



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH MARKISA KONYAL (*Passiflora ligularis* Juss) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* DAN *Escherichia coli*

Okta Fera*, Muthia Miranda Zaunit, dan Asyva Mardatila

Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia

*Email: ummiela06@gmail.com

Detail Artikel

Diterima : 10 Juni 2022
Direvisi : 22 Septemembr 2022
Diterbitkan : 28 Oktober 2022

Kata Kunci

Kulit buah
Metode difusi cakram antibakteri
Staphylococcus epidermidis
Escherichia coli

Penulis Korespondensi

Name : Okta Fera
Affiliation : Fakultas Farmasi,
Universitas Perintis Indonesia
E-mail : ummiela06@gmail.com

ABSTRACT

Konyal passion fruit's peel (Passiflora ligularis Juss) is an underutilized food residue and contains flavonoids, phenolics, tannins, and steroids. This study aims to determine the antibacterial activity and effective concentration of Konyal passion fruit's peel extract to inhibit the growth of Staphylococcus epidermidis and Escherichia coli. The antibacterial activity test was carried out by the disc diffusion method, and the determination of the effective concentration was carried out by the dilution method. Antibacterial activity was indicated by the presence of a clear zone around the paper disc. Sequentially, extracts with concentrations of 800 mg/mL, 400 mg/mL, 200 mg/mL, 100 mg/mL, 75 mg/mL, 50 mg/mL, and 25 mg/mL had an average diameter of inhibition zone of 20,91 mm (strong category), 19,20 mm (medium category), 17,11 mm (medium category), 13,28 mm (medium category), 13,29 mm (weak category), 9,87 mm (weak category), and 9,16 mm (weak category) against Staphylococcus epidermidis and 20,37 mm (strong category), 18,03 mm (moderate category), 14,52 mm (moderate category), 11,51 mm (weak category), 11,81 mm (weak category), 10,57 mm (weak category), and 9,03 mm (weak category) against Escherichia coli. The results of the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were obtained at concentrations of 200 mg/mL and 800 mg/mL against Staphylococcus epidermidis and Escherichia coli. One-way ANOVA statistical analysis ($p < 5$) showed that the concentration of the extract in the test solution had a significant effect on the inhibition of bacterial growth.

ABSTRAK

Kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) merupakan sisa makanan yang kurang dimanfaatkan dan mengandung flavonoid, fenolik, tanin, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan konsentrasi yang efektif dari ekstrak kulit buah markisa konyal untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram, dan penentuan konsentrasi efektif dilakukan dengan metode dilusi. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Secara berurutan ekstrak dengan konsentrasi 800 mg/mL, 400 mg/mL, 200 mg/mL, 100 mg/mL, 75 mg/mL, 50 mg/mL, dan 25 mg/mL memiliki diameter rata-rata zona hambat 20,91 mm (kategori kuat), 19,20 mm (kategori sedang), 17,11 mm (kategori sedang), 13,28 mm (kategori sedang), 13,29 mm (kategori lemah), 9,87 mm (kategori lemah), dan 9,16 mm (kategori lemah) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan 20,37 mm (kategori kuat), 18,03 mm (kategori sedang), 14,52 mm (kategori sedang), 11,51 mm (kategori lemah), 11,81 mm (kategori lemah), 10,57 mm (kategori lemah), dan 9,03 mm (kategori lemah) terhadap *Escherichia coli*. Hasil penentuan Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (MBC) diperoleh pada konsentrasi 200 mg/mL dan 800 mg/mL terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*. Analisis statistik ANOVA satu arah ($p < 5$) menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak dalam larutan uji berpengaruh nyata terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri.

PENDAHULUAN

Tumbuhan markisa merupakan tanaman hortikultura yang banyak dijumpai dan dibudidayakan di Indonesia. Salah satu dari beberapa jenis markisa yang dibudidayakan di Indonesia ialah markisa konyal. Jumlah produksi markisa konyal yang tinggi dimanfaatkan dengan dibuatnya berbagai produk olahan markisa seperti sirup markisa, puding markisa, perasa markisa, dan sari buah markisa. Rasa sari buah markisa konyal yang manis dan tekstur daging buahnya yang lembut menjadikannya banyak digemari baik untuk dikonsumsi langsung maupun dalam bentuk produk olahan (Karmila, 2013; Octavia, 2014; Viyona, 2019).

Proses pengolahan buah markisa dapat menimbulkan limbah berupa kulit dan biji buah markisa (Viyona, 2019). Sebanyak 54-60% bagian dari buah markisa merupakan kulit buah dengan ketebalan berbeda di setiap varietasnya. Selama ini, limbah kulit buah markisa pada produksi sari buah markisa hanya dimanfaatkan sebagai pakan hewan ternak, pupuk untuk tanaman ataupun tidak dimanfaatkan atau langsung dibuang (Fauziah, 2015).

Semakin meningkatnya pengolahan markisa maka limbah yang dihasilkan akan semakin besar dan akan berpengaruh terhadap kerusakan lingkungan. Maka pemanfaatan limbah pada

produksi sari buah markisa berupa kulit buah markisa konyal perlu dikaji untuk melihat adanya potensi efek seperti adanya efek antibakteri agar dapat dimanfaatkan antara lain sebagai bahan baku sediaan obat antibakteri.

Beberapa penelitian yang dilakukan seperti pada penelitian Octavia (2014) menyatakan bahwa sari buah markisa konyal (*Passiflora ligularis*) baik yang segar maupun kental mengandung senyawa glikosida dan flavonoid. Penelitian Salim dkk (2018) menunjukkan bahwa ekstrak air panas kulit dan biji markisa (*Passiflora ligularis*) dan ekstrak etanol kulit dan biji markisa (*Passiflora ligularis*) mengandung flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Penelitian Sari dkk (2021) menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis*) mengandung fenolik, steroid, dan flavonoid. Komponen fitokimia flavonoid, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid berpotensi sebagai agen antibakteri (Nugraha dkk, 2018).

Beberapa penelitian untuk menguji potensi antibakteri dari tumbuhan markisa konyal telah dilakukan sebelumnya. Ditunjukkan dari hasil penelitian Kannan dkk (2011) bahwa ekstrak metanol daun *Passiflora ligularis* berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhi*) dan Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*) dengan diameter zona hambat antara 13-20 mm menggunakan metode difusi cakram. Penelitian yang telah dilakukan oleh Saravanan dkk (2014) juga mengungkapkan bahwa ekstrak petroleum eter, kloroform, aseton dan metanol pulp buah *Passiflora ligularis* berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus fecalis*, *Staphylococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella parathypi*, *Salmonella thypi*, *Klebsiella pneumoniae*, jamur *Candida albican* dan *Aspergillus niger* dengan diameter zona hambat antara 5,67 mm hingga 34 mm menggunakan metode difusi cakram.

Sehubungan dengan telah dilakukannya penelitian pada beberapa bagian tumbuhan markisa konyal menunjukkan bahwa tumbuhan markisa konyal mengandung bahan aktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Begitu juga dengan kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss). Hal ini didukung dengan penelitian Nugraha dkk (2018) dan Septiani (2018) yang menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah markisa ungu dengan metode difusi cakram terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. Hasil penelitian menunjukkan penghambatan efektif pada konsentrasi 300 mg/mL dan 400 mg/mL dengan diameter zona hambat 14,5 mm dan 14,28 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. Sedangkan konsentrasi penghambatan minimum berada pada konsentrasi 50 mg/ml dan 12,5 mg/mL dengan diameter hambat 8,43 mm dan 7,67 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) terhadap bakteri Gram positif menggunakan *Staphylococcus epidermidis* dan bakteri Gram negatif menggunakan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah pisau, blender, wadah simplisia, botol maserasi, kain flanel, *rotary evaporator*, timbangan analitik, krus porselen, oven, desikator, *furnace*, tabung reaksi, plat tetes, vial, pipet tetes, kertas saring, Erlenmeyer, kapas, kasa, kertas koran, inkubator, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, *aluminium foil*, jarum ose, corong, lampu spiritus, kertas cakram, kapas *swab*, vortex *stirrer*, jangka sorong, Spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan adalah kulit buah markisa konyal, etanol 70%, etanol 96%, aquades, kloroform, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃ 10%, norit, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, kloroform amoniak 0,05 N, H₂SO₄ 2 N, pereaksi Mayer (HgCl₂, KI), *Nutrient Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Broth* (NB), tetrasiklin, larutan standar Mc Farland (barium klorida 1%, asam sulfat 1%), NaCl 0,9%, DMSO (dimetil sulfoksida), bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*.

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah sampel segar buah markisa konyal sebanyak 10 kg diambil pada bulan September 2021 dari Alahan Panjang, Kabupaten Solok, Sumatera Barat.

2. Identifikasi Sampel

Identifikasi tumbuhan markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang.

3. Penyiapan Sampel

Sebanyak 3,7 kg kulit buah markisa konyal dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil dan dikering anginkan tanpa terkena panas sinar matahari langsung kemudian dihaluskan dengan diblender hingga didapatkan serbuk simplisia. Kemudian ditimbang dan dihitung persentase rendemennya.

4. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Markisa Konyal

Ekstrak etanol kulit buah markisa konyal dibuat dari serbuk simplisia kering dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol sehingga diperoleh ekstrak yang pekat atau ekstrak kental (Kemenkes RI, 2017).

5. Karakterisasi Ekstrak

Ekstrak etanol kulit buah markisa konyal dikarakterisasi dengan melakukan pemeriksaan organoleptis, penentuan rendemen ekstrak, pemeriksaan susut pengeringan ekstrak (Kemenkes RI, 2017, Depkes RI, 2000).

6. Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak (Depkes RI, 1977).

Pemeriksaan kandungan ekstrak meliputi uji flavonoid, uji fenolik, uji saponin, uji tanin, terpenoid dan steroid, dan alkaloid.

7. Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

b. Pembuatan Media Agar

1) Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

2) Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Nurhayati dkk, 2020).

3) Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

- c. Pembuatan Larutan Standar Mc Farland
- d. Peremajaan bakteri
- e. Pembuatan Suspensi Bakteri
- f. Pembuatan Larutan Uji
Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara ekstrak etanol kulit markisa konyal ditimbang 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg, 800mg. Kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 1 mL pelarut DMSO. Sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 25 mg/mL, 50 mg/mL, 75 mg/mL, 100mg/mL, 200mg/mL, 400mg/mL, 800mg/mL (Nugraha *dkk*, 2018).
- g. Pembuatan Larutan Kontrol Positif
Menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2018) tetrasiklin yang diperlukan untuk pengujian antibakteri adalah 30 µg tiap cakram. Maka larutan kontrol positif dibuat dengan konsentrasi 0,03 mg/mL (30 µg/mL).
- h. Pengujian Aktivitas Antibakteri menggunakan metode *disc diffusion*
Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer) dilakukan dengan kapas *swab* dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi suspensi bakteri dan dioleskan pada media Muller Hinton Agar (MHA).
- i. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)
Penentuan KHM dan KBM dilakukan dengan metode dilusi. Pada penentuan KHM dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri uji melalui nilai absorbansi spektrofotometer UV-Vis sebelum dan setelah inkubasi. Sembilan tabung reaksi steril disiapkan untuk penentuan KHM dan ditambahkan 9 mL media NB ke dalam masing-masing tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL ekstrak yang telah dibuat menjadi tujuh konsentrasi (25 mg/ml, 50 mg/ml, 75 mg/ml, 100 mg/ml, 200 mg/ml, 400 mg/ml, 800 mg/ml), 0,5 mL larutan antibiotik tetrasiklin untuk kontrol positif, dan 0,5 mL DMSO untuk kontrol negatif. Kemudian ditambahkan 0,5 mL suspensi bakteri (Rachmawati, 2016).

Seluruh tabung reaksi tersebut diukur absorbansi (*Optical Density* = *OD*) bakteri menggunakan spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 600$ nm). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Absorbansi (*Optical Density* = *OD*) bakteri tersebut diukur lagi setelah diinkubasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis ($\lambda = 600$ nm) (Rachmawaty, 2016).

Penentuan KHM dilakukan dengan mengurangi nilai absorbansi setelah diinkubasi dengan nilai absorbansi sebelum diinkubasi. Selisih nilai absorbansi (*Optical Density*) ini sebanding dengan kepekatan sel di dalam suspensi. KHM ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini ditunjukkan dengan tidak terlihat / tidak adanya kekeruhan (nilai *OD* bakteri = 0). Nilai *OD* bakteri = 0 menunjukkan tidak adanya peningkatan nilai absorbansi yang berarti tidak ada pertumbuhan bakteri (Jebarus, 2015 dan Rachmawaty, 2016).

Penentuan KBM dilakukan uji lanjutan dengan menginokulasikan kembali konsentrasi yang menunjukkan KHM ke cawan petri berisi media *Muller Hinton Agar* (MHA). Cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penentuan KBM dilakukan

dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media. KBM didapatkan jika terdapat konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri (Jebarus, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol kulit buah markisa konyal. Buah markisa konyal yang digunakan sebagai sampel diperoleh dari Alahan Panjang, Kabupaten Solok, Sumatera Barat. Sampel diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran tumbuhan yang digunakan dalam penelitian di Herbarium ANDA Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang dengan membawa bagian akar, batang, daun, buah dan bunganya. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut dinyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini benar kulit buah markisa konyal dengan nama spesies *Passiflora ligularis* Juss dengan surat hasil identifikasi yang telah diberikan oleh Herbarium Universitas Andalas dengan nomor surat 277/K-ID/ANDA/VI/2021.

Sampel kulit buah markisa konyal yang digunakan dalam penelitian dibersihkan terlebih dahulu. Kulit buah markisa konyal tersebut dirajang dan dikeringanginkan untuk mengurangi kadar air agar tidak ditumbuhi jamur dan mencegah penguraian atau pengrusakan senyawa yang ada akibat reaksi enzimatik. Proses ini untuk mendapatkan simplisia yang lebih awet dan tahan lama (Verawati dkk, 2017). Selanjutnya dihaluskan hingga didapatkan serbuk simplisia, bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel agar penetrasi pelarut ke dalam simplisia pada proses ekstraksi menjadi lebih optimal (Fathurrachman, 2014)

Ekstrak etanol kulit buah markisa konyal pada penelitian ini didapatkan dengan metode maserasi karena prosesnya sederhana dan tidak memerlukan alat khusus, serta tanpa proses pemanasan sehingga kerusakan zat-zat aktif akibat suhu tinggi dapat dihindari (Dermawan, 2021). Maserasi dilakukan selama 3x24 jam menggunakan etanol karena harganya murah, mudah didapatkan, bersifat universal (mampu menarik senyawa polar maupun non polar) sehingga memudahkan dalam penarikan senyawa yang diinginkan pada simplisia, relatif tidak toksik sehingga aman digunakan, serta dapat mencegah pertumbuhan kapang dan jamur (Dermawan, 2021). Pada maserasi pertama dilakukan menggunakan etanol 70% karena menggunakan simplisia atau sampel dalam bentuk kering yang kandungan airnya relatif sedikit. Etanol 70% yang mengandung 30% air dapat membuka kembali pori-pori simplisia atau sampel yang mengkerut karena proses pengeringan. Maserasi selanjutnya dilakukan menggunakan etanol 96% untuk menarik metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Botol sampel sesekali diaduk untuk mempercepat penetrasi pelarut ke dalam sel sampel. Maserat yang didapat diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental.

Pemeriksaan organoleptik ekstrak sebagai pengenalan awal secara sederhana dan objektif dengan panca indera (Depkes RI, 2000). Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak berbentuk kental, berwarna coklat, berbau khas dan berasa pahit. Penentuan rendemen ekstrak dilakukan untuk mengetahui banyaknya senyawa aktif yang terambil dari sampel (Utami dkk, 2020). Hasil penentuan rendemen menunjukkan dari 910 g simplisia kering kulit buah markisa didapatkan ekstrak kulit buah markisa konyal sebanyak 94,51 g dengan persentase rendemen 10,38 %.

Pemeriksaan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui rentang atau batasan maksimal senyawa yang hilang pada proses pengeringan pada temperatur 105°C (Depkes RI, 2000). Pengeringan pada temperatur ini akan menguapkan air dan senyawa-senyawa dengan titik didih lebih rendah dari air akan ikut menguap (Sari *dkk*, 2021). Hasil pemeriksaan susut pengeringan ekstrak etanol kulit buah markisa konyal ialah 8,35%.

Pemeriksaan kadar abu dilakukan untuk mengetahui gambaran kandungan mineral baik internal maupun eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Pemeriksaan dilakukan pada temperatur 600°C dimana pada temperatur ini senyawa organik dan turunannya akan terdestruksi dan menguap sehingga unsur mineral dan senyawa anorganik akan tertinggal (Depkes RI, 2000). Hasil pemeriksaan kadar abu ekstrak etanol kulit buah markisa konyal ialah 4,91 %.

Pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol kulit buah markisa konyal. Pemeriksaan dilakukan terhadap senyawa golongan flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, terpenoid dan steroid. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah markisa konyal mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin dan steroid. Hasil ini sesuai dengan penelitian Sari *dkk* (2021) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol kulit buah markisa konyal mengandung fenolik, steroid, dan flavonoid. Penelitian Salim *dkk* (2018) menyampaikan ekstrak air panas dan ekstrak etanol dari kulit dan biji buah markisa konyal mengandung flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Pada hasil pemeriksaan terdapat perbedaan karena tidak menunjukkan adanya kandungan triterpenoid. Ekstrak yang digunakan pada penelitian Salim *dkk* (2018) merupakan campuran kulit dan biji buah markisa konyal maka kandungan triterpenoid yang didapatkan kemungkinan besar berasal dari biji buah markisa. Adanya kandungan flavonoid, fenolik, tanin dan steroid yang menyebabkan ekstrak etanol kulit buah markisa konyal diduga memiliki aktivitas antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah markisa konyal dilakukan terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* sebagai bakteri uji. Pengujian dilakukan menggunakan metode *disc diffusion* karena prosedur pengerjaan yang sederhana, biayanya yang relatif murah, mampu untuk menguji sejumlah besar mikroorganisme, serta mudah menginterpretasikan hasil yang diperoleh (Balouiri *dkk*, 2016).

Pengujian dilakukan menggunakan kertas cakram berdiameter ± 6 mm berisi senyawa uji yang diletakkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram (Balouiri *dkk*, 2016). Menurut CLSI (2018) daya hambat pertumbuhan bakteri dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu jika diameter zona hambat 20 mm termasuk kategori *susceptible* (kuat), 15 – 19 mm termasuk kategori *intermediate* (sedang), dan 14 mm termasuk kategori *resistant* (lemah).

Tabel 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode *disc diffusion* Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*

Konsentrasi larutan uji	Rata rata diameter daya hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>
800 mg/mL	20,91	20,37
400 mg/mL	19,20	18,03
200 mg/mL	17,11	14,52
100 mg/mL	13,28	11,51
75 mg/mL	13,29	11,81
50 mg/mL	9,87	10,57
25 mg/mL	9,16	9,03
Kontrol +	24,9	22,41
Kontrol -	Tidak terdapat zona hambat	Tidak terdapat zona hambat

Berdasarkan hasil pengujian, daya hambat antibakteri ekstrak etanol kulit buah markisa konyal terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* paling baik dimulai dari konsentrasi 200 mg/mL, 400 mg/mL, dan 800 mg/mL dengan diameter daya hambat termasuk kategori sedang dan kuat.

Pada hasil penelitian, menunjukkan tidak terbentuknya zona bening pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh DMSO sebagai pelarut ekstrak dalam pengujian karena tidak memiliki aktivitas antibakteri. Sedangkan pada kontrol positif didapatkan zona bening dengan kategori kuat terhadap kedua bakteri uji. Hal ini menunjukkan antibiotik tetrasiklin yang digunakan sebagai kontrol positif dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri dan berspektrum luas karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Mariani *dkk*, 2020).

Berdasarkan hasil, terdapat perbedaan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*. Diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih besar dibandingkan *Escherichia coli*. Perbedaan ini dapat disebabkan karena komposisi dan struktur dinding sel dari kedua jenis bakteri tersebut berbeda. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang merupakan bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif umumnya memiliki dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan tebal dan mengandung asam teikoat. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel bakteri yang tersusun atas peptidoglikan tipis dan memiliki membran luar yang sebagian besar disusun oleh lipid yaitu lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, dan fosfolipid (Wulansari *dkk*, 2019).

Pada pembuatan ekstrak, pelarut yang digunakan ialah pelarut polar sehingga senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya juga bersifat polar. Asam teikoat yang merupakan komponen penyusun bakteri Gram positif ialah polimer larut dalam air yang berfungsi sebagai transport ion positif. Sifat larut air ini menunjukkan sifat bakteri Gram positif lebih polar. Senyawa bioaktif yang bersifat polar dapat dengan mudah masuk ke dalam dinding sel dan merusak lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dibandingkan lapisan lipid pada bakteri Gram negatif (Lingga *dkk*, 2016). Hal ini ditunjukkan dari diameter daya hambat yang terlihat lebih besar pada bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif.

Penentuan nilai KHM dari ekstrak etanol kulit buah markisa konyal dilakukan dengan menggunakan metode dilusi. Menggunakan seri tabung reaksi yang berisi media cair, bakteri uji, dan seri konsentrasi larutan uji di masing-masing tabung reaksi. Nilai KHM ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengamati kekeruhan sebelum dan setelah inkubasi.

Kekeruhan diamati untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri dapat dilakukan secara visual, namun cara ini cenderung bersifat subjektif sehingga resiko terjadinya kesalahan relatif lebih besar. Maka digunakan OD atau perbandingan nilai absorbansi (*optical density*) sesudah dan sebelum inkubasi secara spektrofotometer (Astutiningsih *dkk*, 2014). Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan meningkatnya jumlah sel bakteri sehingga mengakibatkan larutan uji semakin keruh. Kekeruhan larutan umumnya berbanding lurus dengan serapan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai absorbansi (*optical density*) setelah inkubasi lebih kecil dibandingkan absorbansi (*optical density*) sebelum inkubasi maka OD akan bernilai negatif karena adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh zat antibakteri pada larutan uji. Pengukuran nilai absorbansi (*optical density*) dilakukan pada panjang gelombang 600 nm karena sel-sel akan menyerap sinar pada panjang gelombang ini (Astutiningsih *dkk*, 2014; Rachmawaty, 2016).

Tabel 2. Hasil Pengujian KHM Menggunakan Metode Dilusi Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*

Larutan Uji	OD	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>
Ekstrak 800 mg/mL	-0,477	-0,321
Ekstrak 400 mg/mL	-0,367	-0,279
Ekstrak 200 mg/mL	-0,269	-0,243
Ekstrak 100 mg/mL	0,004	0,003
Ekstrak 75 mg/mL	0,085	0,057
Ekstrak 50 mg/mL	0,361	0,244
Ekstrak 25 mg/mL	0,514	0,46
Kontrol +	-0,083	-0,028
Kontrol -	0,706	0,703

Hasil pengujian KHM menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* ditunjukkan dengan penurunan nilai absorbansi (*Optical Density*) pada konsentrasi 800 mg/mL, 400 mg/mL, dan 200 mg/mL dengan nilai OD adalah -0,477, -0,367, dan -0,269. Maka nilai KHM terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ialah konsentrasi 200 mg/mL. Pada bakteri *Escherichia coli* penurunan nilai absorbansi (*Optical Density*) hanya terlihat pada konsentrasi 800 mg/mL, 400 mg/mL, dan 200 mg/mL dengan nilai OD adalah -0,321, -0,279, dan -0,243. Maka nilai KHM terhadap bakteri *Escherichia coli* ialah konsentrasi 200 mg/mL.

Berdasarkan hasil pengujian KHM, dilakukan pengujian lanjutan untuk menentukan nilai KBM. Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menginokulasikan kembali konsentrasi yang menunjukkan KHM pada media MHA. KBM ditentukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi. KBM didapatkan jika terdapat konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada media.

Hasil pengujian KBM menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri baik pada *Staphylococcus epidermidis* ataupun *Escherichia coli* hanya pada konsentrasi 800 mg/mL. Maka nilai KBM terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* ialah pada konsentrasi 800 mg/mL.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan flavonoid, fenolik, tanin pada ekstrak kulit markisa konyal yang berpotensi sebagai antibakteri.

Flavonoid sebagai antimikroba dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan adanya proses interkelas atau ikatan hidrogen sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan

protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid juga dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Rijayanti, 2014).

Senyawa fenol dapat mendenaturasi protein sel dengan membentuk ikatan hidrogen dengan protein. Ikatan ini mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma karena keduanya tersusun atas protein. Hal ini menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel sehingga metabolisme terganggu dan sel menjadi lisis (Rijayanti, 2014; Bota *dkk*, 2015).

Tanin bersifat astrigen (zat yang dapat menciutkan/mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri dan menyebabkan kerusakan dinding sel (Amalia *dkk*, 2017). Sedangkan steroid dapat merusak membran lipid karena sifatnya yang permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menurunkan integritas membran dan morfologi membran sel terganggu sehingga sel mengalami rapuh dan lisis (Sudarmi *dkk*, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat semakin besar konsentrasi ekstrak kulit markisa konyal pada larutan uji maka aktivitas antibakteri juga akan semakin meningkat baik terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* maupun *Escherichia coli*. Hal ini sesuai dengan penelitian Zaunit *dkk* (2019) yang mengemukakan bahwa peningkatan konsentrasi dan diameter daya hambat berbanding lurus. Difusi zat terlarut pada konsentrasi larutan uji yang lebih tinggi berlangsung lebih cepat (menyebar lebih cepat dan luas pada media agar) dibandingkan dengan konsentrasi larutan uji yang lebih rendah. Sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat pada daerah yang dilalui ekstrak tersebut.

SIMPULAN

1. Ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*. Hasil analisis statistik uji ANOVA satu arah dengan nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari setiap konsentrasi larutan uji terhadap diameter zona hambat.
2. Konsentrasi 200 mg/mL merupakan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*.
3. Konsentrasi 800 mg/mL merupakan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol kulit buah markisa konyal (*Passiflora ligularis* Juss) yang efektif untuk membunuh bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia A, Sari I dan Nursanty R. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap pertumbuhan bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 387–391.
- Ariyanti NK, Darmayasa IBG dan Sudirga SK. 2012. Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi*.XVI(1):1-4.
- Astutiningsih C, Setyani W dan Hindratna H. 2014. Uji daya antibakteri dan identifikasi isolata senyawa katekin dari daun teh (*Camellia sinensis*L. var *Assamica*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 11(2):50–57.
- Balouiri M, Sadiki M dan Ibsouda SK. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2018. *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- Dalynn Biological. 2014. Mc Farland standard. *Dalynn Biological*.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1977. *Materia Medika Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Dermawan S. 2021. Formulasi Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Padang: Universitas Perintis Indonesia.
- Dewi FK. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Elifah E. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D.Don) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Fathurrachman DA. 2014. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Fauziah F. 2015. Karakteristik Pektin Dari Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora flavircarpa* D.) Dan Markisa Merah (*Passiflora edulis* S.). *Skripsi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Jebarus AR. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Petai (*Parkisa speciosa* Hassk.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.

- Kannan S, Devi BP dan Jayakar B. 2011. Antibacterial activity of *Passiflora ligularis*. *Int. J. Chem. Sci.*9(1):393–396.
- Karmila. 2013. Analisis Kelayakan Finansial Usahatani Markisa Konyal (*Passiflora ligularis*) Di Desa Arosuka Kecamatan Gunung Talang Kabupaten Solok Provinsi Sumatera Barat. *Skripsi*. Bengkulu Universitas Bengkulu.
- Kementerian Kesehatan RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kurniawati E. 2015. Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Wiyata*. 2(2):193-199.
- Lingga AR, Pato U dan Rossi E. 2016. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 3(1).
- Mariani Y, Yusro F dan Wardenaar E. 2020. Aktivitas ekstrak metanol daun ulin (*Eusideroxylon zwageri* Teijsm & Binn) terhadap empat jenis bakteri patogen. *Jurnal Biologi Tropis*. 20(1):94-101. doi: 10.29303/jbt.v20i1.1642.
- Muljono P, Fatimawali dan Manampiring AE. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 4(1):164-172.
- Nugraha SE, Achmad S dan Sitompul E. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims) aktif *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 1(2):28-33. Available at: <https://talenta.usu.ac.id/index.php/idjpcr>.
- Nurhayati LS, Yahdiyani N dan Hidayatulloh A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2):41-46. doi: 10.24198/jthp.v1i2.27537.
- Octavia M. 2014. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Serta Kapasitas Antioksidan Total Sari Buah Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims) Dan Sari Buah Markisa Konyal (*Passiflora ligularis* Juss). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Rachmawaty DU. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccharata* Sturt) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rijayanti RP. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Salim M, Ramadani VR dan Mardiah E. 2018. Efek ekstrak kulit dan biji buah markisa manis (*Passiflora ligularis*) yang diberikan kepada mencit penderita diabetes. *Jurnal Kimia Unand*. 7(1):19–24. Available at: www.kimia.fmipa.unand.ac.id.

- Saravanan S dan Parimelazhagan T. 2014. In vitro antioxidant , antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss fruit pulp. *Food Science and Human Wellness*. 3:56-64. doi: 10.1016/j.fshw.2014.05.001.
- Sari TM, Fera O dan Yonedi Y. 2021. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah makisa konyal (*Passiflora ligularis* f. llobalata). *Jurnal Katalisator*. 6(2):241-253. Available at: <http://doi.org/10.22216/jk.v5i2.5717>.
- Septiani N. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Kulit Buah Markisa Ungu (*Passiflora edulis* Sims) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sudarmi K, Darmayasa IBG dan Muksin IK. 2017. Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis*. 5(2):47-51. Available at: <http://ojs.unud.ac.id/index.php/simbiosis%0A>.
- Utami YP, Umar AH, Syahrani R, dan Kadullah I. 2017. Standardisasi simplisia dan ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*. 2(1):32-39.
- Viyona M. 2019. Pendugaan Kandungan Lemak Dan Abu Biji Markisa Manis (*Passiflora ligularis*) Dengan Jaringan Saraf Tiruan (JST) Berdasarkan Nilai Spektroskopi Near Infrared (NIR). Padang: Universitas Andalas.
- Verawati, Nofiandi D dan Petmawati. 2017. Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Katalisator*. 2(2):53-60. Available at: <http://ejournal.kopertis10.or.id/index.php/Katalisator>.
- Wulansari A, Aqlinia M dan Raharjo B. 2019. Isolasi bakteri endofit dari tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan uji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri penyebab penyakit kulit *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Berkala Bioteknologi*. 2(2):25-36.
- Zaunit MM, Febria FA dan Bakhtiar A. 2019. Pengendalian *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* menggunakan ramuan obat diare masyarakat maek. *Metamorfosa Journal Of Biological Sciences*. 6(1):14-18. doi: 10.24843/metamorfosa.v06.i01.p03.