurva baku tetrasiklin HCl ditunjukkan pada Gambar 2 dengan persamaan garis yang dihasilkan sebagai berikut $y = 10,753x + 4,1355$. Berdasarkan persamaan garis tersebut, diameter hambat dari masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam nilai y sehingga nilai kesetaraan ekstrak terhadap antibiotik pemanding dapat ditentukan ($\text{anti-log } x$).

Hasil penentuan kesetaraan ekstrak terhadap antibiotik pemanding ditunjukkan pada Tabel 6. Berdasarkan hasil tersebut, dapat diperhatikan bahwa ekstrak etanol 96% kulit singkong memberikan kesetaraan yang lebih tinggi terhadap antibiotik pemanding. Suatu penelitian menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan saat ekstraksi menyebabkan kontak antara pelarut dan simplisia semakin luas {Formatting Citation}. Oleh sebab itu, kemampuan pelarut dalam menarik senyawa bioaktif pada simplisia akan meningkat sehingga berpengaruh juga terhadap aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

Potensi antibakteri ekstrak etanol kulit singkong terhadap *S. epidermidis* tidak sebanding dengan antibiotik tetrasiklin HCl. Hal ini disebabkan karena tetrasiklin HCl dipurifikasi terlebih dahulu sehingga senyawa yang terkandung lebih murni dibanding dengan ekstrak etanol kulit singkong. Senyawa dari ekstrak etanol kulit singkong yang belum murni mengakibatkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri menjadi tidak maksimal (Pratiwi, 2017).

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Hasil penentuan KHM pada masing-masing ekstrak di antaranya adalah, ekstrak etanol 50% kulit singkong memiliki nilai KHM sebesar 100 mg/ml (b/v), ekstrak etanol 70% kulit singkong memiliki nilai KHM sebesar 50 mg/ml (b/v), dan ekstrak etanol 96% kulit singkong memiliki nilai KHM sebesar 25 mg/ml (b/v). Semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan dalam ekstraksi, aktivitas antibakteri yang dihasilkan juga semakin tinggi. Secara kualitatif, ekstrak etanol 96% kulit singkong mengandung saponin dan terpenoid yang tidak dimiliki oleh ekstrak lain. Perbedaan konsentrasi etanol menyebabkan perbedaan polaritas pelarut. Polaritas pelarut ekstraksi memengaruhi kelarutan senyawa bioaktif dalam kulit singkong. Hal ini yang

mengakibatkan perbedaan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tiap ekstrak.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan tiap ekstrak dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak tersebut. Flavonoid bekerja dengan cara membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang kemudian terlarut, lalu menyebabkan membran sel bakteri rusak sehingga terjadi perubahan fluiditas membran pada bakteri sehingga beberapa komponen intraseluler dari bakteri keluar (He *et al.*, 2014; Othman, Sleiman and Abdel-Massih, 2019). Tanin dapat menembus dinding sel bakteri hingga mencapai membran dalam, berinteraksi dengan protein pada lapisan peptidoglikan, dan menyebabkan dinding sel bakteri rusak, kemudian bakteri akan lisis karena tekanan osmotik dalam sel bakteri yang tinggi (Sartika, Astuti and Iswandari., 2021). Kuinon menyebabkan inaktivasi protein sehingga metabolisme bakteri terganggu dan bakteri akan mengalami kematian (Alibi, Crespo and Navas, 2021). Saponin memiliki molekul hidrofilik dan lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel bakteri yang pada akhirnya mengakibatkan membran sel rusak (Akinpelu *et al.*, 2014; Dini *et al.*, 2016). Senyawa terpenoid mengganggu pembentukan membran sel bakteri sehingga membran sel tidak terbentuk sempurna dan pada akhirnya sel dapat mengalami lisis (Mahizan *et al.*, 2019).

SIMPULAN

Ekstrak etanol kulit singkong (*M. esculenta* Crantz) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. epidermidis*. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan ekstrak etanol 96% kulit singkong lebih tinggi dan memberikan perbedaan bermakna terhadap ekstrak etanol 50% kulit singkong dan ekstrak etanol 70% kulit singkong.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I. *et al.* (2017) 'Effect of Solvent Polarity on The Extraction of Components of Pharmaceutical Plastic Containers', *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(1), pp. 247–252.
- Akinpelu, B. A. *et al.* (2014) 'Antioxidant and Antibacterial Activities of Saponin Fractions of Erythropheleum suaveolens (Guill. and Perri.) Stem Bark Extract', *Scientific Research and Essays*, pp. 826–833. doi: 10.5897/sre2014.5844.
- Alibi, S., Crespo, D. and Navas, J. (2021) 'Plant-Derivatives Small Molecules with Antibacterial Activity', *Antibiotics*, 10(231), pp. 1–19. doi: 10.3390/antibiotics10030231.
- Asiah, N., Mulkiya, K. Y. and Syafnir, L. (2019) 'Identifikasi Golongan Senyawa Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode KLT Bioautografi', *Jurnal Prosiding Farmasi*, 5(2), pp. 645–652.
- Badan Pusat Statistik. (2015) *Produksi Tanaman Ubi Kayu Menurut Provinsi (Ton) Tahun 1993–2015*. Available at: <https://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/880> (Accessed: 9 July 2021).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985) *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewatisari, W. F. (2020) 'Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.)

- Menggunakan Metode Maserasi', *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*, pp. 127–132. Available at: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>.
- Dini, I. *et al.* (2016) 'Evaluation of Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of Chloroform Extract of *Usnea* sp.', *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(11), pp. 195–199.
- Harborne, J. B. (1987) *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.
- He, M. *et al.* (2014) 'Antimicrobial Mechanism of Flavonoids against *Escherichia coli* ATCC 25922 by Model Membrane Study', *Applied Surface Science*, 305, pp. 515–521. doi: 10.1016/j.apsusc.2014.03.125.
- Herawati, F. and Irawati, L. (2014) 'Terapi Antibiotik pada Infeksi Nosokomial', *Buletin Rasional*, 9(2), pp. 15–16.
- Irwan, D. (2017) *Epidemiologi Penyakit Menular*. Yogyakarta: Absolute media.
- Mahizan, N. A. *et al.* (2019) 'Terpene Derivatives as a Potential Agent Against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens', *Molecules*, 24(2631), pp. 1–21. doi: 10.3390/molecules24142631.
- Mohammadi Bazargani, M., Falahati-Anbaran, M. and Rohloff, J. (2021) 'Comparative Analyses of Phytochemical Variation Within and Between Congeneric Species of Willow Herb, *Epilobium hirsutum* and *E. parviflorum*: Contribution of Environmental Factors', *Frontiers in Plant Science*, 11, pp. 1–16. doi: 10.3389/fpls.2020.595190.
- Mohd-Asharuddin, S. *et al.* (2017) 'A Chemical and Morphological Study of Cassava Peel: A Potential Waste as Coagulant Aid', *MATEC Web of Conferences*, 103(06012), pp. 1–8. doi: 10.1051/mateconf/201710306012.
- Othman, L., Sleiman, A. and Abdel-Massih, R. M. (2019) 'Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants', *Front Microbiol*, 10(911), pp. 1–28.
- Pratiwi, R. H. (2017) 'Potensi Ekstrak Etanol Batang Kapuk Randu sebagai Antibakteri', *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 3(1), pp. 29–38. doi: 10.23917/bioeksperimen.v3i1.3668.
- Sartika, D., Astuti, S. and Iswandari., R. (2021) 'Inhibitory Study of Cassava Leather Ethanol Extract as Natural Antimicrobial in Reducing *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* on Contamination Chicken Meat (*Gallus domesticus*)', *Journal of Physics: Conference Series*, pp. 1–11.
- Sikora, A. and Zahra, F. (2020) *Nosocomial Infections*. Statpearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/>.
- Timothy, T., Lusida, E. and Hermanto, B. (2017) 'The Antibacterial Effect of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Extract against *Staphylococcus epidermidis* In Vitro', *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*, 6(4), pp. 88–91.
- World Health Organization. (2011) *Quality Control Methods for Herbal Materials*. Switzerland: Malta.