

Bab VI Hasil Dan Pembahasan

VI.1 Persiapan Simplisia

Persiapan simplisia meliputi pengumpulan bahan, determinasi dan pembuatan simplisia. Bahan diperoleh dari Perkebunan Daerah Taraju Tasikmalaya dan Balittro Bogor. Kemudian kelima tanaman dideterminasi di Laboratorium Sekolah Ilmu Teknologi Hayati (SITH) ITB. Hasil menunjukkan bahwa tanaman uji yang digunakan dalam penelitian adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides*), sembung (*Blumea balsamifera*), insulin (*Tithonia diversifolia*), afrika (*Vernonia amygdalina*), dan sambung nyawa (*Gynura procumbens*). Hasil determinasi terlampir pada Lampiran 1 - 5.

Proses pembuatan simplisia kelima tanaman diawali dengan memisahkan daun dari benda asing yang menempel pada daun dan bagian tanaman lain kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C hingga kering dan mudah hancur. Kemudian dilakukan pengecilan ukuran daun menggunakan alat penggiling hingga daun menjadi serbuk dan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat.

VI.2. Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas / mutu simplisia yang digunakan. Parameter yang digunakan pada kelima tanaman meliputi uji kadar abu total, kadar air, kadar sari larut etanol, dan kadar sari larut air. Hasil karakterisasi kelima tanaman dapat dilihat pada tabel VI.1.

Tabel VI.1 Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Afrika, Bandotan, Insulin, Sembung, dan Sambung Nyawa

Tanaman	Kadar abu total (%)	Kadar air (%)	Kadar sari larut air (%)	Kadar sari larut etanol (%)
Afrika	0,83	24,20	1,75	11,32
Bandotan	0,95	11,26	2,09	9,96
Insulin	0,61	6,90	1,93	9,33
Sembung	0,83	4,68	2,39	11,07
Sambung Nyawa	0,38	16,05	1,32	11,16

Penetapan kadar abu total menunjukkan kadar mineral, kemurnian, kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Dari kelima tanaman, kadar abu yang paling tinggi adalah kadar abu tanaman bandotan. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perlakuan ketika pada saat mencuci bagian tanaman yang diambil (daun) tidak bersih sehingga debu masih melekat pada daun dan terbawa hingga pembuatan simplisia. Adapun debu/partikel yang terbawa sulit untuk hilang pada pengabuan dengan suhu 500-600°C (Isnawati,dkk. 2004)

Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam simplisia. Kelima tanaman memenuhi syarat yaitu tidak melebihi dari 10 %. Hal ini menunjukkan kecilnya kemungkinan akan terjadi kontaminasi pada simplisia karena jika kelebihan air pada simplisia akan mendorong pertumbuhan mikroorganisme.

Penetapan kadar sari bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang terdapat dalam simplisia. Berdasarkan tabel di atas dapat

diketahui bahwa kelima tanaman memiliki kadar sari larut air lebih kecil dari pada kadar sari larut etanol yang berarti bahwa kelima tanaman lebih banyak terlarut pada pelarut etanol.

VI.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada tanaman simplisia dan ekstrak kelima tanaman. Penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi pengujian golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, kuinon, steroid/triterpenoid. Skrining dilakukan secara kualitatif dengan melihat adanya reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel VI.2.

Tabel VI.2 Hasil Skrining Fitokimia Tanaman Afrika, Bandotan, Insulin, Sembung, dan Sambung Nyawa

Uji	Tanaman									
	Afrika		Badotan		Insulin		Sembung		Sambung Nyawa	
	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E
Alkaloid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Tanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuinon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Steroid / Triterpenoid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(T)	(T)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)

Ket : S = Simplisia ; E = Ekstrak ; (+) = Terdeteksi ; (-) = Tidak terdeteksi

VI.4 Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi simplisia kelima tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dengan cara dingin yang tidak memerlukan pemanasan sehingga kecil kemungkinan rusaknya zat/senyawa yang terkandung dalam simplisia. Metode cara dingin dipilih adalah maserasi. Pemilihan metode ini karena sederhana dan tidak memerlukan peralatan khusus. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol dipilih karena sifatnya yang universal sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar.

Kelima simplisia ditimbang masing-masing sebanyak 300 gram kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam. Tiap 24 jam pelarut diganti dengan tujuan untuk mencegah kejenuhan. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Kemudian ekstrak kental yang diperoleh dilakukan fraksinasi dengan cara ekstraksi cair-cair (ECC) dengan menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Ekstrak kental ditimbang 20 gram dengan pelarut 100 ml (1:5). Ekstrak kental terlebih dahulu dilarutkan dengan metanol. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah dengan pelarut n-heksan lalu digojog, kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan yang berada di atas merupakan lapisan yang memiliki bobot jenis lebih rendah yaitu n-heksan sedangkan yang berada di lapisan bawah ada pelarut metanol-air. Kemudian pelarut metanol-air difraksinasi dengan pelarut etil asetat sehingga akan diperoleh tiga

fraksi yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi MeOH. Rendemen ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada tabel VI.3.

Tabel VI.3 Hasil Persentase Rendemen Ekstrak dan Fraksi Tanaman Afrika, Bandotan, Insulin, Sembung, dan Sambung Nyawa

	Tanaman				
	Afrika (%)	Bandotan (%)	Insulin (%)	Sembung (%)	Sambung Nyawa (%)
Ekstrak	8,72	9,43	13,63	8,20	5,57
n-Heksan	18,95	34,35	16,65	58,20	20,70
Etil Asetat	25,00	9,15	21,40	6,50	6,00
MeOH	41,55	62,70	36,95	23,40	49,55

VI.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi ekstrak etanol tanaman famili *Asteraceae* menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*. Adanya aktivitas penghambatan dengan variasi konsentrasi uji 1%, 5%, 10%, dan kontrol positif/pembanding ciprofloxacin 50ppm menunjukkan terbentuknya zona bening atau zona hambat disekitar cakram. Pada kontrol negatif Dimetil Sulfoksida (DMSO) 8% tidak terbentuk zona hambat disekitar cakram. Hal ini menunjukan bahwa pelarut DMSO 8% yang digunakan sebagai pelarut untuk melarutkan ekstrak dan pembuatan variasi konsentrasi tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri sehingga aktivitas antibakteri yang diperoleh berasal dari larutan uji bukan pelarut yang digunakan. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel VI.4.

Tabel VI.4 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Tanaman Afrika, Bandotan, Insulin, Sembung, dan Sambung Nyawa Terhadap Bakteri *Vibrio cholera*

	Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat (mm)				
		AF	BA	IN	SE	SN
Ekstrak	1%	8,03	0	9,07	0	0
	5%	9,55	0	13,30	0	0
	10%	11,80	0	16,13	0	0
Fraksi n-heksan	1%	0	0	6,20	0	0
	5%	8,87	0	11,20	0	0
	10%	10,77	0	15,50	0	0
Fraksi etil asetat	1%	8,00	0	9,47	7,00	7,50
	5%	13,78	6,15	15,00	7,97	7,43
	10%	16,42	8,17	18,80	10,27	7,97
Fraksi MeOH	1%	0	0	0	0	0
	5%	0	0	0	0	6,60
	10%	0	0	0	0	7,18
Pembanding		12,9	12,9	12,9	12,9	12,9

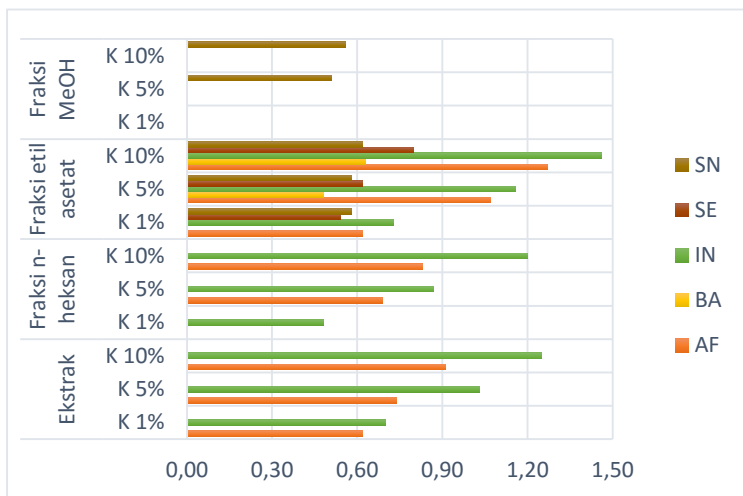
Ket : AF = Afrika ; BA = Bandotan ; IN = Insulin ; SE = Sembung ; SN = S.nyawa

Berdasarkan tabel VI.4 kelima tanaman memiliki aktivitas antibakteri. Fraksi etil asetat lebih aktif terhadap bakteri *Vibrio cholera*. Hasil zona hambat yang diperoleh dianalisa dengan menghitung AI dan PI kelima tanaman. Namun sebelumnya dilakukan penurunan konsentrasi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tiap tanaman. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada tabel VI.5.

Tabel VI.5 Hasil Uji Penentuan KHM Ekstrak dan Fraksi Tanaman Afrika, Bandotan, Insulin, Sembung, dan Sambung Nyawa Terhadap Bakteri *Vibrio cholera*

	Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat (mm)				
		AF	BA	IN	SE	SN
Ekstrak	0,25%	0		0		
	0,5%	0		7,3		
	0,75%	0		8,73		
	2%					
	3%					
	4%					
Fraksi n-heksan	0,25%			0		
	0,5%			0		
	0,75%			6,00		
	2%	7,35				
	3%	8,00				
	4%	8,50				
Fraksi etil asetat	0,25%	0		0	0	0
	0,5%	7,60		0	0	0
	0,75%	7,95		8,15	0	0
	2%		0			
	3%		0			
	4%		0			
Fraksi MeOH	0,25%					
	0,5%					
	0,75%					
	2%					0
	3%					0
	4%					0
Pembanding		12,9	12,9	12,9	12,9	12,9
Keterangan :		= tidak dilakukan pengujian				

AI dihitung untuk melihat aktivitas indeks kelima tanaman berdasarkan fraksi sedangkan PI untuk menentukan proporsi kelima tanaman sebagai antibakteri berdasarkan jumlah tes yang positif dibandingkan dengan jumlah test yang dilakukan. Perhitungan AI dan PI dapat dilihat pada Lampiran 11. AI dan PI dihitung untuk menentukan fraksi tanaman yang akan dilanjutkan ke tahap SEM. Activity Index kelima tanaman dapat dilihat pada Gambar VI.1.



Gambar VI.1 Activity Index Tanaman Famili Asteraceae

Berdasarkan Gambar VI.1 di atas tanaman afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki activity index tertinggi pada fraksi etil asetat pada konsentrasi 10% dengan AI = 1,27 dan diameter zona hambat yang terbentuk 16,42 mm melebihi dari pembanding Ciprofloxacin 50 ppm 12,9 mm. Sehingga tanaman afrika dengan fraksi Etil Asetat memiliki potensi sebagai antibakteri. Hal ini berbeda dengan penelitian Erasto (2006) yang mengatakan bahwa senyawa vernolid

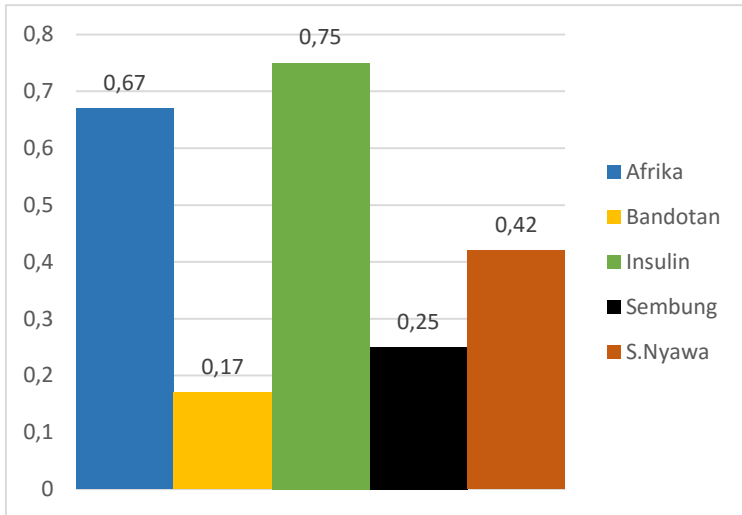
dan vernodalol pada tanaman afrika tidak aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri uji gram negatif. Hal ini karena perbedaan bakteri uji yang digunakan berbeda. Bakteri uji gram negatif yang digunakan Erasto adalah *Escherichia coli*, *Salmonella pooni*. *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* sedangkan pada penelitian ini *Vibrio cholera*.

Activity index tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides*) yang diperoleh hanya terdapat pada fraksi Etil Asetat dengan konsentrasi 5% dan 10% dengan AI 0,48 dan 0,63 lebih rendah dari tanaman Afrika. Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya (Anggara, 2017) yang menyatakan fraksi Metanol tanaman bandotan yang diambil dari daerah Pampangan, Sumatera Selatan lebih aktif terhadap bakteri *Vibrio cholera* dari pada fraksi Etil Asetat. Hal ini mungkin terjadi akibat daerah pengambilan sampel yang berbeda dimana pengambilan sampel pada penelitian ini diambil dari Daerah Perkebunan Taraju, Tasikmalaya.

Tanaman insulin (*Tithonia diversifolia*) memiliki aktivitas antibakteri di semua uji kecuali fraksi MeOH tidak memiliki aktivitas. Fraksi Etil Asetat dengan konsentrasi K3 (10%) memiliki activity index tertinggi dengan AI 1,46 melebihi AI tanaman afrika. Dan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk juga melebihi kontrol positif yaitu 18,80 mm yang tergolong kuat (Stout, 1971). Hal ini sesuai dengan penelitian Obafemi (2006) yang mengatakan bahwa fraksi etil asetat lebih aktif dari fraksi n-heksan dan MeOH terhadap bakteri uji gram positif dan bakteri gram negatif. Sesquiterpen lactone (SLs) diduga sebagai senyawa yang berperan sebagai antibakteri.

Activity index tanaman sembung (*Blumea balsamifera*) yang diperoleh hanya terdapat pada fraksi Etil Asetat di semua seri konsentrasi dengan AI ketiga konsentrasi lebih rendah dari tanaman afrika dan insulin namun lebih tinggi dari AI tanaman bandotan. Dan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk 7,00; 7,97; dan 10,27 mm tergolong sedang (Stout, 1971) sehingga fraksi etil asetat berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Ongsakul, 2009) yang menyatakan ekstrak etanol daun bandotan tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri tetapi pada fraksi etil asetat memiliki aktivitas.

Activity index tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) yang diperoleh terdapat pada fraksi Etil Asetat dan fraksi MeOH. AI tertinggi pada fraksi Etil Asetat dengan konsentrasi 10% yaitu 0,62 namun lebih rendah dari AI tanaman afrika dan insulin. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya (Dinni, 2018) yang menyatakan fraksi etil asetat adalah fraksi paling aktif sebagai antibakteri dari pada fraksi n-heksana dan fraksi butanol. Senyawa kimia yang bersifat semipolar seperti flavonoid diduga sebagai antibakteri.



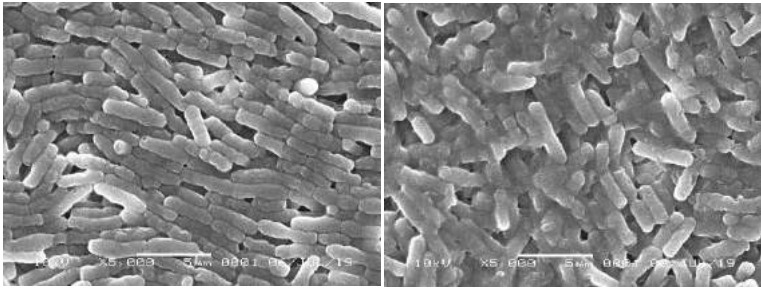
Gambar VI.2 Proportion Index Tanaman Famili Asteraceae

Potensi antibakteri dari kelima tanaman dibandingkan berdasarkan PI masing-masing tanaman. Gambar VI.2 menunjukkan bahwa tanaman insulin memiliki PI lebih tinggi dari pada tanaman lainnya sehingga tanaman insulin (*Tithonia diversifolia*) lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri uji *Vibrio cholera*. Meskipun demikian tanaman afrika (*Vernonia amygdalina*) juga memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*. Hal ini dapat dilihat dari nilai PI yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan PI insulin yaitu dengan selisih PI 0,08 antar kedua tanaman.

VI.6 Pengamatan Morfologi Sel

Berdasarkan perhitungan AI dan PI, fraksi etil asetat tanaman insulin (*Tithonia diversifolia*) dipilih untuk dilanjutkan ke pengujian lanjutan SEM. Pengujian SEM dilakukan di Pusat Penelitian dan

Pengembangan Geologi Kelautan (PPPGL) Bandung. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar VI.3.



Gambar VI.3. Hasil Pengujian SEM (perbesaran 5000x), kiri - kanan: *V.cholera* normal; *V.cholera* terpapar fraksi etil asetat insulin (*Tithonia diversifolia*)

Berdasarkan Gambar VI.3, menunjukkan bahwa sel *Vibrio cholera* yang telah terpapar oleh fraksi etil asetat insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan konsentrasi 10% mengalami perubahan bentuk morfologi pada dinding sel. Hal ini ditandai dengan adanya bentuk bakteri yang tidak utuh atau telah rusak dan terjadinya pengkerutan yang diduga akibat dinding sel yang tidak tersintesis secara sempurna. Kerusakan dinding sel ini dipastikan sebagai penyebab kematian sel (Anam, 2010)

Bab VII Kesimpulan Dan Saran

VII.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan perhitungan AI dan PI, fraksi etil asetat insulin (*Tithonia diversifolia*) lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera* pada KHM 0,75%
2. Sel *Vibrio cholera* mengalami perubahan bentuk morfologi setelah terpapar fraksi etil asetat insulin (*Tithonia diversifolia*) yang berarti senyawa uji memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji.

VII.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian lanjutan lebih spesifik dalam menemukan senyawa aktif sebagai agen antibakteri dan pengujian terhadap spesies mikroba lainnya untuk lebih memastikan khasiat antiinfeksi.