

POTENSI EKSTRAK DAUN TAPAK KUDA (*Ipomoea pes-caprae*) SEBAGAI ANTIBAKTERI PATOGEN PANGAN

POTENCY OF *Ipomoea pes-caprae* LEAF EXTRACT AS ANTIBACTERIAL OF FOOD PATHOGEN

Nur A. Saimima^{1*}, D Manuhuttu¹

¹Staff Pengajar Politeknik Kelautan dan Perikanan Maluku

Korespondensi: Rosihan Polhaupessy ; e-mail rosihan070782@gmail.com

abstract

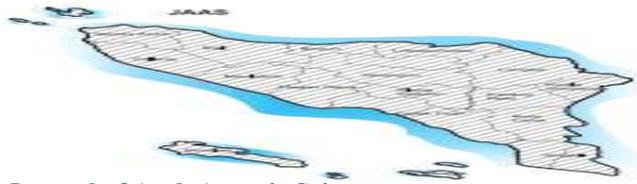
This research aims to study the potency of *Ipomoea pes-caprae* leaf extract toward food pathogenic bacteria and to examine the potency of antibacterial activity of *Ipomoea pes-caprae* leaf extract on some food pathogenic bacteria. The results of the study showed that the extract of *Ipomoea pes-caprae* leaf has an inhibitory effect toward the growth of *E. coli*, *Salmonella sp* and *Staphylococcus aureus* bacteria, the higher concentration of extract then the stronger inhibitory response. The hexane extract of *Ipomoea pes-caprae* leaf of four concentrations toward *Escherichia coli*, *Salmonella sp* and *Staphylococcus aureus* bacterias did not show any clear zones formed on the agar media or negative, for methanol extract at 25%, 50% and 75% did not show clear zone or negative, clear zone could be formed at 100% concentration, while ethyl acetate extract showed clear zones at each concentration of extracts, these thing indicated that ethyl acetate as semi polar compound has bioactive compound, is the best extract in taking role as antibacterial that can inhibit both positive Gram or negative Gram bacteria.

Keywords: *Ipomoea pes-caprae* leaf extract, Antibacterial, Pathogen, *E. coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*

I. Pendahuluan

Pangan merupakan kebutuhan yang paling mendasar bagi manusia, sehingga ketersediaan pangan perlu mendapat perhatian yang serius baik kuantitas maupun kualitasnya. Akhir – akhir ini isu keamanan pangan merupakan isu yang penting dalam industry pangan. Kemananan pangan merupakan salah satu isu yang paling penting karena berhubungan langsung pada kesehatan manusia. Pelanggaran terhadap keamanan pangan dapat menyebabkan suatu kasus yang dinamakan foodborne diseases, atau penyakit yang disebabkan oleh keracunan pangan.

Penyakit keracunan pangan ini disebabkan oleh bahaya biologis, kimiawi dan fisik. Bahaya biologis umumnya disebabkan oleh mikroba patogen Keracunan pangan atau foodborne disease (penyakit bawaan makanan), terutama yang disebabkan oleh



bakteri patogen masih menjadi masalah yang serius di berbagai negara termasuk Indonesia.

Bahan pangan dapat bertindak sebagai perantara atau substrat untuk pertumbuhan mikroorganisme patogenik dan organisme lain penyebab penyakit. Seringkali terjadi keracunan pangan akibat mengkonsumsi makanan olahan maupun makanan yang masih segar.

Bakteri patogen dapat menyebabkan keracunan pada makanan melalui dua mekanisme, yaitu intoksikasi dan infeksi. Beberapa bakteri patogen yang dapat menimbulkan keracunan pangan melalui intoksikasi adalah : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, sementara bakteri patogen yang dapat menginfeksi tubuh melalui pangan sehingga menimbulkan sakit adalah *Salmonella*, *Clostridium perfringens* dan *Escherichia coli* (BPOM RI, 2011).

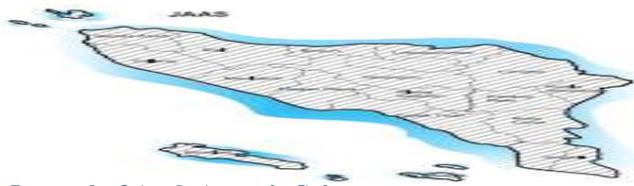
Dewasa ini tuntutan masyarakat terhadap kuantitas maupun kualitas bahan pangan semakin kritis. Penggunaan pengawet kimia yang banyak menimbulkan efek samping dan merugikan konsumen telah mendorong industri pangan untuk mencari alternative lain, seperti pengawet alami dari tanaman. Dengan semakin meningkatnya kebutuhan terhadap pangan olah minimal, para peneliti terus mencari komponen antimikroba alami yang dapat digunakan.

Beberapa penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari tanaman baik dalam bentuk ekstrak maupun minyak atsiri, menunjukkan bahwa banyak tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dan perusak bahan pangan. Beberapa diantaranya adalah sereh (Cepeda, 2005), biji atung (Moniharapon, 1998), ekstrak annato (Cuspintera et al., 2003); ekstrak daun jambu biji (Mailoa, 2014).

Indonesia banyak menyimpan potensi alam yang diharapkan mampu memberikan kontribusi dalam pengkajian sumber anti mikroba alami. Rempah- rempah dan tanaman merupakan komoditi utama yang banyak dicari sebagai sumber yang memiliki potensi anti mikroba alami. Mangrove dan tanaman pesisir merupakan sumber daya alam yang diharapkan ikut memberikan kontribusi dalam pengkajian sumber senyawa antibakteri alami.

Salah satu tanaman pesisir pantai yang belum banyak diketahui manfaatnya adalah *Ipomoea pes-caprae*, yang dikenal masyarakat sebagai kangkung laut, katang - katang atau tapak kuda, Masyarakat di daerah tertentu seperti Pulau Pari dan beberapa pulau di Maluku menggunakan tanaman ini untuk obat tradisional, antara lain untuk mengobati bisul dan luka pada penderita diabetes. Tanaman ini juga digunakan sebagai campuran pada makanan ternak.

Tapak kuda yang dikenal dengan nama katang – katang atau kangkung laut merupakan tanaman merambat yang sering ditemui di sekitar pantai. Tanaman ini berperan dalam restorasi dan stabilitas pantai karena sifatnya yang mampu mengikat



pasir. Daun Tapak kuda (*Ipomoea pes-caprae*) mengandung komposisi kimia antara lain : Isokuersitrin, Ergoline alkaloid, Eugenol, Senyawa fenol (asam gallat), Glochidone, Asam betulinat, Senyawa flavonoid (katekin), Alpha dan beta-amyrin acetate. Pada tanaman tersebut juga terdapat antinociceptive, yang berguna mengatasi rasa sakit berlebihan. Daun kering mengandung antistine (antihistamin/anti alergi). Bahkan, kemampuan antibiotik dan antiinflamasinya tergolong tinggi hingga berguna pula sebagai antibakteri.

Beberapa penelitian tentang tapak kuda telah dilakukan antara lain Souza et al., (1999) meneliti tapak kuda sebagai antinociceptive, hasil penelitian Hardjito dan Kingston (2004) telah membuktikan bahwa ekstrak daun Tapak Kuda memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker rahim. Sementara itu Agustiningrum, (2004) meneliti daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) sebagai antioksidan, Teramachi et al., (2005) meneliti Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) sebagai inhibitor kolagenase, namun penelitian Tapak Kuda sebagai Antibakteri Patogen Pangan belum dilaporkan.

Souza et al., (1999) mengemukakan bahwa tanaman Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) memiliki komponen aktif yang tergolong dalam senyawa aktif steroid, alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin dan tanin, ini didukung juga oleh penelitian Anandhi, (2013) yang melaporkan bahwa daun Tapak Kuda mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, saponin, terpenoid, dan antroquinon dan senyawa-senyawa tersebut dapat bekerja sebagai antibakteri. Dari hasil penelitian Souza et al., (1999) dan Anandhi (2013) ini yang mendasari penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun Tapak Kuda memiliki potensi sebagai antibakteri patogen pangan.

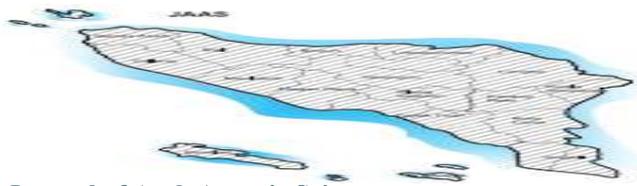
Manfaat yang ingin diperoleh dari penelitian ini antara Mempelajari potensi ekstrak dari daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen pangan, kemudian dapat mengkaji daya aktivitas antibakteri ekstrak daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) pada beberapa bakteri patogen pangan.

II. Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, Erlenmeyer, Gelas ukur, rotary evaporator,. Alat yang digunakan untuk uji antibakteri adalah cawan petri, tabung reaksi, kapas steril, botol media, jarum Ose, pinset, inkubator, autoklaf, bunsen, Pipet, Mikropipet (100 μ l) dan jangka sorong (0,05 mm).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tapak kuda (*Ipomoea pes-caprae*), Nutrien Agar (NA), Trypton Soya Broth (TSB), Plate Count Agar (PCA), Pelarut Metanol, Pelarut Etil Asetat dan Pelarut Heksan, Alkohol 95%, Aquades steril, HCl, H₂SO₄, FeCl₃, Kertas saring, Paper disc (6,0 mm), dan bahan-bahan yang lainnya yang diperlukan dalam proses analisa serta biakan bakteri antara lain : Kultur bakteri



yang akan digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri terdiri dari 3 jenis bakteri yaitu bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dan bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* FNCC 194 dan *Salmonella* sp FNCC 133.

Lokasi dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Baristand Industri Ambon. Pelaksanaan penelitian berlangsung mulai dari bulan Februari 2018 sampai dengan Agustus 2018. Sampel daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) diambil di sekitar pesisir pantai Desa Waiheru Kecamatan Teluk Ambon Baguala Kota Ambon.

Jenis dan Metode Pengambilan Data

Penelitian ini merupakan pembuatan ekstrak sampel dari daun tapak kuda meliputi proses preparasi sampel daun tapak kuda, serta proses ekstraksi dan persen rendemen.

Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan menimbang sebanyak 50 gram daun tapak kuda kering menggunakan 150 ml pelarut metanol, heksan dan etil asetat. Kemudian dihitung rendemen yang di dapat dari masing-masing ekstrak, selanjutnya uji Fitokimia. Dengan tahap-tahap sebagai berikut :

a. Preparasi sampel daun tapak kuda

Sampel daun tapak kuda yang akan digunakan, dibersihkan terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan yaitu dengan membiarkan daun tapak kuda selama ± 7 hari pada suhu ruang. Daun tapak kuda yang telah kering dihaluskan untuk memperoleh sampel berupa serbuk. Proses ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga kontak antara sampel dan pelarut semakin mudah sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih mudah.

b. Analisis kadar air metode Oven (AOAC, 1995)

Kadar air diukur terhadap sampel segar dan sampel setelah dikeringkan dengan metode oven biasa karena kandungan bahan volatil pada sampel rendah dan tidak terdegradasi pada suhu 100°C . Cawan porselin kosong dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 15 menit lalu didinginkan dalam desikator selama 5 menit atau sampai tidak panas lagi. Cawan ditimbang dan dicatat beratnya. Kemudian sampel ditimbang sebanyak kurang lebih 2 gram di dalam cawan tersebut. Sampel dikeringkan dalam oven sampai beratnya konstan. Setelah itu cawan yang berisi sampel kering di dalam desikator didinginkan dan ditimbang berat akhirnya. Kadar air dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

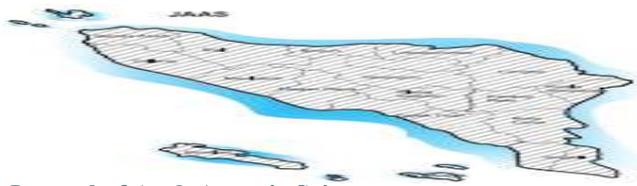
$$\text{Kadar air (\% b/b)} = \frac{(x-y)}{(x-a)} \times 100 \%$$

Keterangan :

x = berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan (g)

y = berat cawan dan sampel setelah dikeringkan (g)

a = berat cawan kosong (g)

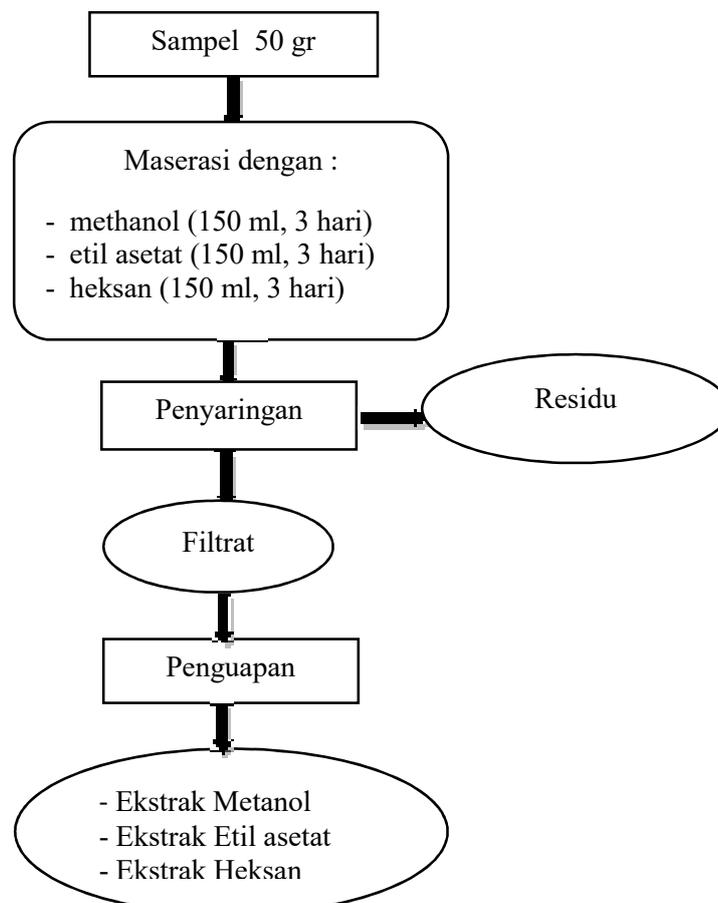


c. Ekstraksi senyawa antibakteri dengan metode maserasi

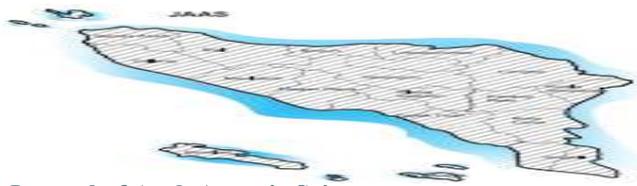
Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa bioaktif dari bahan alam dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol, heksana dan etil asetat.

Sampel sebanyak 50 gram direndam menggunakan 150 ml pelarut Metanol, didiamkan selama 3 hari dengan beberapakali pengadukan yang dibantu dengan batang pengaduk, kemudian disaring, ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (ekstrak metanol), proses ekstraksi yang sama juga dilakukan dengan menggunakan pelarut heksan dan etil asetat. Ekstrak yang dihasilkan dengan pelarut heksan adalah ekstrak heksan sedangkan ekstrak yang dihasilkan dengan pelarut etil asetat adalah ekstrak etil asetat. Masing – masing ekstrak kasar yang diperoleh dianalisis rendemennya. Rendemen ekstrak masing-masing pelarut dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Rendemen ekstrak kasar (\% b/b)} = \frac{\text{Bobot ekstrak kasar (g)}}{\text{Bobot serbuk (g)}} \times 100 \%$$



Gambar 1. Diagram Alir Proses Ekstraksi



d. Uji Fitokimia.

Uji Fitokimia yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- 1). Uji Alkaloid (Prihanto *et al.*, 2011 *dalam* Danata dan Yamindago, 2014)
Prosedur pengujian adalah dengan menyiapkan tabung reaksi kemudian menambahkan ekstrak dan 1,5 ml asam klorida 2% pada tabungnya kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi meyer dan hasil positif ditandai dengan ada tidaknya endapan putih kuning.
- 2) Uji Terpenoid (Prihanto *et al.*, 2011 *dalam* Danata dan Yamindago, 2014)
5 ml ekstrak ditambahkan 2 ml kloroform dan 3 ml H₂SO₄ secara pelan dan hati-hati hingga terbentuk lapisan berwarna merah kecoklatan yang menunjukkan positif terpenoid.
- 3). Uji Saponin (Astuti, 2010 *dalam* Danata dan Yamindago, 2014)
Kurang lebih 2 gram serbuk sampel daun kering dilarutkan dengan 20 ml aquades dan dididihkan dengan pemanas air, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Sebanyak 10 ml filtrat ditambahkan dengan 5 ml aquades dan dikocok hingga terbentuk busa stabil. Selanjutnya, ditambahkan *olive oil* dan dikocok dengan keras. Ekstrak mengandung saponin apabila terbentuk emulsi yang stabil.
- 4). Uji Tanin (Zohra *et al.*, 2012 *dalam* Danata dan Yamindago, 2014)
Kurang lebih 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml air. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ dan diamati perubahan warna yang terjadi. Warna hijau hingga biru kehijauan menandakan adanya *catechic tannin* atau biru kehitaman yang menandakan adanya *gallic tannin*.

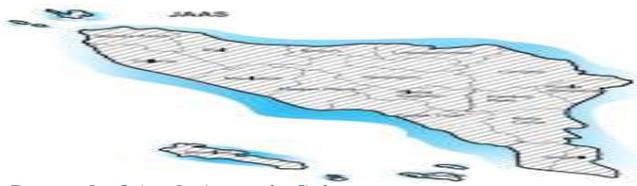
e. Uji Aktivitas Antibakteri menggunakan difusi agar (Carson dan Riley, 1995)

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara semua alat dibungkus menggunakan kertas dan disterilkan dalam autoklaf pada 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inci) selama 15 menit. Alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan alkohol 90 %.

Medium yang digunakan untuk peremajaan isolate *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* sp ATCC 13076. adalah Trypton Soya Broth (TSB) sedangkan untuk isolat *Staphylococcus aureus*, medium yang digunakan adalah Nutrien Agar (NA). Sebanyak 3 gr TSB dan 1,2 gr NA, dilarutkan dalam 150 ml aquades, kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 30 menit.

Medium yang digunakan untuk pelaksanaan uji antibakteri adalah medium Plate Count Agar (PCA). Sebanyak 4,375 gr PCA dilarutkan dalam 250 ml aquades. Larutan media kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 30 menit.

Peremajaan ini bertujuan untuk memperoleh biakan bakteri uji yang masih aktif dalam pertumbuhan dan metabolismenya. Bakteri uji dari persediaan induk (stok)



diambil sebanyak 1 Ose, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi medium Nutrient Agar (NA) dan Tripton Soya Broth (TSB) dan diinkubasikan pada suhu 37° C selama 24 jam.

Uji antibakteri, dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (Carson dan Riley, 1995). Kultur bakteri diinkubasi pada media Nutrient Broth (NB) dan Tripton Soya Broth (TSB) selama 24 jam pada suhu 37° C. Sebanyak 1 ml suspense bakteri dimasukkan kedalam petridisc kemudian dituangkan media PCA kira – kira 25 ml dan dibiarkan memadat. Pengenceran ekstrak daun tapak kuda dilakukan dengan mengencerkan ekstrak menjadi 25%, 50%, 75%, dan 100% dalam metanol 10%. Paper Disc steril berukuran 6,0 mm, masing – masing ditetes sebanyak 100 µL ekstrak metanol dan diresapkan dalam ekstrak dan kontrol. Proses peresapan dilakukan dengan cara meneteskan 20 µl control positif (amoxilin) dan ekstrak daun tapak kuda dari beberapa konsentrasi 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Ketiga paper disc yang telah ditetesi ekstrak, diletakkan diatas media agar yang telah memadat dan letak ketiganya diatur sedemikian rupa. Masing – masing dibiarkan selama 1 jam pada suhu kamar untuk menunggu berdifusinya ekstrak kedalam agar. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat. Aktivitas bakteri ekstrak tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih disekeliling paper disc. Zona penghambatan masing – masing ekstrak terhadap zona kultur bakteri diukur berdasarkan diameter zona jernih yang terbentuk, termasuk paper disc dengan menggunakan jangka sorong.

f. Analisa Data

Analisis data pada penelitian ini sebagai berikut : Data pengamatan diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan melakukan analisis uji aktivitas antibakteri (Metode Difusi Agar), kemudian dihitung besar zona penghambatan yang terbentuk pada media.

Ekstrak diuji inaktivasi bakteri menggunakan metode kertas cakram, diameter kertas 6 mm (Van Chuyen *et al.*, 1982). Pengamatan meliputi daerah (zona) penghambatan yaitu daerah yang bening, tanda tidak adanya pertumbuhan bakteri. Analisis zona penghambatan dihitung dengan cara mengukur diameter zona bening dikurangi dengan diameter kertas cakram. Untuk aktivitas antibakteri, dinyatakan dengan unit inaktivasi bakteri (UIB) = mm/g.

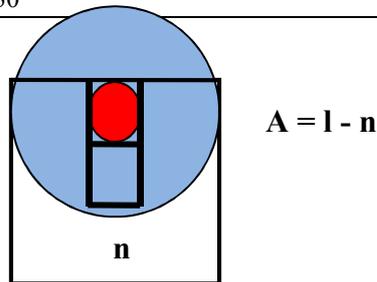
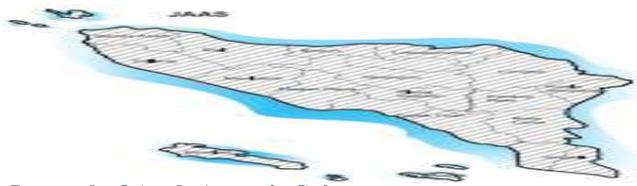
Rumus UIB = $1/W \times A \times T/V$

Keterangan : W : Berat Sampel (g)

A : Diameter zona penghambatan (mm) → setelah dikurangi diameter kertas cakram (6 mm).

T : Total volume ekstrak (ml)

V : Volume pengambilan ekstrak (ml)



Gambar 11. Diameter Paper Disc dan Diameter Zona Daya Hambat (Monihirapon, 1998)

Perhitungan nilai A (diameter zona penghambatan) berdasarkan hasil pengukuran.

$$A = l - n$$

Dimana,

l = diameter keseluruhan dari bentangan zona bening dari ujung sampai ujung (mm)

n = diameter kertas cakram = 6 mm

III. Hasil dan Pembahasan

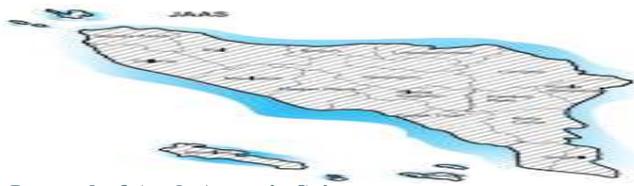
Preparasi Sampel Daun Tapak Kuda dan Penentuan Kadar Air

Preparasi Sampel Daun Tapak Kuda

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*). Sebelum digunakan daun Tapak Kuda dibersihkan dari kotoran, selanjutnya dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin anginkan tanpa paparan sinar matahari secara langsung, hal ini sesuai dengan Alminsyah *et al*, (2014) bahwa daun tapak yang diambil dibersihkan dan dipotong kecil-kecil kemudian disimpan pada suhu kamar sampai kering. Tujuannya agar senyawa aktif dalam sampel tidak mengalami kerusakan dan kadar air dalam sampel berkurang. Selain sampel lebih awet, pengurangan kadar air akan memudahkan pelarut menarik komponen bioaktif dalam sampel saat maserasi.

Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) dilakukan untuk mengetahui banyaknya kandungan air dalam daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) segar dan kering. Penentuan kadar air berguna untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanannya dan merupakan cara penanganan terbaik bagi suatu bahan untuk menghindari pengaruh aktivitas mikroba. Kadar air pada daun Tapak Kuda segar lebih tinggi yaitu 55,20 % sedangkan kadar air pada daun Tapak Kuda kering yaitu 27,24%. Jumlah kadar air yang rendah membuat bahan akan lebih tahan disimpan dalam jangka waktu yang relatif lama sehingga kemungkinan rusak karena jamur pada saat penyimpanan sangat kecil. Kadar air yang disyaratkan ekstrak yang memenuhi persyaratan adalah bila kadar air tidak lebih dari 10%. Winarno (1997), menyatakan bahwa apabila kandungan air yang terkandung dalam suatu bahan berkisar antara



3-7%, maka kestabilan optimum bahan akan tercapai, dengan demikian pertumbuhan mikroba dapat dikurangi sehingga dapat memperpanjang masa simpan tanaman kering. Berdasarkan hasil analisa menunjukkan kadar air sampel telah melebihi batas yang diisyaratkan.

Ekstraksi dan Rendemen Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

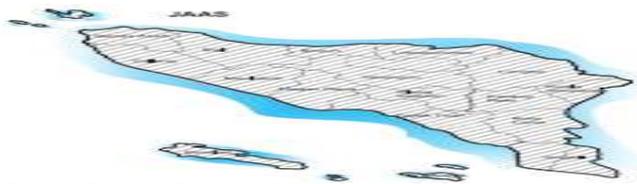
Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa bioaktif dari bahan alam dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi karena memiliki keunggulan yaitu cara pengerjaan yang cepat, peralatan yang digunakan sederhana, relatif mudah dan murah. Selain itu juga dipilih berdasarkan sifat senyawa aktif yang bersifat tidak tahan panas. dimana prinsip ekstraksi yaitu dengan memisahkan dua komponen atau lebih berdasarkan perbedaan kelarutan komponen tersebut dalam pelarut yang digunakan (Suryanto, 2012). Ekstraksi terdiri atas tahap penghancuran sampel, maserasi, penyaringan, dan evaporasi. Pindahkan komponen dari padatan ke pelarut pada ekstraksi melalui tiga tahapan, yaitu difusi pelarut ke pori-pori padatan atau ke dinding sel, di dalam dinding sel terjadi pelarutan padatan oleh pelarut, dan tahapan terakhir adalah pemindahan larutan dari pori-pori menjadi larutan ekstrak. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi meliputi waktu ekstraksi, suhu yang digunakan, pengadukan dan banyaknya pelarut yang digunakan (Harborne, 1978 *dalam* Siahaya, 2015).

Daun tapak kuda diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut Metanol, Etil Asetat dan Heksan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi, tahapan ekstraksi ini diulang sebanyak 3 kali (Alhaddad *et al*, 2019).



Gambar. 2. Proses maserasi dan hasil ekstraksi daun tapak kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Keterangan : T1 : Ekstrak Metanol, T 2 : Ekstrak Etil Asetat, T3 : Ekstrak Heksan



Ketiga ekstrak daun Tapak Kuda ditimbang bobotnya dan ditentukan rendemennya dalam satuan persen (%). Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstraksi Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Ekstrak daun Tapak Kuda	Rendemen (%)
Metanol	22,2
Etil Asetat	10,4
Heksan	3,2

Sumber : data hasil penelitian, 2019

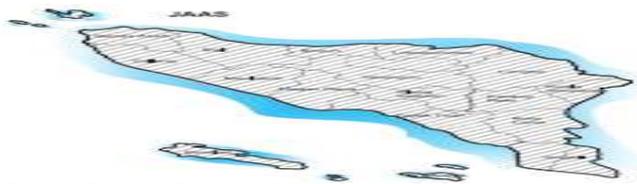
Tabel 1 menunjukkan rendemen ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak heksan yang besarnya berturut-turut adalah 22,2 %, 10,4 % dan 3,2 %. Ekstrak terbanyak diperoleh dari pelarut polar, yaitu metanol sebesar 22,2 % dan paling kecil adalah ekstrak heksan sebesar 3,2 %. Data di atas membuktikan bahwa daun tapak kuda mengandung berbagai senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Ekstrak metanol memiliki jumlah terbanyak karena pelarut metanol memiliki nilai konstanta dielektrik tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya kecuali air sehingga dapat membuka dinding sel yang mengakibatkan hampir semua senyawa tertarik keluar dari dalam sel. Selain itu pelarut metanol mampu mengekstraksi senyawa organik, sebagian lemak serta tanin (Heath dan Reineccius 1987 dalam Parhusip, 2006). Namun besarnya senyawa bioaktif bukan sebagai tolok ukur bahwa senyawa tersebut mempunyai keaktifan sebagai antibakteri yang terbesar.

Uji Identifikasi Fitokimia Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Uji fitokimia adalah uji kualitatif kandungan senyawa aktif dalam suatu sampel. Uji fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman. Pengujian ini hanya hasil kualitatif berdasarkan warna dan endapan yang terbentuk.

Adapun hasil dari uji fitokimia secara kualitatif ekstrak daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) dengan pelarut Metanol, Etil Asetat dan Heksan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia untuk senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi meyer pada ketiga ekstrak metanol, etil asetat dan heksan tidak menunjukkan adanya endapan putih yang artinya senyawa alkaloid negatif, hasil ini berbeda dengan penelitian Wijatmoko, (2008) dimana hasil pengujian senyawa alkaloid dengan pereaksi meyer pada ekstrak metanol menunjukkan hasil positif sedangkan untuk ekstrak etil asetat dan heksan menunjukkan hasil negatif. Hasil penelitian Souza *et al.*, (1999) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki kandungan senyawa alkaloid



sedangkan ekstrak metanol dan air menunjukkan hasil negatif yang berbeda dengan hasil penelitian ini. Perbedaan tersebut disebabkan banyak faktor diantaranya asal sampel, umur sampel, jumlah sampel dan perlakuan proses ekstraksi. Hasil pengamatan secara visual uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Golongan Senyawa	Pengamatan	Pelarut		
		Metanol	Etil Asetat	Heksan
Alkaloid - Perekasi Meyer	Tidak terdapat endapan dan berwarna bening	(-)	(-)	(-)
Terpenoid	Terbentuk lapisan berwarna merah kecoklatan	(+)	(+)	(+)
Saponin	Terbentuk emulsi yang stabil	(+)	(+)	(+)
Tanin	Warna hijau	(+)	(+)	(+)

Sumber : Data hasil penelitian, 2019

Keterangan : (-) : Menunjukkan Negatif, (+) : Menunjukkan Positif

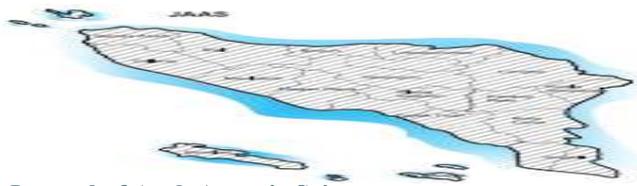


Gambar 3. Hasil Uji Fitokimia Alkaloid

Pengujian Fitokimia untuk Terpenoid, Saponin dan Tanin pada ketiga ekstrak metanol, etil asetat dan heksan menunjukkan hasil positif (Tabel.2), ini berarti terdapat kandungan senyawa Terpenoid, Saponin dan Tanin pada ekstrak daun tapak kuda. Secara visual dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji Fitokimia Tanin, Terpenoid, dan Saponin



Kandungan Terpenoid ditandai dengan adanya lapisan merah kecoklatan, Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid, sehingga senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif (Rosyidah *et al.*, 2010).

Adanya kandungan senyawa Saponin pada penelitian ini ditandai dengan terbentuknya emulsi yang stabil, hal ini didukung oleh hasil penelitian Souza *et al.*, (1999) yang mengatakan bahwa ekstrak etil asetat daun tapak kuda memiliki kandungan saponin. Senyawa saponin merupakan antibakteri karena dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya membran sel bakteri. Kerusakan membran sel bakteri ini menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam bakteri yaitu protein, nukleotida dan lain-lain yang akan menyebabkan bakteri mati (Jaya, 2010 *dalam* Alminsyah *et al.*, 2014).

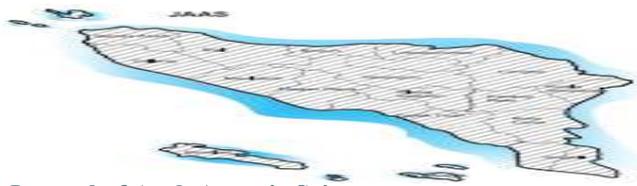
Senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak ditandai dengan warna hijau yang terbentuk pada larutan. Ini sesuai dengan hasil penelitian Wijatmoko, (2008) yang menyatakan bahwa ekstrak tapak kuda dari ekstrak metanol menunjukkan kandungan tanin. Didukung juga oleh Souza *et al.*, (1999) yang melaporkan daun tapak kuda yang diekstrak dengan air memiliki kandungan tanin. Menurut Masduki (1996) *dalam* Ajizah (2004), tanin bersifat antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Efek antimikroba tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, destruksi atau inaktivasi materi genetik.

Dengan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun tapak kuda mengindikasikan bahwa daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) memiliki kemampuan untuk menghambat sistem kerja dari bakteri uji.

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) dengan menggunakan tiga pelarut Metanol (polar), Etil Asetat (semi polar) dan Heksan (non polar) terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella* sp dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode cakram. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun Tapak Kuda dan diencerkan menjadi empat seri konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%, yang selanjutnya diujikan terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella* sp dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan pengukuran zona hambat yang terbentuk setelah diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Zona hambat merupakan daerah atau wilayah jernih yang tampak disekeliling petri disc. Semakin besar diameter zonanya, semakin besar daya antibakterinya.

Menurut Davis and Stout, (1971), kriteria kekuatan aktivitas antibakteri sebagai berikut, diameter zona hambat < 5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5 –



10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10 – 20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat > 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Hasil uji penghambatan ekstrak heksan daun tapak kuda (*Ipomoea pes-caprae*) dari empat konsentrasi terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella sp* dan *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan adanya zona jernih yang terbentuk pada media agar atau negatif, untuk ekstrak metanol pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% tidak menunjukkan zona jernih atau negatif, zona jernih baru terbentuk pada konsentrasi 100%, sementara ekstrak etil asetat menunjukkan zona jernih pada setiap konsentrasi ekstrak.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, etil asetat dan heksan dapat dilihat pada tabel 3.

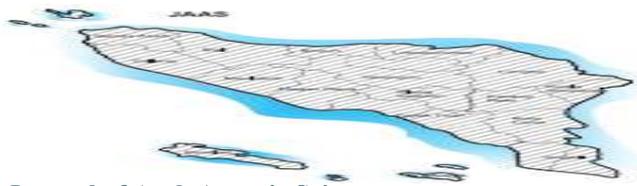
Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Ekstrak	Konsentrasi (%)	Diameter (mm)		
		<i>E.coli</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>S. aureus</i>
Metanol	25	0	0	0
	50	0	0	0
	75	0	0	0
	100	12.1	12.1	12.3
Etil Asetat	25	14.5	5.3	31.9
	50	34.3	14.5	33.8
	75	38.2	30.2	36.8
	100	39.3	33.6	41.5
Heksan	25	0	0	0
	50	0	0	0
	75	0	0	0
	100	0	0	0
Amoxicilin (Kontrol Positif)	-	47.1	38.8	42.9
Metanol (Kontrol Negatif)	-	-	-	-

Sumber : Data hasil penelitian, 2019

Dari tabel 3. Dapat dilihat bahwa pada ekstrak metaanol konsentrasi 25%, 50%, 75% dan keempat konsentrasi ekstrak heksan tidak menunjukkan adanya daya hambat yang menandakan bahwa hasilnya negatif.

Sementara pada ekstrak metanol konsentrasi 100% dan etil asetat daun tapak kuda untuk keempat seri konsentrasi terlihat adanya daya hambat terhadap pertumbuhan ketiga bakteri uji. Daya antibakteri tersebut tergantung pada konsentrasi ekstrak.

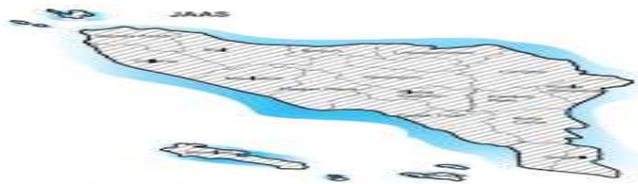


Gambar 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Metanol (Negatif) dan Heksan daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Konsentrasi ekstrak terkecil menunjukkan zona hambat dengan nilai yang lebih kecil dibandingkan diameter konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan karena pada konsentrasi ekstrak yang lebih rendah, zat aktif yang berperan sebagai antibakteri jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan volume pelarut sehingga mempengaruhi kemampuan bereaksi dengan senyawa asam amino karena sebagian besar asam amino telah bereaksi dengan gugus basa pada senyawa metabolit. Perubahan susunan asam amino ini jelas akan merubah keseimbangan genetik pada asam DNA sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel, sehingga akan terjadi kerusakan sel. Kerusakan sel mengakibatkan sel – sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme sehingga akan mengalami lisis (Alminsyah *et al.*, 2014).

Berdasarkan kriteria Davis and Stout, (1971), maka daya hambat antibakteri dari ekstrak metanol dengan konsentrasi 100% untuk bakteri *Eschericia coli* (12,1 mm), *Salmonella* sp (12,1 mm) termasuk kuat, dan bakteri *Staphylococcus aureus* (12.3 mm) termasuk kuat, sedangkan daya hambat antibakteri ekstrak Etil Asetat untuk bakteri *Eschericia coli* dengan konsentrasi ekstrak 25% (14.5 mm) termasuk kuat, konsentrasi ekstrak 50% (34.3 mm), 75% (38.2 mm) dan 100% (39.3 mm) termasuk kriteria sangat kuat. Daya hambat antibakteri ekstrak Etil Asetat untuk bakteri *Salmonella* sp dengan konsentrasi 25% (5.3 mm) termasuk sedang, konsentrasi 50% (14.5 mm) termasuk kuat, konsentrasi 75% (30.2 mm) dan 100% (33.6) termasuk sangat kuat. Daya hambat antibakteri ekstrak Etil Asetat untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 25% (31,9 mm), 50% (33.8 mm), 75% (36.8 mm) dan 100% (41.5 mm) termasuk kriteria sangat kuat.

Dengan demikian, diketahui bahwa ekstrak metanol konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang mempunyai potensi untuk menghambat bakteri *E. coli*, *Salmonella* sp dan *Staphylococcus aureus* karena pada konsentrasi tersebut memiliki daya hambat yang kuat, sedangkan ekstrak Etil Asetat konsentrasi 25%, 50%,75% dan 100% sudah mampu menghambat bakteri *E.coli* dan *Staphylococcus aureus*, sementara untuk menghambat bakteri *Salmonella* sp konsentrasi yang efektif dimulai dari 50%, 75% dan 100%.



Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun tapak kuda (*Ipomoea pes-caprae*) dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Metanol dan Etil Asetat daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

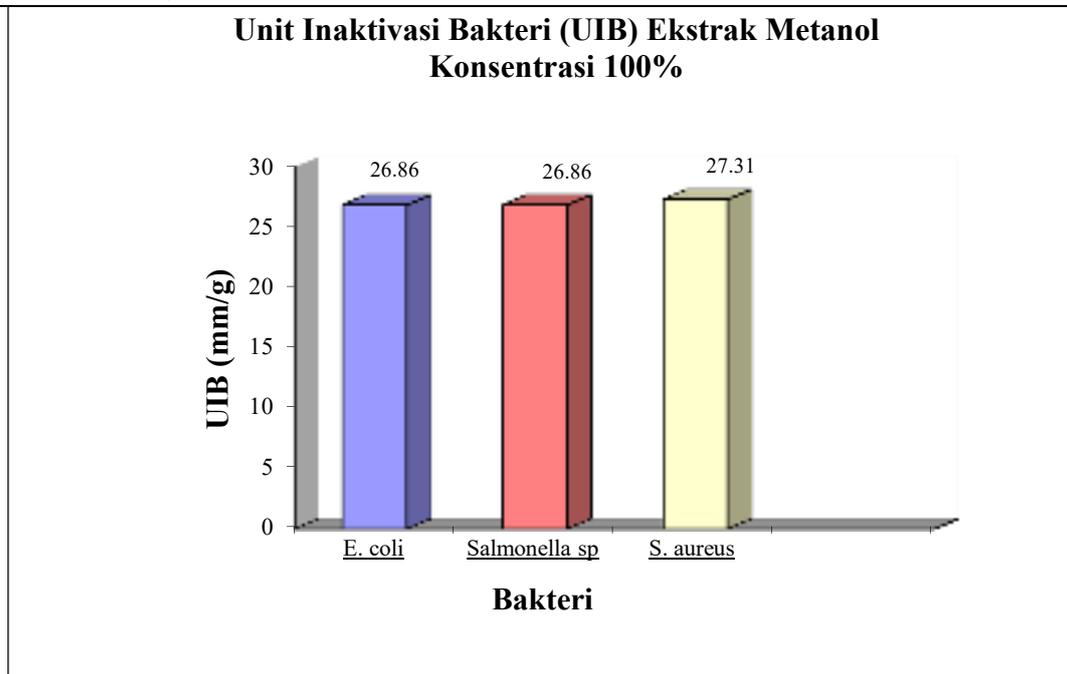
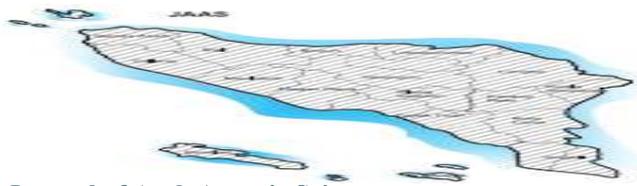
Kontrol amoxicillin berpengaruh terhadap ketiga jenis bakteri baik Gram positif maupun negatif, aktifitas penghambatannya dalam kategori sangat kuat. Amoxicillin merupakan turunan penicillin yang mempunyai spektrum luas (dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif), mekanisme kerjanya menghambat sintesis dinding sel bakteri (Mycek *et al*, 1997).

Unit inaktivasi bakteri berkisar antara 5.51 mm/g sampai dengan 43.16 mm/g, dapat dilihat pada Tabel 4.

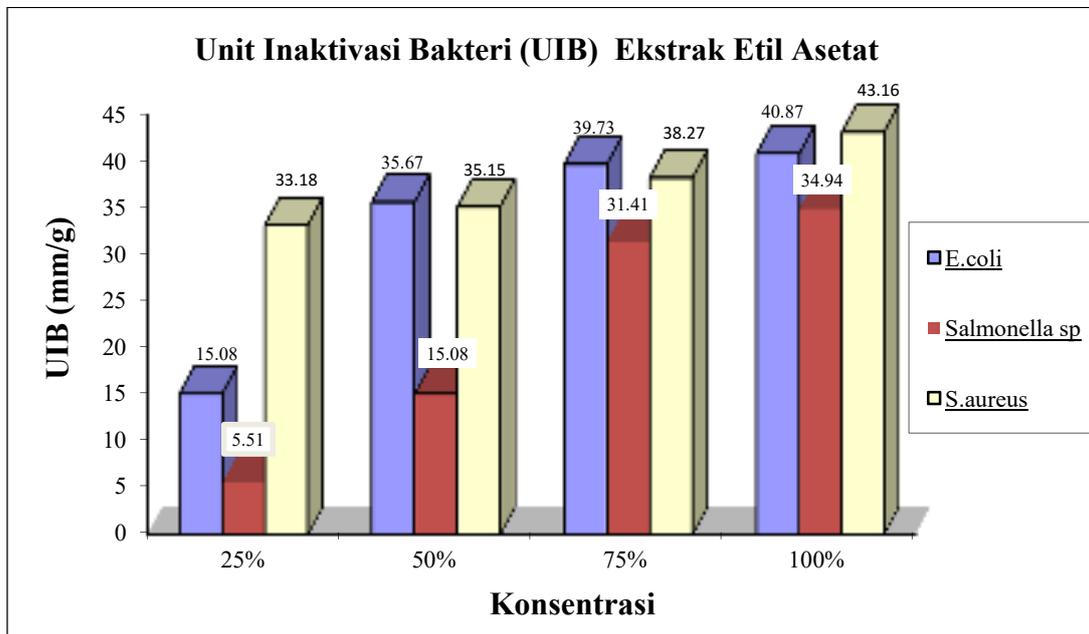
Tabel 4. Unit Inaktivasi Bakteri Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

No	Ekstrak	Konsentrasi	Bakteri	Unit Inaktivasi Bakteri (UIB) (mm/g)
1.	Metanol	100 %	<i>Escherichia coli</i>	26.86
			<i>Salmonella sp</i>	26.86
			<i>Staphylococcus aureus</i>	27.31
	25 %	<i>Escherichia coli</i>	15.08	
		<i>Salmonella sp</i>	5.51	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	33.18	
	50 %	<i>Escherichia coli</i>	35.67	
		<i>Salmonella sp</i>	15.08	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	35.15	
2.	Etil Asetat	75 %	<i>Escherichia coli</i>	39.73
			<i>Salmonella sp</i>	31.41
			<i>Staphylococcus aureus</i>	38.27
		100 %	<i>Escherichia coli</i>	40.87
			<i>Salmonella sp</i>	34.94
			<i>Staphylococcus aureus</i>	43.16

Sumber : Data hasil penelitian, 2019

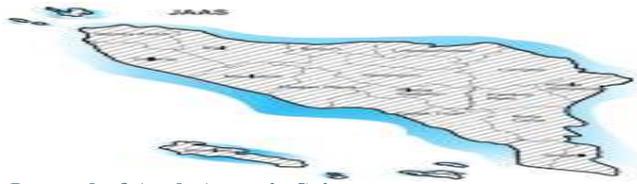


Gambar 7. Diagram Unit Inaktivasi Bakteri Ekstrak Metanol Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)



Gambar 8. Diagram Unit Inaktivasi Bakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*)

Dari hasil penelitian Etil Asetat memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan metanol dan ekstrak heksan tidak bersifat sebagai antibakteri pada ketiga jenis bakteri uji, dimana ekstrak etil asetat sudah menunjukkan aktivitas antibakteri dari



konsentrasi 25 %, sedangkan ekstrak metanol baru menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 100% sementara ekstrak heksan tidak ada aktivitas bakteri, hal ini menunjukkan bahwa etil asetat sebagai senyawa semi polar mempunyai senyawa bioaktif yang paling berperan sebagai antibakteri yang bisa menghambat baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Ekstrak etil asetat banyak mengandung komponen antibakteri seperti terpenoid, saponin, tannin yang dapat mengganggu proses pertumbuhan pembelahan sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel. Ekstrak etil asetat mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif (*E. coli* dan *Salmonella* sp) disebabkan bakteri Gram-negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis disamping itu ekstrak etil asetat juga mampu menghambat bakteri Gram positif (*S. aureus*). Menurut Ultee *et al.*, 2000 dalam Parhusip, 2006, dinding sel *S. aureus* (bakteri Gram-positif) mempunyai susunan matriks yang lebih terbuka dan tidak memiliki molekul reseptor spesifik. Selain itu pada dinding sel *S. aureus* lebih banyak disusun oleh asam amino alanin yang bersifat hidrofilik (Franklin dan Snow, 1989). Sifat ini menyebabkan *S. aureus* lebih peka terhadap komponen ekstrak etil asetat Tapak Kuda yang bersifat semipolar mengarah ke polar.

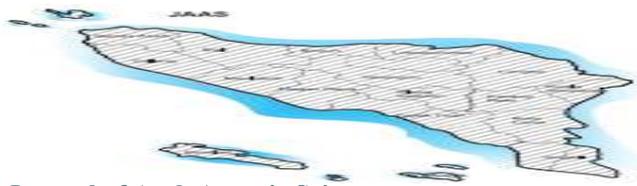
IV. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan :

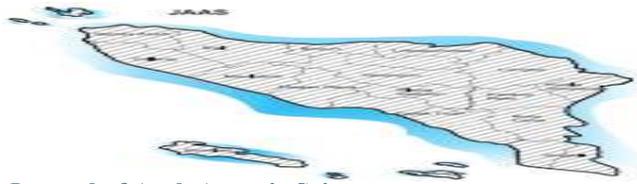
1. Ekstrak daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) mempunyai potensi sebagai antibakteri patogen pangan dengan kandungan senyawa bioaktif yaitu Terpenoid, Saponin, Tanin mampu menghambat aktivitas bakteri uji baik bakteri Gram negatif maupun Gram positif.
2. Ekstrak daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, *Salmonella* sp dan *Staphylococcus aureus*, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin kuat pula respon hambatannya dimana ekstrak etil asetat (semi polar) daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*) bersifat lebih menghambat dibandingkan ekstrak metanol (polar) sedangkan pada ekstrak heksan (non polar) tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan.

Daftar Pustaka

- Agustiningrum D. 2004. Isolasi dan uji aktifitas antioksidan senyawa bioaktif dari daun *Ipomoea pes-caprae* [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L). Bioscientiae. Volume I, No. 1, Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.
- Alminsyah, Indria Hafizah, Sulastrianah, 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Tapak Kuda (*Ipomoea pes-caprae*(L)R. Br) Terhadap *Staphylococcus aureus*. Modula



- Vo.2 No. 1 Oktober 2014 ISSN 2339-1006. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran UHO.
- Alhaddad, D, A., Wahyudi, D., Tanod, W., A. 2019. Bioaktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Mangrove *Avicennia* Sp. Jurnal Kelautan Volume 12, No. 1, 12-22 (2019).
- Anandhi K., Ushadevi T. 2013. A Study On Antioxidant, Proximate Analysis, Antimicrobial Activity And Phytochemical Analysis Of Ipomoea Pes Caprae By GC-MS. International Journal Of Biotechnology And Allied Fields (IJABF). ISSN : 2320-0774.
- AOAC. 1995. Association of Official Association Analytical Chemist. Official Methods of Analysys. Virginia: AOAC.Inc.
- BPOM RI, 2011. Keracunan Pangan Akibat Bakteri Patogen. Sentra Informasi Keracuna Nasional. Badan POM RI.
- Carson, C.F.T.V, Riley.1995. Antimicrobial Activity of Major Components of The Essensial Oil of Melaleuca alternifolia. J. Appl Bacterial 78 : 264 – 269.
- Cepeda GN, 2005. Aktivitas Ekstrak Etanol Sereh terhadap pertumbuhan Escherichia coli verotoksigenik (Tesis). Bogor. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Cuspinera VG, Westhoff DC, Rankin SA, 2003. Antimicrobial properties of commercial annatto extracts against selected phatogenic, lactic acid, and spoilage microorganism J Food Prot 66 : 1074-1078.
- David dan Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. Journal of Microbiology.
- Denata, R. H dan Yamindago, A. 2014. Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove (*Avicennia marina*) Dari Kabupaten Trenggalek dan Kabupaten Pasuruan Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. Jurnal Kelautan Volume 7, No. 1, April 2014. Hal 12-19.
- Hardjito L, Kingston D. 2004. Laporan RUTI 2004. Bioactive Compounds from Indonesia Marine Invertebrates and Their Sustainable Production Through Maricultured.
- Mailoa MN, 2014. Kajian Efektivitas Ekstrak Kaya Tanin dari Jambu Biji (*Psidium guajava* L) sebagai Antimikroba Patogen Pangan (Disertasi) Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.
- Moniharapon T. 1998. Kajian Fraksi Bioaktif Dari Buah Atung (*Parinarium glaberimum, Hassk*) Sebagai Bahan Pengawet Pangan (Disertasi). Bogor : Institut Pertanian Bogor, Program Pasca Sarjana.
- Mycek, Mary J, 1997. Farmakologi: Ulasan Bergambar, Agus, A penerjemah. Jakarta : Widya Medika.
- Parhusip AJN. 2006. Kajian mekanisme antibakteri ekstrak andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap bakteri patogen pangan. [disertasi]. Bogor: Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, Komari, M.D.Astuti. 2010. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi *Mangifera casturi*. Bioscientiae, 7 (2): 25-31.



-
- Souza de et al. 1999. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. *Journal of Ethnopharmacology* 69:85-90.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Nusantara Media. Surabaya
- Siahaya, Y. 2015. Potensi Ekstrak Cangkang Bulu Babi (*Diadema sitosum*) Sebagai Antibakteri. Tesis Program Studi Ilmu Kelautan Program Pascasarjana Universitas Pattimura Ambon. Ambon.
- Van Chuyen, N., Kurata., Kta, H. dan Fujirnaki, M. Antimicrobial Activity of Kumazasa (*Saza Albomanginata*). *Agic. Biol. Chem.*, 46(4): 971-978
- Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Zohra, F. S., Meriem, B., Samira, S., & Muner, A. 2012. Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *J. Nat. Prod. Plant. Resour.*, 2(4), 512516.