

KARAKTERISASI KATEKIN DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA KANGKUNG PAGAR (*Ipomea carnea*)

Ermi Abriyani*, Iin Lidia Putama Mursal, Lia Fikayuniar, Hasnimar

Fakultas Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang, Jawa Barat, Indonesia

*Penulis Korespondensi: ermi.abriyani@ubpkarawang.ac.id

Abstrak

Tanaman kangkung pagar (*Ipomoea carnea* Jacq) ini menurut beberapa penelitian banyak kandungan khasiatnya. Tujuan mengkarakteristik senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol bunga kangkung pagar dan mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Metode ekstraksi dengan metode maserasi pada bunga kangkung pagar Kromatografi Lapis Tipis, Fraksinasi dengan metode kromatografi kolom, dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Karakterisasi isolasi senyawa dari ekstrak etanol dengan spektroskopi UV-Vis dan IR. kemudian uji aktivitas antibakteri diuji dengan variasi konsentrasi dari tiga ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol. Hasil isolasi memiliki titik leleh 139-140°C. Analisa dengan spektro UV-Vis dan spektroskopi FTIR terkarakterisasi sebagai golongan flavan 3-ol atau katekin dan hasil aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* memiliki aktivitas antibakteri yang kuat

Kata kunci: *Ipomoea carnea* Jacq., kromatografi Kolom, FTIR, UV-Vis

Abstract

According to several studies, Kangkung Pagar (*Ipomoea carnea* Jacq.) that have many beneficial properties. The aim of this study are to characterize the secondary methabolites from ethanol extract and determine antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. Methode s of this study are maceration by ethanol, fractionation by column chromatography and antibacterial activity assay by disc diffusion method. Melting point of compound 139-140°C. The results from characterization by Uv-Vis and IR spectroscopy is flavan 3-ol or catechin. The result of antibacterial activity against *psudomonas aeruginosa* had strong level of activity.

Keywords: *Ipomea carnea* Jacq., UV-Vis and IR spectroscopy, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional di kalangan masyarakat sebagai pengobatan alternatif semakin meningkat WHO menyatakan sekitar 80% penduduk di dunia masih menggunakan obat tradisional yang berasal dari tanaman (Verma et al. 2011). Obat tradisional dibuat dalam bentuk ekstrak karena tanaman obat tidak lagi praktis untuk digunakan dalam bentuk bahan utuh (simplicia). Ekstrak tersebut bisa dalam bentuk ekstrak kering, ekstrak kental dan ekstrak cair yang proses pembuatannya disesuaikan dengan kandungan bahan aktif serta maksud penggunaannya (Anam et al., 2013).

Salah satu tumbuhan berkhasiat sebagai tanaman obat yang digunakan di beberapa negara dan sangat banyak dalam pertumbuhannya adalah kangkung pagar (*Ipomoea carne* Jacq) dari keluarga Convolvulaceae

(Sharma & Bachheti, 2013). Tanaman kangkung pagar yang akan diambil pada penelitian ini adalah bagian bunganya. Penelitian terdahulu juga menjelaskan, tanaman bunga kangkung pagar memiliki beberapa kandungan yaitu flavonoid, saponin, polifenol dan alkaloid (Abriyani et al., 2021). Menurut Smita dan UK Patil (2014), bunga kangkung pagar setelah dilakukan pengujian fitokimia, diperoleh hasil screening bahwa senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol dan fraksi kloroform adalah alkaloid, glikosida, tanin, kumarin, flavonoid, terpenoid dan sterol. Menurut Radji (2011), salah satu penyakit yang sering terjadi di seluruh dunia, termasuk Indonesia adalah infeksi. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang hanya dapat

dilihat dengan bantuan mikroskop. Menurut Djide et al (2018), bakteri patogen lebih berbahaya dan menyebabkan infeksi baik secara sporadik maupun endemik, antara lain *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Habitat umum basil gram negatif dari genus *Pseudomonas* dapat tumbuh di antaranya : tanah, air tawar, dan lingkungan laut. *Pseudomonas aeruginosa* mendapat perhatian lebih karena merupakan patogen oportunistik yang menyebabkan penyakit/infeksi pada manusia. Pembasmian *Pseudomonas aeruginosa* menjadi semakin sulit karena kemampuannya yang resisten pada antibiotik (Pang et al., 2019)

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Mikrobiologi Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Oktober 2021 sampai dengan Mei 2022.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah corong (PYREX), erlenmeyer (IWAKI), beaker glass (IWAKI), gelas ukur (PYREX), tabung reaksi, labu ukur (HERMA), jarum ose, cawan petri, kertas disk, batang pengaduk, Hot plate (MASPION), pipet volume (HERMA), Bola hisap, yellow tip dan blue tip, laminar air flow (LAF AV-100), autoclave, vacuum rotary evaporator (EYELA OSB-2100), waterbath, pipet tetes, plat tetes, botol coklat, spatula, pinset, incubator (GEMMYCO DIGITAL # IN-601), timbangan bahan, neraca analitik (ADAM SCIENTIFIC), lampu bunsen, vial, rak tabung reaksi, kapas lidi steril, alat maserator, mikropipet, rangkaian alat kolom kromatografi, chamber, Standar Mc. Farland No. 0.5, aluminium foil, tissue, Oven (GEMMYCO YCO-NO. 1), Silica gel (TLC 60 F254 MERCK 1.05554.0001), pipa kapiler, lampu UV (λ 254 dan 366 nm) sebagai penampak noda,

Spektrofotometer UV-VIS (Thermo Scientific 33-PPPTS 2017-L205-0006), Spektrofotometer IR, alat titik leleh (MELTING POINT).

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan yaitu, bunga kangkung pagar (*Ipomoea carnea* Jacq) (1kg), Etanol (C₂H₅OH), etil asetat (C₄H₈O₂), n-heksana (C₆H₁₄), *Pseudomonas aeruginosa*, media Nutrient Agar (NA), Aquades, NaCl 0,9 %, DMSO (Dimetil Sulfoksida), antibiotik ciprofloxacin 500 mg, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mater, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, besi (III) klorida (FeCl₃) 5%, HCl 2 N, Natrium Hidroksida (NaOH) 10%, ammonia (NH₃), Magnesium (Mg)

Skrining fitokimia

Adapun skrining fitokimia yang harus dilakukan antara lain uji kandungan alkaloid, uji kandungan saponin, uji kandungan flavonoid, uji kandungan tanin, uji kandungan steroid dan terpenoid, dan uji kandungan polifenol.

Ekstraksi dan fraksinasi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yakni dengan pelarut etanol. Kemudian di pekatkan dengan rotary evaporator. Hasil dari ekstrak kental di tentukan dengan penghitungan persentase rendemen.

Ekstrak etanol kemudian di fraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi kolom dan fasa diamnya yang dipakai adalah silika gel dan eluen yang dipakai variasi pelarut non polar sampai dengan polar atau variasi 100% n-heksana sampai dengan 100% etanol dengan memakai SGP (system gradien polariry). Hasil fraksinasi dikumpulkan dan di uji dengan kromatografi lapis tipis. Hasil fraksinasi yang sudah murni dilanjutkan dengan pengujian titik lelehnya dengan melting point apparatus dan di karakterisasi dengan instrument spektroskopi UV-Vis dan Infra merah.

Pengujian Bioaktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri pada uji diameter daerah hambat (DDH) dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) dan pengujian aktivitas antibakteri pada konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan menggunakan metode dilusi padat. Suspensi bakteri yang telah dibuat dan dibandingkan dengan MC Farland 0,5 (setara dengan 108 CFU/mL) diambil sebanyak 1 ml kemudian dipipet menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media Nutrient Agar yang sudah mengeras. Kemudian melakukan penambahan media NA sebanyak 10-15 mL dan dihomogenkan dengan cara diputar membentuk angka 8 sehingga tercampur merata. Setelah media memadat kemudian kertas cakram yang telah ditetesi larutan masing-masing ekstrak dengan konsentrasi yang sudah ditentukan sebanyak 20 µl diletakkan di atas media agar. Penetasan larutan uji pada tiap cakram dilakukan pada cawan petri kosong. Dalam penelitian ini dilakukan uji 3 ekstrak dengan beberapa perlakuan konsentrasi untuk melihat zona beningnya di antara lain : Ekstrak Etanol pembuatan larutan baku pada konsentrasi 5000 ppm lalu dibuat variasi konsentrasi 4500, ppm, 4000 ppm dan 3500 ppm, Ekstrak Etilasetat pembuatan larutan baku pada konsentrasi 5000 ppm lalu dibuat variasi konsentrasi 4500, ppm dan 4000 ppm, dan Ekstrak n-heksana pembuatan larutan baku pada konsentrasi 1000 ppm lalu dibuat variasi konsentrasi 900 ppm, 800 ppm, dan 700 ppm kemudian dengan ciprofloxacin 500 mg sebagai kontrol positif dan DMSO (Dimetil Sulfoksida) sebagai kontrol negatif. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C, adanya pertumbuhan bakteri uji dan terbentuknya zona bening di sekitar daerah cakram diamati, kemudian mengukur diameter zona bening menggunakan jangka sorong (Rachmatiah et al., 2020). Adanya daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri yang ditandai zona bening di daerah sekeliling kertas cakram diukur diameternya sebagai diameter daerah hambat (DDH)

dan kemudian menentukan 31 konsentrasi hambat minimum (KHM). Penentuan nilai KHM dilakukan dengan mengamati pada konsentrasi berapa mulai tidak terjadi pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan tidak terbentuknya kekeruhan pada media Nutrient Agar (NA) (Rachmatiah et al., 2020). Penentuan KHM dilakukan pengamatan adanya pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi ekstrak terendah yang menghasilkan diameter daerah hambat. Setelah masa inkubasi berakhir, kekeruhan media yang menunjukkan kepadatan pertumbuhan bakteri uji diamati dan diberi tanda positif (+) untuk media yang tampak keruh dan diberi tanda negatif (-) jika media tersebut tidak terdapat kekeruhan (Rachmatiah et al., 2020).

Analisa Data

Analisis data pada pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur zona bening dengan menggunakan kertas disk pada masing-masing konsentrasi. Setelah itu dilakukan analisis statistik dengan menggunakan cara Analysis of Variance (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui dengan pasti nama latin dan jenis dari tanaman yang dipakai untuk sampel. Tanaman yang dijadikan sampel adalah tanaman kangkung pagar (*Ipomoea carnea* Jacq.) dengan hasil determinasi sesuai dengan nomor 074/284/102.20-A/2022.

Hasil skrining tanaman memperlihatkan kandungan metabolit sekunder dari suatu tanaman. Pada tanaman *Ipomea carnea* Jacq kandungan metabolit sekundernya dari bunganya adalah alkaloid, flavonoid, tannin, fenolik, kuinon, terpenoid. Kemudian berdasarkan ekstrak etanol dari sampel bunga tanaman kangkung pagar mempunyai nilai rendemen ekstrak 7,08% yang memiliki berat 35,3 gram ekstrak kental yang didapat dari 1 kg sampel.

Ekstrak etanol di fraksinasi dengan memakai metode kromatografi kolom. Ekstrak etanol dari bunga kangkong pagar yang di pakai adalah sebanyak 15 gram. fasa diam yang dipakai adalah silika gel dan eluen yang yang digunakan memakai system gradien polarity (SGP) mulai dari 100% n-heksana sampai dengan 100% etanol, dengan tujuan agar zat atau senyawa yang terdapat dalam ekstrak dapat terelusi dengan eluen yang sesuai. Hasil fraksinasi yang keluar ditampung kedalam botol vial, lalu dihitung tiap tetes permenit dengan rentang standar yaitu 35-38 tetes permenit. Setelah di fraksinasi didapatkan hasil 4 fraksi gabungan yakni fraksi A,B, C, dan D seperti table 1 berikut ini;

Tabel. 1 Hasil fraksinasi gabungan metode kromatografi

Fraksi	Vial Ke	Keterangan
Fraksi A	489-499	Bening Kekuningan
Fraksi B	500-510	Bening Kehijauan
Fraksi C	512-522	Biru Kehijauan
Fraksi D	523-533	Kuning

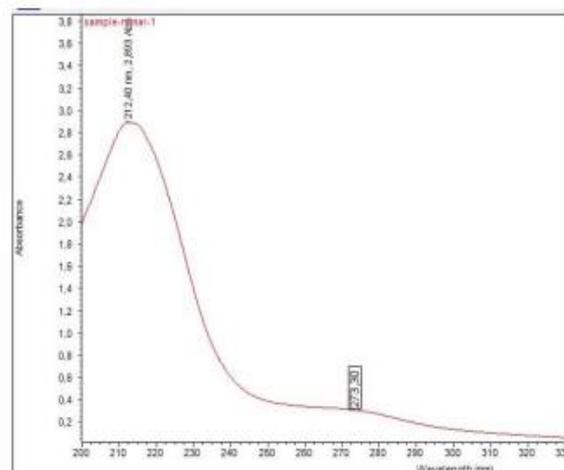
Berdasarkan dari hasil pengujian dengan kromatografi lapis tipis dan eluen n-heksana : etil asetat (8:2) dihasilkan kromatogram seperti gambar 1 di bawah ini yang dilihat dengan bantuan lampu UV.



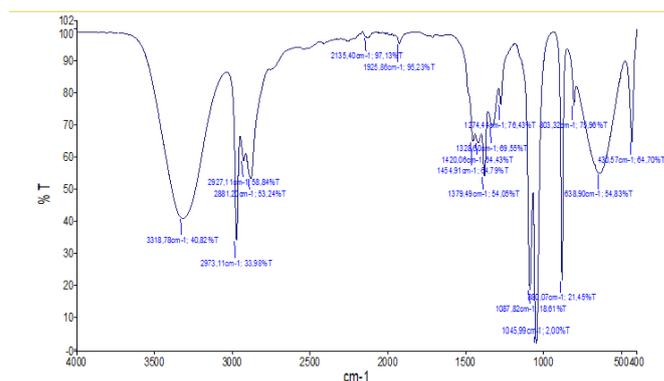
Gambar 1. Fraksi gabungan D yang dilihat dengan bantuan lampu UV 366nm

Dari hasil kromatogram dapat dilihat spot noda yang tampak lebih dari satu berwarna biru terang. Sehingga dilakukan pemurnian dengan cara merekolom dan dihasilkan 1 spot noda warna biru terang dengan hasil faktor retardasinya adalah 0,8 cm dengan eluen n-heksana : etil asetat = 8:2. nilai Rf telah memenuhi ketentuan dan yang baik yakni antara 0,2 - 0,8 (Lestyo

Wulandari, et al. 2013). Hasil senyawa yang sudah murni maka di uji dengan melting point apparatus maka dihasilkan titik leleh kisaran 139-140°C. Spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengukur panjang gelombang maksimum. Hasil analisa spektro uv-vis yang didapat pada senyawa dalam fraksi etanol bunga kangkong pagar memberikan pita dengan panjang 212,40 nm dan 273,14 nm. Gambar hasil panjang gelombang yang diperoleh dapat dilihat di bawah ini



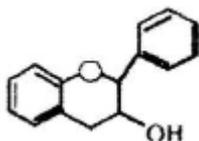
Gambar 2. Hasil serapan pada panjang gelombang maksimum dari senyawa isolasi



Gambar 3. Spektrum FTIR senyawa isolasi

Pada spektrum terlihat beberapa serapan yakni pada bilangan gelombang 3318,07 cm^{-1} regang O-H, 2880,08-2927,08 cm^{-1} regang C-H jenuh, 2131,85 cm^{-1} ikatan C=C, 1454 cm^{-1} memperlihatkan gugus fenil, 1045, 99 cm^{-1} yang tajam regang C-O alkohol dan eter. Hasil tersebut sesuai dengan hasil karakterisasi yang dilakukan oleh Geng et al., (2019), yang membuktikan bahwa standar katekin memiliki serapan pada 3372 cm^{-1} yang merupakan gugus O-H (hidroksil), serapan pada bilangan gelombang 1613, 1518, 1460 cm^{-1} yang

menunjukkan gugus fenil dan mengandung gugus C-O pada bilangan gelombang 1144 cm-1.



Gambar 4. katekin

Hasil pengujian antibakteri

Hasil Uji Antibakteri Penentuan uji aktivitas antibakteri dari diameter zona hambat ekstrak n-heksana, etilasetat, dan etanol pada bunga kangkung pagar dengan varian pelarut dan memiliki konsentrasi yang berbeda-beda ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram (Paper disk). Penentuan diameter zona hambat ini menunjukkan bahwa setiap ekstrak dengan varian pelarut pada konsentrasi yang berbeda memiliki tingkatan aktivitas yang berbeda-beda terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil dari penelitian ini dapat dilihat pada tabel di bawah ini;

Tabel 2. Diameter daerah hambat (DDH) ekstrak bunga kangkung pagar dengan varian pelarut terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

No.	Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Diameter Daerah Hambat		
		Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol
1	700 ppm	9,69 ± 0,6663	-	-
2	800 ppm	9,70 ± 1,0851	-	-
3	900 ppm	9,83 ± 0,1250	-	-
4	1000 ppm	10,20 ± 0,5500	-	-
5	3500 ppm	-	-	9,91 ± 0,9455
6	4000 ppm	-	11,74 ± 0,7666	10,10 ± 1,1358
7	4500 ppm	-	9,95 ± 1,7755	10,66 ± 0,4126
8	5000 ppm	-	10,34 ± 1,4191	11,63 ± 1,8824
9	Kontrol +	12,925 ± 3,2327	19,15 ± 3,2327	17,55 ± 3,2327
10	Kontrol -	0	0	0

Dari hasil tabel di atas menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak n-heksana, etilasetat dan etanol pada bunga kangkung pagar mampu membentuk zona hambat pada media Nutrien Agar yang telah ditumbuhkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil yang telah diperoleh dari pengujian antibakteri ekstrak bunga kangkung pagar dengan 3 varian pelarut dapat dikelompokkan menjadi 4 bagian sebagai berikut :

1. Lemah, zona hambat ≤ 5 mm,
2. Sedang, zona hambat 5-10 mm,

3. Kuat, zona hambat 10-20 mm,
4. Sangat Kuat, zona hambat ≥ 20 mm

Hasil data dari pengelompokan di atas dapat diperoleh bahwa ekstrak n-heksana memiliki zona hambat kriteria sedang, tetapi pada konsentrasi 1000 ppm terdapat rata-rata diameter yang melebihi sedikit 10 mm sehingga dapat dikategorikan kriteria kuat. Dari keempat konsentrasi ekstrak n-heksana yang memiliki rata-rata diameter daerah hambat yang tertinggi di konsentrasi 1000 ppm dan juga konsentrasi hambat minimum yang didapat pada konsentrasi 700 ppm karena memiliki zona hambat yang paling kecil. Kemudian pada 3 konsentrasi ekstrak etanol terdapat konsentrasi 4000 ppm dan 5000 ppm yang masuk dalam kriteria kuat, dan pada konsentrasi 4500 masuk dalam kriteria sedang. Dari ketiga konsentrasi ekstrak etilasetat yang memiliki rata-rata diameter daerah hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 4000 ppm dan juga data konsentrasi hambat minimum yang diperoleh pada konsentrasi 4500 ppm karena memiliki zona hambatan yang paling kecil. Kemudian hasil data dari ke empat konsentrasi ekstrak etanol yang diperoleh menunjukkan 3 konsentrasi (4000 ppm, 4500 ppm, 5000 ppm) yang masuk kedalam kategori kuat karena memiliki rata-rata diameter zona hambat di atas 10 mm dan pada konsentrasi 3500 ppm diperoleh rata-rata diameter zona hambat kriteria sedang karena di bawah 10 mm. Dari hasil data pada keempat konsentrasi ekstrak etanol menunjukkan bahwa nilai rata-rata diameter daerah hambat tertinggi yaitu pada konsentrasi 5000 ppm dan konsentrasi hambat minimum yang diperoleh yaitu pada konsentrasi 3500 ppm karena memiliki zona hambat yang paling kecil. Pengujian larutan kontrol positif yang digunakan pada penelitian adalah ciprofloxacin. Pemilihan antibiotik ciprofloxacin sebagai kontrol positif karena memiliki spektrum yang luas (broad spectrum). Hasil data yang diperoleh pada tabel di atas menunjukkan bahwa ketiga larutan kontrol positif masuk kedalam kriteria kuat karena memiliki rata-rata diameter zona hambat 10 mm

sampai 20 mm. Pengujian larutan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO 10%. Kemudian hasil data yang diperoleh pada pengujian ini tidak terdapat zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram/paper disc.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menggunakan perbandingan spektrum UV, dan IR serta uji KLT dengan pereagen penampak noda didapatkan hasil karakterisasi metabolit sekunder ekstrak etanol bunga kangkung pagar (*Ipomoea carnea* Jacq.) yang mengandung flavan. Sehingga dari kumpulan data-data tersebut disimpulkan bahwa struktur senyawa golongan flavan 3-ol (katekin). Ekstrak 3 variasi pelarut pada bunga kangkung pagar (*Ipomoea carnea* Jacq.) memiliki perbedaan aktivitas antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yakni pada ekstrak n-heksana masuk kedalam kategori sedang karena zona hambat yang didapat 5-10 mm sedangkan pada ekstrak etanol dan etilasetat masuk kedalam kategori kuat karena zona hambatnya $\geq 10 - 20$ mm

DAFTAR PUSTAKA

- A. Sharma and, & Bachheti, R. K. (2013). A Review On *Ipomoea carnea*. 4(4), 363– 377.
- Abriyani, E., & Fikayuniar, L. (2020). Screening Phytochemical, Antioxidant Activity and Vitamin C Assay From Bungo Perak-Perak (*Begonia Versicolor* Irmsch) Leaves . *Asian Journal Of Pharmaceutical Research*, 10(3), 183. <https://doi.org/10.5958/2231-5691.2020.00032.5>
- Abriyani, E., Fikayuniar, L., & Safitri, F. (2021). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Kangkung Pagar (*Ipomoea carnea* Jacq.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Pharma Xplore*, 6(1), 32–42

- Anam, S., Yusran, M., Trisakti, A., Ibrahim, N., Khumaidi, A., Ramdanil, & Zubair, M. S. (2013). Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Kayu Sanrego (*Lunasia amara Blanco*). *Online Jurnal of Natural Science*, 2(3), 1–8.

- Djide, M. Natsir dan Sartini. 2008. Analisis Mikrobiologi Farmasi. UNHAS : Makassar

- Geng, C., Yang, T., Huang, X., Ma, Y., & Zhang, X. (2019). Antidepressant potential of *Uncaria rhynchophylla* and its active flavanol , catechin , targeting melatonin receptors. *Journal of Ethnopharmacology*, 23, 3946.

- Radji, M., 2011, Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, 107, 118, 201-207, 295, Jakarta, Buku Kedokteran EGC.

- Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., Singh, A., & Yadav, A. K. (2011). Volatile Constituents of Essential Oil and Rose Water of Damask Rose (*Rosa Damascena* Mill.) Cultivars from North Indian Hills. *Natural Product Research*, 25(17), 1577–1584.

<https://doi.org/10.1080/14786419.2010.520162>