

POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN *Ipomea batatas* L. SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI GRAM NEGATIF DENGAN METODE BROTH MICRODILUTION

Siti Hamidatul 'Aliyah¹, Rafiza Putri¹, Desi Sagita^{2*}

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi

²Program Studi Farmasi, Universitas Adiwangsa Jambi

email: daisyfarmasi@gmail.com

Abstract

*Indonesia has wide cultivation of purple sweet potatoes (*Ipomea batatas* L.) commodities, particularly in Jambi province. However, the difference of phytochemical profiles in purple sweet potatoes among geographical regions has not been fully explored. The objective of this research to determine potential of ethanol extract leaves purple sweet potato as antibacterial agent against bacteria *Salmonella* sp. and *Pseudomonas aeruginosa*. This study used Broth microdilution with concentration of 2 mg/mL, 4 μ g/mL, 8 mg/mL, 16 mg/mL, 32 mg/mL, 64 mg/mL, 128 mg/mL, 256 mg/mL, 512 ug/mL, 1024 mg/mL. Chloramphenicol used as a positive control at the same concentration, minimum inhibitory concentration (MIC) determination made by the 50 seen from the transmittance value the test bacteria and minimum bactericidal concentration (MBC) by the determination of the lowest concentration in which no visible bacterial growth. Based on the test microbroth dilution leaves purple sweet potatoes had antibacterial activity against *Salmonella* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* with MIC 64 mg/mL in *Salmonella* sp. and 128 ug/mL *Pseudomonas aeruginosa*. KBM obtained 512 mg/mL in *Salmonella* sp. and 512 ug/mL *Pseudomonas aeruginosa*.*

Keyword: *Ipomea batatas*, *broth microdilution*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *antibacterial*, *MIC*, *MBC*

1. PENDAHULUAN

Mikroorganisme dapat melakukan banyak kerusakan dan kerusakan. Hal ini terbukti dengan kemampuannya menginfeksi manusia, hewan, dan tumbuhan, menyebabkan penyakit mulai dari infeksi ringan hingga kematian. Mikroorganisme berbahaya harus dikendalikan untuk mencegah kerusakan maupun kematian (Pelczar et al., 2009). Bakteri gram negatif lebih patogen dibandingkan bakteri gram positif sehingga membahayakan organisme inangnya dan menyebabkan infeksi. Contoh

spesies bakteri gram negatif diantaranya *Salmonella* sp. dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Salmonella* sp. yang masuk tubuh inangnya bersama makanan dan minuman yang tercemar dapat menyebabkan demam enterik (demam tifoid), bakterimia dengan lesi lokal dan enterokolitis. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen oportunistik, karena dapat menyebabkan kerusakan pada sistem imun tubuh untuk memulai suatu infeksi. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi apabila fungsi pertahanan tubuh menurun (Brook et al., 2015).

Daun *Ipomea batatas* L. mengandung flavonoid cukup tinggi (Heriwijaya et al., 2020). Darwis et al., (2009) melaporkan bahwa ubi jalar ungu mengandung antosianin 519 mg/100 gram berat basah. Adanya senyawa antosianin ditandai dengan warna ungu pada daun dan umbi ubi jalar ungu. Antosianin mempunyai kemampuan yang tinggi sebagai antibakteri. Saati et al., (2018) melaporkan bahwa kandungan utama pada ekstrak kelopak rosella (*Hisbicus sabdariffa* L.) yang bersifat sebagai antibakteri adalah antosianin. Selain antosianin, senyawa fenol dan saponin juga berkhasiat sebagai antibakteri dapat berperan sebagai antibakteri (Miranti et al., 2013; Zahro & Agustini, 2013).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun *Ipomea batatas* L memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* yang merupakan bakteri gram positif. Untuk itu perlu dilakukannya penelitian ekstrak daun *Ipomea batatas* L menggunakan bakteri gram negatif (Islam, 2008). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak daun *Ipomea batatas* L terhadap bakteri *Salmonella* sp dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode *broth microdilution*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya maserator, timbangan analitik (shimadzu®), *vacuum rotary evaporator* (eyela®), erlenmeyer (pyrex®), gelas ukur (pyrex®), beker gelas (pyrex®), tabung reaksi (pyrex®), mikro pipet

(eppendorf[®]), kertas saring, pinset, autoklaf (hiramaya[®]), inkubator (memmert[®]), cawan petri, pipet tetes, kawat ose, lampu spritus, *syringe, hot plate* (mitseda[®]), plat tetes, spektro UV-Vis (shimadzu[®]), inkubator shaker (WiseCube[®]).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya daun ubi jalar ungu, etanol 96%, FeCl₃ 1%, magnesium, HCl pekat, kloroform, H₂SO₄ pekat, bakteri uji *Salmonella* sp dan *Pseudomonas aeruginosa* (Laboratorium kesehatan Jambi), *aquadest, nutrient agar, nutrient broth*, dan kloramfenikol, *dimetil sulfoxide*.

2.3 Prosedur Penelitian

a. Pengambilan Bahan

Sampel penelitian ini diambil di Desa Lolo Gedang, Kecamatan Bukit Kerman, Kabupaten Kerinci. Sampel kemudian dilakukan pengumpulan dan penyediaan simplisia segar yang telah dibersihkan, sampel yang sudah bersihkan kemudian di rajang.

b. Ekstraksi Sampel

Sampel basah ditimbang seberat 1 kg selanjutnya dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pelarut etanol 96% diganti sebanyak tiga kali selama proses maserasi. Merasasi dilakukan selama tiga sampai lima hari. Rendaman tersebut kemudian disaring sari etanolnya, dipisahkan dari ampas. Maserat dikumpulkan lalu diuapkan pelarutnya dan dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 35-45 °C sampai volumenya menjadi sepersepuluh bagian, sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang didapat yaitu ekstrak kental daun ubi jalar ungu.

C. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun ubi jalar ungu dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa berikut: saponin, fenol, flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid (Tiwari et al., 2011; To'bungan et al., 2021).

d. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Salmonella* sp. dan

Pseudomonas aeruginosa yang menghasilkan transmision 25% sesuai dengan standar 0,5 McFarland (setara $1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Nilai absorban bakteri pada panjang gelombang 625 nm sebesar 0,08-0,10 (Cockerill et al., 2012).

e. Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Broth Microdilution

Bakteri uji yang digunakan adalah suspensi bakteri yang setara dengan 0,5 standar Mc Farland. Sebanyak 5 μ L suspensi bakteri ditambahkan ke dalam tabung berisi 10 ml medium *Nutrient Broth* (NB) kemudian digojok selama 15 detik. Selanjutnya, sebanyak 2 ml campuran tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi pada tabung ke-2 sampai ke-12. Sebanyak 2 ml larutan ekstrak daun ubi jalar ungu dengan konsentrasi 1024 μ g/mL pada tabung kedua belas. Campuran pada tabung ke-12, diambil 2 ml kemudian dipindahkan ke dalam tabung ke-11. Pengenceran terus dilakukan sampai pada tabung ketiga yang memiliki konsentrasi terkecil. Tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian diamati tabung yang memiliki visualisasi jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) (Rahmawati & Bintari, 2014). Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan berdasarkan nilai KHM 50 artinya 50% bakteri mengalami kematian sel dilihat dari nilai transmision bakteri uji (Kaya et al., 2009).

Sebanyak 100 μ L aliquot dari tabung yang jernih dipindahkan dalam medium *Nutrient Agar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam kemudian diamati. Konsentrasi terendah dimana tidak terlihat adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Lolongan et al., 2016). Begitu juga untuk pengujian larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif, pengujian antibakteri ekstrak etanol daun ubi jalar ungu dilakukan tiga kali pengulangan (triplo).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Determinasi

Daun ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) di dapatkan dari Desa Lolo Gedang Kecamatan Bukit Kerman Kabupaten Kerinci. Daun ubi jalar ungu dapat dijadikan sebagai antibakteri karena mengandung flavonoid cukup tinggi (Heriwijaya et al.,

2020). Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA). Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman daun ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* (L) Lam) dengan family Convolvulaceae.

3.2 Hasil Ekstraksi Dan Kandungan Fitokimia Daun Ubi Jalar Ungu

Fungsi daun ubi jalar ungu salah satunya adalah sebagai antibakteri, kandungan ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) yang berpotensi sebagai antibakteri adalah senyawa antosianin yang dapat menyebabkan denaturasi dan koagulasi protein bakteri. Senyawa fenol juga dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sel bakteri. Mekanisme senyawa astringen fenol sebagai antibakteri yaitu dengan menginduksi pembentukan kompleks ikatan fenol terhadap enzim atau substrat bakteri dan pembentukan suatu kompleks ikatan fenol dengan ion logam yang dapat menambah toksitas fenol (Santi et al., 2011). Hasil ekstraksi daun ubi jalar ungu didapatkan ekstrak kental daun ubi jalar ungu sebanyak 40,14 g dari daun segar 1 kg dengan randemen 4,01%. Hasil ekstraksi dan fraksinasi daun ubi ungu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun ubi jalar ungu

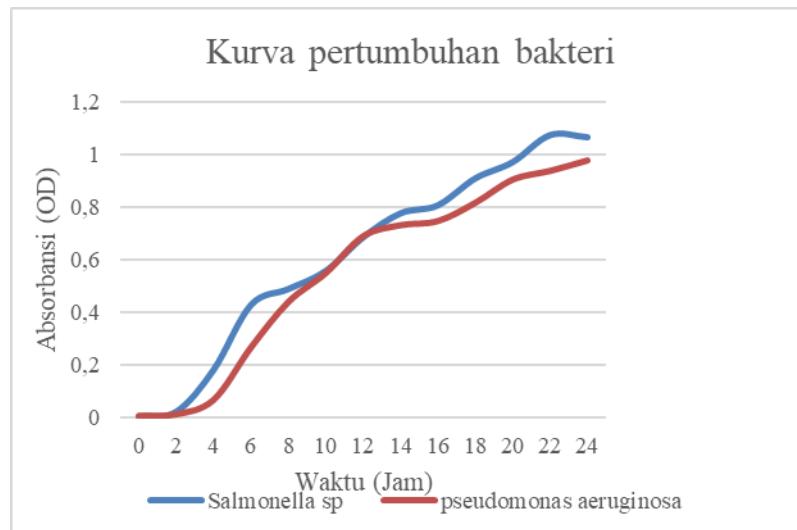
| No | Sampel | Berat Simplisia (g) | Berat Ekstrak (g) | Rendemen (%) |
|----|----------------|---------------------|-------------------|--------------|
| 1 | Ekstrak Etanol | 1000 | 40,16 | 4,01 |

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun ubi jalar ungu dapat dilihat pada tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun ubi jalar ungu menunjukkan hasil positif untuk senyawa fenol, flavonoid, dan saponin dan hasil negatif untuk senyawa steroid, alkaloid dan terpenoid.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Daun Ubi Jalar Ungu

| Sampel | Senyawa metabolit sekunder | | | | | |
|-------------------------------------|----------------------------|-------|-----------|----------|---------|--------------|
| | Saponin | Fenol | Flavonoid | Alkaloid | Steroid | Triterpenoid |
| Ekstrak Etanol | + | + | + | - | - | - |
| Keterangan : + = Ada, - = Tidak Ada | | | | | | |

Penilitian ini diawali dengan pembuatan kurva pertumbuhan bakteri untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan dari bakteri, Bakteri *Salmonella* sp jam ke-0 hingga jam ke-4 bakteri mengalami fase lag dan pada jam ke-6 hingga jam ke-12 memasuki fase logaritmik dan jam ke-14 hingga jam ke-20 bakteri mengalami fase stasioner. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* fase lag terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-6 dan mengalami fase logaritmik pada jam ke-8 hingga jam ke-12 dan fase stasioner jam ke-14 hingga jam ke-20 (Gambar 1). Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan bakteri pada fase *log* karena pada fase *log* bakteri mengalami kegiatan metabolisme yang tinggi dan kondisinya paling labil sehingga lebih peka terhadap antibiotik. Bakteri pada fase *log* juga memiliki transmittan 25% karena pada transmittan 25% kepadatan sel optimal serta mencegah kepadatan sel yang berlebihan (Rahmawati, 2015).



Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri *Salmonellas* sp dan *Pseudomonas aeruginosa*

Pengujian potensi antibakteri ekstrak daun ubi jalar ungu menggunakan metode *broth microdilution*. Kelebihan metode ini adalah satu konsentrasi bakteri uji dapat digunakan untuk mendapatkan konsentrasi optimum. Jenis bakteri gram negatif yang diuji adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella* sp. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menggunakan parameter kekeruhan (ada pertumbuhan bakteri) dan kejernihan (tidak ada pertumbuhan bakteri) yang dilihat setelah bakteri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C kemudian diukur transmitannya. Hasil KBM dan KHM bakteri uji disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan Konsentrasi Hambat Minimun (KHM) Bakteri Uji

| Bakteri Uji | Kloramfenikol | | Ekstrak daun ubi jalar ungu | |
|-------------------------------|---------------|--------------|-----------------------------|--------------|
| | KHM µg/mL | KBM µg/mL | KHM µg/mL | KBM µg/mL |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 128 | 256 | 256 | 512 |
| <i>Salmonella</i> sp | 64 | 128 | 256 | 512 |

Ekstrak daun ubi jalar ungu memiliki potensi sebagai antibakteri pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai KHM sebesar 256 µg/mL dan nilai KBM sebesar 512 µg/mL. Ekstrak daun ubi jalar ungu juga berpotensi sebagai antibakteri pada *Salmonella* sp dengan nilai KHM sebesar 256 µg/mL dan nilai KBM sebesar 512 µg/mL. Pengujian nilai KHM ekstrak daun ubi jalar ungu berdasarkan jumlah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA) adalah 126 CFU (konsentrasi 128 µg/mL) dan 41 CFU (konsentrasi 256 µg/mL). Sedangkan pada *Salmonella* sp yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA) adalah 23 CFU (konsentrasi 128 µg/mL) dan 6 CFU (konsentrasi 256 µg/mL).

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol dengan konsentrasi dan perlakuan yang sama didapatkan KBM adalah 256 µg/mL, dan KHM 128 µg/mL, sedangkan pada *Salmonella* sp didapatkan KBM 128 µg/mL dan KHM 64 µg/mL. Kloramfenikol memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas*

aeruginosa dan *Salmonella* sp. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun ubi jalar ungu tersebut menunjukkan adanya pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap nilai KHM dan KBM. Semakin tinggi konsentrasi maka aktivitas antibakterinya semakin besar. Hasil pengukuran transmitan dari ekstrak daun ubi jalar ungu terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella* sp disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengukuran transmitan

| Konsentrasi µg/mL | Ekstrak daun ubi jalar ungu | | Kloramfenikol | |
|----------------------|---|----------------------|---|----------------------|
| | <i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i> | <i>Salmonella</i> sp | <i>Pseudomonas</i> <i>Aeruginosa</i> | <i>Salmonella</i> sp |
| 256 | 72,75848 | 75,64646 | 76,27055 | 84,45485 |
| 512 | 79,81109 | 83,37351 | 85,28645 | 91,85231 |
| 1024 | 89,39565 | 91,27858 | 95,02767 | 98,21828 |

Nilai transmitan menunjukkan bahwa nilai transmitan pada *Pseudomonas aeruginosa* lebih rendah daripada *Salmonella* sp sehingga ekstrak etanol daun ubi jalar ungu memiliki potensi antibakteri yang lebih baik terhadap *Salmonella* sp dibandingkan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* termasuk bakteri resisten alami yang tidak sensitif terhadap kloramfenikol. Berdasarkan nilai transmitan semakin banyak jumlah sel maka nilai transmitan akan semakin kecil, semakin tinggi konsentrasi bakteri maka nilai transmitan juga semakin tinggi (Putri et al., 2014).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *Salmonella* sp dan *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan fraksi daun ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) pada uji aktivitas antibakteri serta membuat kurva pertumbuhan selama 48 jam agar dapat mengetahui fase kematian.

5. REFERENSI

- Brook, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2015). Mikrobiologi Kedokteran : Jawetz, Melnick, & Adelberg. In *27th ed.*
- Cockerill, F. R., Wikler, M. A., Alder, J., Dudley, M. N., Eliopoulos, G. M., Ferraro, M. J., Hardy, D. J., Hecht, D. W., Hindler, J. A., Patel, J. B., Powell, M., Swenson, J. M., Thomson, R. B., Traczewski, M. M., Turnbrighe, J. D., Weinstein, M. P., & Zimmer, B. L. (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. In *M07-a9* (Vol. 32, Issue 2).
- Darwis, welly, Melati, P., Widiyati, E., & Supriati, R. (2009). Efektivitas Ekstrak Daun Ubi Jalar Merah (*Ipomoea batatas* Poir) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Bisul Pada Manusia. *Jurnal Ilmiah Konservasi Hayati*, 5(2).
- Heriwijaya, I. P. P. D., Jawi, I. M., & Satriyasa, B. K. (2020). Uji efektivitas ekstrak air daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*) terhadap profil lipid tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi pakan dislipidemia. *Intisari Sains Medis*, 11(2). <https://doi.org/10.15562/ism.v11i2.584>
- Islam, S. (2008). Antimicrobial activities of *Ipomoea batatas* (L.) leaf. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 6(1), 14–17.
- Kaya, E. G., Özbilge, H., & Albayrak, S. (2009). Determination of the effect of Gentamicin against *Staphylococcus aureus* by using microbroth kinetic system. *Ankem Dernegi (Antibiyotik ve Kemoterapi Dernegi - Association of Antibiotics and Chemotherapy, Turkish)*, 23(3).
- Lolongan, R. A., Waworuntu, O., & Mintjelungan, C. N. (2016). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus* mutans. *E-GIGI*, 4(2). <https://doi.org/10.35790/eg.4.2.2016.14161>
- Meri Rahmawati. (2015). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dan Air Rimpang Pacing (*Costus spiralis*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* Serta Fungi *Candida albicans*. *Skripsi*.
- Miranti, M., Prasetyorini, & Suwary, C. (2013). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus* Potensi Ekstrak Daun (*ipomea batatas* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Gram Negatif Dengan Metode Broth Microdilution | 129

- sabdariffaL)Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. *Ekologia*, 13(1).
- Pelczar Jr, Michael J, Chan, E. C. S. (2009). Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. In *Journal of Minimally Invasive Gynecology*.
- Putri, A. A., Rasyid, R., & Rahmatini, R. (2014). Perbedaan Sensitivitas Kuman Pseudomonas Aeruginosa Penyebab Infeksi Nosokomial Terhadap Beberapa Antibiotika Generik dan Paten. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3). <https://doi.org/10.25077/jka.v3i3.112>
- Rahmawati, F., & Bintari, S. H. (2014). Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* Dan *Salmonella enteritidis*. *Life Science*, 3(2), 103–111.
- Retno Nur Santi, Muhtadi*, P. I. (2011). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Dan Biji Kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Serta Toksisitasnya Terhadap *Artemia salina* Leach. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 12(1), 33–39.
- Saati, E. A., Dyah Pusparini, A., Wachid, M., & Winarsih, S. (2018). The anthocyanin pigment extract from red rose as antibacterial agent. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 14(1–2), 184–187. <https://doi.org/10.11113/mjfas.v14n1-2.959>
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Sciencia*, 1(1).
- To'bungan, N., Jati, W. N., & Zahida, F. (2021). Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 44, 52–57. <https://doi.org/10.24002/biota.v6i1.3577>
- Zahro, L., & Agustini, R. (2013). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(3).