

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN
ANGGUR (*Vitis vinifera* L.) DAN FRAKSI-FRAKSINYA TERHADAP
Escherichia coli DAN *Pseudomonas aeruginosa***

NASKAH PUBLIKASI



**Oleh:
TUTUT NURCAHYANTI
K100 100 069**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:
AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN
ANGGUR (*Vitis vinifera* L.) DAN FRAKSI-FRAKSINYA
TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh:
TUTUT NURCAHYANTI
K 100 100 069

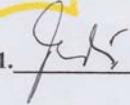
Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal : 13 Januari 2014

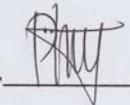
Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,

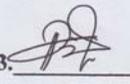
Arifah Sri Wahyuni, M.Sc., Apt

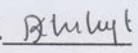
Penguji:

1. Dedi Hanwar, M.Si., Apt
2. Ratna Yuliani, M.Biotech.St
3. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt
4. Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

1. 

2. 

3. 

4. 

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ANGGUR (*Vitis vinifera* L.) DAN FRAKSI-FRAKSINYA TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM ETHANOL EXTRACT OF GRAPE (*Vitis vinifera* L.) LEAVES AND FRACTIONS AGAINST *Escherichia coli* AND *Pseudomonas aeruginosa*

Tutut Nurcahyanti*, Rima Munawaroh, Ika Trisharyanti Dian Kusumowati

**Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta,
Jl. A Yani Tromol Pos 1, Pabelan Kartasuro Surakarta 57102*

**E-mail: Tututnurcahyanti@gmail.com*

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah daun anggur (*Vitis vinifera* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun anggur dan fraksi-fraksinya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi. Serbuk daun anggur dari Surakarta diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan penyari etanol 96% dan difraksinasi dengan metode partisi cair-cair berturutan menggunakan n-heksan, etil asetat, dan etanol-air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode disk difusi (Kirby & Bauer). Konsentrasi yang digunakan adalah 100 µg/disk, 200 µg/disk, 300 µg/disk, 400 µg/disk, dan 500 µg/disk. Senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksan dan etil asetat diketahui dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT), sedangkan fraksi etanol-air menggunakan uji tabung karena tidak mendapatkan fase gerak yang cocok. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol-air daun anggur terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi 500 µg/disk menghasilkan zona hambat irradikal yaitu 15,17±0,29 mm, 13,5±0,5 mm, 13,67±0,57 mm, dan 14,83±0,76 mm, sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 500 µg/disk menghasilkan zona hambat irradikal yaitu 13,67±0,29 mm, 13,17±0,28 mm, 12,17±1,75 mm, dan 13,33±0,28 mm. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mengandung alkaloid, fenol, dan flavonoid, fraksi n-heksan mengandung fenol dan flavonoid, sedangkan hasil uji tabung fraksi etanol-air mengandung fenol, terpenoid, dan flavonoid.

Kata kunci: *Vitis vinifera* L., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibakteri.

ABSTRACT

One of the plants that could be used as medicine was grape leaves(Vitis vinifera L). The aim of this study was to determine the antibacterial activity of grape leaves against Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa and to determine compounds which contained in fractions and extract of grape leaves. Powder of grape leaves that has been taken from Surakarta was extracted by maceration method used ethanol 96 % and fractionated by liquid-liquid partition method with n - hexane , ethyl acetate , and ethanol-water. Antibacterial activity test was carried out by the disk diffusion method (Kirby & Bauer). The concentration

of extract was 100 µg/disc, 200 µg/disc, 300 µg/disc, 400 µg/disc, and 500 µg/disc. Chemical compounds which was contained in n - hexane and ethyl acetate fraction were tested by Thin Layer Chromatography (TLC), whereas chemical compounds which was contained in ethanol-water fraction was tested by tubes test. The results of antibacterial activity test showed that n - hexane, ethyl acetate, and ethanol-water fraction of ethanolic extract of grape leaves at a concentration 500 µg/disc produced a irractical inhibition zone of *Escherichia coli* was 15.17 ± 0.29 mm, 13.5 ± 0.5 mm, 13.67 ± 0.57 mm, and 14.83 ± 0.76 mm, whereas *Pseudomonas aeruginosa* at concentrations of 500 µg/disc produced irractical inhibition zone was 13.67 ± 0.57 mm, 13.17 ± 0.28 mm, 12.17 ± 1.75 mm, and 13.33 ± 0.28 mm. TLC results showed ethanol extract and ethyl acetate fraction contained alkaloids, phenols, and flavonoids, n - hexane fraction contained phenolic and alkaloids compounds, while the results of the tube test showed that ethanol-water fraction contained phenol, terpenoid, and flavonoids.

Key words: *Vitis vinifera* L., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial.

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme utama penyebab penyakit infeksi (Jawetz *et al.*, 2001). Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi antara lain *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Pratiwi, 2008). *Escherichia coli* menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan, seperti kolera, thypus, disentri, dan penyakit cacing (Entjang, 2003), sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menghasilkan nanah warna hijau biru, meningitis, dan infeksi saluran kencing (Jawetz *et al.*, 2001). Oleh karena itu perlu penggunaan antibiotik untuk mengobati penyakit infeksi tersebut.

Penggunaan antibiotik yang luas mengakibatkan timbulnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Sehingga perlu dikembangkan alternatif pengobatan menggunakan tanaman obat sebagai sumber potensi obat baru karena lebih mudah didapat, lebih murah, dan memiliki efek samping yang relatif rendah (Igoli *et al.*, 2000).

Salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat dan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan adalah daun anggur (*Vitis vinifera* L.) (Orhan *et al.*, 2009). Daun anggur mempunyai aktivitas antibakteri (Askary *et al.*, 2012) yang banyak mengandung senyawa fenolik seperti mirisetin, asam elagat, kaempferol, kuersetin, dan asam galat (Bonilla *et al.*, 2003).

Penelitian Parekh & Chanda (2006) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun anggur memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro* terhadap beberapa bakteri Gram positif dan negatif yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat, yaitu *Enterobacter aerogenes* 14 mm, *Bacillus cereus* 21 mm, *Bacillus subtilis* 12 mm, *Escherichia coli* 15

mm, *Klebsiella pneumoniae* 16 mm, *Staphylococcus aureus* 15 mm, *Pseudomonas aeruginosa* 11 mm, dan *Staphylococcus epidermidis* 12 mm. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun anggur mempunyai aktivitas antibakteri dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *Staphylococcus aureus* $0,98 \pm 0,16$ mg/mL, *Bacillus cereus* $0,65 \pm 0,16$ mg/mL, *Campylobacter jejuni* $0,65 \pm 0,16$ mg/mL, *Escherichia coli* $0,98 \pm 0,16$ mg/mL, dan *Salmonella infantis* $1,30 \pm 0,16$ mg/mL (Abramovic *et al.*, 2012).

Pada penelitian Parekh & Chanda (2006) belum dilakukan fraksinasi, sehingga belum diketahui kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri pada masing-masing fraksi dari ekstrak etanol daun anggur. Sehingga pada penelitian ini perlu dilakukan fraksinasi untuk mengetahui kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun anggur dan fraksi-fraksinya, serta aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rotary evaporator* (Heidolph), alat timbang (Precisa), LAF (Astari Niagara Internasional), Shaker inkubator (New Brunswick), autoklaf (My Life), oven (Memmert), inkubator (Memmert), mikroskop (Olympus), vortex (Thermolyne Corporation), dan alat-alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain : daun anggur yang diperoleh dari kota Kartasura, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, *paper disc* (Oxoid), *disc antibiotic* (Oxoid), media KIA (Kligler Iron Agar) (Oxoid), media LIA (Lysine Iron Agar) (Oxoid), media (Motility Indol Ornithine) (Oxoid), media MH (Mueller Hinton) (Oxoid), BHI (Brain Heart Infusion) (Oxoid), standar Mc. Farland (konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL), normal saline (NaCl 0,9%), etanol 96% (PA), etanol 70% (Teknis), akuades, cat Gram A, B, C, dan D, *silica gel* GF₂₅₄, fase gerak etil asetat:asam format:air (90:5:5), heksan:etil asetat (1:1), pereaksi semprot FeCl₃, Dragendroff, dan anisaldehyd-asam sulfat, asam klorida pekat (PA), air panas, etanol 95% (teknis), magnesium, asam sulfat pekat (PA), kloroform (PA), dan FeCl₃ 1%.

B. Jalannya Penelitian

Identifikasi daun anggur

Identifikasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi daun anggur dengan pustaka untuk mengetahui kebenaran daun anggur yang digunakan.

Metode difusi (Kirby & Bauer)

Metode ini untuk melihat ada atau tidaknya efek antibakteri. *Disc* yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri yang akan berdifusi pada media MH tersebut, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Area jernih disekitar *disc* menunjukkan bahwa agen antibakteri dapat membunuh pertumbuhan bakteri, sedangkan area tidak jernih disekitar *disc* menunjukkan bahwa agen antibakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak mampu membunuh bakteri yang ditanamkan pada media *Mueller Hinton* tersebut. Kontrol positif adalah *disc* berisi antibiotik yang mampu membunuh bakteri. Kontrol negatif adalah etanol 96% yang digunakan sebagai pelarut untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan mempunyai aktivitas antibakteri atau tidak. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% yang diambil masing-masing konsentrasi 10 µL, sehingga didapatkan konsentrasi konsentrasi 100 µg/disk, 200 µg/disk, 300 µg/disk, 400 µg/disk, dan 500 µg/disk

Skrining Fitokimia

a. Uji KLT

Analisis KLT digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak etanol dan fraksi daun anggur. Uji pendahuluan KLT dilakukan untuk mencari fase gerak yang cocok. Dari hasil uji pendahuluan dengan mencoba berbagai fase gerak dengan berbagai perbandingan, diperoleh fase gerak yang cocok untuk ekstrak etanol yaitu etil asetat:asam format:air (90:5:5) v/v/v, fraksi n-heksan yaitu n-heksan:etil asetat (1:1) v/v, fraksi etil asetat yaitu etil asetat:asam format:air (90:5:3) v/v/v, dan fraksi etanol-air tidak mendapatkan fase gerak yang cocok dari berbagai fase gerak dan perbandingannya, sehingga fraksi etanol-air dilakukan uji tabung untuk mengetahui kandungannya.

b. Uji tabung

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan uji tabung. Uji tabung digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi etanol-air dari ekstrak etanol daun anggur. Senyawa fenol akan memberikan warna hijau, merah, ungu atau hitam pada larutan jika ditambahkan larutan FeCl₃ 1% (Harbone, 1973). Senyawa flavonoid akan

menghasilkan larutan berwarna merah, kuning, atau jingga apabila ditambahkan dengan air panas, serbuk Mg, asam klorida pekat, dan etanol 96% (Febriany, 2004). Senyawa terpenoid jika ditambahkan 2 mL kloroform dan 3 mL asam sulfat pekat akan terbentuk warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan (Edeoga *et al.*, 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi daun anggur

Identifikasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran daun anggur berkaitan dengan ciri-ciri morfologinya sehingga terhindar dari kesalahan pengambilan bahan uji. Identifikasi daun anggur dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa daun yang diidentifikasi adalah daun anggur (*Vitis vinifera* L.).

Ekstraksi Daun Anggur

Daun anggur diekstraksi menggunakan penyari etanol 96% dengan metode maserasi. Pelarut etanol dipilih karena dapat menyari zat-zat seperti senyawa alkaloid, flavonoid, dan zat-zat lain yang dapat larut dalam etanol (Depkes RI, 1986). Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*, diuapkan diatas waterbath untuk menghilangkan kandungan airnya dengan suhu $< 60^{\circ}\text{C}$ agar kandungan zat aktif dalam daun anggur tetap stabil. Rendemen ekstrak etanol daun anggur yang diperoleh sebesar 14,73%.

Fraksinasi Daun Anggur

Metode fraksinasi yang digunakan adalah partisi cair-cair. Partisi cair-cair menggunakan dua pelarut yang tidak bercampur. Metode ini relatif lebih mudah dan sangat efektif sebagai langkah awal dalam pemisahan ekstrak (Sarker *et al.*, 2005).

Partisi pertama dilakukan dengan menggunakan larutan bersifat non polar yaitu n-heksan, kemudian dilanjutkan dengan pelarut semi polar yaitu etil asetat. Lapisan / fase yang tidak larut etil asetat disebut fraksi etanol-air. Fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air dipekatkan dan diperoleh rendemen fraksi n-heksan sebesar 12,48%, fraksi etil asetat sebesar 20,14%, dan fraksi etanol-air sebesar 2,94%.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui penggolongan bakteri, yaitu dengan pengecatan Gram. Hasil pengecatan diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000 kali. Hasil pengecatan menunjukkan bahwa *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah Gram negatif, yaitu bakteri berbentuk batang, menyebar, dan berwarna merah.

Warna merah pada bakteri Gram negatif disebabkan karena perbedaan struktur pada dinding sel bakteri yang banyak mengandung liposakarida. Alkohol merusak lapisan polisakarida sehingga kompleks *crystal violet-iodin* dapat tercuci dan menyebabkan sel bakteri tampak transparan yang berwarna merah setelah diberi cat Gram D (safranin) (Pratiwi, 2008).

Identifikasi selanjutnya secara biokimiawi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan media KIA, LIA, dan MIO. Hasil identifikasi biokimia pada *E. coli* menyebabkan media KIA berubah dari merah menjadi kuning, hal ini menunjukkan *E. coli* mampu memfermentasi glukosa dan laktosa. Pada media LIA tetap berwarna ungu (mendekarboksilasi lisin) dan tidak berwarna hitam (tidak menghasilkan H₂S). Pada media MIO terjadi pergerakan dan tetap berwarna ungu (dekarboksilase ornitin). Hasil uji menunjukkan bahwa bakteri adalah *E. coli* (Jawetz *et al.*, 2001) (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji biokimia pada *Escherichia coli*

<i>E. coli</i>	KIA				LIA			MIO	
	Miring	Tegak	H ₂ S	Gas	Miring	Tegak	H ₂ S	Warna	Pergerakan
Hasil	Kuning	Kuning	-	-	Ungu	Ungu	-	Ungu	+
Teori	Kuning	Kuning	+	+	Ungu	Ungu	-	Ungu	+

Keterangan: (-) = tidak terbentuk H₂S, (+) = terjadi pergerakan

Hasil identifikasi biokimia pada *P. aeruginosa* yaitu media KIA menunjukkan bahwa bagian tegak berwarna kuning dan miring berwarna merah, karena *P. aeruginosa* hanya mampu memfermentasi glukosa (Verhaegen *et al.*, 2011). Pada media KIA tidak terbentuk warna hitam, dikarenakan *P. aeruginosa* tidak memproduksi H₂S. Pada media LIA bagian tegak dan miring tetap berwarna ungu, hal ini dikarenakan bahwa bakteri menderkaboksilasi lisin. Pada media MIO warna media tetap ungu karena terjadi reaksi dekarboksilasi ornitin dan terjadi pergerakan yang ditandai adanya kabut. Hasil uji menunjukkan bakteri adalah *P. aeruginosa* (Jawetz *et al.*, 2001) (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji biokimia pada *Pseudomonas aeruginosa*

<i>P. aeruginosa</i>	KIA			LIA			MIO	
	Miring	Tegak	H ₂ S	Miring	Tegak	H ₂ S	Warna	Pergerakan
Hasil	Merah	Kuning	-	Ungu	Ungu	-	Ungu	+
Teori	Merah	Kuning	-	Ungu	Ungu	-	Ungu	+

Keterangan: (-) = tidak terbentuk H₂S, (+) = terjadi pergerakan

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol-air daun anggur terhadap *Escherichia coli* dan

Pseudomonas aeruginosa. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi yaitu *disc diffusion* (Kirby & Bauer). *Disc* yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri yang akan berdifusi pada media MH tersebut, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Area jernih disekitar *disc* menunjukkan bahwa agen antibakteri dapat membunuh pertumbuhan bakteri, sedangkan area tidak jernih disekitar *disc* menunjukkan bahwa agen antibakteri tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak mampu membunuh bakteri yang ditanamkan pada media MH tersebut. Kontrol positif adalah *disc* berisi antibiotik yang mampu membunuh bakteri. Kontrol negatif adalah etanol 96% yang digunakan sebagai pelarut untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan mempunyai aktivitas antibakteri atau tidak. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* adalah 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% yang diambil masing-masing konsentrasi 10 µL, sehingga didapatkan konsentrasi 100 µg/disk, 200 µg/disk, 300 µg/disk, 400 µg/disk, dan 500 µg/disk.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada metode *disc diffusion* menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol-air daun anggur mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air ekstrak etanol daun anggur terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm) ekstrak etanol	Diameter zona hambat (mm) fraksi n-heksan	Diameter zona hambat (mm) fraksi etil asetat	Diameter zona hambat (mm) fraksi etanol-air
100 µg/disk	9,83±0,29*	10,33±0,57*	10,3±0,57*	10,33±1,52*
200 µg/disk	12±1*	11,17±0,28*	10,83±0,57*	11,5±1,80*
300 µg/disk	12,67±0,76*	12±0*	12±0,86*	12,83±1,04*
400 µg/disk	13,67±0,57*	12,83±0,28*	12,83±0,76*	13,83±0,57*
500 µg/disk	15,17±0,29*	13,5±0,5*	13,67±0,57*	14,83±0,76*
K+	19±0	19,33±0,57	20±0,5	19±0
K-	6	6	6	6

Keterangan : K+ : kontrol antibiotik(Tetrasiklin 30 µg)

K - : kontrol pelarut (etanol 96%)

* : zona irradikal

Diameter zona hambat termasuk diameter disk (6 mm)

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol dari ekstrak etanol-air daun anggur terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm) ekstrak etanol	Diameter zona hambat (mm) fraksi n-heksan	Diameter zona hambat (mm) fraksi etil asetat	Diameter zona hambat (mm) fraksi etanol-air
100 µg/disk	8,67±0,57*	10,07±0,11*	7,33±0,57*	9,67±0,57*
200 µg/disk	10±0*	10,67±0,28*	8,33±0,57*	10,57±0,92*
300 µg/disk	11,33±0,57*	11,17±0,28*	9,67±0,57*	11,33±1,15*
400 µg/disk	12,33±0,57*	12±0*	11,5±1,80*	12,17±1,04*
500 µg/disk	13,67±0,57*	13,17±0,28*	12,17±1,75*	13,33±0,28*
K+	17,17±0,29	17,17±0,29	17,17±0,29	17,33±0,29
K-	6	6	6	6

Keterangan : K+ : kontrol antibiotik (Amikasin 30 µg)

K - : kontrol pelarut (etanol 96%)

* : zona irradikal

Diameter zona hambat termasuk diameter disk (6 mm)

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air daun anggur terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* menunjukkan pada konsentrasi 100 µg/disk, 200 µg/disk, 300 µg/disk, 400 µg/disk, dan 500 µg/disk mampu menghasilkan diameter zona hambat yang irradikal. Hal ini dapat diamati secara visual dengan membandingkannya dengan kontrol. Semakin besar konsentrasi maka semakin besar zona hambat yang terbentuk, karena kemampuan suatu bahan sebagai antibakteri tergantung pada konsentrasinya (Schlegel, 1994), semakin besar konsentrasi bahan antibakteri maka akan meningkatkan aktivitas antibakteri (Pelczar & Chan, 1988), tetapi konsentrasi tidak ditingkatkan lagi, karena ekstrak dan fraksi tidak larut. Zona hambat terbesar ekstrak dan fraksi yaitu pada konsentrasi 500 µg/disk.

Hasil uji terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etanol-air mempunyai aktivitas antibakteri yang sama, sedangkan fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri yang sama, namun aktivitas antibakterinya masih dibawah ekstrak etanol dan fraksi etanol air. Hal ini disebabkan karena kesamaan kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi daun anggur, yaitu alkaloid, flavonoid, dan fenol (Tabel 3).

Hasil uji terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etanol-air mempunyai aktivitas antibakteri yang sama, sedangkan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri dibawah ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan etanol-air. Hal ini disebabkan karena kesamaan kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi daun anggur, yaitu alkaloid, flavonoid, dan fenol (Tabel 4).

Uji KLT

Analisis KLT digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa dari ekstrak etanol dan fraksi daun anggur. Uji pendahuluan KLT dilakukan untuk mencari fase gerak yang cocok. Dari hasil uji pendahuluan dengan mencoba berbagai fase gerak dengan berbagai perbandingan, diperoleh fase gerak yang cocok untuk ekstrak etanol yaitu etil asetat:asam format:air (90:5:5) v/v/v, fraksi n-heksan yaitu n-heksan:etil asetat (1:1) v/v, fraksi etil asetat yaitu etil asetat:asam format:air (90:5:3) v/v/v, dan fraksi etanol-air tidak mendapatkan fase gerak yang cocok dari berbagai fase gerak dan perbandingannya, sehingga fraksi etanol-air dilakukan uji tabung untuk mengetahui kandungan senyawanya.

Hasil elusi plat KLT kemudian dilakukan pengamatan pada sinar tampak, UV₂₅₄, UV₃₆₆, serta pereaksi semprot seperti FeCl₃, anisaldehyd-asam sulfat, sitoborat, dan Dragendroff. Senyawa fenol apabila disemprot dengan FeCl₃ akan menghasilkan warna merah ungu, hijau, biru, kelabu atau hitam (Harbone, 1987). Senyawa alkaloid pada UV₂₅₄

ditunjukkan dengan adanya pepadaman untuk beberapa alkaloid, adanya fluoresensi ungu, biru, hijau biru dari beberapa alkaloid di UV₃₆₆ dan bila disemprot dengan dragendorff beberapa alkaloid akan berwarna coklat atau orange-coklat. Senyawa flavonoid pada UV₂₅₄ akan terjadi pepadaman, dan akan memberikan warna hijau, biru, kuning gelap jika dilihat di UV₃₆₆, dan bila disemprot dengan sitoborat akan memberikan warna kuning kehijauan pada UV₃₆₆. Senyawa terpenoid apabila disemprot dengan Anisaldehyd-asam sulfat akan memberikan warna merah-ungu (Wagner dan Blatt, 1996) (Tabel 5, 6, dan 7).

Tabel 5. Hasil analisis KLT ekstrak etanol daun anggur dengan fase gerak etil asetat:asam format:air (90:5:5) v/v/v

Bercak	hRf	UV 254	UV 366	Pereaksi Semprot				Perkiraan Senyawa
				Dragendorff	FeCl ₃	Anisaldehyd– asam sulfat	Sitroborat	
1	46	-	Coklat	Coklat	-	-	-	Alkaloid
2	50	Pepadaman	Merah	Hijau	-	Coklat	-	-
3	70	-	Kuning gelap	Coklat	-	Coklat	Kuning kehijauan	Alkaloid, Flavonoid
4	86	Pepadaman	Merah	-	Hitam	Coklat	Hijau	Fenol
5	90	-	Merah	-	-	Coklat	Oranye	-

Tabel 6. Hasil analisis KLT fraksi n-heksan ekstrak etanol daun anggur dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1) v/v

Bercak	hRf	UV 254	UV 366	Pereaksi Semprot				Perkiraan Senyawa
				Dragendorff	FeCl ₃	Anisaldehyd– asam sulfat	Sitroborat	
1	40	-	Hijau Biru	-	-	-	Oranye	-
2	42	Pepadaman	Merah	-	-	-	-	-
3	50	Pepadaman	Merah	Hijau	Hitam	-	Kuning-kehijauan	Fenol, Flavonoid
4	66	Pepadaman	Merah	Hijau	-	-	-	-
5	70	Pepadaman	Merah	-	-	-	-	-
6	78	-	Hitam	Hijau	Hitam	-	-	Fenol
7	84	Pepadaman	Hijau Biru	Hijau	Hitam	Coklat	Merah	Fenol
8	92	-	Merah	-	-	-	-	-
9	96	-	Merah	-	-	Coklat	-	-

Tabel 7. Hasil analisis KLT fraksi etil asetat ekstrak etanol daun anggur dengan fase gerak etil asetat:asam format:air (90:5:5) v/v/v

Bercak	hRf	UV 254	UV 366	Pereaksi Semprot				Perkiraan Senyawa
				Dragendorff	FeCl ₃	Anisaldehyd– asam sulfat	Sitroborat	
1	10	Pepadaman	-	Coklat	-	-	-	Alkaloid
2	20	Pepadaman	Coklat	-	Hitam	-	-	Fenol
3	30	-	Coklat	Coklat	-	-	-	Alkaloid
4	44	Pepadaman	Coklat	-	Hitam	Coklat	Kuning kehijauan	Fenol, Flavonoid
5	50	Pepadaman	Coklat	Coklat	Hitam	Coklat	-	Alkaloid, Fenol
6	70	-	Hijau	-	Hitam	-	Hijau-biru	Fenol
7	80	Pepadaman	Hijau	-	-	-	-	-
8	90	Pepadaman	Coklat	-	Hitam	-	Oranye	Fenol
9	94	Pepadaman	Orange	Coklat	-	Coklat	-	Alkaloid

Pada penelitian ini, ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mengandung alkaloid, fenol, dan flavonoid, sedangkan fraksi n-heksan fenol dan flavonoid.

Hasil Uji Tabung

Uji tabung digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada fraksi etanol-air daun anggur. Senyawa fenol akan memberikan warna hijau, merah, ungu atau hitam pada larutan jika ditambahkan larutan FeCl_3 1% (Harbone, 1973). Senyawa flavonoid akan menghasilkan larutan berwarna merah, kuning, atau jingga apabila ditambahkan dengan air panas, serbuk Mg, asam klorida pekat, dan etanol 95% (Febriany, 2004). Senyawa terpenoid jika ditambahkan 2 mL kloroform dan 3 mL asam sulfat pekat akan terbentuk warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan (Edeoga *et al.*, 2005).

Tabel 8. Hasil uji tabung fraksi etanol-air daun anggur

Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Terjadi perubahan warna, menjadi kuning
Fenol	+	Terjadi perubahan warna, menjadi hijau
Terpenoid	+	Terbentuk warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan

Hasil uji tabung menunjukkan bahwa fraksi etanol-air dari ekstrak etanol daun anggur mengandung senyawa flavonoid, fenol, dan terpenoid yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri. Flavonoid bekerja dengan membentuk senyawa kompleks protein sel bakteri dengan ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil dan rusak karena ikatan flavonoid hidrogen. Permeabilitas sel bakteri terganggu menyebabkan sel lisis dan kematian sel (Harbone, 1987). Alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk utuh dan menyebabkan kematian sel (Robinson, 1991). Fenol bekerja dengan berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah akan terbentuk kompleks protein fenol yang ikatannya lemah dan menyebabkan peruraian diikuti penetrasi fenol kedalam sel yang mengakibatkan denaturasi protein, sedangkan pada kadar tinggi mampu menyebabkan koagulasi protein dan lisisnya sel (Parwata & Dewi, 2008). Terpenoid bekerja dengan berinteraksi pada protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga menyebabkan protein transmembran rusak. Protein transmembran yang rusak menyebabkan keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan terhambat, dan mati (Cowan, 1999).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air dari ekstrak etanol daun anggur memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya memiliki aktivitas antibakteri yang sama.
3. Kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yaitu alkaloid, fenol, dan flavonoid, fraksi n-heksan yaitu fenol dan flavonoid, serta fraksi etanol-air yaitu fenol, flavonoid, dan terpenoid.

Saran

Pelu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air dari ekstrak etanol daun anggur menggunakan metode dilusi padat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abramovic, H., Terpinc, P., Generalic, I., Skroza, D., Klancnik, A., Katalinic, V., *et al.*, 2012, Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and vine (*Vitis vinifera*) leaves, *Croat. J. Food Sci. Techno*, 14 (1), 1-8.
- Askary, G.A., Kahouadji, A., Mousaddak, M., Ouaffak, L., Charof, R., & Mennae, Z., 2012, Evaluation of Antimicrobial Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Leaves of *Vitis vinifera* Collected from Different Regions in Morocco, *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 12 (1), 85-90.
- Bonilla, P., Akoh, C. C., Sellappan, S., & Krewer, G., 2003, Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes, *J Agric Food Chem*, 51 (18), 497-503.
- Cowan, M., 1999, Plant Product as Antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.
- Depkes RI, 1986, *Sediaan Galenik*, 41, Jakarta, Departemen Kesehatan RI.
- Edeoga, H.O., Okwu D.E., & Mbaebre B.O., 2005, Phytochemical Constituent of Some Nigerian Medicinal Plants, *Afr Journal of Biotechnology*, 685-688.
- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi*, 103-104, Bandung, PT. Citra Aditya Bakti.
- Febriany, S., 2004, Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bengle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara In vitro, *Laporan Penelitian*, Bogor, IPB.

- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Soediro, 154-285, Bandung, ITB.
- Igoli, J. O., Tor-Anyiin, T. A., Usman, S. S., Olluma, H. O. A., & Igoli, N. P., 2000, Folk Medicines of The Lower Benue Valley of Nigeria In:Recent progression in Medicinal plants, *Ethnomedicine and Pharmacognosy part II*, 1, 327-338.
- Jawetz, E., Melnick, J. L. & Adelberg, E. A., 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, 372-373, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Orhan, D. D., Orhan, N., Ozcelik, B., & Ergun, F., 2009, Biological Activities of *Vitis vinifera* L. Leaves, *Turk J Biol*, 33, 341-348.
- Parekh, J., & Chanda, S., 2006, In-vitro Antimicrobial Activities of Extracts of *Launaea procumbens* Roxb. (Labiatae), *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) and *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae), *African Journal of Biomedical Research*, 9, 89 -93.
- Parwata, I. M. O. A., & Dewi, F. P. S., 2008, Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak atsiri Dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.), *Jurnal Kimia*, 2 (2), 4-100.
- Pelczar, M. J. & Chan, E. C. S., 1988, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, 80-86, Jakarta, Universitas Indonesia Press.
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 174-175, 188, Jakarta, Erlangga.
- Robinson, T., 1991, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih, 132, Bandung, Institut Teknologi Bandung.
- Sarker, D., Satyajit, Latif, Z., & Gray, I.A., 2006, *Natural Products Isolation*, 2nd Ed, 36, 270, 271, New Jersey, Humana Press.
- Schlegel, H. G., 1994, *Mikrobiologi Umum*, 42, Yogyakarta, Gadjah Mada University Press.
- Verhaegen, J. F., Engbaek, K., Rohner, P., Piot, P., & Heuck, C. C., 2011, *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi Klinis*, diterjemahkan oleh Lyana, S. & Diana, S., Edisi 2, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Wagner, H. & Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Edition, 6, 197, German, Springer.