

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Cincou Hijau (*Cyclea barbata* Miers)

1. Taksonomi dan morfologi cincou hijau (*Cyclea barbata* Miers)

Daun cincou hijau (*Cyclea barbata* Miers) banyak ditemui di berbagai tempat di Indonesia, dari pasar tradisional hingga di pusat perbelanjaan modern. Tanaman ini dikenal dengan nama *camcao* (Jawa), *camcauh* (Sunda), *juju*, *kepleng*, *krotok*, *tarawalu*, *tahulu* (Melayu). Terdapat beberapa jenis cincou yang dikenal saat ini yaitu cincou hijau (Gambar 1), cincou hitam, dan cincou minyak. Masyarakat Indonesia menggemari jenis cincou hijau karena fisik daun cincou hijau (*Cyclea barbata*) yang tipis dan lemas sehingga lebih mudah dibentuk menjadi gelatin ataupun menjadi agar-agar (Nurlela, 2015). Menurut De Padua dkk (1999), kedudukan taksonomi tanaman cincou hijau (*Cyclea barbata*) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	:Plantae
Divisi	:Tracheophyta
Kelas	:Magnoliopsida
Bangsa	:Ranunculales
Suku	:Menispermaceae
Marga	: <i>Cyclea</i>
Jenis	: <i>Cyclea barbata</i>

Tanaman cincou hijau (*Cyclea barbata* Miers) berasal dari Asia Tenggara, merupakan tanaman rambat dari famili siwar-siwaran (Menispermae), tanaman ini sering ditemukan tumbuh secara liar. Cincou hijau akan tumbuh dengan ideal di kondisi tanah yang memiliki pH 5,5-6,5 dan didukung dengan lingkungan yang teduh, lembab, dan berair dangkal.

Cincau hijau (*Cyclea barbata*) merupakan tanaman yang berkembang dengan baik di dataran pada ketinggian sekitar 800 meter di atas permukaan laut. Cara pengembangbiakan tanaman ini dapat dilakukan dengan generatif melalui pertumbuhan biji atau dengan cara vegetatif dengan melalui stek batang maupun dengan pertumbuhan tunas akarnya (Farida dan Vanoria, 2008).



Gambar 1. Daun cincau hijau (*Cyclea barbata*)

Keterangan : Daun cincau hijau berbentuk perisai berwarna hijau, dan permukaan daun dipenuhi oleh bulu-bulu halus

Secara umum, daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) merupakan tanaman yang digemari oleh masyarakat untuk kepentingan konsumsi dengan proses pengolahan secara mudah yaitu dengan daunnya yang diremas dan dicampur dengan air matang. Air campuran itu akan berwarna hijau dan setelah disaring dibiarkan mengendap akan menghasilkan lapisan agar-agar berwarna hijau (Nurlela, 2015). Cincau hijau (*Cyclea barbata*) merupakan tanaman yang

tumbuh merambat dengan panjang batang total dapat mencapai 4-5 meter (De Padua dkk., 1999).

Karakteristik tanaman ini pada bagian akar berdaging tebal dan panjang berwarna coklat pucat di bagian luar dan berwarna putih atau kuning di bagian dalam (De Padua dkk., 1999). Daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) memiliki warna hijau kecoklatan dan menyerupai bentuk hati, memiliki panjang 5,5 cm hingga 9 cm, sedangkan lebarnya 5,5 cm hingga 9,5 cm. Bagian ujung daun berbentuk runcing, tepinya tidak rata, berambut halus, dan memiliki ujung pangkal yang tumpul. Bagian tangkai daun memiliki panjang 2,5 cm sampai 4,5 cm (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989).

Batang tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata*) berbentuk bulat, dengan diameter 1 cm. Bunga cincau hijau (*Cyclea barbata*) berbentuk kecil dan berkelompok, bunga jantan berwarna hijau muda dengan panjang 30-40 mm dan mempunyai kelopak bunga sebanyak 4-5 kelopak, sedangkan bunga betina berukuran lebih kecil dengan panjang 0,7-1,0 mm dan mempunyai kelopak bunga sebanyak 1-2 kelopak serta sebuah kelopak yang berbulu. Benang sari pada bunga memiliki satu tangkai dengan kepala sari bergerombol di bagian ujungnya. Buah tanaman cincau hijau berbentuk bulat dan agak berbulu. Setiap buah mengandung 1-2 biji yang keras berbentuk bulat telur. Akar cincau hijau dapat tumbuh membesar seperti umbi dengan bentuk yang tidak teratur (Nurlela, 2015).

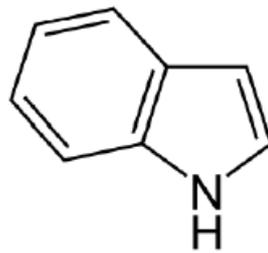
2. Kandungan dan kegunaan daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers)

Secara umum kandungan daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) adalah karbohidrat, lemak, protein dan senyawa-senyawa lainnya seperti polifenol, flavonoid serta mineral-mineral seperti kalsium, fosfor, vitamin A, dan vitamin B (Nurlela, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Farida dan Vanoria (2008) menunjukkan bahwa daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers) memiliki senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid. Keberadaan senyawa flavonoid pada daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) merupakan indikasi adanya aktivitas antibakteri dan antioksidan (Farida dan Vanoria, 2008).

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang dapat dijumpai pada beberapa bagian tanaman seperti daun, biji, ranting, dan kulit batang. Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, dan dapat digunakan untuk menaikkan tekanan darah (Aksara dkk., 2013). Alkaloid memiliki kandungan nitrogen sebagai bagian sistem siklik dan substituen yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol, dan juga metoksi (Gambar 2). Alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air, tetapi larut dalam kloroform, eter, dan pelarut organik lainnya yang bersifat relatif non polar (Simaremare, 2014).

Alkaloid bersifat basa, tidak berwarna, memiliki rasa pahit, mengandung satu atau lebih atom nitrogen, dan biasanya merupakan gabungan dari sistem siklik. Beberapa jenis alkaloid beracun bagi manusia, namun dengan adanya aktivitas fisiologis yang berbeda-beda dari alkaloid dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan (Harborne, 1987). Mekanisme kerja antibakteri dari alkaloid adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Miftahendarwati, 2014).



Gambar 2. Struktur senyawa alkaloid (Sumber: Robinson, 1995)
Keterangan: Alkaloid tersusun atas gugus benzena dan atom nitrogen

b. Polifenol

Polifenol merupakan senyawa turunan dari senyawa fenol yang memiliki aktivitas utama sebagai antioksidan. Antioksidan fenolik biasanya digunakan untuk mencegah terjadinya kerusakan akibat reaksi oksidasi pada makanan, kosmetik, dan farmasi. Selain untuk mencegah reaksi oksidasi, fungsi lain polifenol adalah menangkap dan mengikat radikal bebas (Miftahendarwati, 2004).

Golongan kimia fenolik sangat mudah larut dalam air dan lemak serta dapat bereaksi dengan vitamin C dan vitamin E. Pada daun

cincau hijau (*Cyclea barbata*), kandungan polifenol memiliki jumlah yang lebih kecil dibandingkan daun lainnya seperti daun kelor (Djama'an, 2008). Fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri, sehingga aktivitas sel terganggu dan menyebabkan kematian sel (Miftahendarwati, 2014).

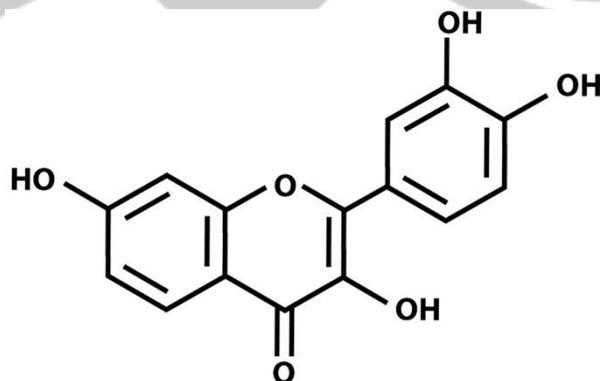
c. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen (Gambar 3). Bentuk sederhana dari cincin-cincin ini dijadikan sebagai dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha, 2010). Flavonoid merupakan antioksidan yang berpotensi untuk mencegah pembentukan radikal bebas. Selain itu, flavonoid mempunyai peran sebagai antibakteri dan juga sebagai antivirus. Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Djama'an, 2008).

Senyawa flavonoid termasuk senyawa fenol sehingga dapat berubah warna saat dicampur dengan basa atau amonia (Harborne, 1987). Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar pada tumbuhan dengan berbagai fungsi dan terdapat

pada beberapa bagian tumbuhan diantaranya buah, akar, daun, dan kulit batang. Flavonoid merupakan pigmen pada tanaman yang memproduksi warna-warna tertentu (Lumbessy dkk., 2013). Flavonoid pada tanaman ditemukan sebagai glikosida dengan beberapa kelompok hidroksil fenolik bergabung bersama gula. Ikatan dengan gugus gula inilah yang menyebabkan flavonoid bersifat polar (Simaremare, 2014).

Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat bakteri dan mampu menghambat motilitas bakteri. Flavonoid bekerja dengan cara mengganggu pengikatan hidrogen pada asam nukleat sehingga proses sintesis DNA dan RNA terhambat. Flavonoid juga dapat mencegah pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu kestabilan membran sel dan metabolisme energi bakteri. Ketidakstabilan ini terjadi akibat adanya perubahan sifat hidrofilik dan hidrofobik membran sel, sehingga fluiditas membran sel berkurang yang berakibat pada gangguan pertukaran cairan dalam sel dan menyebabkan kematian sel bakteri (Miftahendarwati, 2014).

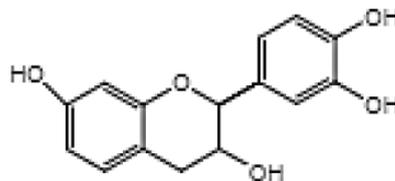


Gambar 3. Struktur dasar flavonoid (Sumber: Kumar dan Pandey, 2013)
Keterangan: Flavonoid tersusun atas 15 kerangka karbon yang terdiri dari 2 cincin benzena yang dihubungkan dengan cincin piran heterosiklik

d. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang dapat larut dalam air, gliserol, alkohol, dan hidroalkohol, tetapi tidak dapat larut dalam petroleum eter, benzeene, dan eter. Tanin digolongkan menjadi dua jenis secara kimia yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkonsensasi terdapat pada seluruh tumbuhan paku-pakuan dan juga gimnospermae serta angiospermae terutama pada jenis tumbuhan berkayu, sedangkan tanin terhidrolisis hanya terdapat pada tumbuhan-tumbuhan berkeping dua (Harborne, 1987). Senyawa tanin terdiri dari senyawa fenolik yang susah dipisahkan dan sukar mengkristal (Gambar 4), fungsi utama tanin adalah sebagai antioksidan biologis (Malanggi dkk., 2012).

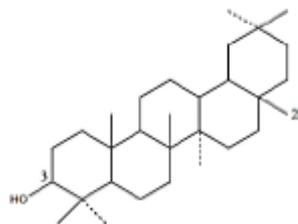
Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang akan cenderung bersifat polar (Septiana dan Asnani, 2012). Tanin bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan, sehingga permeabilitas bakteri meningkat. Kerusakan dan peningkatan permeabilitas sel bakteri menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Miftahendarwati, 2014).



Gambar 4. Struktur dasar senyawa tanin (Sumber: Robinson, 1995)
Keterangan: Tanin memiliki ikatan rangkap dua yang terkonjugasi pada senyawa polifenol dan memiliki gugus OH

e. Saponin

Saponin merupakan golongan glikosida triterpena dan sterol yang memiliki ikatan glikosida (Gambar 5). Ikatan glikosida tersebut menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar (Harborne, 1987). Saponin memiliki sifat seperti sabun dan memiliki rasa yang getir atau pahit. Senyawa ini akan terdeteksi berdasarkan adanya busa atau buih karena dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan kemampuannya untuk menghemolisis darah (Sirait, 2007). Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri pada senyawa saponin adalah dengan menurunkan tegangan permukaan pada membran sel sehingga mengakibatkan senyawa intraseluler pada sel akan keluar dan menyebabkan kematian sel.

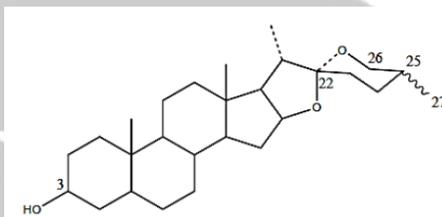


Gambar 5. Struktur saponogenin triterpenoid (Sumber: Madland, 2013)
Keterangan: Secara umum terdiri dari unsur C dan H dengan rumus molekul $(C_5H_8)_n$

f. Steroid

Steroid memiliki struktur yang sama dengan triterpenoid tetrasiklik, tetapi memiliki perbedaan pada metil C-4 dan C-14 (Gambar 6). Steroid memiliki senyawa saponin steroid, steroidal alkaloid, dan glikosida jantung (Aisyah, 2008). Senyawa triterpenoid dan steroid memiliki sifat polaritas yang sama yaitu nonpolar (Balafif dkk., 2013). Mekanisme antibakteri steroid yaitu

menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara merusak lapisan membran sehingga menyebabkan kebocoran pada liposom (penyusun dinding sel bakteri) (Ambarsari, 2013).



Gambar 6. Contoh senyawa steroid (Sumber: Madland, 2013)

Keterangan: Secara umum terdiri dari 3 cincin sikloheksana terpadu dan cincin siklopentana yang tergabung pada cincin sikloheksana

B. Ekstrak dan Ekstraksi

Simplisia adalah bahan alami berupa tanaman utuh, bagian utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan atau pengolahan secara sederhana serta belum merupakan zat murni, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2011). Suatu simplisia banyak mengandung senyawa yang mempunyai khasiat pengobatan, yang dikenal sebagai senyawa fitokimia, yaitu kelompok senyawa alami yang bisa dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit (Hernani, 2011). Salah satu bentuk bahan atau produk kefarmasian yang umum dihasilkan dari proses pengolahan simplisia adalah ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2009). Ekstrak adalah sediaan pekat yang di dalamnya terdapat zat aktif yang telah disaring dari simplisia menggunakan bantuan pelarut yang sesuai (Fajarwati, 2013).

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia kering nabati atau hewani menggunakan pelarut air atau organik yang sesuai. Ekstrak dibedakan menjadi 3 macam yaitu ekstrak cair jika ekstrak masih dapat dituang dan biasanya mengandung kadar air lebih dari 30%, ekstrak kental jika mengandung kadar air antara 5-30%, dan ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voigt, 1995). Pelarut yang digunakan hanya mengekstrak substansi tanpa menyebabkan material lainnya ikut larut. Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan cara dingin dan panas. Ekstraksi dengan cara dingin dibagi menjadi dua metode yaitu maserasi dan perkolasi, sedangkan ekstraksi dengan cara panas dibagi menjadi lima metode yang berbeda yaitu refluks, digesti, sokhletasi, infudasi, dan dekoktasi (Fajarwati, 2013).

Maserasi merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang (26°C - 30°C). Perlakuan pengadukan yang kontinu disebut maserasi kinetik, sedangkan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi (Departemen Kesehatan RI, 2002). Kelemahan metode maserasi antara lain memerlukan waktu yang lama, pelarut yang cukup banyak, dan ada kemungkinan beberapa senyawa hilang dan sulit diekstrak pada suhu ruang. Akan tetapi, rusaknya senyawa-senyawa termolabil dapat dihindari dengan penggunaan metode ini (Mukhriani, 2014).

Maserasi banyak digunakan karena merupakan cara penyarian yang sederhana yaitu dengan merendam serbuk simplisia di dalam pelarut yang digunakan. Pelarut akan menembus dinding sel pada simplisia dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif dalam sampel akan larut karena terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan zat aktif di luar sel, maka akan mendesak larutan yang lebih pekat (zat aktif) keluar (Pratiwi, 2010). Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi ini juga akan menghindari kerusakan bahan alam dan rusaknya senyawa-senyawa termolabil dalam bahan (Febriani dkk., 2015).

C. Pelarut Ekstraksi

Pemilihan suatu pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi harus menyesuaikan dengan sifat kandungan senyawa yang akan dituju. Sifat tersebut yaitu polaritas dari suatu senyawa dalam bahan. Hal ini terkait dengan prinsip ekstraksi yakni *like dissolves like*, suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut dengan polaritas yang sama (Sudarmadji dkk., 1989). Pelarut berperan dalam menghasilkan rendemen yang tinggi. Ekstrak total dapat diperoleh dengan memilih cairan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung (Perwita, 2011).

Pelarut yang sering digunakan pada metode maserasi adalah etanol. Etanol (C_2H_5OH) merupakan pelarut volatil universal yang disebut juga etil alkohol, alkohol absolut, atau alkohol murni. Etanol merupakan pelarut yang memiliki polaritas relatif tinggi yaitu 65,4 dengan konstanta dielektrik 22,4 dan titik didih $78^{\circ}C$. Sifat kepolaran yang tinggi menyebabkan pelarut ini larut

dalam air (Voigt, 1995). Pelarut etanol mampu melarutkan senyawa alkaloid, diglikosida, fenolik, flavonoid, dan sedikit minyak atsiri (Mardiyansih dan Aini, 2014). Selain itu, pelarut ini juga mampu mengikat senyawa tanin, polifenol, terpenoid, dan sterol (Cowan, 1999).

Pelarut lain yang digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah Dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan pelarut tidak berwarna dengan rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. DMSO memiliki polaritas sebesar 44,4 dengan konstanta dielektrik 46,6 pada suhu 20°C serta titik didih 189°C dan titik beku $18,5^\circ\text{C}$ (Smallwood, 1996). Pelarut ini memiliki sifat aprotik dipolar yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Dimetil sulfoksida juga memiliki sifat amfifilik (hidrofobik dan hidrofilik) yang menyebabkan DMSO mampu menembus membran sel sehingga dapat melakukan penetrasi dalam sel (Oktaviani, 2011).

Dimetil sulfoksida (DMSO) digunakan sebagai pelarut yang akan mengencerkan ekstrak daun cincau hijau (*Cyclea barbata*). Pemilihan DMSO didasarkan bahwa DMSO merupakan jenis pelarut yang bersifat aprotik dipolar yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar (Oktaviani, 2011).

D. *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniseluler, yang berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel, serta ciri lainnya yaitu memiliki struktur yang sederhana. Bakteri dikelompokkan menjadi dua golongan berdasarkan komposisi dan struktur dinding sel yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana dengan jumlah peptidoglikan yang relatif banyak, sedangkan bakteri

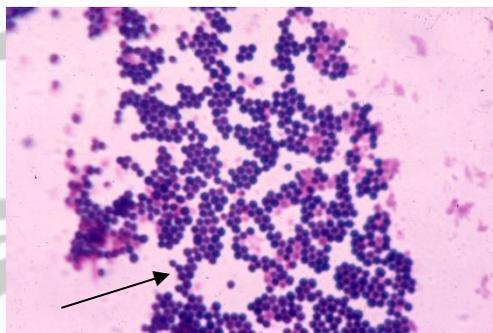
Gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks dengan jumlah peptidoglikan yang lebih sedikit. Membran bagian luar dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lipopolisakarida yang sering bersifat toksik dan membran bagian luar membantu melindungi bakteri patogen melawan sistem pertahanan inangnya sehingga bakteri Gram negatif umumnya lebih berbahaya dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Campbell dkk., 2003).

1. *Staphylococcus aureus*

Menurut Ngaisah (2010), kedudukan taksonomi *Staphylococcus*

aureus sebagai berikut:

Divisi :Protophyta
Kelas :Schizomycetes
Bangsa :Micrococcaceae
Marga :*Staphylococcus*
Jenis :*Staphylococcus aureus*



Gambar 7. Morfologi sel *Staphylococcus aureus* (Sumber: Yuwono, 2012)

Keterangan: Pada pewarnaan Gram terlihat bentuk bakteri bulat/coccus

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm (gambar 7), tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur menyerupai buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak mempunyai spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi dapat membentuk pigmen secara optimal pada suhu kamar (20-

25°C). Koloni pada pembenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz dkk., 1995). Bakteri ini dapat tersebar dari saluran pernapasan saat bersin, benda-benda mati, debu dinding dan lantai ruangan melalui kontak terhadap kulit atau pakaian seseorang yang terkontaminasi (Wistreich, 1999).

Staphylococcus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Antigen ini merupakan kompleks peptidoglikan asam teikhoat dan dapat menghambat fagositosis. *Staphylococcus aureus* bersifat lisogenik yaitu memiliki siklus hidup yang tidak berpengaruh pada dirinya sendiri, tetapi menyebabkan lisis/kerusakan pada anggota dari spesies yang sama. *Staphylococcus aureus* memiliki sifat invasif penyebab hemolisis, membentuk koagulase, mencairkan gelatin, membentuk pigmen yang berwarna kuning (Warsa, 1994).

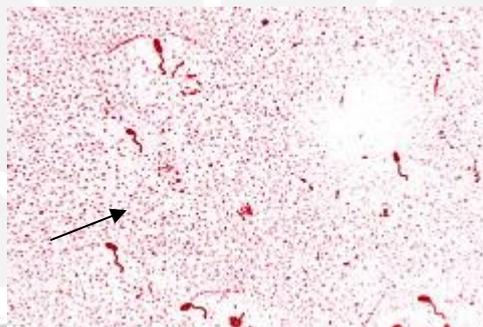
Menurut Wistreich (1999), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang bersifat patogen. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini biasanya timbul dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. *Staphylococcus aureus* bertanggung jawab atas beberapa penyakit supuratif dengan permukaan kulit sebagai habitat alaminya. Infeksi kulit dan luka terbuka seperti ulkus, bekas terbakar, dan luka bekas operasi memperbesar kemungkinan terinfeksi bakteri dan berakibat infeksi sistemik. Infeksi oleh bakteri ini menimbulkan peradangan disertai rasa sakit dan terjadi supurasi sehingga perlu adanya suatu tindakan

untuk mengeluarkannya dan membatasi pertumbuhan serta penyebaran bakteri.

2. *Vibrio parahaemolyticus*

Menurut Fujino dkk (1974), kedudukan taksonomi *Vibrio parahaemolyticus* adalah sebagai berikut:

Divisi :Proteobacteria
 Kelas :Gamma Pro bacteria
 Bangsa:Vibrionaceae
 Marga :*Vibrio*
 Jenis :*Vibrio parahaemolyticus*



Gambar 8. Bentuk bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Sumber: Jay dkk., 2005)
 Keterangan: *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri Gram negatif.

Vibrio parahaemolyticus adalah salah satu spesies bakteri yang merupakan jenis bakteri Gram negatif berbentuk batang (Gambar 8), tidak memiliki spora, bersifat anaerob fakultatif, bersifat motil dengan *single polar flagellum*. Bakteri ini adalah salah jenis bakteri halofilik, tidak memfermentasi sukrosa dan laktosa, serta dapat tumbuh pada suhu 10-44°C (suhu optimum pertumbuhan pada suhu 37°C) (Jay dkk., 2005). *Vibrio parahaemolyticus* merupakan flora normal di lingkungan perairan payau seperti pantai, muara sungai atau tambak, keberadaan bakteri ini umumnya lebih sering ditemui pada wilayah iklim sedang dan tropis atau pada musim

panas di negara-negara empat musim. Produk pada komoditi perikanan memberikan semua kondisi yang dibutuhkan *Vibrio parahaemolyticus* untuk dapat tumbuh dan berkembang biak (Cook dkk., 2002).

Vibrio parahaemolyticus dapat dideteksi pada rentang salinitas yang cukup besar (5-35 ppt) dengan salinitas optimal pada 22 ppt. Kemampuan ini yang menyebabkan adanya korelasi yang tidak langsung antara polusi fekal dengan keberadaan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* karena diduga merupakan bagian dari biostimulasi dari mikrofauna yang berasosiasi dengan keberadaan *Vibrio parahaemolyticus*. Hal lainnya adalah keberadaan *Vibrio parahaemolyticus* diduga terkait dengan keberadaan zooplankton yang berhubungan dengan aktivitas kitinase dari kitin (Watkins dan Cabelli, 1985).

Infeksi oleh *Vibrio parahaemolyticus* menyebabkan gastroenteritis pada manusia terkait dengan keberadaan *thermostable direct hemolysin* (TDH). *Vibrio parahaemolyticus* bersifat patogen yang dihubungkan dengan kemampuan bakteri ini dalam memproduksi hemolisis (Bhunia, 2008). Keberadaan bakteri ini pada produk perikanan dapat menyebabkan penyakit pada manusia melalui konsumsi pangan terutama melalui pangan yang mentah atau yang tidak dimasak sempurna. Penyakit yang disebabkan oleh *Vibrio parahaemolyticus* ini adalah masalah gastroenteritis seperti diare, mual, muntah, dan demam (Barker dan Gangarosa, 1974).

Uji kemurnian bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan pengecatan Gram. Pengecatan Gram didasarkan pada kemampuan bakteri

untuk mempertahankan serapan dari cat Gram A yang berwarna ungu setelah dilunturkan dengan menggunakan cat Gram C. Pada bakteri yang memiliki tipe Gram positif akan cenderung dapat mempertahankan warna ungu dari cat Gram A karena bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal sehingga serapan warna ungu dapat dipertahankan. Pada bakteri Gram negatif akan cenderung memiliki warna merah yang berasal dari cat Gram D, hal ini terjadi karena bakteri dengan Gram negatif tidak mampu mempertahankan warna ungu pada cat Gram A karena peptidoglikan yang lebih tipis (Benson, 2001).

Pengecatan Gram dilakukan dengan menggunakan 4 reagen utama yaitu cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D. Cat Gram A adalah larutan *crystal violet* yang berfungsi untuk memberikan warna awal pada bakteri berupa warna ungu, cat Gram B adalah larutan *lugol iodine* yang berfungsi untuk menguatkan warna ungu dari cat Gram A dengan cara meningkatkan afinitas dinding sel bakteri Gram positif terhadap cat Gram A. Cat Gram C berisi larutan *acetone alkohol* yang berfungsi untuk melunturkan warna ungu dari cat Gram A terutama pada sel bakteri yang memiliki Gram negatif, cat Gram D adalah larutan *safranin* yang berfungsi memberikan warna merah pada sel bakteri (Benson, 2001).

E. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan dan proses metabolisme bakteri yang sifatnya merugikan manusia (Pelczar dan Chan. 1986). Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa

antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteriostatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Madigan dkk (2000), antibakteri memiliki tiga macam pengaruh terhadap pertumbuhan mikrobia berdasarkan sifat toksisitas selektif yaitu:

1. Bakteriostatik

Senyawa bakteriostatik adalah antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan mikrobia tetapi tidak membunuh mikrobia tersebut. Senyawa bakteriostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan antimikrobia pada fase logaritmik, diperoleh jumlah sel total maupun sel hidup adalah tetap.

2. Bakteriosidal

Senyawa bakteriosidal adalah antibakteri yang dapat membunuh sel pada mikrobia tetapi tidak sampai terjadi lisis sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan antimikrobia pada fase logaritmik, diperoleh jumlah sel total tetap namun jumlah sel hidup akan menurun.

3. Bakteriolitik

Senyawa bakteriolitik adalah antibakteri yang dapat menyebabkan sel mikrobia target menjadi lisis sehingga jumlah sel total mikrobia berkurang yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan setelah penambahan suatu

senyawa. Kekeruhan terjadi karena pecah atau lisisnya sel bakteri yang ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik.

Menurut Kee dan Hayes (1994), mekanisme kerja antibakteri terdiri dari 4 macam yaitu:

1. Penghambatan sintesis dinding sel bakteri

Mekanisme ini memberikan efek bakterisidal melalui pemecahan enzim dinding sel dan penghambatan enzim dalam sintesis dinding sel.

2. Pengubahan permeabilitas membran

Peningkatan permeabilitas membran yang menyebabkan hilangnya substansi selular sehingga sel menjadi lisis memberikan efek bakteriostatik atau bakterisidal.

3. Penghambatan sintesis protein

Terganggunya sintesis protein tanpa memengaruhi sel-sel normal dan penghambatan tahap-tahap sintesis protein memberikan efek bakteriostatik atau bakterisidal.

4. Mengganggu metabolisme di dalam sel

Mekanisme ini memberikan efek bakteriostatik dengan terganggunya tahap-tahap metabolisme di dalam sel.

F. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

1. Luas zona hambat

Pengujian aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat dilakukan dengan dua medium yaitu padat dan cair (Madigan

dkk., 2000). Pengujian aktivitas antibakteri dengan medium padat disebut juga dengan metode difusi agar atau metode *Kirby-Bauer*. Metode ini menggunakan *disc* dari kertas saring yang diletakkan di atas medium agar atau sumuran pada medium agar yang diisi dengan zat antibakteri. Penentuan aktivitas antibakteri dilihat dari diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk (Cappuccino dan Sherman, 2011). Metode lainnya adalah metode dengan menggunakan medium cair yang disebut dengan metode dilusi dengan menggunakan pengenceran. Metode dilusi bermanfaat untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji (Harti, dkk., 2013)

Cara yang paling sering digunakan dalam menentukan luas zona hambat yaitu dengan cara cakram (*disc*). Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikrobia. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada waktu tertentu dan suhu tertentu sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Menurut Greenwood (1995), efektivitas suatu zat antibakteri bisa diklasifikasikan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi efektivitas zat antibakteri

Diameter zona hambat	Keterangan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

Metode cakram (*disk*) atau disebut cakram kertas ini memiliki kelebihan dan kekurangan, kelebihan metode ini adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan, kelemahan metode ini adalah ukuran zona hambat yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, preinkubasi, dan ketebalan medium (Greenwood, 1995).

2. Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah dari senyawa antimikrobia yang mampu menghambat pertumbuhan mikrobia yang diuji (Cappuccino dan Sherman, 2011). Penentuan konsentrasi hambat minimum ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu cara cair dan cara padat. Cara cair dengan menggunakan medium cair yang ditambah dengan zat penghambat pertumbuhan bakteri melalui cara pengenceran. Cara padat dilakukan dengan medium padat yang dicampur dengan zat uji dengan beberapa variasi konsentrasi ekstrak. Parameter pada cara cair adalah dengan melihat tingkat kekeruhan pada tabung reaksi, sedangkan pada cara padat indikator yang digunakan adalah jumlah bakteri pada medium. Prosedur KHM ini digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa antibakteri yang masih aktif untuk mencegah pertumbuhan patogen (Tristiyanto, 2009).

G. Antibiotik

Antibiotik merupakan zat-zat yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme dan memiliki manfaat bakteriostatik atau bakterisida terhadap

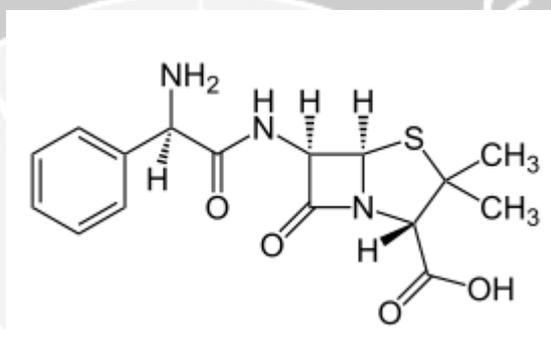
mikroorganisme lain dalam jumlah tertentu (Dwijoseputro, 1998). Senyawa yang dapat membunuh bakteri disebut senyawa bakterisidal. Senyawa bakteristatik hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis protein dengan cara berikatan dengan ribosom. Beberapa senyawa bakterisidal termasuk senyawa bakteriolitik, yang membunuh dengan cara menyebabkan lisis sel dan keluarnya komponen sitoplasma mikrobial. Lisis menurunkan jumlah sel viabel dan jumlah sel total ditandai dengan menurunnya turbiditas pada kultur (Madigan dkk., 2012).

Antibiotik termasuk dalam kelompok kemoterapeutik yang akan menghambat kerja enzim pada bakteri sehingga metabolisme bakteri terhenti, sehingga pertumbuhan bakteri akan terganggu hingga dapat pula menyebabkan kematian sel bakteri (Okmen dkk., 2008). Menurut Dwijoseputro (1998) dan Madigan dkk. (2015), antibiotik dapat dikelompokkan menjadi dua berdasarkan efektivitasnya menghambat mikroorganisme yaitu:

1. Antibiotik spektrum luas (*broad-spectrum antibiotic*), yang efektif terhadap banyak spesies baik Gram positif maupun Gram negatif
2. Antibiotik spektrum sempit (*narrow-spectrum antibiotic*), yang hanya efektif terhadap spesies tertentu.

Antibiotik yang digunakan secara terus-menerus akan menyebabkan resistensi bakteri yang dapat terjadi jika pengobatan dengan antibiotik berlangsung terlalu lama dengan dosis yang terlalu rendah. Bakteri akan memberikan perlawanan terhadap kerja antibiotik sehingga manfaat antibiotik menjadi berkurang atau hilang (Sumardjo, 2006).

Ampisilin adalah antibiotik golongan penisilin (turunan penisilin) dengan rumus kimia $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ (Gambar 9). Ampisilin memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Ampisilin tergolong dalam antibiotik betalaktam. Perbedaan antara ampisilin dan penisilin terletak pada gugus aminonya. Pada ampisilin gugus amino membantu ampisilin menembus membran terluar dari bakteri (Siahaan, 2007).



Gambar 9. Struktur kimia ampisilin (Sumber: Siahaan, 2007)
Keterangan: Rumus kimia ampisilin $C_{16}H_{19}N_3O_4S$

Mekanisme kerja ampisilin yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida dengan menghambat kerja enzim transpeptidase. Hambatan ini menyebabkan sintesis dinding sel terganggu sehingga bakteri tersebut tidak mampu mengatasi perbedaan tekanan osmosis di luar dan di dalam sel. Hal ini mengakibatkan bakteri mati dan sel lisis (Siahaan, 2007).

H. Hipotesis

1. Ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio parahaemolyticus* didasarkan pada penelitian Nurlala (2015) yang menyatakan bahwa daun

cincau hijau memiliki kandungan senyawa-senyawa fitokimia yang berperan sebagai antibakteri.

2. Ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata*) memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) yang lebih besar pada bakteri Gram negatif dibandingkan Gram positif karena menurut Widyasanti dkk (2015) bakteri Gram negatif memiliki komponen penyusun dinding sel yang lebih kompleks, sehingga ekstrak menjadi lebih sulit dalam menembus bakteri Gram negatif.

