

BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN

6.1. Hasil Determinasi Tanaman

Pada penelitian ini Daun Binahong (*Anredera cardiofolia* (Ten) stennis) didapat dari manoko lembang bandung. Determinasi dimaksudkan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah benar Binahong (*Anredera cardiofolia* (Ten) stennis). Determinasi tanaman dilakukan di Pusat Penelitian Biologi LIPI.

Berdasarkan hasil Determinasi diketahui bahwa benar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Binahong (*Anredera cardiofolia* (Ten) stennis). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

6.2. Hasil Karakterisasi simplisia

Tujuan dilakukan nya karakterisasi ini untuk mengetahui mutu dari simplisia yang digunakan memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Meliputi penetapan kadar abu, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol.

Penetapan kadar abu total dilakukan untuk menentukan jumlah mineral internal dan eksternal yang terkandung dalam bahan sampai terbentuknya ekstrak. Metode yang digunakan adalah metode langsung yaitu pengabuan kering (suhu tinggi dan O₂). Prinsip dari pengabuan kering ini adalah destruksi komponen organik sampel dalam tanur dengan menggunakan suhu tinggi terjadinya nyala api sampai terbentuk abu berwarna keabuan dan tercapainya berat yang konstan. Hasil kadar abu total dari daun binahong yaitu 14%.

Penetapan kadar sari larut air dilakukan untuk mengetahui apakah daun binahong dapat tersari dalam air dan penetapan kadar sari larut etanol untuk mengetahui apakah daun binahong dapat tersasi dalam pelarut organik. Prinsip dari pengujian ini dilakukan dengan maserasi selama 18 jam kemudian hasil maserasi diuapkan sampai bobot konstan. Diperoleh hasil penetapan kadar sari larut air sebesar 49% dan kadar sari larut etanol sebesar 27%.

Setiap tanaman memiliki karakterisasi yang berbeda karena kualitas tanaman juga dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah jenis tanah, suhu udara, ketinggian, bahan organik yang terkandung pada tanah yang dapat membuat perbedaan karakterisasi pada setiap daerah.

Tabel 6.1 Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Binahong

Parameter uji	Simplisia %
Kadar abu total	14
Kadar sari larut air	49
Kadar sari larut etanol	27

6.3. Hasil Skrining fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam simplisia. Skrining fitokimia meliputi: pemeriksaan Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Tanin, Quinon, Steroid dan Triterpenoid.

Hasil yang diperoleh dari daun Binahong (*Anredera cardiofolia* (Ten) *stennis*) mengandung flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid.

Tabel 6.2 Hasil Skrining Fitokimia Simplisia

Golongan Senyawa	Daun Binahong
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin (fecl3 1%)	+
Tanin (gelatin 1%)	+
Quinon	-
Steroid/triterpenoid	+

Keterangan : (+) Terdeteksi

(-) Tidak Terdeteksi

6.4. Hasil pembuatan Ekstrak Daun Binahong

Pada pembuatan ekstrak ini disiapkan 750 gram simplisi, menggunakan pelarut etanol 96%. alasan digunakan pelrut etanol 96% karena etanol merupakan pelarut yang bersifat universal. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang ralatif konstan dengan adanya pendingin balik. Dilakukan selama 3 jam dengan 3 kali pengulangan. Setelah diperoleh ekstrak hasil refluks kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot konstan. Hasil rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel.

Tabel 6.3 Hasil Redenmen Ekstrak Anredera Cordiofolia (Ten) Stennis

Tanaman	Bahan Sampel (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun Binahong	750	80,66	10,75

6.5. Hasil Pembuatan Fraksi Daun Binahong

Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Sedangkan ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagiannya lagi larut pada fase kedua. Komponen kimia akan terpisah didalam dua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tepat (Sudjadi, 1986).

Setelah dilakukan proses ekstraksi, selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC). Fraksinasi menggunakan lebih dari satu pelarut, pelarut yang digunakan yaitu metanol air dengan perbandingan (2:8) sebagai pelarut polar, N-heksan 100 ml sebagai pelarut non polar dan etil asetat 100 ml sebagai pelarut semi polar, perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali. Proses fraksinasi menggunakan corong pisah. Dengan mencampurkan dua fase pelarut, kemudian digojok searah untuk membuat dua fase tercampur. Sesekali buka keran untuk mengeluarkan gas yang ada didalam corong pisah. Diamkan dengan posisi vertikal tunggu hingga terjadi pemisahan antara dua fase tersebut. Setelah terjadi pemisahan buka keran corong secara hati-hati untuk mengontrol campuran yang sedang dipisahkan. Senyawa yang bersifat polar akan berada di fase bawah dan senyawa yang bersifat non polar akan berada di fase atas. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan berat jenis pelarut. Setelah didapatkan fraksi metanol : air, N-heksan dan Etil asetat kemudian fraksi diuapkan. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 6.4 Hasil Redenmen Ekstrak Daun Binahong

Fraksi	Fraksi Kental (g)	Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
N-Heksan	4,12	20	20,6
Etil Asetat	5,38	20	26,9
Metanol :Air	10,23	20	51,15

6.6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi

Pengujian aktivitas antibakteri ini yaitu untuk menentukan Konsentrasi hambat minimum (KHM) / minimum concentration (MIC) adalah konsentrasi terendah dari antibiotika atau antimikrobal yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Sedangkan KHM digunakan untuk mengetahui sensitifitas mikroba yang diuji, semakin rendah nilai KHM yang dihasilkan maka sensitifitas dari bakteri akan semakin besar dan KBM (konsentrasi bunuh minimum). Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus Aureus* dan *Pseudomonas Aeruginosa*. Bakteri yang akan digunakan harus diremajakan terlebih dahulu menggunakan media *Muehler Hilton broth* (MHA). Pada metode mikrodilusi ini media yang digunakan yaitu *Muehler Hilton broth* (MHB). Pembanding yang digunakan yaitu tetrasiklin, konsentrasi dibuat dengan seri dari 1 ppm sampai dengan 512 ppm. Pembuatan suspensi kekeruhan nya harus sesuai dengan Mc farland dengan skala 0,5 CFU/mL dengan rentang 0,08 – 0,1. panjang gelombang yang digunakan yaitu 625nm. Setelah didapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) kemudian dilakukan pengujian konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan cara menanamkan kembali aliquot pada media *Muehler Hilton agar* (MHA)

Tabel 6.5 Hasil penentuan nilai KHM dan KBM ekstrak dan fraksi Daun Binahong pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *pseudomonas aeruginosa*.

Sampel uji	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	KHM	KBM	KHM	KBM
Ekstrak Binahong	512	>512	512	>512
Fraksi metanol:air binahong	>512	>512	512	>512
Fraksi n-heksan binahong	>512	>512	>512	>512
Fraksi etil asetat binahong	512	>512	256	>512
Tetrasiklin	32	>512	1	>512

Pada penelitian ini di dapatkan hasil sampel fraksi etil asetat terhadap bakteri *pseudomonas aeruginosa* menghasilkan nilai KHM (konsentrasi hambat minimum) 256

ppm, sampel ekstrak binahong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *pseudomonas aeruginosa* didapatkan didapatkan nilai KHM (konsentrasi hambat minimum) 512 ppm, dan sampel fraksi metanol air mendapat nilai KHM (konsentrasi hambat minimum) 512 ppm. Data diatas dapat dikatakan valid karena pengujian menggunakan antibakteri tetrasiklin menghasilkan nilai KHM (konsentrasi hambat minimum) yang baik. Selanjutnya dilakukan KBM (konsentrasi bunuh minimum) dengan cara KHM (konsentrasi hambat minimum) dari sampel fraksi etil asetat, ekstrak dan fraksi metanol air ditumbuhkan pada media *Muehler Hilton agar* (MHA), jika tidak terdapat pertumbuhan bakteri maka pada konsentrasi tersebut memiliki aktivitas antibakteri untuk membunuh (bakterisid), hasil yang didapat pada penentuan KBM (konsentrasi bunuh minimum) ini menunjukkan tidak adanya kemampuan untuk membunuh bakteri.

Selanjutnya yaitu hasil terbaik dari (Konsentrasi Hambat Minimum) KHM yaitu fraksi etil asetat dilakukan pemantauan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan tujuan untuk identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel atau pemisah bercak senyawa yang terkandung dalam sampel uji.

6.7. Hasil Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KHM (konsentrasi hambat minimum) terbaik dari uji antibakteri yaitu fraksi etil asetat, dilakukan pemantauan kemudian fraksi etil asetat daun binahong ditotolkan pada lempeng KLT. Eluen yang digunakan yaitu klorofom: metanol dengan perbandingan (9:1). Selanjutnya di amati pada uv 254 nm dan uv 365 nm.



UV 365 nm

UV 254 nm

Gambar 6.1 Hasil pemantauan KLT

6.8. Hasil Bioautografi

Pengujian bioautografi dilakukan untuk menduga golongan senyawa yang aktif sebagai antibakteri (Paputungan *et al.*, 2019). Metode bioautografi yang digunakan yaitu bioautografi kontak. KHM terbaik dari uji antibakteri yaitu fraksi etil asetat daun binahong ditotolkan pada lempeng KLT. Eluen yang digunakan yaitu klorofom: metanol dengan perbandingan (9:1). Selanjutnya di amati pada uv 254 nm dan uv 365 nm. Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Lempeng kromatografi etil asetat kemudian di tempelkan di atas permukaan Media Agar yang sudah diinokulasi dengan bakteri *pseudomonas aeruginosa* di diamkan selama 30 menit, kemudian lempeng kromatografi tersebut dipindahkan diangkat dari permukaan medium. Setelah dilakukan pengamatan terdapat adanya zona bening pada media agar hal tersebut menandakan adanya daya hambat terhadap bakteri uji. Pada pemantauan ini di dapatkan Rf sebesar 0,81. Bercak tersebut terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Senyawa yang berperan dalam antibakteri diduga flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid ditinjau dari hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan.



Gambar 6.2 Hasil Bioautografi