

Uji Aktivitas Antibakteri Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* Linn) Ekstrak Etanol Dan Fraksi Cloroform Terhadap *Staphylococcus Aureus*

Antibacterial Activity Test of Brotowali Stem (Tinospora Crispa Linn) Ethanol Extract and Chloroform Fraction against Staphylococcus aureus

Pertiwi Ishak^{1*}; Andi Armisman Edi Paturusi²; Suriani³; Sustrin Abasa⁴

¹⁻⁴ Universitas Pancasakti, Makassar 90121, Indonesia

¹ pertiwi.ishak@unpacti.ac.id; ² armisman@gmail.com; ³ suriani@gmail.com; ⁴ sustrin.abasa@unpacti.ac.id

* Corresponding author

Abstrak

Kulit merupakan organ terluar yang berfungsi melindungi tubuh dari berbagai ancaman mikroorganisme, termasuk *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan infeksi kulit. Meningkatnya resistensi antibiotik sintetis mendorong pencarian alternatif antibakteri alami, seperti ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.). Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi kloroform batang brotowali terhadap *Staphylococcus aureus*, serta membandingkan efektivitasnya. Metode yang digunakan adalah ekstraksi dengan etanol 96%, fraksinasi kloroform, dan uji difusi kertas cakram. Pengamatan zona hambat dilakukan selama 1x24 jam dan 2x24 jam, lalu dianalisis dengan uji One Way ANOVA dan Post Hoc. Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Pada pengamatan 1x24 jam, ekstrak etanol memberikan zona hambat rata-rata sebesar 10,13 mm (10%), 11,17 mm (15%), dan 12,13 mm (20%), sedangkan pada pengamatan 2x24 jam menghasilkan zona hambat sebesar 10,34 mm (10%), 11,37 mm (15%), dan 12,28 mm (20%). Untuk fraksi kloroform, pada pengamatan 1x24 jam menghasilkan zona hambat rata-rata sebesar 8,82 mm (10%), 9,61 mm (15%), dan 10,04 mm (20%), sedangkan pada pengamatan 2x24 jam zona hambat mencapai 9,41 mm (10%), 10,11 mm (15%), dan 10,77 mm (20%). Analisis statistik menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan bermakna antar konsentrasi. Uji Post Hoc memperlihatkan semua konsentrasi pada ekstrak etanol berbeda signifikan, tetapi pada fraksi kloroform, konsentrasi 10% vs 15% dan 15% vs 20% tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi fraksi kloroform tidak selalu diikuti dengan peningkatan zona hambat yang bermakna secara statistik.

Kata Kunci: Batang brotowali; ekstrak etanol; fraksi *chloroform*; antibakteri; *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Skin is the outermost organ that functions to protect the body from various microbial threats, including *Staphylococcus aureus*, which can cause skin infections. The increasing resistance to synthetic antibiotics has prompted the search for natural antibacterial alternatives, such as *Tinospora crispa* L. (brotowali) stem extract. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract and chloroform fraction of *Tinospora crispa* L. against *Staphylococcus aureus*, and to compare their effectiveness. The methods used include extraction with 96% ethanol, chloroform fractionation, and the disc diffusion antibiotic assay. The inhibition zones were observed for 1x24 hours and 2x24 hours, and the data were analyzed using One Way ANOVA and Post Hoc tests. The results showed that the higher the extract concentration, the larger the inhibition zone produced. After 1x24 hours of observation, the ethanol extract produced average inhibition zones of 10.13 mm (10%), 11.17 mm (15%), and 12.13 mm (20%), while after 2x24 hours, the inhibition zones were 10.34 mm (10%), 11.37 mm (15%), and 12.28 mm (20%). For the chloroform fraction, the average inhibition zones after 1x24 hours were 8.82 mm (10%), 9.61 mm (15%), and 10.04 mm (20%), and after 2x24 hours were 9.41 mm (10%), 10.11 mm (15%), and 10.77 mm (20%). Statistical analysis showed a significance value $p < 0.05$ ($p < 0.05$), indicating a significant difference between concentrations. The Post Hoc test showed that all concentrations of the ethanol extract were significantly different, but for the chloroform fraction, the 10% vs 15% and 15% vs 20% comparisons were not statistically significant ($p > 0.05$). This indicates that an increase in chloroform fraction concentration does not always result in a statistically significant increase in the inhibition zone.

Keywords: Brotowali stem; ethanol extract; chloroform fraction; antibacterial; *Staphylococcus aureus*

Pendahuluan

Kulit merupakan organ terluar yang melapisi seluruh tubuh dengan fungsi vital sebagai pelindung mekanis dari radiasi, zat kimia, trauma, serta invasi mikroorganisme patogen. Kerusakan integritas jaringan kulit sangat rentan

memicu manifestasi penyakit infeksi kulit, yang prevalensinya cukup tinggi di wilayah beriklim tropis seperti Indonesia. Salah satu bakteri patogen Gram-positif utama penyebab infeksi kulit supuratif atau bernanah seperti furunkel (bisul) adalah *Staphylococcus aureus* [1]. Hingga saat ini, penanggulangan infeksi bakteri masih bertumpu pada penggunaan antibiotik sintetis. Namun seiring waktu, intensitas penggunaan antibiotik yang tidak rasional memicu peningkatan resistensi strain bakteri patogen [2]. Munculnya strain baru yang kompleks memicu kegagalan terapi, sehingga penanganannya harus didasarkan pada informasi kepekaan bakteri yang tepat [3]. Kondisi dilematis ini mendorong urgensi inovasi farmasi untuk mengeksplorasi kandidat antibakteri baru yang bersumber dari senyawa bioaktif tanaman [4].

Salah satu tanaman obat yang secara empiris dipercaya oleh masyarakat pedesaan untuk mengobati infeksi kulit, luka luar, memar, gatal-gatal, kudis, hingga bisul adalah brotowali (*Tinospora crispa* Linn) dari famili *Menispermaceae* [5], [6], [7]. Air rebusan batangnya sering digunakan untuk mencuci luka atau diminum sebagai ramuan obat serba bisa karena memiliki spektrum sifat farmakologis yang luas, seperti antibakteri, analgetik, antiinflamasi, antikanker, dan antioksidan [6][8]. Aktivitas antibakteri batang brotowali dipengaruhi oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti fenol, alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin [4][9]. Kandungan seperti alkaloid berberina terbukti berguna membunuh bakteri pada luka, sementara zat pahit pikroretin berkhasiat menggiatkan metabolisme tubuh [6].

Aktivitas penekanan mikroba dari batang brotowali telah divalidasi oleh beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi pekat 25%, 50%, dan 75% dengan rata-rata zona hambat berkisar antara 19,59 mm hingga 20,01 mm [10]. Selain itu, modifikasi bentuk sediaan berupa gel ekstrak etanol batang brotowali juga telah diuji sifat fisisnya dengan variasi basis *gelling agent* [8][11]. Meskipun efek pada kadar pekat telah divalidasi, dokumentasi mengenai kemampuan antibakteri sediaan brotowali pada rentang konsentrasi yang lebih rendah (10% hingga 20%) masih memerlukan kajian laboratorium yang komprehensif. Selain faktor konsentrasi, jenis pelarut dalam preparasi zat aktif memegang peranan krusial terhadap penarikan senyawa fitokimia [12].

Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut universal semi-polar mampu menyari spektrum metabolit yang luas [13], [14]. Sementara itu, pemisahan komponen melalui tahapan fraksinasi menggunakan pelarut kloroform (*cloroform*) dapat mengisolasi golongan senyawa semi-polar dan non-polar tertentu untuk dibandingkan efektivitasnya [7][15]. Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian eksperimental laboratorium ini untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi *cloroform* batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn) pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% guna mengevaluasi sediaan manakah yang mampu memberikan diameter zona hambat yang lebih besar dan optimal terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium (*true experimental*) yang bertujuan untuk menguji dan membandingkan aktivitas antibakteri antara sediaan ekstrak etanol dan fraksi kloroform (*cloroform*) dari batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram (*disc diffusion*) dengan variasi konsentrasi sediaan sebesar 10% b/v, 15% b/v, dan 20% b/v.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Rangkaian penelitian ini dilaksanakan dalam kurun waktu dari bulan Oktober sampai Desember. Proses ekstraksi, fraksinasi, dan pengujian skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Fitokimia, sedangkan peremajaan inokulum serta pengujian aktivitas biologis bakteri diselesaikan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pancasakti Makassar.

C. Populasi dan Sampel

Penentuan populasi, sampel, serta sediaan bahan uji dalam penelitian ini disesuaikan dengan target bioaktivitas antimikroba yang ingin diamati. Rincian mengenai komponen-komponen tersebut dipaparkan sebagai berikut:

- **Populasi Penelitian:** Populasi dalam penelitian ini mencakup seluruh jenis mikroorganisme patogen pada manusia yang berpotensi menimbulkan manifestasi penyakit infeksi, khususnya infeksi pada jaringan kulit dan sekitarnya.
- **Sampel Penelitian:** Sampel biologis spesifik yang dijadikan sebagai representasi dalam uji aktivitas ini adalah biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini diperoleh dalam bentuk isolat murni dari stok laboratorium yang telah divalidasi mutu dan karakternya.
- **Bahan Uji:** Bahan uji yang digunakan sebagai sumber senyawa fitokimia adalah spesimen tanaman berupa batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn). Sampel tanaman ini diperoleh dan dikumpulkan langsung dari wilayah vegetasi lokal di Kabupaten Bantaeng, Provinsi Sulawesi Selatan.

D. Alat dan Bahan

Instrumen dan sediaan kimia yang digunakan dalam penelitian ini dipilih secara selektif guna mendukung ketepatan proses ekstraksi, skrining fitokimia, serta validitas pengujian mikrobiologi. Adapun rincian alat dan bahan laboratorium yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Alat:

Autoklaf, inkubator (Mettler), rotary evaporator, timbangan analitik, jangka sorong, mikropipet, bejana maserasi, corong pisah, water bath, oven, laminar air flow (LAF), cawan petri steril, tabung reaksi, labu ukur, dan aparatus gelas laboratorium standar.

2. Bahan:

Batang brotowali, biakan *Staphylococcus aureus*, media Nutrient Agar (NA), etanol 96%, kloroform (CHCl_3), serbuk Amoxicillin (kontrol positif), serbuk Natrium Carboxymethyl Cellulose (Na-CMC), larutan NaCl 0,9% steril, akuades, serta pereaksi skrining fitokimia (Dragendorff, serbuk Mg, HCl pekat, amil alkohol, H_2SO_4 pekat, dan FeCl_3 1%).

E. Prosedur Kerja

1. Penyiapan Simplisia dan Proses Ekstraksi

Sampel batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn) yang diperoleh dari Kabupaten Bantaeng, Provinsi Sulawesi Selatan, terlebih dahulu dibersihkan dari pengotor menggunakan air mengalir, dirajang menjadi bagian-bagian kecil, dan dikeringkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung. Batang brotowali yang telah mengering sempurna kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia kering. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode dingin berupa maserasi. Sebanyak 300 gram serbuk simplisia batang brotowali ditimbang secara analitik, lalu dimasukkan ke dalam bejana maserator dan direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 600 mL pada suhu ruang (27°C). Perendaman berlangsung selama 1x24 jam dengan pengadukan berkala selama 1 jam. Proses penyaringan dilakukan untuk memisahkan filtrat dan residu. Ampas atau residu sisa penyaringan kemudian dimaserasi kembali (remaserasi) dengan pola dan cairan penyari yang sama sebanyak 2 kali pengulangan. Seluruh maserat cair yang terbentuk dikumpulkan menjadi satu kesatuan dan diuapkan pelarutnya menggunakan instrumen rotary evaporator pada suhu konstan (50°C) hingga diperoleh sediaan ekstrak kental etanol batang brotowali dengan rendemen sebesar 4,033% b/b (bobot bersih ekstrak yang diperoleh sebesar 12,0986 gram).

2. Proses Fraksinasi Cair-Cair

Sebagian dari sediaan ekstrak kental etanol batang brotowali yang didapatkan dipisahkan untuk menjalani tahapan fraksinasi cair-cair (ECC). Ekstrak kental etanol tersebut dilarutkan ke dalam sejumlah aquadest hangat, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Cairan suspensi ekstrak lalu ditambahkan dengan pelarut kloroform (kloroform). Campuran digojog secara perlahan hingga mencapai kondisi kesetimbangan antar-fase, lalu didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan pelarut yang terpisah secara tegas berdasarkan gradien berat jenisnya. Filtrat fase kloroform dipisahkan, ditampung, dan diuapkan pelarutnya di atas water bath pada suhu terkontrol (35°C) – (45°C) hingga didapatkan sediaan fraksi kloroform kental yang murni.

3. Skrining Fitokimia

Pengujian skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif terhadap ekstrak batang brotowali guna memvalidasi keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder:

- Uji Alkaloid: Sebanyak 250 mg ekstrak batang brotowali direaksikan dengan 1 mL reagen Dragendorff. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga.
- Uji Flavonoid: Ekstrak ditambahkan dengan aquadest panas, dididihkan, lalu disaring. Filtrat ditambahkan dengan 0,1 gram serbuk Magnesium, 1 mL asam klorida (HCl) pekat, dan 2 mL amil alkohol, kemudian dikocok kuat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.
- Uji Terpenoid: Sebanyak 250 mg ekstrak dilarutkan ke dalam 2 mL kloroform, lalu ditambahkan 3 mL asam sulfat (H_2SO_4) pekat melalui dinding tabung. Pembentukan lapisan antarmuka (interface) berwarna cokelat kemerahan menandakan hasil positif.
- Uji Tanin: Sediaan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu direaksikan dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 . Terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan adanya kandungan senyawa tanin.

4. Pembuatan Sediaan Kontrol dan Variasi Konsentrasi Uji

Sebelum pembuatan variasi kadar sediaan, terlebih dahulu dibuat suspensi pembawa Natrium Carboxymethyl Cellulose (Na-CMC) 1% b/v dengan cara menimbang 1 gram serbuk Na-CMC, dilarutkan ke dalam 50 mL air suling panas, diaduk menggunakan batang pengaduk hingga larut sempurna, lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL menggunakan aquadest. Pembuatan Larutan Stok Induk (50% b/v): Ditimbang saksama sebanyak 5 gram

ekstrak etanol kental dan 5 gram fraksi kloroform kental, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan suspensi Na-CMC 1% b/v hingga tanda batas.

- Konsentrasi 10% b/v: Dipipet sebanyak 2 mL larutan stok induk 50% b/v ke dalam labu ukur, lalu diencerkan dan dicukupkan volumenya dengan suspensi Na-CMC 1% b/v hingga 10 mL.
- Konsentrasi 15% b/v: Dipipet sebanyak 3 mL larutan stok induk 50% b/v ke dalam labu ukur, lalu diencerkan dan dicukupkan volumenya dengan suspensi Na-CMC 1% b/v hingga 10 mL.
- Konsentrasi 20% b/v: Dipipet sebanyak 4 mL larutan stok induk 50% b/v ke dalam labu ukur, lalu diencerkan dan dicukupkan volumenya dengan suspensi Na-CMC 1% b/v hingga 10 mL.
- Kontrol Positif (Amoxicillin 30 ppm): Ditimbang secara saksama 50 mg serbuk Amoxicillin, disuspensikan dengan Na-CMC 1% b/v hingga volume 100 mL (Stok 1 = 500 ppm). Selanjutnya, diukur sebanyak 3 mL larutan Stok 1 lalu diencerkan kembali menggunakan Na-CMC 1% b/v sampai volume 50 mL untuk mendapatkan sediaan akhir dengan kadar 30 ppm (Stok 2).
- Kontrol Negatif: Menggunakan larutan suspensi Na-CMC 1% b/v murni yang bertindak sebagai blanko.

5. Pembuatan Media, Peremajaan Bakteri, dan Penyiapan Inokulum

Media Nutrient Agar (NA) dibuat dengan cara menimbang sebanyak 2 gram bubuk media NA, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL, lalu dilarutkan dengan penambahan 50 mL aquadest. Campuran dipanaskan di atas penangas air sambil diaduk secara konstan hingga larut sempurna (bening). Lubang Erlenmeyer disumbat menggunakan kapas steril, dilapisi aluminium foil, lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media didinginkan pada suhu ruang. Kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* diambil menggunakan jarum ose steril, lalu diinokulasikan pada media agar miring NA untuk proses peremajaan, dan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Satu ose bulat koloni bakteri hasil peremajaan diambil secara aseptik, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL larutan NaCl 0,9% steril, kemudian dikocok kuat hingga homogen sampai diperoleh tingkat kekeruhan suspensi bakteri yang setara dengan standar Mc Farland 0,5.

6. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian dilakukan secara aseptik di bawah paparan kondisi Laminar Air Flow (LAF). Media NA cair yang telah steril dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 10 mL, ditambahkan 1 ose bulat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, lalu dihomogenkan secara perlahan dan dibiarkan hingga memadat. Lembaran paper disk (kertas cakram kosong) steril direndam selama 1 jam ke dalam masing-masing variasi konsentrasi sediaan uji (ekstrak etanol dan fraksi kloroform kadar 10%, 15%, dan 20%), sediaan kontrol positif Amoxicillin 30 ppm, serta sediaan kontrol negatif Na-CMC 1% b/v. Setelah direndam, kertas cakram ditiriskan sejenak dan diletakkan di atas permukaan media agar padat yang telah berisi bakteri dengan sedikit penekanan menggunakan pinset steril agar menempel sempurna. Seluruh cawan petri dibungkus dan dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam. Pengamatan dan pengukuran diameter daerah bening (zona hambat) yang terbentuk di sekeliling kertas cakram dilakukan pada interval waktu 1x24 jam dan 2x24 jam menggunakan instrumen jangka sorong.

F. Teknik Analisis Data

Seluruh data kuantitatif berupa diameter zona hambat dikumpulkan, ditabulasi, dan dianalisis secara statistik. Pengujian hipotesis dilakukan menggunakan aplikasi SPSS for Windows melalui uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mendeteksi perbedaan efek antar kelompok perlakuan secara signifikan ($p < 0,05$). Sebelum dilakukan uji ANOVA, data dipastikan memenuhi prasyarat statistik melalui uji normalitas distribusi data dan uji homogenitas varians data (*Homogeneity of Variances*). Jika diperoleh perbedaan yang bermakna nyata, analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test* untuk membandingkan perbedaan antar tingkatan konsentrasi secara spesifik.

Hasil dan Diskusi

Hasil

A. Rendemen Ekstrak Kental Batang Brotowali

Proses ekstraksi dingin menggunakan metode maserasi terhadap 300 gram serbuk simplisia kering batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn) menghasilkan sediaan ekstrak kental etanol. Persentase nilai rendemen dihitung berdasarkan perbandingan bobot bersih ekstrak kental yang diperoleh terhadap bobot simplisia awal, seperti yang terangkum pada Tabel 1.

Tabel 1. Perhitungan Rendemen Ekstrak Batang Brotowali

Parameter Pengukuran	Nilai Kuantitatif Data
Bobot Simplisia Awal	300 gram
Bobot Cawan Kosong	57,2207 gram
Bobot Cawan Kosong + Ekstrak Kental	69,3193 gram

Bobot Bersih Ekstrak Kental	12,0986 gram
Persentase Rendemen Ekstrak (% b/b)	4,033%

B. Skrining Fitokimia

Penapisan kualitatif melalui pengujian skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan golongan senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak kental batang brotowali. Hasil pengamatan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Batang Brotowali

No	Golongan Senyawa	Parameter Hasil Pengamatan	Kesimpulan
1	Alkaloid	Terbentuk endapan berwarna jingga	+
2	Flavonoid	Terjadi perubahan warna jingga	+
3	Terpenoid	Terjadi perubahan warna coklat kehitaman	+
4	Tanin	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman	+

C. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dilakukan dengan mengukur diameter zona bening di sekitar kertas cakram setelah masa inkubasi 1x24 jam dan 2x24 jam.

Tabel 3. Hasil pengujian Zona Hambat Ekstrak Etanol Batang Brotowali terhadap *Staphylococcus aureus* 1x24 jam

Konsentrasi	Replikasi (mm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
10%	10,23	10,06	10,09	30,38	10,13
15%	11,17	11,26	11,07	33,5	11,17
20%	12,07	12,20	12,12	36,39	12,13
K (+)	14,81	14,94	15,10	45,66	15,22
K (-)	0	0	0	0	0

Tabel 4. Hasil pengujian Zona Hambat Ekstrak Etanol Batang Brotowali terhadap *Staphylococcus aureus* 2x24 jam

Konsentrasi	Replikasi (mm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
10%	10,40	10,05	10,57	31,02	10,34
15%	11,15	11,39	11,58	34,12	11,37
20%	12,13	12,13	12,58	36,84	12,28
K (+)	14,91	14,44	15,30	44,65	14,88
K (-)	0	0	0	0	0

D. Uji Aktivitas Fraksi Kloroform Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Pengujian daya hambat fraksi kloroform terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* diukur pada interval waktu yang sama, yakni 1x24 jam dan 2x24 jam.

Tabel 5. Hasil pengujian Zona Hambat Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Batang Brotowali terhadap *Staphylococcus aureus* 1x24 jam

Konsentrasi	Replikasi (mm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
10%	8,81	9,01	8,66	26,48	8,82
15%	9,51	10,07	9,25	28,83	9,61
20%	10,06	10,44	9,63	30,13	10,04
K (+)	15,45	15,61	15,06	46,12	15,37
K (-)	0	0	0	0	0

Tabel 6 Hasil pengujian Zona Hambat Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Batang Brotowali terhadap *Staphylococcus aureus* 2x24 jam

Konsentrasi	Replikasi (mm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
10%	8,99	9,34	9,90	28,23	9,41
15%	9,63	10,31	10,41	30,33	10,11

20%	10,48	10,95	10,95	32,31	10,77
K (+)	15,75	15,81	15,12	46,68	15,56
K (-)	0	0	0	0	0

Diskusi

Penelitian ini mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi kloroform batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn) asal Kabupaten Bantaeng terhadap *Staphylococcus aureus* untuk memvalidasi penggunaan empirisnya pada infeksi kulit seperti bisul. Maserasi 300 gram simplisia dengan etanol 96% menghasilkan 12,10 gram ekstrak kental dengan rendemen rendah sebesar 4,033% akibat tidak dilakukannya remaserasi ampas, namun skrining fitokimia mengonfirmasi keberhasilan penyarian senyawa target berupa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan tanin. Dalam uji antimikroba, *amoxicillin* (kontrol positif) memberikan penghambatan yang poten, sementara Na-CMC 1% (kontrol negatif) menghasilkan zona hambat 0 mm yang membuktikan matriks pembawa bersifat inert. Hasil pengujian menunjukkan sifat *dose-dependent* pada interval 1x24 jam dan 2x24 jam, di mana peningkatan konsentrasi (10%, 15%, dan 20% b/v) berbanding lurus dengan diameter zona hambat, dengan kadar 20% b/v sebagai konsentrasi paling optimal. Secara komparatif, ekstrak etanol secara konsisten menghasilkan zona hambat lebih besar daripada fraksi kloroform; pada kadar 20% b/v, ekstrak etanol menghasilkan 12,13 mm (24 jam) dan 12,28 mm (48 jam), sedangkan fraksi kloroform menghasilkan 10,04 mm (24 jam) dan 10,77 mm (48 jam). Hal ini membuktikan komponen antibakteri batang brotowali lebih dominan tersari dalam pelarut semi-polar dibanding non-polar. Validitas data ini diperkuat secara statistik melalui uji *One-Way ANOVA* ($p=0,000<0,05$) setelah memenuhi syarat normalitas ($\text{Sig.}>0,05$) dan homogenitas ($\text{Sig.}>0,05$), dilanjutkan uji Post Hoc Test yang mengonfirmasi perbedaan signifikan di setiap kelompok perlakuan. Aktivitas antimikroba ini dipicu oleh mekanisme sinergis kandungan fitokimianya, di mana alkaloid menghambat replikasi DNA, flavonoid merusak stabilitas membran sitoplasma dan memicu lisis dinding sel, terpenoid merusak permeabilitas membran luar, serta tanin yang mengkoagulasi transpor protein dan menonaktifkan enzim esensial bakteri.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian eksperimental laboratorium yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa sediaan ekstrak etanol dan fraksi kloroform batang brotowali (*Tinospora crispa* Linn) memiliki aktivitas antibakteri yang nyata dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Temuan ini mencerminkan kesesuaian dengan harapan yang telah diuraikan, di mana kedua sediaan menunjukkan sifat *dose-dependent* pada rentang kadar rendah (10%, 15%, dan 20% b/v) dengan konsentrasi 20% b/v sebagai kadar paling optimal. Secara komparatif, ekstrak etanol secara konsisten memberikan efektivitas dan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan fraksi kloroform pada seluruh waktu pengamatan, yang membuktikan bahwa senyawa metabolit sekunder aktif antibakteri pada batang brotowali lebih dominan tertarik oleh pelarut semi-polar (etanol 96%). Prospek pengembangan dari hasil studi ini adalah potensi pemanfaatan ekstrak etanol batang brotowali sebagai kandidat zat aktif alami dalam formulasi sediaan topikal anti-infeksi kulit. Penerapan untuk studi lebih lanjut disarankan melakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif spesifik menggunakan kromatografi, serta menentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) melalui metode mikrodilusi.

Deklarasi Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan, baik secara finansial, personal, akademik, maupun hubungan kelembagaan yang dapat memengaruhi objektivitas pelaksanaan dan pelaporan hasil penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pancasakti Makassar atas izin penggunaan fasilitas instrumen, penyediaan bahan baku, serta ruang Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi yang sangat mendukung kelancaran rangkaian eksperimen ini.

Ketersediaan Data

Seluruh data kuantitatif pendukung berupa nilai replikasi diameter zona hambat, persentase nilai rendemen, serta hasil penapisan kualitatif yang diperoleh dalam penelitian ini telah disajikan secara transparan di dalam manuskrip (Tabel 1 sampai Tabel 6). Dataset mentah bersifat privat dan dikelola secara internal oleh institusi terkait untuk menjaga kerahasiaan data laboratorium, namun dapat diakses oleh pihak yang berkepentingan melalui korespondensi langsung dengan penulis utama atas alasan ilmiah yang logis.

Penggunaan Ai Dan Deklarasi Penggunaan Ai Generatif

Dalam penyusunan artikel ini, penulis menggunakan Gemini untuk menelusuri data melalui Google Scholar serta memverifikasi kesesuaian DOI dan indeks jurnal penerbit dari referensi penelitian terdahulu dengan hasil penelitian nyata. Setelah menggunakan alat tersebut, penulis telah meninjau kembali seluruh konten dan bertanggung jawab penuh atas isi publikasi.

Daftar Pustaka

- [1] I. T. Sahli, *Protein Biofilm Bakteri Staphylococcus aureus dan Produksi Antibodi Poliklonal*. Feniks Muda Sejahtera, 2023.
- [2] S. Riedel, S. A. Morse, T. A. Mietzner, dan S. Miller, *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 28 E*. McGraw Hill LLC, 2019. [Daring]. Tersedia pada: <https://books.google.co.id/books?id=1dSWDwAAQBAJ>
- [3] M. Zaunit, F. Febria, dan A. Bakhtiar, "Pengendalian Staphylococcus Aureus Dan Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Menggunakan Ramuan Obat Diare Masyarakat Maek," *Metamorf. J. Biol. Sci.*, vol. 6, hal. 14, Mar 2019, doi: 10.24843/metamorfosa.2019.v06.i01.p03.
- [4] H. P. Yunianto, I. Widowati, dan O. K. Radjasa, "Skrining antibakteri ekstrak rumput laut Sargassum plagyophyllum dari Perairan Bandengan Jepara terhadap bakteri patogen Enterobacter, Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus," *J. Mar. Res.*, vol. 3, no. 3, hal. 165–172, 2014.
- [5] L. Budiarti, E. Wydiamala, dan N. Ulfa, "The Antibacterial Activity of Infusion of Averrhoa bilimbi L Fruits and Cananga odorata Flowers against Frequently Pathogenic Bacteria," *J. Agromedicine Med. Sci.*, vol. 8, hal. 182, Okt 2022, doi: 10.19184/ams.v8i3.29312.
- [6] D. Yanti dan N. Nurhayati, "IDENTIFIKASI SENYAWA ANTI MIKROBA EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (Tinospora crispa (L.) TERHADAP Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, DAN Candida albicans DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI," *J. Ayurveda Medistra*, vol. 4, Feb 2022, doi: 10.51690/medistra-jurnal123.v4i1.54.
- [7] H. H. Rahayu, "Uji antibakteri ekstrak batang brotowali (Tinospora crispa, L.)," 2017, *UIN Sunan Gunung Djati Bandung*.
- [8] A. D. Rahmawati, A. A. Styawan, dan N. Hidayati, "Uji Sifat Fisis Gel Ekstrak Etanol Batang Brotowali (Tinospora Crispa, L) dengan Variasi Konsentrasi Carbopol dan Propilenglikol," *Mot. J. Ilmu Kesehat.*, vol. 13, no. 1, hal. 1–10, 2018.
- [9] I. E. Pangestuti, S. Sumardianto, dan U. Amalia, "SKRINING SENYAWA FITOKIMIA RUMPUT LAUT Sargassum sp. DAN AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP Staphylococcus aureus dan Escherichia coli (Phytochemical Compound Screening of Sargassum sp. and It's Activity as Antibacterial Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli)," *Saintek Perikan. Indones. J. Fish. Sci. Technol.*, vol. 12, no. 2, hal. 98–102, 2017.
- [10] R. Al Kausar dan M. Sahrul, "Uji daya hambat ekstrak batang brotowali (Tinospora crispa (L) Miers) terhadap bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus dengan metode difusi cakram," *J. Anal. Farm.*, vol. 7, no. 1, 2022.
- [11] S. Nisa, S. Malahayati, dan R. Rahmadani, "Evaluasi Dan Uji Aktivitas Formulasi Sediaan Serum Gel Anti Jerawat Ekstrak Batang Brotowali (Tinospora crispa L.)," *Sains Med.*, vol. 1, no. 6 SE-Artikel, hal. 377–383, Agu 2023, doi: 10.63004/snsmed.v1i6.218.
- [12] W. F. D. Atisari, "Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (Sansevieria trifasciata Prain.) Menggunakan Metode Maserasi," *Pros. Semin. Nas. Biol. di Era Pandemi COVID-19*, vol. 5–1, no. September, hal. 127–132, 2020, [Daring]. Tersedia pada: <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/15638>
- [13] Y. Kristanti, I. W. R. Widarta, dan I. Permana, "Pengaruh waktu ekstraksi dan konsentrasi etanol menggunakan metode microwave assisted extraction (MAE) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rambut jagung (Zea mays L.)," *J. Ilmu dan Teknol. Pangan*, vol. 8, no. 1, hal. 94–103, 2019.
- [14] A. P. Sari, I. Batubara, dan M. Nursid, "Pengaruh konsentrasi etanol dan waktu maserasi terhadap rendemen,

- kadar total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Padina australis*,” *Maj. Ilm. Biol. Biosf. A Sci. J.*, vol. 37, no. 2, hal. 78–84, 2020.
- [15] F. Rachmawati dan M. C. Nuria, “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella Asiatica* (L) Urb) Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya,” *J. Ilmu Farm. dan Farm. Klin.*, hal. 7–13, 2011.