

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Ekstraksi Biji Mahoni**

Biji mahoni yang telah dikupas kulitnya sebanyak 2 kg dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, lalu dikeringkan dalam oven selama 2 minggu pada suhu 50<sup>0</sup>C. Menurut Hartati (2013), biji mahoni dikeringkan dengan suhu 50<sup>0</sup>C selama seminggu, karena dalam fasilitas laboratorium oven tidak boleh digunakan hingga malam maka waktu pengeringannya ditambah menjadi 2 minggu. Biji mahoni yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak dengan mesh 20 untuk menyamakan ukuran dari serbuk tersebut. Hasil dari proses ini diperoleh serbuk simplisia sebanyak 1800 gram, terjadi penyusutan sekitar 200 gram karena dalam proses pengeringan biji yang tadinya basah menjadi kering. Berikut adalah perhitungan rendemen susut pengeringan :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat simplisia kering}}{\text{berat simplisia basah}} \times 100 \% \dots\dots (2)$$

Dari proses pengeringan didapat 1800 gram serbuk kering dengan rendemen 90%.

Proses ekstraksi untuk menarik senyawa yang terkandung dalam biji mahoni dilakukan dengan cara infundasi dan perkolasi dengan pelarut air dan etanol. Pelarut aquadest untuk infundasi 750 ml dengan berat serbuk

simplisia 250 gram, pelarut aquadest untuk perkolasi sebanyak 100 ml dengan berat serbuk 50 gram, dan pelarut etanol untuk perkolasi sebanyak 100 ml dengan berat serbuk 50 gram.

## 2. Uji Fitokimia Ekstrak Biji Mahoni

Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin yang terkandung dalam biji mahoni secara kualitatif. Dalam melakukan uji fitokimia ekstrak air biji mahoni, ekstrak infusa yang didapat diencerkan hingga menjadi konsentrasi 10% dan untuk ekstrak air perkolasi diencerkan hingga didapat konsentrasi 10%. Untuk analisis flavonoid ambil 1 ml ekstrak dan tambahkan reagen  $\text{FeCl}_3$  1% dan amati perubahan warnanya jika terjadi perubahan warna menjadi merah jingga terbukti mengandung flavonoid (Chriestien *et al.*, 2014).

Untuk analisis alkaloid pada ekstrak air infusa dan perkolasi, 9 ml ekstrak air ditambah 1 ml HCl 2N dan dipanaskan diatas waterbath selama 2 menit lalu ambil 10 tetes filtrat dan tambahkan 2 tetes *Dragendroff* jika terbentuk endapan warna merah jingga terbukti terdapat senyawa alkaloid (Azizah, 2014). Untuk analisis senyawa saponin 1 ml ekstrak diambil, ditambah 2 ml aquadest dan kocok dengan kuat, jika terdapat busa stabil maka mengandung senyawa saponin (Harborne, 1996).

Dalam melakukan uji fitokimia ekstrak kental etanol biji mahoni, 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 ml aquadest. Setelah itu dilakukan

uji saponin dengan mengocok kuat larutan ekstrak dan diamati sampai 10 menit jika terdapat busa yang stabil maka ekstrak tersebut mengandung senyawa saponin. Larutan ekstrak dapat digunakan kembali untuk uji alkaloid dan flavonoid. Metode uji alkaloid dan flavonoid sama seperti ekstrak air, dengan mengamati perubahan warna. Pada flavonoid jika berubah menjadi merah jingga maka ekstrak mengandung senyawa flavonoid. Dan untuk alkaloid jika terdapat endapan merah maka ekstrak mengandung alkaloid. Tabel 3 berikut adalah hasil uji fitokimia dari ekstrak biji mahoni :

**Tabel 3.** Hasil uji fitokimia ekstrak biji mahoni

| Ekstrak Biji Mahoni                 | Hasil pengamatan senyawa yang diuji |          |         |
|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|---------|
|                                     | Flavonoid                           | Alkaloid | Saponin |
| Infusa biji mahoni                  | -                                   | +        | +       |
| Ekstrak air biji mahoni (perkolasi) | -                                   | +        | +       |
| Ekstrak etanol biji mahoni          | -                                   | +        | +       |

Keterangan: (-) menunjukkan tidak ada kandungan senyawa  
(+) menunjukkan ada kandungan senyawa

Pengamatan hasil uji fitokimia pada penelitian diketahui bahwa ekstrak yang didapat mengandung alkaloid dan saponin. Uji alkaloid dibuktikan dengan terdapatnya endapan merah pada tabung reaksi dan uji saponin dibuktikan dengan adanya busa yang stabil (Azizah, 2014).

### 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak biji mahoni yang telah didapatkan dari proses ekstraksi selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan kertas cakram untuk mengetahui apakah ekstrak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella sp.* Pada penelitian ini dibuat dengan tiga metode ekstraksi yaitu infundasi dengan pelarut air, perkolasi dengan pelarut air dan perkolasi dengan pelarut etanol.

Ekstraksi dengan metode infundasi dibuat dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Pengenceran dilakukan dengan menghitung sesuai konsentrasi yang akan dibutuhkan. Dalam proses ekstraksi dari 100 gram simplisia didapat 100 ml ekstrak infusa dengan konsentrasi 100%, ekstraksi dilakukan sebanyak 2x sehingga didapat larutan stok 200 ml infusa. Untuk mendapatkan 10% ekstrak infusa, ambil 10 ml infusa dan tambahkan aquadest sampai 100 ml, untuk mendapatkan 20% ekstrak infus, ambil 20 ml infusa dan tambahkan aquadest sampai 100 ml dan seterusnya hingga 100 ml.

Untuk ekstraksi perkolasi air dibuat dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Karena total penyari yang digunakan 100 ml. Sebelum dilakukan pengenceran kadar filtrat dari hasil perkolasi dihitung terlebih dahulu dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Kadar filtrat (\%)} = \frac{\text{berat simplisia yang digunakan}}{\text{pelarut yang digunakan}} \times 100\% \dots\dots (3)$$

Simplisia yang digunakan 50 gram dengan total pelarut 100 ml maka didapat kadar filtrat 50%. Karena kadar filtrat hanya mencapai 50% maka

konsentrasi tertinggi hanya dapat diukur hingga 50% tidak lebih.

Pengenceran ekstrak air perkolasi dengan menggunakan rumus (1) yaitu :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2 \dots \dots (1)$$

Keterangan :

$M_1$  = kadar yang diperoleh ekstrak

$V_1$  = volume pengenceran yang diinginkan

$M_2$  = konsentrasi ekstrak yang akan dibuat

$V_2$  = volume yang akan diambil

Sebagai contoh dibuat pengenceran konsentrasi 5% dengan volume yang dibutuhkan 15 ml :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$50\% \cdot V_1 = 5\% \cdot 15 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ ml}$$

Dari perhitungan didapat 1,5 ml volume ekstrak yang harus diambil untuk membuat 5% kadar ekstrak air dan tambahkan aquadest hingga 15 ml.

Dan untuk ekstraksi perkolasi dengan pelarut etanol dibuat dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Dalam pembuatan variasi konsentrasi ekstrak kental etanol biji mahoni karena ekstrak yang didapat hanya 2 gram maka dibuat konsentrasi 100% dahulu dengan melarutkan 1 gram ekstrak kental diencerkan dengan 1 ml DMSO sebagai pelarut. Untuk ekstrak dibawahnya 75% hingga 5% dilakukan perhitungan dengan rumus (1), sebagai contoh :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 75\% \cdot 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,75 \text{ ml atau } 750 \mu\text{l}$$

Dari perhitungan didapat 1,5 ml volume ekstrak yang harus diambil untuk membuat 75% kadar ekstrak etanol dan tambahkan DMSO hingga 1 ml. Berbeda dengan halnya ekstrak air perkolasi, untuk etanol jika menghitung kadar 50%, kadar yang diperoleh dari ekstrak ( $M_1$ ) menggunakan yang 75% karena total volume yang didapat jumlahnya sedikit, begitu seterusnya hingga ekstrak 5%.

Variasi ekstrak tersebut dilakukan replikasi 2-3 kali replikasi. Data yang diperoleh digunakan untuk melihat kemampuan ekstrak biji mahoni dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sp.* Nilai diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur menggunakan penggaris milimeter (mm). Pada Tabel 4, Tabel 5 dan Tabel 6 berikut adalah hasil pengamatan diameter zona hambat uji bakteri pada ekstrak biji mahoni pada halaman selanjutnya :

**Tabel 4.** Rata-rata diameter zona bening ekstrak air biji mahoni pada bakteri *Shigella sp.* (metode infusa)

| Konsentrasi Ekstrak       | Rata-rata diameter zona bening |                       | Rata-rata diameter zona bening (mm) |
|---------------------------|--------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
|                           | Replikasi 1                    | Replikasi 2           |                                     |
| 10%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 20%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 30%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 40%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 50%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 60%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 70%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 80%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 90%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 100%                      | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| Aquadest (kontrol -)      | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| Ciprofloxacin (kontrol +) | 45 mm                          | 43 mm                 | 44 mm                               |

**Tabel 5.** Rata-rata diameter zona bening ekstrak air biji mahoni pada bakteri *Shigella sp.* (metode perkolasi)

| Konsentrasi Ekstrak       | Rata-rata diameter zona bening |                       | Rata – rata diameter zona bening (mm) |
|---------------------------|--------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
|                           | Replikasi 1                    | Replikasi 2           |                                       |
| 5%                        | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| 10%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| 15%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| 20%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| 30%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| 40%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| 50%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| Aquadest (kontrol -)      | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | 0                                     |
| Ciprofloxacin (kontrol +) | 5 mm                           | 40,6 mm               | 45,3 mm                               |

**Tabel 6.** Rata-rata diameter zona bening ekstrak etanol biji mahoni pada bakteri *Shigella sp.* (metode perkolasi)

| Konsentrasi Ekstrak       | Rata-rata diameter zona bening |                       |                       | Rata-rata diameter zona bening (mm) |
|---------------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------------------|
|                           | Replikasi 1                    | Replikasi 2           | Replikasi 3           |                                     |
| 5%                        | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 10%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 15%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 20%                       | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| 25%                       | 5,6 mm                         | 5,3 mm                | 6 mm                  | 5,6 mm                              |
| 50%                       | 5,3 mm                         | 5,6 mm                | 6,3 mm                | 5,7 mm                              |
| 75%                       | 5,6 mm                         | 7,3 mm                | 7 mm                  | 6,6 mm                              |
| 100%                      | 7,6 mm                         | 10,3 mm               | 9 mm                  | 8,9 mm                              |
| DMSO (kontrol -)          | Tidak ada zona bening          | Tidak ada zona bening | Tidak ada zona bening | 0                                   |
| Ciprofloxacin (kontrol +) | 45,3 mm                        | 43 mm                 | 31 mm                 | 39,7 mm                             |

Hasil pengamatan yang dilakukan pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak air biji mahoni yang diperoleh dari infundasi dan perkolasi dapat dilihat pada tabel 4 dan tabel 5 dengan berbagai variasi konsentrasi tidak menunjukkan adanya diameter zona bening atau zona hambat. Dan hasil pengamatan yang dilakukan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol yang diperoleh dari metode perkolasi dapat dilihat pada tabel 6 dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% tidak menunjukkan zona bening atau zona hambat. Tetapi pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% terdapat penghambatan terhadap bakteri *Shigella sp.* Hasil ini dinyatakan dengan nilai rata-rata dari tiga replikasi

pada konsentrasi 25% menunjukkan nilai diameter hambatan 5,6 mm, pada konsentrasi 50% nilai diameter hambatan 5,7 mm, pada konsentrasi 75% diameter zona hambatan 6,6 mm dan pada konsentrasi 100% diameter zona hambatan 8,9 mm. Sedangkan nilai rata-rata dari kontrol positif ciprofloxacin dosis 2 mg/ml dengan kadar 0,2% memiliki zona hambat 39,7 mm.

Dari pengamatan tersebut zona hambat yang paling kecil adalah pada konsentrasi 25% dan zona hambat yang paling tinggi adalah pada konsentrasi 100%. Jika dibandingkan dengan kontrol positif ciprofloxacin ekstrak etanolik dengan metode perkolasi ini memiliki diameter zona hambat yang relative kecil karena konsentrasi paling tinggi hanya mampu menghambat sebesar 8,9 mm sedangkan kontrol positif ciprofloxacin mampu menghambat sebesar 39,7 mm.

Nilai zona hambat dari ekstrak etanol biji mahoni dengan metode perkolasi selanjutnya dilakukan uji parametik menggunakan uji *One Way* ANOVA yang berfungsi untuk melihat perbedaan daya hambat dari tiap konsentrasi ekstrak. Uji normalitas data dilakukan sebelum uji *One Way* ANOVA sebagai syarat uji parametik. Pada uji normalitas data menggunakan pengujian uji *Shapiro-Wilk* karena data yang diperoleh kurang dari 50. Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa uji normalitas yang diperoleh nilai signifikansi perlakuan dan zona inhibisi sebesar  $p > 0,05$ . Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan rata-rata antar perlakuan dan

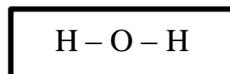
daerah zona inhibisi memiliki nilai yang berbeda. Dan nilai signifikansi perlakuan dapat dilihat pada *Post Hoc Turkey* karena penelitian menggunakan lebih dari 3 perlakuan. Hasilnya tidak memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai  $p > 0,05$  akan tetapi memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif ciprofloxcacin.

## **B. Pembahasan**

Mahoni telah banyak digunakan sebagai tanaman obat. Semua bagian dari mahoni dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Salah satu bagian dari mahoni yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit infeksi adalah bijinya. Biji mahoni telah digunakan sebagai obat tradisional diabetes, hipertensi, dan malaria (Chen *et al.*, 2007). Dan terbukti mempunyai aktivitas antibakteri, antioksidan, antidiare dan anti malaria (Falah *et al.*, 2007).

Langkah yang dilakukan pada penelitian biji mahoni ini yaitu disortasi dengan mengupas kulit biji mahoni kemudian biji yang rusak dipisahkan. Setelah disortasi, dilakukan pengeringan yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam simplisia dan dapat disimpan lebih lama, tidak berjamur dan tidak merusak kandungan yang terdapat dalam biji mahoni (Mamonto, 2014). Selanjutnya, simplisia yang telah kering diblender hingga menjadi serbuk. Tujuan penghalusan simplisia untuk memperluas daerah kontak antara pelarut dan sample agar senyawa yang terkandung dapat terekstrak dengan optimal (Depkes RI, 2000). Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut air dan pelarut etanol.

Proses ekstraksi dengan pelarut air dilakukan dengan metode infundasi dan metode perkolasi. Proses infundasi dapat menarik senyawa kimia yang larut dalam air dilakukan pemanasan sampai mencapai suhu  $90^{\circ}\text{C}$  kemudian diamkan selama 15 menit sedangkan perkolasi simplisia direndam dalam tabung perkolator semalam dan dibiarkan menetes sedikit demi sedikit. Air digunakan sebagai pelarut karena mudah didapatkan dan higienis serta aman ketika digunakan, serta senyawa yang terkandung dalam biji mahoni seperti flavonoid, alkaloid dan saponin bersifat polar sehingga diharapkan dapat tersari dengan pelarut air. Air dengan dengan rumus molekul  $\text{H}_2\text{O}$  memiliki 2 atom H dan 1 atom O dengan struktur sebagai berikut :



Gambar 5. Rumus Molekul Air

Ekstraksi dengan pelarut air dapat melarutkan analit yang bersifat polar karena mempunyai gugus  $-\text{OH}$ , gugus ini yang menyebabkan air bersifat polar. Zat aktif yang dapat larut dalam air yaitu flavonoid, alkaloid dan saponin (Azima, 2004). Proses ekstraksi dengan metode infundasi dilakukan dengan menimbang 250 gram simplisia dan ditambah air sebanyak 750 ml (1:3 b/v) dan dipanaskan sampai mencapai suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit (Ditjen POM, 1979). Setelah itu diserkai dengan kain flannel hingga didapat cairan infusa lalu disaring menggunakan kertas saring agar serbuk-serbuk halus dapat tersaring sehingga cairan infusa yang didapat jernih. Proses ekstraksi metode perkolasi dengan menimbang 50 gram serbuk simplisia dan dibasahi dengan 50 gram air dalam tabung perkolator. Serbuk yang telah dibasahi didiamkan 24 jam. Setelah itu,

cairan penyari sebanyak 50 ml dalam corong pisah dan filtrat diteteskan dengan kecepatan yang sama yaitu 1 ml/menit sampai pelarut habis (Perwita, 2011).

Proses ekstraksi dengan pelarut etanol dilakukan dengan metode perkolasi. Etanol digunakan sebagai pelarut penyari karena merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga mampu melarutkan senyawa yang memiliki kepolaran relatif rendah hingga relatif tinggi (Sari, 2011). Proses ekstraksi metode perkolasi dengan menimbang 50 gram serbuk simplisia dan dibasahi dengan 50 gram etanol dalam tabung perkulator. Serbuk yang telah dibasahi didiamkan 24 jam. Setelah itu, cairan penyari sebanyak 50 ml dalam corong pisah dan filtrat diteteskan dengan kecepatan yang sama yaitu 1 ml/menit sampai pelarut habis (Perwita, 2011). Filtrat yang didapat dari ekstraksi ini kemudian dipekatkan di atas *waterbath* dengan suhu 70<sup>0</sup>C agar diperoleh ekstrak kental. Proses pemekatan filtrat dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan konsentrasi larutan agar lebih tinggi dan menghilangkan pelarut yang terdapat pada proses ekstraksi (Voight, 1995).

Ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi biji mahoni dilakukan pengujian kualitatif untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid dan saponin pada biji mahoni yang diduga memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode skrining fitokimia. Skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna atau yang disebut reagen (Widayanti *et al.*, 2009). Skrining fitokimia yang telah dilakukan pada biji mahoni menunjukkan bahwa dalam semua hasil ekstrak air dan ekstrak

kental etanolik mengandung senyawa alkaloid dan saponin yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Dari peneliti terdahulu Soetjipto (2010) dan Darminto (2010) biji mahoni mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin tetapi dalam penelitian flavonoid negatif dalam ekstrak. Flavonoid merupakan turunan fenol yang mudah sekali bereaksi dengan senyawa atau gugus lain seperti oksidasi dan hidroksilasi sehingga flavonoid mudah mengalami kerusakan. Dari penelitian Winardi (2012), cara dan suhu pengeringan mempengaruhi kadar flavonoid. Pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 40-60<sup>0</sup>C kandungan flavonoidnya lebih sedikit dibandingkan dengan pengeringan oleh sinar matahari karena pengeringan dalam oven memiliki sirkulasi udara yang kurang baik. Maka dari itu, pada uji flavonoid ekstrak biji mahoni dikatakan negatif, diduga karena flavonoid rusak pada saat pengeringan simplisia.

Selanjutnya ekstrak yang telah diperoleh dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella sp.* bertujuan untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu ekstrak dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Prasetyo, 2015). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda. Tujuan dilakukan variasi konsentrasi ini adalah untuk mengetahui perbedaan nilai zona hambat antar perlakuan. Metode yang digunakan yaitu metode Kirby-Bauer (*disk diffusion susceptibility test*). Metode Kirby-Bauer memudahkan dalam pengamatan karena parameter yang digunakan zona hambat atau zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Area bening menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri

oleh agen antibakteri pada permukaan media agar, semakin luas area bening maka efektivitas penghambatannya semakin besar (Fuad, 2015). Pada penelitian ini digunakan kertas cakram yang berukuran 0,5 cm. Kertas cakram diaplikasikan pada masing-masing sample yang diduga mengandung senyawa antibakteri yang dapat berdifusi ke dalam media agar ketika kontak dengan permukaan agar. Agar yang digunakan pada penelitian ini menggunakan TSA (*Tryptic Soy Agar*) dan BHI (*Brain Heart Infusion*) sebagai nutrient. Media TSA digunakan karena media ini bersifat universal sehingga hampir semua bakteri tumbuh pada media ini. Menurut Bauer tahun 1996 menyebutkan bahwa kecepatan difusi senyawa antibakteri dari sampel dalam agar tidak secepat keluarnya senyawa antibakteri dari kertas cakram karena tingkat difusi antibakteri dalam agar tergantung pada sifat difusi dan kelarutan senyawa antibakteri dalam media, berat molekul senyawa antibakteri dan tebal media (Hudzicki, 2013). Secara simultan pertumbuhan bakteri dan difusi senyawa antibakteri terjadi ketika suspensi bakteri diinokulasikan secara bersamaan ke dalam media dan dilakukan aplikasi kertas cakram yang mengandung sampel ke dalam media. Pertumbuhan akan terus terjadi hingga mencapai titik kritis dengan adanya zona hambatan bening disekitar kertas cakram (Hudzicki, 2013).

Penelitian aktivitas antibakteri ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding. Kontrol positif merupakan antibiotik yang berfungsi sebagai pembanding untuk melihat apakah setiap perlakuan memiliki efek yang sama terhadap antibiotik tersebut. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan yaitu pelarut pengencer untuk mengetahui apakah memiliki efek antibakteri.

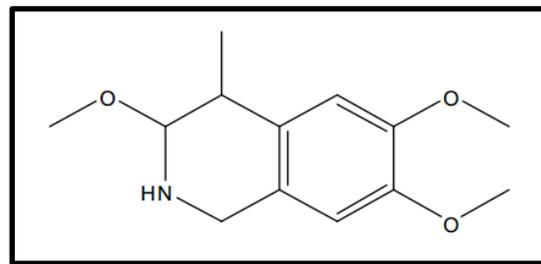
Kontrol positif yang digunakan yaitu ciprofloxacin infus 2mg/ml. Menurut Sepdahlia (2013) ciprofloxacin mempunyai sensitifitas terhadap bakteri *Shigella sp.* dengan zona hambat 30 mm (Fuad, 2015). Ciprofloxacin memiliki spektrum kerja yang luas terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Antibiotik ini merupakan golongan florokuinolon yang umum digunakan dengan mekanisme kerja menghambat DNA yang terdapat pada bakteri (Mitchell, 2008). Sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan yaitu aquadest sebagai pelarut ekstrak air dan DMSO sebagai pelarut ekstrak etanol. DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun nonpolar dan DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil penelitian pada pengujian aktivitas antibakteri (Fadlila *et al.*, 2015).

Dari hasil penelitian yang dilakukan ekstrak biji mahoni yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu ekstrak etanol dengan metode perkolasi. Nilai rata-rata diameter zona hambat diklasifikasikan menurut aktivitas antibakteri pada tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol berada pada konsentrasi 25% yakni 5,6 mm dan 50% yakni 5,7 mm memiliki aktivitas antibakteri yang resisten, sedangkan konsentrasi 75% yakni 6,6 mm dan 100% yakni 8,9 mm memiliki aktivitas antibakteri yang lemah. Dari data tersebut terlihat bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol maka semakin luas diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang dijelaskan oleh Pelczar dan Chan (2005) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar efek atau aktivitas yang dihasilkan. Nilai zona hambat untuk antibiotik ciprofloxacin

menurut *Performance Standards for Antimicrobial* (2012) mengatakan bahwa dikatakan sensitif terhadap bakteri kelompok *Enterobacteriaceae* apabila memiliki diameter zona hambat  $> 21$  mm, sedang 16-20 mm, dan resisten  $< 15$  mm (Prasetyo, 2015). Untuk hasil diameter zona hambat antibiotik ciprofloxacin dari penelitian yakni 39,7 mm menunjukkan bahwa antibiotik ini sensitif dan masuk kategori kuat dalam menghambat bakteri *Shigella sp.* Jika dibandingkan nilai diameter zona hambat ekstrak etanolik lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik ciprofloxacin, ini dapat terjadi karena ekstrak merupakan campuran senyawa sedangkan antibiotik ciprofloxacin merupakan senyawa murni. Dalam penelitian ini ekstrak etanol biji mahoni dengan metode perkolasi memiliki potensi menghambat bakteri *Shigella sp.* meskipun daya hambatnya masuk dalam kategori lemah. Bakteri *Shigella* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki membran sel tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tipis dan memiliki lapisan fosfolipid dari membran sel bakteri dan senyawa antibakteri bekerja dengan melisiskan membrane sel dengan melarutkan lapisan fosfolipid dari membran sel bakteri (Kusumaningrum, 2002).

Untuk hasil ekstraksi air dengan metode infundasi dan perkolasi tidak terdapat diameter zona hambat yang terbentuk pada berbagai variasi konsentrasi. Padahal dalam penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif/ sumber informasi baru bagi masyarakat. Kandungan alkaloid dan saponin dalam ekstrak air belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak yang tidak poten dapat disebabkan karena kandungan yang tersari lebih sedikit. Saponin merupakan senyawa polar yang larut dalam air dan etanol, sedangkan alkaloid

merupakan senyawa polar yang bersifat basa dan lebih larut dalam pelarut organik seperti etanol, metanol dll. Alkaloid yang larut dalam air hanya garam alkaloid (Hersipa, 2011). Senyawa alkaloid dalam biji mahoni yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah 3,6,7-trimetoksi-4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isokuinolin yang termasuk ke dalam golongan isokuinolin dengan struktur dapat dilihat pada Gambar 6 di halaman selanjutnya (Ayuni dan Sukarta, 2013).

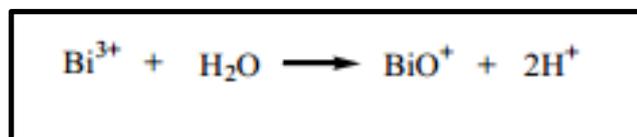


Gambar 6. Struktur 3,6,7-trimetoksi-4-metil-1,2,3,4-tetrahidro-isokuinolon (Ayuni dan Sukarta, 2013)

Alkaloid isokuinolin bersifat basa yang hanya dapat larut dalam pelarut organik (Ayuni dan Sukarta, 2013). Selain itu, air merupakan pelarut yang mudah terkontaminasi sehingga ekstraksi dengan pelarut air tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam. Dan meskipun air adalah pelarut yang paling polar, penggunaan sebagai pelarut pengekstrak jarang digunakan karena menyebabkan reaksi yang mengakibatkan kerusakan bahan aktif lebih cepat seperti hidrolisis dan pembengkakan sel (Hardiningtyas, 2009) sehingga pelarut air tidak terlalu efektif untuk mengekstrak senyawa antibakteri yang terdapat biji mahoni. Dan kandungan senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin lebih banyak terdapat di daun dibandingkan di dalam biji.

Dalam penelitian yang dilakukan senyawa antibakteri yang berkhasiat sebagai antibakteri yaitu alkaloid dan saponin. Hasil skrining fitokimia ekstrak biji mahoni dapat dilihat pada Tabel 3.

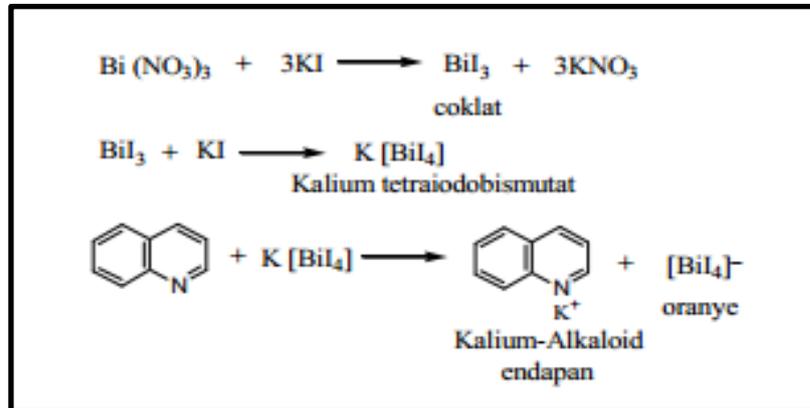
Pada identifikasi senyawa alkaloid menggunakan uji *Dragendorff* dan terjadi pembentukan endapan merah, hal itu membuktikan bahwa ekstrak mengandung alkaloid (Christien *et al.*, 2014). Pereaksi *Dragendorff* dapat membuktikan adanya alkaloid karena prinsip dari uji alkaloid pada dasarnya adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat, endapan yang terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid (Latifah, 2015). Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Dalam pembuatan pereaksi *Dragendorff*, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil ( $\text{BiO}^+$ ) (Marliana *et al.*, 2005). Selain itu, dilakukan penambahan HCl karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstraksi menggunakan pelarut yang asam (Harborne, 1996). Reaksi hidrolisis bismut ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Reaksi hidrolisis bismut (Marliana *et al.*, 2005)

Selanjutnya ion  $\text{Bi}^{3+}$  dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodide berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990). Pada uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendorff*, digunakan nitrogen agar membentuk

ikatan kovalen dengan  $K^+$  yang merupakan ion logam. Reaksi uji *Dragendorff* dengan alkaloid diunjukkan Gambar 8 pada halaman selanjutnya.



Gambar 8. Reaksi Uji *Dragendorff* (Marliana *et al.*, 2005)

Pengujian saponin dilakukan dengan uji Forth (Rusdi, 1990), dengan menggojok ekstrak yang telah dilarutkan dengan aquadest dan menghasilkan buih atau busa yang stabil, hal itu menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung saponin (Azizah, 2014). Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula / glikon dan nongula / aglikon (Prasetyo, 2015). Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005).

Terdapatnya senyawa antibakteri pada biji mahoni menjadi faktor penting dalam mekanisme penghambatan pertumbuhan biji mahoni. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Darsana *et al.*, 2012). Selain itu, dapat mengubah susunan rantai DNA pada inti sel bakteri (Robinson, 1995).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.*, 2013). Zat aktif permukaan saponin mirip dengan detergen, sehingga akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran dan akibatnya kelangsungan hidup bakteri sangat terganggu (Harborne, 1996). Saponin juga dapat mengikat membran sitoplasma dengan berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Jika kestabilannya terganggu akan menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel dan mengakibatkan kematian sel (Cavalieri *et al.*, 2005).

Pada penelitian ini, analisis data yang digunakan yaitu SPSS dengan uji *One Way ANOVA*. Uji ini dipilih untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok yang diuji serta mengetahui perbedaan dari setiap kelompok yang diujikan. Sebelumnya telah dilakukan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan hasilnya data terdistribusi normal karena nilai  $p > 0,05$  pada tabel *Test of Normality* yang terdapat pada Lampiran 1. Dari hasil analisis uji *One Way ANOVA* yang dilakukan dapat dilihat pada Lampiran 1 dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol biji mahoni dengan kontrol positif, serta tidak terdapat perbedaan antar konsentrasi ekstrak etanol biji mahoni metode perkolasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella*.