

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK SAMBUNG NYAWA, PEGAGAN, KETEPENG CINA, DAN BAYAM MERAH TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 SENSITIF DAN RESISTEN

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SAMBUNG NYAWA EXTRACT, PEGAGAN, KETEPENG CINA, AND RED SPINACH AGAINST *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 SENSITIVE AND RESISTANT

Devina Talitha Nabila¹, Peni Indrayudha^{1*}

¹Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

*E-mail correspondence : pi161@ums.ac.id

Dikirim : 24 Maret 2025, Disetujui : 30 Mei 2025, Diterbitkan : 31 Mei 2025

Abstrak

Bakteri Gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial, neutropenia, luka bakar parah, atau fibrosis kistik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan kurang tepat dapat mengakibatkan bakteri menjadi resisten. Salah satu alternatif pengobatan resistensi bakteri adalah menggunakan tanaman obat seperti sambung nyawa, pegagan, ketepeng cina, dan bayam merah. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antibakteri keempat ekstrak tanaman tersebut terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitif dan resisten serta untuk mengetahui golongan senyawa antibakteri pada ekstrak tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri paling tinggi dengan bioautografi. Keempat tanaman diekstraksi dengan etanol 96% menggunakan metode maserasi. Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari empat ekstrak adalah metode difusi disk dengan seri konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 20%, 40%, dan 80% b/v. Kandungan senyawa pada ekstrak yang paling poten dilakukan analisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan bioautografi. Hasil dari uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak ketepeng cina memiliki potensi antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitif dengan zona hambat pada konsentrasi 20%, 40%, dan 80% berturut-turut adalah 7 ± 0 mm, $8 \pm 0,87$ mm, dan $8,2 \pm 0,29$ mm. Hasil uji ekstrak ketepeng cina terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten didapatkan zona hambat sebesar $9,17 \pm 0,29$ mm, $9,50 \pm 2,60$ mm, dan $13,67 \pm 1,15$ mm. Hasil dari uji KLT ekstrak ketepeng cina memiliki kandungan flavonoid, saponin, terpenoid, tanin, steroid, dan alkaloid. Hasil bioautografi menunjukkan bahwa ketepeng cina pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitif dan resisten tidak ada zona hambat yang terbentuk.

Kata Kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, antibakteri, KLT, bioautografi

Abstract

Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen that can cause nosocomial infections, neutropenia, severe burns, or cystic fibrosis. Excessive and inappropriate use of antibiotics can cause bacteria to become resistant. One alternative treatment for bacterial resistance is using medicinal plants such as sambung nyawa, pegagan, ketepeng cina, and red spinach. This study was conducted to determine the antibacterial activity of the fourth plant extract against bacteria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitive and resistant and to determine the antibacterial compounds in plant

extracts which have the highest antibacterial activity with bioautography. The four plants were extracted with 96% ethanol using maceration method. The method used to determine the antibacterial activity of the four extracts was the disc diffusion method with the extract concentration series used which was 20% b/v, 40% b/v, 80% b/v. The most potent compounds in the extract were analyzed using thin layer chromatography (TLC) and bioautography. The results of the antibacterial test showed that the ketepeng cina extract had the highest antibacterial potential against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitive to the inhibitory zones at concentrations of 20%, 40%, and 80% respectively 7 ± 0 mm, $8 \pm 0,87$ mm, and $8,2 \pm 0,29$ mm. The results of the ketepeng cina extract test on resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteria found a inhibition zone of $9,17 \pm 0,29$ mm, $9,50 \pm 2,60$ mm, and $13,67 \pm 1.15$ mm at concentrations of 20%, 40%, and 80%. The results of the TLC test of ketepeng cina extract contain flavonoids, saponins, terpenoids, tannins, steroids, and alkaloids. Bioautography results showed that ketepeng cina in *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitive and resistant no inhibition zone is formed.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial, TLC, bioautography

PENDAHULUAN

Bakteri Gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang menginfeksi dengan merusak mekanisme pertahanan inang (Mayasari, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi nosokomial, neutropenia, luka bakar parah, atau fibrosis kistik (Gellatly & Hancock, 2013). Bakteriemia yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang meningkat pada pasien fibrosis kistik karena infeksi kronis yang pada akhirnya paru-paru mengalami kerusakan dan insufisiensi pernafasan. *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan gangguan kesehatan lainnya seperti infeksi saluran kemih, dan sepsis pneumonia (Ochoa *et al.*, 2013). Antibiotik merupakan obat yang efektif digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Penggunaan antibiotik di Indonesia yang cukup berlebihan dan kurang tepat mengakibatkan bakteri yang awalnya sensitif menjadi tidak sensitif lagi, keadaan ini yang disebut dengan resistensi bakteri (Refdanita *et al.*, 2004). Kebalnya bakteri terhadap antibiotik dapat menyebabkan kematian yang semakin meningkat pada penyakit infeksi. Selain itu semakin terbatasnya pilihan antibiotik sebagai terapi infeksi juga merupakan salah satu dampak dari resistensi bakteri.

Hasil penelitian Rukmono & Zuraida (2016) pada Unit Perawatan Intensif Level II Neonatal Rumah Sakit Abdul Moeloek Lampung (RSAM), menunjukkan *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap 14 jenis antibiotik yang diuji kepekaannya di antaranya yaitu ampicilin 84,6%, eritromisin 82,7%, amoksisilin 80,8%, sefuroksim 76,9%, seftriakson 71,2%, gentamisin 71,2%, tetrasiklin 71,2%, sefadroksil 67,3%, piperasilin 63,5%, trimetoprim 63,5%, tobramisin 59,6%, kotrimoksazol 51,9%, sulfonamid kompleks 50,0%, dan nalidiksida 50%. Resistensi bakteri ini yang mengakibatkan meningkatnya kebutuhan untuk mencari alternatif antibakteri lain dan memberikan peluang yang besar untuk memanfaatkan senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan.

Telah ditemukan bahwa bagian batang sambung nyawa memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kadar hambat minimum (KHM) 50 mg/mL (Aryanti *et al.*, 2007), sedangkan bagian daun sambung nyawa juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dengan KHM 10% (Bakhtra *et al.*, 2018).

Tanaman lain yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri yaitu ketepeng cina, pegagan, dan bayam merah. Ketepeng cina menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada KHM 12,5% (Yacob & Endriani, 2010). Ekstrak metanol daun pegagan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* pada KHM 10 µg/mL (Arumugam *et al.*, 2011) sedangkan ekstrak metanol bayam merah dengan KHM 0,62 mg/mL menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (KHM: 1,25 mg/mL), dan *Escherichia coli* (KHM: 0,36 mg/mL) (Pulipati, *et al.*, 2015). Berdasar latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian aktivitas antibakteri serta uji bioautografi dari daun sambung nyawa, pegagan, ketepeng cina, dan bayam merah terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitif dan resisten.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu seperangkat alat gelas (Pyrex®), autoklaf (Hirayama HVE 50), *Laminar air flow* (CV.Srikandi Laboratory), mikropipet (Socorex), timbangan digital (Ohaus), neraca analitik (Precisa XT 120A), vortex (Thermolyne Corporation), *rotary evaporator* (HEIDOLPH Laborato 4000 Efficien WB eco), *waterbath* (Six-Well Thermostatic), inkubator (Mettler), inkubator shaker, lampu UV 254 nm, UV 366 nm, dan oven (Mettler).

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu daun sambung nyawa yang diperoleh dari Merapi Farma Herbal Kaliurang Yogyakarta, daun pegagan, daun ketepeng cina, dan daun bayam merah, etanol 96%, etanol 70%, akuades, kertas saring, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sensitif yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dan *Pseudomonas aeruginosa* resisten diperoleh dari Rumah Sakit Universitas Sebelas Maret, media Mueller Hinton Agar (MH), media Brain Heart Infusion (BHI), Dimetil Sulfoksida (DMSO), NaCl 0,9%, disk antibiotik piperasilin, disk kosong, lempeng silika gel GF254, reagen dragendorff, anisaldehyd, FeCl₃, Liebermann-Burchard, sitroborat.

Ekstraksi

Daun sambung nyawa yang akan diekstraksi dibersihkan terlebih dahulu kemudian dikeringkan menggunakan lemari pengering yang disinari menggunakan lampu. Simplisia yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Simplisia daun sambung nyawa ditimbang sebanyak 300 g kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 L, kemudian didiamkan selama 3 hari dengan sesekali diaduk dan disimpan di tempat yang terhindar dari sinar matahari. Hasil tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring dan didapatkan hasil maserat. Untuk mendapatkan ekstrak yang lebih pekat, hasil maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C. Hasil ekstrak yang telah diuapkan kemudian diletakkan di *waterbath* hingga mendapatkan ekstrak yang kental. Ekstrak ketiga tanaman yang lain juga diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi.

Sterilisasi alat dan bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dicuci dan disterilisasi terlebih dahulu. Cawan petri yang akan digunakan dibungkus dengan kertas kemudian disterilkan menggunakan oven selama 1 jam pada suhu 170 °C. Tabung reaksi yang akan digunakan disterilkan dengan cara disumbat terlebih dahulu dengan kapas lalu dibungkus dengan kertas lalu disterilkan menggunakan oven selama 1 jam pada suhu 170 °C. Ose dan *spreader glass* disterilkan dengan menggunakan lampu spiritus. Media yang akan digunakan disterilkan menggunakan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121 °C.

Pembuatan larutan uji dan media bakteri

Setiap hasil ekstrak kental tanaman dibuat larutan dengan konsentrasi 80%, 40%, dan 20%. Konsentrasi 80% dibuat dengan cara menimbang 800 mg ekstrak kemudian dimasukkan dalam eppendorf dan dilarutkan dengan DMSO sebanyak 1 mL lalu di vortex hingga terlarut. Larutan konsentrasi 80% kemudian dibuat pengenceran menjadi konsentrasi 40% dan 20%.

Media *Mueller Hinton Agar* (MH) dibuat dengan cara menimbang serbuk sebanyak 38 g dilarutkan dalam 1 L akuades lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil lalu disterilkan menggunakan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121 °C. Media MH yang telah disterilkan kemudian dituang ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan dan didiamkan hingga agar mengeras kemudian disimpan di lemari pendingin. Media *Brain Heart Infusion* (BHI) dibuat dengan cara menimbang 37 g serbuk dilarutkan dengan akuades sebanyak 1 L dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil lalu disterilkan menggunakan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121 °C.

Pengujian antibakteri

Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode *disc-diffusion*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibiakkan pada media *Brain Heart Infusion* (BHI), lalu diambil sebanyak 200 µL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan NaCl steril 0,9% hingga kekeruhan sama dengan standar 0,5 Mc Farland. Sebanyak 200 µL diteteskan pada permukaan media MH lalu diratakan dengan *spreader glass* dan ditunggu sampai 10 menit. Disk kosong steril ditetesi dengan larutan ekstrak setiap tanaman dengan konsentrasi 80%, 40%, dan 20% sebanyak 15 µL sehingga konsentrasi per disk berturut-turut adalah 12 µL/disk, 6 µL/disk, 3 µL/disk. Kemudian dibiarkan hingga sisa larutan menguap dan mengering, kemudian disk yang telah ditetesi ekstrak diletakkan di atas media yang sudah ditanam bakteri. Cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam kemudian diamati dan diukur diameter zona hambatnya. Sebagai kontrol negatif digunakan disk kosong yang ditetesi DMSO dengan konsentrasi 100% sebanyak 15 µL dan kontrol positif digunakan antibiotik piperasilin konsentrasi 110 µg/disk.

Uji KLT

Uji KLT dilakukan pada ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri paling poten. Uji KLT dilakukan untuk mengetahui fase gerak yang paling baik dalam mengelusi ekstrak dan untuk mengetahui golongan senyawa apa yang ada pada ekstrak. Fase diam yang digunakan untuk uji KLT adalah *silica gel* GF₂₅₄. Untuk menotolkan sampel pada *silica gel* menggunakan bantuan

pipa kapiler. Kemudian sampel dielusi menggunakan pelarut yang sudah dijenuhkan terlebih dahulu. Hasil elusi diperiksa pada sinar UV-254 nm, UV-366 nm, dan sinar tampak. Plat KLT yang telah dielusi kemudian disemprot dengan reagen Dragendorff, anisaldehyd, FeCl₃, LB, dan sitroborat, diperiksa di bawah lampu UV-254 nm, UV-366 nm, dan sinar tampak kemudian dihitung Rf nya (Kagan & Flythe, 2014).

Uji bioautografi

Uji bioautografi dilakukan untuk ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. Pengujian dilakukan dengan meletakkan lempengan kromatogram hasil elusi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di atas permukaan media Mueller Hinton Agar selama 30 menit. Setelah itu lempengan diangkat menggunakan pinset dan dipindahkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Zona jernih yang terbentuk pada area spot lempeng kromatogram diidentifikasi untuk menentukan jenis senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* (Setiawansyah *et al.*, 2018).

Analisis data

Hasil uji antibakteri berupa zona hambat yang terbentuk di sekitar disk dan diukur diameternya dari 2 sisi yang berbeda, dijumlah dan dibagi 2 untuk mendapatkan rata-rata ukuran diameter dari zona hambat yang terbentuk. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali, dihitung rata-rata dan dihitung standar deviasinya (SD). Hasil yang didapatkan diuji menggunakan uji normalitas untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Jika data terdistribusi normal maka dapat menggunakan statistik parametrik sedangkan jika data tidak terdistribusi normal menggunakan statistik non parametrik.

Senyawa yang terkandung pada ekstrak tanaman dapat diketahui dengan pereaksi semprot. Pereaksi semprot yang digunakan yaitu anisaldehyd yang dapat mendeteksi adanya senyawa terpenoid dan saponin, alkaloid menggunakan dragendorff, reagen semprot Liebermann-Burchard untuk senyawa triterpenoid, tanin menggunakan FeCl₃, dan senyawa flavonoid dideteksi menggunakan pereaksi sitroborat (Wagner and Blatt, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi maserasi merupakan proses ekstraksi suatu bahan dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan atau tanpa pegadukan yang dilakukan pada suhu ruang (Fauzana *et al.*, 2010). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 96% yang merupakan pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, non polar, dan semi polar (Poeloengan *et al.*, 2007). Hasil rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara berat ekstrak total yang didapatkan dengan berat serbuk simplisia kering dikalikan 100%. Hasil rendemen dari daun sambung nyawa, ketepeng china, pegagan, dan bayam merah berturut-turut yaitu 2,05%; 4,01%, 7,40%, dan 4,80% (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil rendemen empat tanaman menggunakan pelarut etanol 96%

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun sambung nyawa	300,11	6,15	2,05
Daun ketepeng cina	300,56	12,06	4,01
Daun pegagan	250,25	18,57	7,40
Daun bayam merah	103,65	5,06	4,80

Uji aktivitas antibakteri sensitif

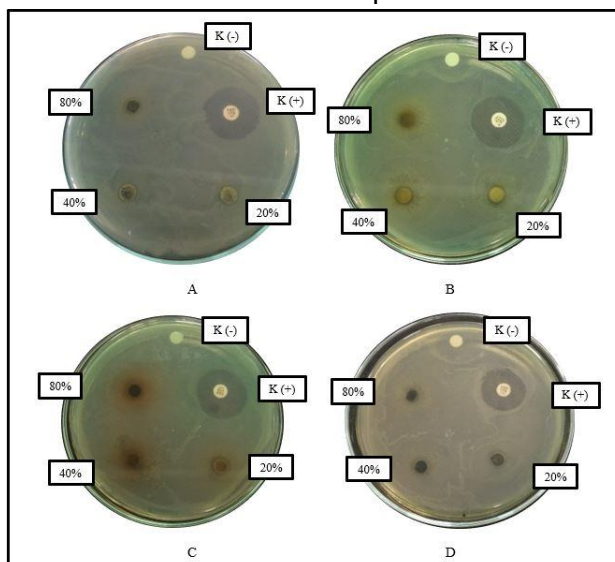
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa, daun pegagan, dan daun ketepeng memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Gambar 1, Tabel 2). Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar disk. Ekstrak daun sambung nyawa membentuk zona hambat yang irradikal di sekitar disk pada konsentrasi 20% dan 40% dengan diameter 7 ± 0 mm. Pada konsentrasi 80% terbentuk zona hambat yang irradikal sebesar $7,2 \pm 0,29$ mm. Penelitian Bakhtra *et al.* (2018), ekstrak daun sambung nyawa memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Shigella dysenteriae* dengan KHM 10%. Ekstrak daun pegagan juga memiliki aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya zona hambat irradikal pada konsentrasi 20% sebesar 7 ± 0 mm, sedangkan konsentrasi 40% diameter zona hambatnya sebesar $7,2 \pm 0,29$ mm, dan konsentrasi 80% memiliki diameter $8 \pm 0,50$ mm. Penelitian sebelumnya oleh Arumugam *et al* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *P. aeruginosa*. Ekstrak ketepeng cina memberikan zona hambat irradikal di sekitar disk pada konsentrasi 20% sebesar 7 ± 0 mm, konsentrasi 40% sebesar $8 \pm 0,87$ mm, dan konsentrasi 80% memiliki diameter sebesar $8,2 \pm 0,29$ mm. Penelitian Yacob & Endriani (2010) menunjukkan ekstrak daun ketepeng cina menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak bayam merah tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 dilihat dari tidak adanya zona hambat yang terbentuk pada sekitar disk (Gambar 1). Penelitian Pulipati *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak bayam merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. aeruginosa*. Hasil ini tidak sesuai karena pada penelitian sebelumnya pelarut ekstrak menggunakan metanol sedangkan pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak dapat dikatakan poten apabila ekstrak yang digunakan $\leq 2,0$ mg/L menghasilkan zona hambat ≥ 21 mm dilihat dari grafik korelasi antara konsentrasi ekstrak dengan zona hambat (Gilmore & Denyer, 2011). Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi ekstrak yang digunakan dengan zona hambat yang didapatkan menunjukkan korelasi berada pada zona C, artinya ekstrak memiliki aktivitas tetapi tidak poten terhadap *P. aeruginosa* sensitif ATCC 27853 (Gambar 2).

Kontrol positif piperasilin 110 µg/disk merupakan antibiotik golongan penisilin yang memiliki spektrum luas yang meliputi sebagian galur *P. aeruginosa* (Nurmala *et al.*, 2015). Antibiotik piperasilin menghambat *P. aeruginosa* ATCC 27853 sebesar $23 \pm 2,18$ mm. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik piperasilin sensitif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO yang diteteskan pada disk kosong yang sudah disterilkan. Kontrol negatif yaitu pelarut yang digunakan untuk memastikan bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi hasil pada uji antibakteri. Hasil

zona hambat kontrol negatif terhadap *P. aeruginosa* ATCC 27853 yaitu 0 mm (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri.

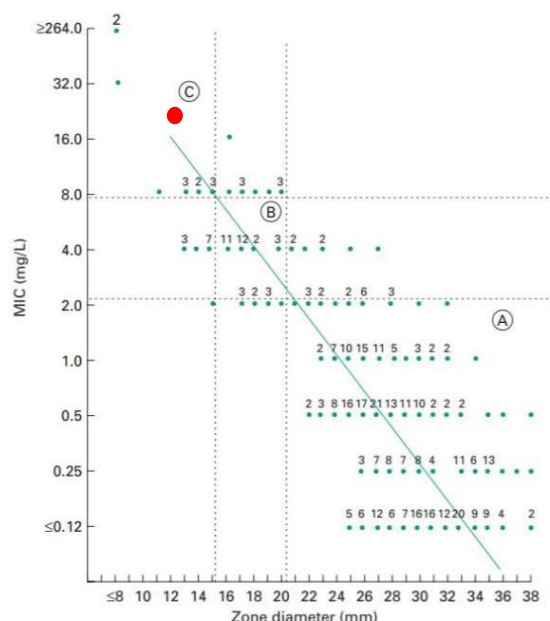
Hasil uji normalitas didapatkan hasil $p\text{-value} < 0,05$ yang berarti data tidak terdistribusi normal, selanjutnya dilanjutkan dengan uji homogenitas. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai $p\text{-value} < 0,05$. Data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen sehingga dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Hasil yang didapatkan dari uji Kruskal Wallis $p\text{-value} < 0,05$. Hasil ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna dari setiap seri konsentrasi.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853. Ekstrak daun sambung nyawa (A), ekstrak daun pegagan (B), ekstrak daun ketepeng china (C), ekstrak daun bayam merah (D)

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri empat tanaman terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

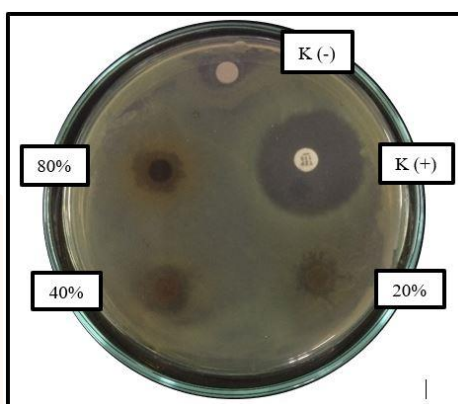
Sampel	Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata	SD
		Orientasi	Replikasi 1	Replikasi 2			
Daun Sambung nyawa	20%	7	7	7	21	7	0
	40%	7	7	7	21	7	0
	80%	7	7	7,5	21,5	7,2	0,29
Daun Pegagan	20%	7	7	7	21	7	0
	40%	7	7	7,5	21,5	7,2	0,29
	80%	8	8,5	7,5	24	8	0,50
Daun Ketepeng china	20%	7	7	7	21	7	0
	40%	7,5	7,5	9	24	8	0,87
	80%	8	8,5	8	24,5	8,2	0,29
Daun Bayam merah	20%	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	-	-	-
	40%	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	-	-	-
	80%	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	-	-	-
K- (DMSO)		Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	-	-	-
K+ (Piperacillin)		25,5	22	21,5	69	23	2,18



Gambar 2. Grafik korelasi antara konsentrasi ekstrak dan diameter zona hambat

Uji aktivitas antibakteri resisten

Ekstrak tanaman yang diuji aktivitas antibakterinya pada *Pseudomonas aeruginosa* resisten hanya ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada uji antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif. Hasil uji ekstrak ketepeng cina terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten (Gambar 3) didapatkan rata-rata zona hambat sebesar $9,17 \pm 0,29$ pada konsentrasi 20%, $9,50 \pm 2,60$ pada konsentrasi 40%, dan pada konsentrasi 80% sebesar $13,67 \pm 1,15$ (Tabel 3). Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas didapatkan $p\text{-value} < 0,05$ yang menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen sehingga perlu dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan didapatkan $p\text{-value} > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna dari setiap konsentrasi.



Gambar 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak ketepeng cina terhadap *Pseudomonas aeruginosa* resisten

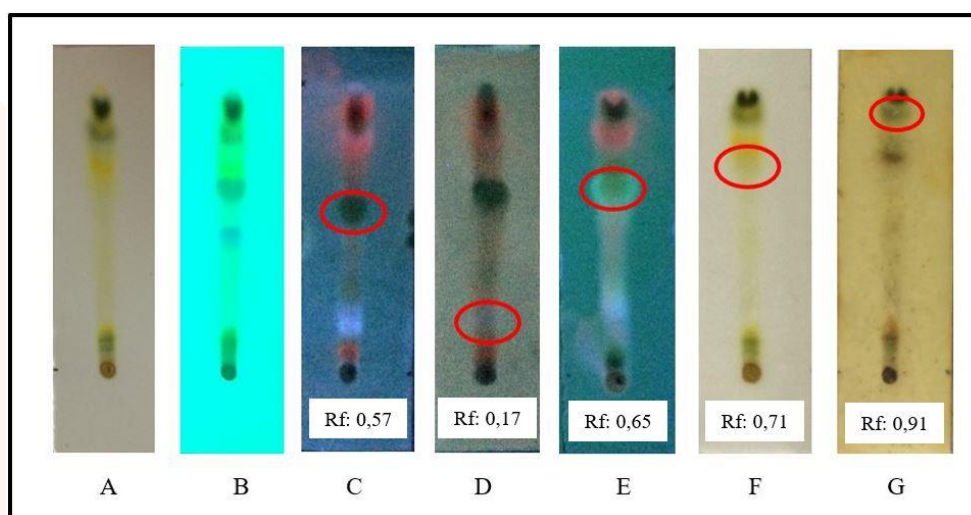
Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak ketepeng cina terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten

Sampel	Konsentrasi	Zona hambat (mm)			Total	Rata-rata	SD
		Orientasi	Replikasi 1	Replikasi 2			
Daun Ketepeng Cina	20%	9	9,50	9	27,50	9,17	0,29
	40%	8	8	12,5	28,50	9,50	2,60
	80%	13	15	13	41	13,67	1,15

Analisis kandungan senyawa

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk menganalisis kandungan senyawa pada ekstrak. Prinsip analisis menggunakan KLT yaitu pemisahan komponen kimia yang berdasarkan adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam dan fase gerak. Komponen kimia kemudian bergerak ke atas mengikuti fase gerak karena terdapat daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia yang tidak sama yang menyebabkan komponen kimia dapat bergerak dengan jarak berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya. Hal ini yang mengakibatkan terjadinya pemisahan komponen-komponen kimia di dalam ekstrak (Alen *et al.*, 2017).

Hasil dari optimasi fase gerak diperoleh n-heksan : etil asetat (4:6) yang mampu memberikan pemisahan paling baik senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun ketepeng cina. Sampel yang ditotolkan pada lempeng KLT yaitu ekstrak ketepeng cina dengan konsentrasi 20%. Pada penelitian ini sampel yang ditotolkan pada lempeng KLT yaitu sebanyak 0,5 µL. Untuk menentukan golongan senyawa yang ada pada ekstrak ketepeng cina pada hasil uji KLT dilakukan penyemprotan dengan beberapa pereaksi. Golongan senyawa yang akan dianalisis dari ekstrak ketepeng cina adalah flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin, dan senyawa fenolik. Reagen semprot yang digunakan yaitu sitroborat, anisaldehyd, Dragendorff, Lieberman-Burchard, dan FeCl₃. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil KLT ekstrak tanaman ketepeng cina dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (4:6) dan fase diam silica gel GF254 sebelum penyemprotan diamati pada sinar tampak (A), sinar UV 254 nm (B), Liebermann-Burchard pada UV 366 nm (C), anisaldehyd (D), sitroborat (E), Dragendorff (F), FeCl₃ (G).

Tabel 4. Data hasil analisis senyawa di dalam ekstrak ketepeng cina

Rf	Sinar Tampak	UV 254	Anisaldehyd UV 366	Reagen semprot			Dragendorff sinar tampak	Kandungan senyawa
				Sitroborat UV 366	*LB UV 366	FeCl ₃ sinar tampak		
0,17	Kuning	-	Violet	-	-	-	-	Saponin, terpenoid
0,57	-	-	-	-	Hijau	-	-	Steroid
0,65	Kuning	Abu-abu	-	Hijau kekuningan	-	-	-	Flavonoid
0,71	Kuning	Kuning	-	-	-	-	Coklat	Alkaloid
0,91	Abu-abu	Abu-abu	-	-	-	Abu-abu kehitaman	-	Tanin

*LB : Liebermann-Burchard

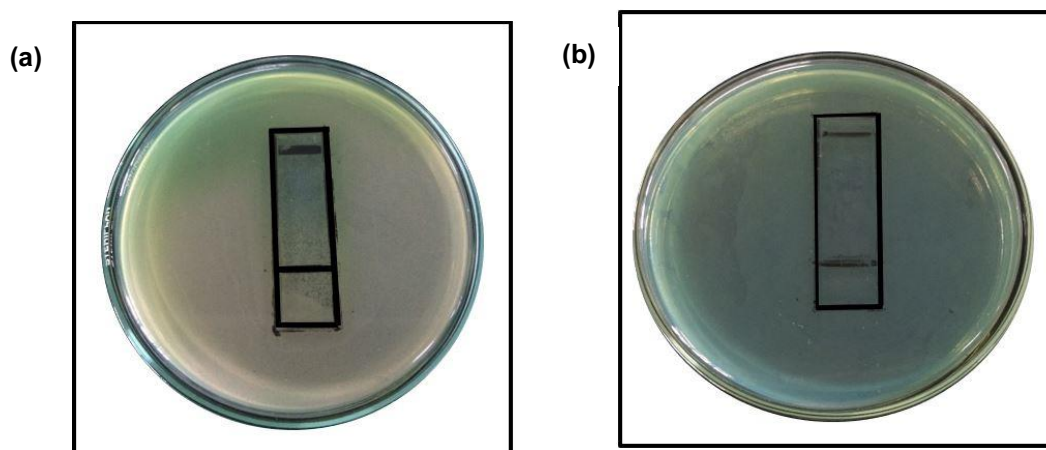
Reagen Liebermann-Burchard digunakan untuk mendeteksi senyawa steroid dan triterpenoid yang menghasilkan warna biru atau hijau pada UV 366 nm (Wagner & Bladt, 1996). Warna hijau terlihat pada Rf 0,57 yang dideteksi pada UV 366 nm (Gambar 4). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya dimana ketepeng cina mengandung senyawa steroid (Sule *et al.*, 2010). Sitroborat merupakan reagen untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid yang memberikan warna kuning kehijauan dan biru pada UV 366. Warna hijau kekuningan pada Rf 0,65 yang menunjukkan ketepeng cina memiliki kandungan flavonoid di dalamnya.

Penyemprotan menggunakan reagen anisaldehyd dilakukan untuk mengidentifikasi adanya senyawa saponin yang jika diamati pada UV 366 menghasilkan warna violet (Wagner & Bladt, 1996). Warna violet berada pada Rf 0,17. Menurut Sule *et al.* (2010) ketepeng cina memiliki kandungan senyawa terpenoid dan saponin. Pereaksi semprot Dragendorff digunakan untuk mendeteksi alkaloid (Wagner & Bladt, 1996). Bercak berwarna coklat pada Rf 0,71. Pada sinar tampak alkaloid yang direaksikan dengan reagen Dragendorff akan menghasilkan warna coklat atau oranye-coklat (Wagner & Bladt, 1996).

Senyawa tanin dan polifenol akan bereaksi dengan penyemprotan FeCl₃ dan akan memberikan bercak berwarna abu-abu, hijau sampai biru (Harbone, 1987). Bercak berwarna abu-abu kehitaman pada Rf 0,91. Hasil ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya dimana ketepeng cina memiliki kandungan tanin (Sule *et al.*, 2010).

Uji bioautografi

Uji bioautografi dilakukan untuk menganalisis adanya senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Hasil uji bioautografi pada penelitian ini tidak terdapat adanya noda zona hambat dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853 maupun resisten yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa tertentu (Gambar 5). Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang bertanggung jawab dalam aktivitas antibakteri pada ekstrak ketepeng cina belum dapat dianalisis. Hal ini dapat disebabkan karena terlalu sedikitnya jumlah ekstrak yang ditotolkan pada lempeng KLT yaitu 0,5 µL sehingga tidak mampu menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853 dan resisten.



Gambar 5. Hasil bioautografi ekstrak ketepeng cina terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853 (a), bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten (b)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa, pegagan, dan ketepeng cina memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853. Ekstrak daun bayam merah tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853.

Ekstrak daun ketepeng cina memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dari ketiga tanaman yang lain sehingga dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* resisten. Hasil menunjukkan ekstrak daun ketepeng cina juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* resisten. Golongan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* sensitif ATCC 27853 dan resisten belum dapat dideteksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alen, Y., Agresa, F.L. and Yuliandra, Y. (2017). Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan aktivitas antihiperurisemia ekstrak rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), pp. 146–152.
- Arumugam, T. Ayyanar, M. Pillai, Y.J.K., Sekar, T. (2011). Phytochemical screening and antibacterial activity of leaf and callus extracts of *Centella asiatica*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 6(1), pp. 55–60. doi: 10.3329/bjp.v6i1.8555.
- Aryanti, Harsojo, Syafria, Y., dan Ermayanti, T.M. (2007). Isolasi dan uji antibakteri batang Sambung nyawa (*Gynura procumbens* Lour) umur panen 1, 4, dan 7 bulan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(2), pp. 43–45.
- Bakhtara, D.D.A., Jubahar, J. dan Yusdi, E. (2018). Uji aktivitas fraksi dari ekstrak daun Sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Higea*, 10(1), pp. 10–18. <http://dx.doi.org/10.52689/higea.v10i1.175>.
- Fauzana, D.L., Chilwan, P., dan Chaidir. (2010). Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi dan reperiokolasi terhadap rendemen ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

- Gellatly, S.L. and Hancock, R.E.W. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: New insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and Disease*, 67(3), pp. 159–173. doi: 10.1111/2049-632X.12033.
- Harbone, J.B. (1987). *Metode fitokimia : penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Gilmore, B.F. and Denyer, S.P. (2011). *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*, 8th edn. Oxford: Blackwell Publishing.
- Kagan, I.A. and Flythe, M.D. (2014). Thin-layer Chromatographic (TLC) separations and bioassays of plant extracts to identify antimicrobial compounds. *Journal of Visualized Experiments*, (85), pp. 1–8. doi: 10.3791/51411.
- Mayasari, E. (2005). *Pseudomonas aeruginosa*; karakteristik, infeksi dan penanganan. Medan: USU Repository.
- Nurmala, N., Virgiandy, I., Andriani, A., Liana, D.F. (2015). Resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak tahun 2011-2013. *e Jurnal Kedokteran Indonesia*, 3(1), pp. 21–28.
- Ochoa S.A., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L.B., López-Martínez, B., et al. (2013). Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formatio. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 70(2), pp. 133–144.
- Poeloengan, M., Andriani, Susan, M.N., Komala, I. dan Hasnita, M. (2007). Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit batang bungur (*Lagerstoremia speciosa* Pers) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Institut Pertanian Bogor.
- Pulipati, S., Srinivasa, B.P. and Lakshmi, N.M. (2015). Phytochemical analysis and antibacterial efficacy of *Amaranthus tricolor* (L) methanolic leaf extract against clinical isolates of urinary tract pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 9(20), pp. 1381–1385. doi: 10.5897/ajmr2015.7294.
- Refdanita, R., Maksum, R., Nurgani, A., dan Endang, P. (2004). Pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif rumah sakit Fatmawati jakarta tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*, 8(2), pp. 41–48.
- Rukmono, P. and Zuraida, R. (2016). Uji kepekaan antibiotik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* penyebab sepsis neonatorum. *Sari Pediatri*, 14(5), pp. 332–336. doi: 10.14238/sp14.5.2013.332-6.
- Setiawansyah, A., Hakim, A. and Wirasisya, D. G. (2018). Evaluation and identification of antibacterial compound of neem leaves and barks (*Azadirachta indica* A.Juss) against *Escherichia coli*. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 11(2), pp. 40–48.
- Sule, W., Okonko, I.O., Joseph, T.A., Ojezele, M.O., Nwanze, J., Adeolu, A.J., et al. (2010). In vitro antifungal activity of *Senna alata* Linn. Crude Leaf Extract. *Research Journal of Biological Sciences*, 5(3), pp. 275–284. doi: 10.3923/rjbsci.2010.275.284.
- Wagner, H. and Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-00574-9.
- Yacob, T. dan Endriani, R. (2010). Daya antibakteri ekstrak etanol Ketepeng china (*Senna alata*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Natur Indonesia*, 13(1), pp. 63–66. DOI: 10.31258/jnat.13.1.63-66.