

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Pengaruh Asam Sitrat Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri pada Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

The Effect of Citric Acid on Antioxidant and Antibacterial Activities of Butterfly Flower Extract (*Clitoria ternatea* L.)

Marsauli Manalu¹, Dwi Aditiyarini^{1*}, Aniek Prasetyaningsih¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

*Email: dwiaditiyarini@staff.ukdw.ac.id

INTISARI

Antosianin merupakan senyawa utama dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan. Dalam pemanfaatannya, seduhan telang dicampur dengan air perasan jeruk yang menyebabkan adanya perubahan warna. Perubahan warna mengindikasikan adanya perubahan struktur kimia pada antosianin. Namun perubahan aktivitas farmakologis akibat penambahan bahan ini belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh asam sitrat terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri bunga telang. Penelitian ini diawali dengan ekstraksi bunga telang pada tiga perlakuan asam yaitu tanpa penambahan asam, pH 2 dan pH 4 dengan penambahan asam sitrat. Skrining fitokimia, uji daya hambat dan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap tiga ekstrak. Skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, alkaloid dan antosianin. Ekstrak bunga telang dari pH 2 memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan dua perlakuan lainnya dengan nilai IC₅₀ 136 ppm yang dikategorikan aktivitas antioksidan sedang. Hasil uji daya hambat menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi pada ekstrak pH 2 dengan diameter zona hambat sebesar 39 ± 0,153 mm pada *Staphylococcus aureus* dan 28 ± 0,10 mm pada *Escherichia coli*, yang tergolong sangat kuat. Selain itu, Melalui penelitian ini diketahui bahwa penambahan asam sitrat dalam ekstraksi bunga telang meningkatkan aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak bunga telang.

Kata kunci: antibakteri, antioksidan, ekstrak bunga telang, pH.

ABSTRACT

Anthocyanin is a main compound in Telang flower (*Clitoria ternatea* L.) which is potential as antioxidant source. When it is consumed, telang infusion water is mixed with orange or lime juice to improve its taste and color. The change of color indicates the changes of chemical structures of its anthocyanin. However, the information about its pharmacological activities after added by orange or lime juice is not known. This study is aimed to analyze the effect of citric acid on the antioxidant and antibacterial activity of butterfly flower extract. This study starts with the extraction of butterfly flower powder at three conditions, which are without addition of acid, pH 2 and pH 4 with addition of citric acid. Phytochemical screening, inhibition and antioxidant activity were carried out on all extracts. Phytochemical assay showed the presence of tannin, saponin, terpenoid, flavonoid, alkaloid, and anthocyanins in extract from all treatments. This extract also had the highest antioxidant activity with IC₅₀ 136 ppm which was categorized as moderate activity. The inhibition test resulted the highest antibacterial activity at pH 2 extract with an inhibition zone diameter of 39 ± 0.153 mm in *Staphylococcus aureus* and 28 ± 0.100 mm in *Escherichia coli*, which were classified as very strong activity. This study

presents that addition of citric acid in butterfly pea extraction is potential to increase the antioxidant and antibacterial activity of this extract.

Keyword: antibacterial, antioxidant, butterfly flower extract, pH

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang diperlukan tubuh untuk menangkal radikal bebas penyebab kerusakan sel. Tubuh dapat terpapar radikal bebas dari lingkungan seperti polusi, intensitas sinar UV yang berlebih, suhu, dan bahan kimia. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan yang cukup untuk menangkal serangan radikal bebas tersebut sehingga membutuhkan suplai antioksidan eksogen.

Masyarakat telah memanfaatkan kekayaan alam di Indonesia dalam pengobatan tradisional. Kandungan senyawa alami pada tanaman diyakini ampuh dalam mencegah serta mengobati berbagai masalah kesehatan. Bunga telang (*C. ternatea* L.) merupakan bunga majemuk yang identik dengan warna ungu pada kelopakinya. Ekstrak bunga telang (*C. ternatea* L.) dimanfaatkan sebagai pewarna alami pada makanan, kosmetik dan obat.

Bunga telang (*C. ternatea* L.) diketahui memiliki komponen utama yang berperan sebagai pewarna alami yaitu kandungan pigmen antosianin. Menurut penelitian (Al-Snafi, 2016), bunga telang mengandung berbagai senyawa aktif seperti antosianin, flavonoid, saponin, tanin, protein, karbohidrat, fenol, alkaloid, dan triterpenoid. Kandungan senyawa aktif bunga telang tersebut berpotensi sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, dan antiinflamasi (Makasana *et al.*, 2017). Menurut penelitian Pertiwi *et al.* (2022), ekstrak bunga telang diketahui memiliki kemampuan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan zona hambat sebesar 6,20 mm. Studi oleh Frisca *et al.* (2021) menunjukkan kemampuan antibakteri ekstrak bunga telang pada bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan zona hambat sebesar 8,8 mm. Ekstrak bunga telang banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit serta dapat diolah menjadi berbagai produk pangan.

Masyarakat umumnya mengkonsumsi ekstrak bunga telang dengan cara tradisional yaitu menyeduhnya seperti teh. Namun, Ekstrak bunga telang tidak memiliki rasa atau hambar. Oleh karena itu, masyarakat menambahkan perasan lemon atau jeruk nipis pada seduhan bunga telang untuk menambahkan rasa dan aroma. Namun, penambahan bahan lain memberikan perubahan warna yang mengindikasikan perubahan struktur antosianin. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh keasaman terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) pada dua bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi Bunga Telang

Ekstraksi bunga telang dilakukan sesuai prosedur dari (JFrisca *et al.* (2021). Bunga telang segar dikeringanginkan selama 3 hari. Kemudian sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. Setelah pengeringan, sampel dihaluskan menjadi serbuk berukuran 200 mesh. Ekstraksi dilakukan melalui metode maserasi yang terdiri dari 3 sampel yaitu ekstrak tanpa penambahan asam, ekstrak pH 2, dan ekstrak pH 4 dimana pengatur keasaman dilakukan dengan penambahan asam sitrat. Serbuk bunga telang (*C. ternatea* L.) sebanyak 250 g direndam dengan etanol 96% sebanyak 2500 mL selama 3 hari dengan perbandingan 1:10. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan serbuk asam sitrat hingga mencapai pH target yaitu pH 2 dan pH 4. Kemudian maserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan oven untuk mendapatkan ekstrak kental. Berat ekstrak ditimbang untuk menghitung rendemen ekstrak yang diperoleh.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tanin dan antosianin. Uji alkaloid dilakukan dengan penambahan 1 mL pereaksi mayer pada 40 mg sampel. Reaksi positif ditunjukkan dengan pembentukan endapan warna merah atau keruh (Mahmiah *et al.*, 2017). Keberadaan flavonoid dideteksi dengan penambahan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat pada 40 mg ekstrak, kemudian hasil positif apabila warna berubah menjadi warna merah, kuning atau jingga (Wijaya *et al.*, 2014). Hasil positif saponin ditunjukkan dengan pembentukan busa yang stabil selama ± 7 menit setelah ekstrak 40 mg ditambahkan 2 tetes pereaksi HCl 1 N dan dikocok. Uji terpenoid dilakukan dengan penambahan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat ke dalam 100 mg ekstrak. Hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan warna merah atau ungu. Menurut Simaremare (2014), ekstrak positif tanin ditunjukkan dengan adanya warna biru tua atau hitam setelah 40 mg ekstrak ditambahkan 1 mL pereaksi FeCl₃ 10%. Uji antosianin dilakukan berdasarkan Harborne (1984) dengan pereaksi HCl dan NaOH yang ditambahkan pada 0,5 g ekstrak. Hasil positif antosianin bila warna berubah menjadi hijau.

Uji antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH menggunakan *microplate reader*. Larutan stok sampel 6400 ppm dipersiapkan dengan melarutkan 0,64 g ekstrak kental dalam 100 mL etanol 96%. Sampel uji dengan konsentrasi 100, 200, 400, 600, 800, 3200, dan 6400 ppm disiapkan dari larutan stok tersebut dengan pelarut etanol 96%. Kontrol positif berupa vitamin C dengan kemurnian 99% (Merck). Sebanyak 100 μ L sampel dari setiap variasi konsentrasi ditambahkan 50 μ L larutan DPPH 40 ppm ke dalam *96-well clear polystyrene microplate*. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang 520 nm. Nilai DPPH yang dinyatakan sebagai persen inhibisi (% inhibisi) dihitung berdasarkan persamaan berikut ini :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{(A_{\text{kontrol}})} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{kontrol} = Absorbansi DPPH

A_{sampel} = Absorbansi DPPH + sampel

Data yang diperoleh diplotkan dalam sebuah kurva linear standar dengan nilai konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Selanjutnya ditentukan nilai *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat merendam radikal bebas DPPH sebanyak 50% dengan menggunakan persamaan regresi linear $y=ax+b$.

Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu pembuatan medium NA, pembuatan medium NB, pembuatan medium MHA, konfirmasi tahap peremajaan, dan pengujian aktivitas antibakteri. Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode Kirby-bauer (*disk diffusion*). Kontrol negatif berupa Aquadest steril dan kontrol positif adalah antibiotik ciprofloxacin lactate 200 mg/100 mL (Hexapharm Jaya, A Kalbe Company). Ekstrak bunga telang sebanyak 20 μ L direndam ke dalam paper disk lalu diletakkan ke dalam *petridish* yang berisi media MHA dan telah diinokulasi bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada 37°C. Setiap perlakuan dalam uji ini diulang sebanyak tiga kali.

Analisis Data

Pada hasil pengujian aktivitas antioksidan dan rendemen ekstrak dilakukan analisis secara deskriptif kualitatif. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode *diffusion disc*, dianalisis secara statistika menggunakan perangkat lunak IBM SPSS 21. Distribusi data yang didapat dilakukan analisis parametrik dengan metode *Analysis of variance* (ANOVA) yang memiliki tingkat kepercayaan 95% dengan *Post-hoc* Tukey dan Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pH Terhadap Rendemen dan Karakteristik Ekstrak

Ekstrak bunga telang diperoleh melalui maserasi dengan pelarut etanol selama 3 hari pada 3 perlakuan yang berbeda yaitu tanpa penambahan asam, pH 2 dan pH 4. Rendemen ekstrak bunga telang disajikan dalam Tabel 1. Nilai rendemen ekstrak dari setiap perlakuan berbeda-beda. Rendemen tertinggi sebesar 78,8 % diperoleh pada perlakuan pH 2, diikuti oleh pH 4 dan tanpa asam.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) pada Variasi pH

Perlakuan	Berat Basah (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Tanpa asam	100	47	47,0
pH 2	250	197	78,8
pH 4	250	155	62,0

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa kondisi asam dapat meningkatkan rendemen ekstrak. Studi yang dilakukan oleh Putnik *et al.* (2016) menunjukkan ekstraksi kulit anggur pada kondisi asam dengan 0,5 dan 1 % HCl menghasilkan kandungan flavonoid, proanthocyanin, anthocyanin dan flavonol lebih tinggi dibandingkan pada kondisi tanpa HCl. Studi lain oleh Aditiyarini & Iswuryani (2021) juga menunjukkan nilai rendemen ekstrak bunga telang tertinggi sebesar 87% pada kondisi asam, pH 1 dengan perlakuan HCl 1 M dan rasio sampel/pelarut sebesar 1:20. Ekstraksi pada kondisi asam dapat meningkatkan proses denaturasi membrane seluler sehingga meningkatkan pelepasan senyawa fenolik dan total fenol dari dinding sel tanaman (Putnik *et al.*, 2016). Selain itu, kondisi asam juga dapat mencegah degradasi oksidatif flavonoid (Dzah *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini, pengaturan keasaman dilakukan dengan asam sitrat. Hal ini untuk mensimulasikan kondisi penggunaan air perasan lemon maupun jeruk nipis ke seduhan telang. Jus lemon dan jus jeruk nipis diketahui kaya akan asam sitrat sebesar 1,4 dan 1,38 g/oz berturut-turut (Penniston *et al.*, 2008). Studi yang dilakukan oleh Le *et al.* (2019) menunjukkan kestabilan anthocyanin yang tinggi pada kondisi ekstraksi dengan asam sitrat

3-5 g/L yaitu pH 2,39-2,57. Pada pH rendah, molekul sianidin pada ekstrak bunga telang terprotonasi menghasilkan kation flavylum yang stabil akibat adanya ikatan rangkap terkonjugasi (Aditiyarini & Iswuryani, 2021).

Syahirah *et al.* (2018) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ion H⁺ pada kondisi asam menyebabkan reduksi gugus keton pada cincin kuinon sehingga menghasilkan gugus hidroksi pada kation flavylum yang ditandai dengan pembentukan warna merah pada sampel. Hal ini sesuai dengan penelitian ini yaitu warna merah pada ekstrak di perlakuan pH 2 dan 4, sedangkan warna biru kehijauan pada perlakuan tanpa asam. Penambahan asam sitrat dalam jumlah besar dapat menyebabkan terjadinya proses kopigmentasi antara antosianin dan asam organik pada ekstrak sehingga memberikan kestabilan warna (Le *et al.*, 2019).

Senyawa Fitokimia Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol bunga telang pada berbagai perlakuan. Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 2. Hasil menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tanin dan antosianin pada ekstrak bunga telang dari semua perlakuan yaitu tanpa penambahan asam, pH 2 dan pH 4.

Tabel 1. Senyawa Fitokimia pada Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Senyawa Fitokimia	Hasil		
	Tanpa Asam	pH 2	pH 4
Alkaloid	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Saponin	+	+	+
Terpenoid	+	+	+
Tanin	+	+	+
Antosianin	+	+	+

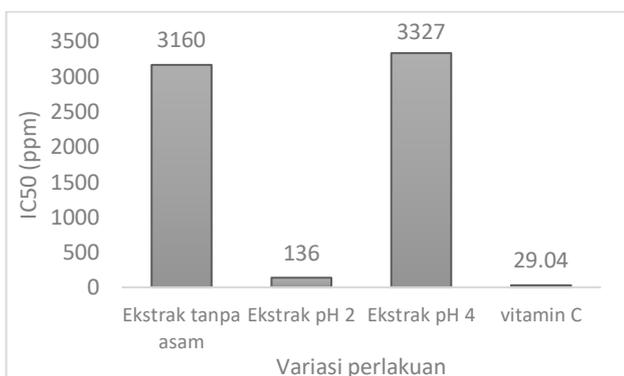
Data menunjukkan bahwa perlakuan pH selama proses ekstraksi tidak berpengaruh pada keragaman metabolit sekunder yang diperoleh pada ekstrak bunga telang. Dalam studi ini, metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan merupakan dua faktor penting penentu

keragaman metabolit sekunder yang diperoleh selama proses ekstraksi.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Telang pada Berbagai Perlakuan

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak bunga telang dari berbagai perlakuan dalam menangkal radikal bebas. Aktivitas antioksidan dari ketiga ekstrak dilihat dari kemampuan ekstrak dalam menghambat 50% radikal bebas yang dinyatakan dalam *inhibition concentration* 50 (IC_{50}). Nilai IC_{50} ekstrak bunga telang dari tiga perlakuan disajikan pada Gambar 1.

Vitamin C digunakan sebagai standar dalam pengujian ini. Nilai IC_{50} vitamin C sebesar 29,04 ppm, yang dapat digolongkan sangat kuat. Menurut (Molyneux, 2004), suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika memberikan nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat jika nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} antara 100-150 ppm, lemah jika nilai IC_{50} antara 151-200 ppm dan sangat lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm. Vitamin C digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang pada berbagai perlakuan. Apabila nilai IC_{50} sampel sama atau mendekati IC_{50} vitamin C maka sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan yang sangat kuat.



Gambar 1. Nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC_{50}) ekstrak bunga telang pada berbagai perlakuan.

Ekstrak bunga telang pada perlakuan tanpa asam, pH 2 dan pH 4 memberikan nilai IC_{50} secara berurutan sebesar 3160, 136, dan 3327 ppm, yang dapat digolongkan sangat lemah, sedang dan sangat lemah. Berdasarkan data tersebut, tidak ada ekstrak bunga telang yang memiliki kekuatan antioksidan mendekati vitamin C. Namun ekstrak bunga telang dari perlakuan pH 2 memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan ekstrak bunga telang dari perlakuan tanpa asam maupun pH 4.

Kemampuan ekstrak bunga telang sebagai antioksidan disebabkan oleh adanya kandungan antosianin dan senyawa fenolik. Dalam skrining fitokimia, diketahui bahwa ekstrak bunga telang dari tiga perlakuan mengandung kelompok metabolit sekunder yang sama. Perbedaan kemampuan antioksidan masing-masing ekstrak dari tiap perlakuan dapat dipengaruhi oleh nilai kuantitatif antosianin pada masing-masing ekstrak.

Aktivitas antioksidan yang tinggi pada ekstrak di pH 2 dapat disebabkan oleh kandungan antosianin yang lebih tinggi pada ekstrak tersebut. Studi oleh Aditiyarini dan Iswuryani (2021) menunjukkan kandungan total antosianin yang lebih tinggi pada pH 1 sebesar 1208,77 mg/L dibandingkan kondisi netral (pH 7) yaitu 362,92 mg/L pada kondisi ekstraksi yang sama. Kandungan antosianin yang tinggi berkontribusi pada aktivitas antioksidan yang tinggi pada ekstrak yang diperoleh dari kondisi asam.

Penelitian oleh Ingrid dan Iskandar (2016) juga menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi pada pH 2 dibandingkan pH 7 dan 12 dengan kemampuan penghambatan sebesar 78,7-92,9%. Dalam kondisi asam, dinding sel vakuola akan lebih mudah pecah sehingga senyawa fenol akan mudah terlarut dalam pelarut. Hal ini meningkatkan jumlah antosianin yang terkandung dalam ekstrak. Penelitian lain oleh Husna *et al.* (2022) juga menunjukkan tingkat penghambatan radikal bebas lebih tinggi pada kondisi ekstrak dengan pelarut asam sitrat (73,80%) dibandingkan pelarut etanol (46,74%). Hal ini dikarenakan keberadaan asam sitrat mampu mempertahankan kestabilan antosianin. Antosianin merupakan senyawa yang mudah

terdegradasi oleh panas maupun pH. Senyawa antosianin diketahui memiliki tingkat kestabilan lebih tinggi pada kondisi asam. Peningkatan pH mampu menyebabkan pergeseran struktur antosianin ke arah senyawa yang tidak stabil sehingga mudah terdegradasi oleh lingkungan. Oleh karenanya, kestabilan antosianin juga perlu diperhatikan untuk mempertahankan aktivitas antioksidannya.

Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Bunga Telang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Skrining fitokimia pada studi ini menunjukkan potensi aktivitas farmakologis ekstrak bunga telang disebabkan oleh keragaman metabolit sekundernya. Dalam studi ini, dilakukan uji antibakteri ekstrak bunga telang dari 3 perlakuan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Daya hambat ekstrak bunga telang terhadap *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 3 dan *E. coli* pada Tabel 4.

Tabel 3. Daya Hambat Ekstrak Bunga Telang terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD	Kategori
Kontrol +	$38 \pm 0,265_{(c)}$	Sangat Kuat
Kontrol -	$0 \pm 0,000_{(a)}$	Tidak ada respon
Tanpa asam	$24 \pm 0,400_{(b)}$	Sangat Kuat
pH 2	$39 \pm 0,153_{(c)}$	Sangat Kuat
pH 4	$35 \pm 0,153_{(c)}$	Sangat Kuat

Keterangan: Kontrol positif: *Ciprofloxacin*, Kontrol negatif: Akuades steril. Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata.

Data pada Tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang pada berbagai perlakuan memiliki kemampuan penghambatan terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan kekuatan penghambatan yang bervariasi. Berdasarkan diameter zona hambat, (Davis & Scout, 1971) mengklasifikasikan zona hambat dalam 4

intensitas, yaitu > 20 mm, sangat kuat; 10-20 mm, kuat; 5-10 mm, sedang; dan < 5 mm, tidak ada respon.

Ekstrak bunga telang dari berbagai perlakuan memberikan diameter zona hambat di atas 20 mm terhadap *S. aureus* yang tergolong sangat kuat, yaitu $24 \pm 0,40$ mm untuk ekstrak perlakuan tanpa asam, $39 \pm 0,153$ mm untuk perlakuan pH 2 dan $35 \pm 0,153$ mm untuk perlakuan pH 4. Diameter zona hambat pada pH 2 lebih tinggi dibandingkan kontrol positif ($38 \pm 0,265$ mm). Kontrol positif yang digunakan adalah ciprofloxacin. Ciprofloxacin termasuk dalam kelompok antibiotik fluoroquinolone yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun negatif dengan mengganggu kerja enzim DNA gyrase yang bertugas dalam replikasi DNA (Fisher *et al.*, 1989). Hal ini menunjukkan potensi aktivitas ekstrak bunga telang pH 2 sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*.

Tabel 4. Daya Hambat Ekstrak Bunga Telang terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*

Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD	Kategori
Kontrol +	$34 \pm 0,173_{(e)}$	Sangat Kuat
Kontrol -	$0 \pm 0,000_{(a)}$	Tidak ada respon
Tanpa asam	$7 \pm 0,058_{(b)}$	Sedang
pH 2	$28 \pm 0,100_{(c)}$	Sangat Kuat
pH 4	$11 \pm 0,100_{(d)}$	Kuat

Keterangan: Kontrol positif: *Ciprofloxacin*, Kontrol negatif: Akuades Steril. Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata.

Berdasarkan data pada Tabel 4, ekstrak dari tiga perlakuan memberikan diameter zona hambat yang berbeda dengan intensitas daya hambat yang bervariasi. Diameter zona hambat dan intensitas dari ekstrak tanpa perlakuan asam, pH 2 dan pH 4 terhadap *E. coli* secara berturut-turut sebesar $7 \pm 0,058$ mm, sedang; $28 \pm 0,100$

mm, sangat kuat; dan $11 \pm 0,100$ mm, kuat. Ekstrak pH 2 memiliki intensitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* yang paling tinggi dibandingkan ekstrak dari dua perlakuan yang lain. Data tersebut menunjukkan potensi ekstrak pH 2 untuk diteliti dan dikembangkan lebih lanjut terkait kandungan metabolit sekundernya hingga aktivitas farmakologisnya sebagai antibakteri.

Data skrining fitokimia menunjukkan kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tannin dan antosianin pada ekstrak. Kelompok metabolit tersebut mampu bertindak sebagai agen antibakteri. Menurut (Cushnie & Lamb, 2005), terdapat tiga aksi flavonoid sebagai antibakteri yaitu (1) menghambat sintesis asam amino, (2) menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi. Saponin bekerja dengan berikatan dengan liposakarida pada dinding sel bakteri sehingga terjadi peningkatan permeabilitas sensing sel dan penurunan tegangan permukaan dinding sel sehingga terjadi lisis (Sari *et al.*, 2015). Menurut Retnowati *et al.* (2011), alkaloid mampu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga sel tidak terbentuk secara sempurna. Senyawa tannin mampu melewati dinding sel hingga membran dalam, mengganggu metabolisme sel dan merusak sel (Kaczmarek, 2020)

Variasi nilai zona hambat yang dihasilkan dari setiap perlakuan pada studi ini disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak. Menurut Dharmawan *et al.* (1998), struktur kimia, komposisi, kandungan dan konsentrasi senyawa metabolit sekunder dapat mempengaruhi mekanisme dan letak kerjanya pada bakteri. Oleh karenanya, meskipun hasil skrining fitokimia dalam ekstrak dari ketiga perlakuan memberikan hasil yang sama pada kelompok metabolit sekundernya. Namun ada kemungkinan senyawa metabolit dan konsentrasinya pada ekstrak tersebut berbeda, sehingga menyebabkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, informasi kuantitatif mengenai kandungan metabolit sekunder perlu dilakukan pada studi selanjutnya. Selain itu, antosianin yang terkandung juga

memberikan dampak terhadap aktivitas antibakterinya. Menurut Ma *et al.* (2019), antosianin bertindak sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel bakteri melalui pembentukan ikatan hidrogen dan/atau interaksi hidrofobik. Oleh karena itu, kandungan antosianin yang tinggi pada pH 2 meningkatkan aktivitas antibakteri ekstrak yang dihasilkan dari pH 2. Aktivitas antibakteri antosianin juga dipengaruhi oleh kestabilan struktur senyawa tersebut. Antosianin diketahui lebih stabil pada pH rendah, yang ditandai dengan larutan berwarna merah akibat pembentukan ion flavilium (Wahyuningsih *et al.*, 2017).

Berdasarkan data zona hambat, dapat diketahui bahwa ekstrak bunga telang dari perlakuan pH 2 memberikan aktivitas antibakteri yang lebih baik dari dua perlakuan yang lain yaitu tanpa penambahan asam dan pH 4 terhadap Gram positif maupun Gram negatif. Namun, studi lanjut terkait data kuantitatif kelompok metabolit sekunder dan senyawa metabolit sekundernya perlu dikembangkan untuk memberikan hubungan pH dengan jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan pada perlakuan ini. Perbedaan intensitas daya hambat ekstrak dari perlakuan pH 2 dari kedua bakteri disebabkan oleh perbedaan fisiologis dan morfologi dari bakteri uji yang digunakan (Dharmawan *et al.*, 1998). Struktur dinding sel bakteri Gram positif yang lebih sederhana dibandingkan bakteri Gram negatif menyebabkan dinding sel lebih permeabel bagi senyawa fitokimia untuk masuk.

KESIMPULAN

Penambahan asam sitrat dalam proses ekstraksi bunga telang meningkatkan jumlah rendemen yang diperoleh, hingga mencapai 62-78,8%. Perlakuan dengan asam sitrat tidak berpengaruh terhadap keragaman senyawa fitokimia pada ekstrak bunga telang. Selain perubahan warna, penambahan asam sitrat hingga mencapai pH 2 mampu meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak menjadi kategori sedang dengan nilai IC₅₀ 136 ppm. Perlakuan pH 2 juga meningkatkan daya hambat ekstrak

dengan kategori kuat untuk *Staphylococcus aureus* dan sangat kuat untuk *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada seluruh staff dan laboran di laboratorium Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah membantu dan mendukung penelitian ini hingga penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiyarini, D and Iswuryani, E. O. 2021. Effect of various factors on anthocyanins extraction from butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Nova Biotechnologica et Chimica*. 20(1): 1–8.
- Al-Snafi, A. E. 2016. Pharmacological importance of *Clitoria ternatea* – A review. *IOSR Journal of Pharmacy*. 6(3): 68–83.
- Cushnie, T. P. T and Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343–356.
- Davis, W. W and Scout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 22(4): 659–665.
- Dharmawan, I. W. E. K. A., Kawuri, R dan Parwanayoni, M. S. 1998. Isolasi *Streptomyces spp* . pada Kawasan Hutan Provinsi Bali serta Uji Daya Hambatnya terhadap Lima Strain Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi*. 8(1): 1–6.
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C and Zhang, J. 2020. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*. 100547.
- Fisher, L. M., J. M. Lawrence., I. C. Josty., R. Hopewell., E. E. C. Margerrison and M. E. Cullen. 1989. Ciprofloxacin and the Fluoroquinolones. *The American Journal of Medicine*. 87. 2–8.
- Frisca, I. Z., N. Y. Lindawati dan L. Murtisiwi. 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ESBL. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*. 2(1): 1–7.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (2nd ed.). Chapman and Hall.
- Kaczmarek, B. 2020. Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterial-A Minireview. *Materials*. 13(3224): 1–13.
- Le, X. T., M. T. Huynh., T. N. Pham., V. T. Than., T. Q. Toan., L. G. Bach., and Trung, N. Q. 2019. Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of the Anthocyanin. *Processes*. 7(468): 15.
- Ma, Y., S. Ding., Y. Fei., G. Liu., H. Jang and J. Fang. 2019. Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Food Control*. 106.
- Mahmiah., G. W. Sudjarwo dan O.M, M. H. 2017. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang *Rhizopora mucronata* L. *Seminar Nasional Kelautan XII: “Inovasi Hasil Riset Dan Teknologi Dalam Rangka Penguatan Kemandirian Pengelolaan Sumber Daya Laut Dan Pesisir”*. 52–57.
- Makasana, J., B. Z. Dholakiya., N. A Gajbhiye., and S. Raju. 2017. Extractive determination of bioactive flavonoids from butterfly pea (*Clitoria ternatea* Linn.). *Research on Chemical Intermediates*. 43: 783–799.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.

- Songklanakarinn Journal of Science and Technology. 26(2): 211–219.
- Penniston, K. L., S. Y. Nakada., R. P. Holmes and D. G. Assimos. 2008. Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice , and Commercially-Available Fruit Juice Products. *Journal of Endourology*. 22(3): 567–570.
- Pertiwi, F. D., F. Rezaldi dan R. Puspitasari. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *E-Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 7(2): 57–68.
- Putnik, P., D. B. Kovačević and M. Radojčin. 2016. Influence of Acidity and Extraction Time on the Recovery of Flavonoids from Grape Skin Pomace Optimized by Response Surface Methodology. *Chem, Biochem, Eng, Q*. 30(4): 455–464.
- Retnowati, Y., N. Bialangi dan N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto. *Saintek*. 6(2): 1–9.
- Sari, I. P., M. A. Wibowo dan S. Arreneuz. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria leucospilota*) dari Pulau Lemukutan Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JKK*. 4(4): 21–28.
- Simaremare, E. S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*. 11(01): 98–107.
- Syahirah, N. F., M. U. Lutfi., M. Zulhelmi., M. A. Adzhan and P. Y. Khor. 2018. A Comparative Analysis of *Clitoria ternatea* Linn. (Butterfly Pea) Flower Extract as Natural Liquid pH Indicator and Natural pH Paper. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 17(1): 97–103.
- Wahyuningsih, S., L. Wulandari., M. W. Wartono., H. Munawaroh, H and A. H. Ramelan. 2017. The Effect of pH and Color Stability of Anthocyanin on Food Colorant. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 193(1): 1-9.
- Wijaya, D. P., J. E. Paendong dan J. Abidjulu. 2014. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Nasi (*Phrynium capitatum*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal MIPA UNSRAT*. 3(1): 11–15.