

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Hasil identifikasi sampel uji yang dilakukan di Laboratorium Farmasi UGM didapat bahwa sampel yang digunakan adalah bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dengan hasil determinasi seperti yang tertera pada Lampiran 1.

2. Penyiapan bahan

Sebayak 20 kg bunga kecombrang dikeringkan dibawah panas matahari yang ditutupi kain hitam dan menggunakan oven dengan suhu 60°C didapat simplisia sebanyak 3 kg dengan susut pengerisan simplisia 85% kemudian dihaluskan sehingga diperoleh hasil serbuk halus 1,2 kg.

3. Ekstraksi

Proses ekstraksi bunga kecombrang menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Serbuk bunga kecombrang diekstrak sebanyak 1 kg : 7 L etanol 70% (1:7). Suhu yang digunakan adalah suhu ruangan tanpa terpapar cahaya matahari langsung dengan waktu maserasi selama 5 x 24 jam dan remaserasi 2x 24 jam. Setelah proses maserasi ekstrak etanol bunga kecombrang disaring dengan menggunakan kertas *Whatman* no 1 dan di dapat hasil 6,6 L ekstrak etanol bunga kecombrang. Selanjutnya dilakukan evaporasi yang bertujuan untuk memisahkan pelarut dari ekstraknya dan didapat ekstrak kental sebanyak 82,254 gram. Ekstrak yang dihasilkan dari bunga kecombrang beraroma wangi khas kecombrang dan berwarna coklat kemerahan (Tabel 4).

Tabel 1. Karakteristi ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

| Karakteristik ekstrak | Hasil |
|-----------------------|-------|
| Rendemen | 6,85% |

| | |
|-------|--|
| Warna | Coklat kemerahan |
| Rasa | Asam, seperti jamu |
| Bau | Wangi khas bunga kecombrang, Menyengat seperti lengkuas |

Foto hasil ekstrak etanol bunga kecombrang dapat dilihat pada lampiran 2.

4. Analisis Kandungan Kimia Dengan Metode KLT

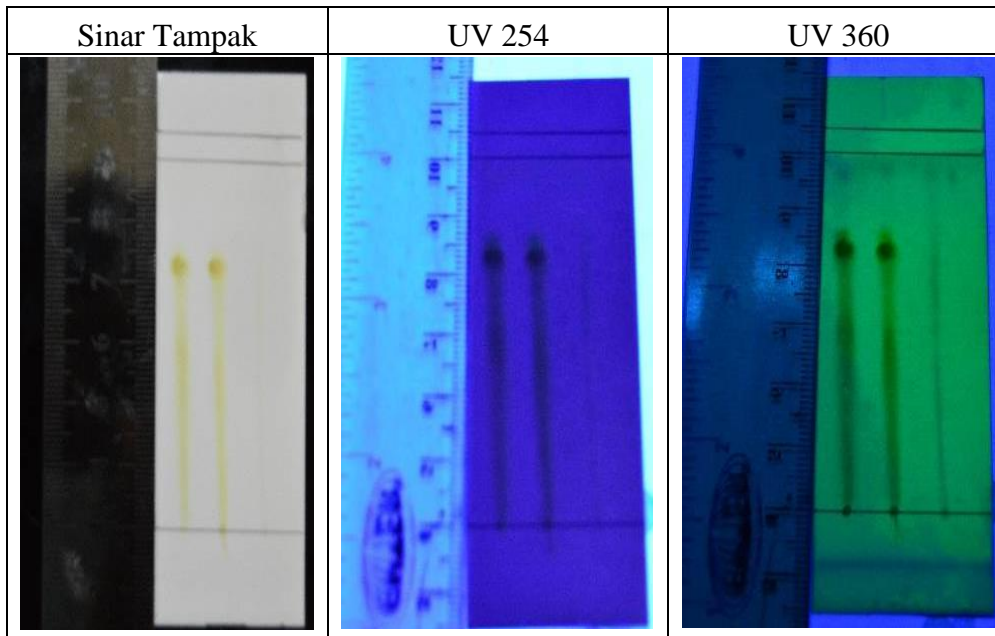
Hasil analisis kandungan kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada tabel 5 berikut:

Tabel 2. Hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

| Kandungan kimia | RF | Sinar tampak | | UV 254 nm | | UV 366 nm | | Ket |
|-----------------|------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----|
| | | Tanpa pereaksi | Tambah pereaksi | Tanpa pereaksi | Tambah pereaksi | Tanpa pereaksi | Tambah pereaksi | |
| Flavonoid | 0,75 | - | Kuning muda | - | Biru | | Biru | + |

Prosedur uji dengan KLT dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia di ekstrak etanol bunga kecombrang. Pelarut pengembang (fase gerak) yang digunakan untuk flavonoid adalah butanol : asam asetat : air (3:1:1) (Rahayu, 2009). Pengujian KLT ini dilanjutkan dengan penyemprotan menggunakan larutan ammonia. Uap ammonia digunakan dalam meningkatkan sensitivitas visualisasi asam organik di mana pH indikator seperti Bromocresol hijau atau bromofenol biru telah digunakan awalnya. Kehadiran ammonia memiliki pengaruh pemberian kontras tajam antara zona zat kromatografi dan latar belakang plat KLT (Dorset *et al*, 2000). Penyemprotan dilakukan untuk mempermudah identifikasi bercak KLT karena sebelum penyemprotan masih belum terlihat adanya bercak pada plat KLT, bercak hasil penyemprotan terlihat berwarna kuning muda dengan pengamatan sinar tampak, dan berwarna biru dengan

pengamatan pada UV 254 nm dan UV 366 nm (Tabel 4). Hasil uji KLT dapat dilihat pada gambar 5 berikut:



Gambar 1. Hasil uji KLT ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan)

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan panjang Rf (Refardation factor).

$$Rf = \frac{\text{jarak tempuh komponen}}{\text{jarak tempuh eluen}} = \frac{4,6 \text{ cm}}{6 \text{ cm}} = 0.76$$

Nilai maksimum Rf adalah 1 dan ini dicapai ketika solute mempunyai perbandingan distribusi dan factor retensi sama dengan 0 yang berarti solute bermigrasi dengan kecepatan sama dengan fase gerak. Nilai minimum Rf adalah 0 dan ini teramati jika solute tertahan pada posisi titik awal di permukaan fase diam (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007).

Bercak yang terlihat di sinar UV kebanyakan disebabkan oleh flavonoid walaupun bercak berflouoresensi biru, merah jambu, jingga dan coklat belum dianggap flavonoid sebelum diperiksa lebih lanjut dengan spektroskopi UV-Vis. Bercak glikosida flavon dan glikosida flavonoid yang khas tampak berwarna lembayung tua dengan sinar UV dan menjadi kuning

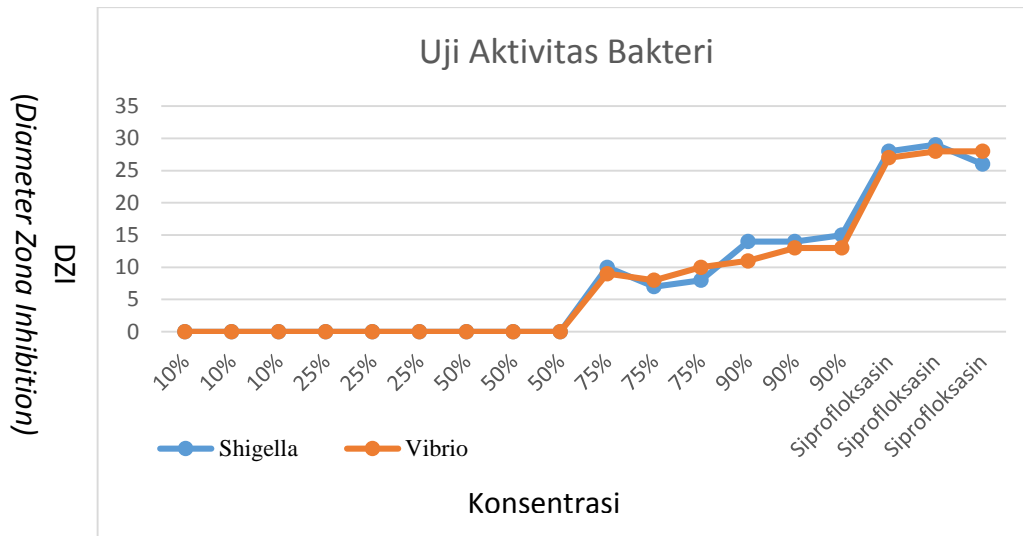
atau hijau kuning bila disemprot NH_3 , tetapi dijumpai juga sejumlah kombinasi warna lain (Markham, 1988).

Berdasarkan penafsiran warna bercak dari segi struktur flavonoid menurut Markham (1988) flavonoid yang ada di bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) adalah jenis isoflavon tanpa 5-OH bebas.

Flavonoid merupakan sejenis senyawa fenol terbesar yang ada, senyawa ini terdiri atas lebih dari 15 atom karbon yang sebagian besar bisa ditemukan dalam kandungan tumbuhan. Flavonoid juga dikenal sebagai vitamin P dan citrin, dan merupakan pigmen yang diproduksi oleh sejumlah tanaman sebagai warna pada bunga yang dihasilkan (Mabry, 1970). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri tanpa bisa kembali utuh (Juliantina, 2008). Hasil yang didapat sesuai dengan penelitian Hidayat & Hutapea(1991) yang menyatakan bahwa kandungan kimia pada bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) ini adalah alkaloid, flavonoid dan minyak atsiri.

5. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Hasil perlakuan pada pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada kurva berikut ini:



Gambar 2. Kurva uji aktivitas antibakteri

Pada uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol bunga kecombrang digunakan beberapa konsentrasi yaitu (10%, 25%, 50%, 75%, 90%). Metode yang digunakan adalah metode Dilusi. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian KBM (Kadar Bunuh Minimum) ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dengan menggunakan konsentrasi di atas dan setelah dilakukan pengujian ternyata tidak semua konsentrasi ekstrak bunga kecombrang menunjukkan hasil positif pada kedua bakteri yaitu *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*, dari beberapa konsentrasi tersebut hanya 2 konsentrasi yang menunjukkan hasil positif yaitu 75% dan 90%. Dilihat dari hasil uji KBM tersebut didapat bahwa harga KBM ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* adalah 75% dapat dilihat pada lampiran 6 (B dan C).

Untuk melihat besar daya hambat ekstrak etanol bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dilakukan uji KHM (Kadar Hambat Minimum) dengan konsentrasi yaitu (10%, 25%, 50%, 75%, 90%). Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah *Kirby-Bauer disk*

diffusion susceptibility test. Metode *Kirby-Bauer* digunakan untuk menentukan sensitifitas bakteri patogen baik yang bersifat aerob maupun anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa anti mikroba (Hudzicki, 2013).

Dalam metode ini digunakan *paper disc*/kertas cakram untuk mengaplikasikan agen antibakteri. Ketika suspensi bakteri diinokulasi ke dalam media dan dalam waktu yang bersamaan dilakukan aplikasi cakram kertas yang mengandung sampel ke dalam media, maka secara simultan pertumbuhan bakteri dan difusi senyawa antibakteri terjadi. Pertumbuhan akan terus terjadi hingga mencapai titik kritis yang ditunjukkan oleh adanya zona hambatan secara radial disekitar cakram kertas. Konsentrasi senyawa antibakteri dalam rentang ini disebut dengan konsentrasi kritis (Hudzicki, 2013).

Hasil dalam penelitian didapatkan bahwa ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Hal ini ditunjukkan pada lampiran 6 (D dan E).

Terbentuknya zona hambat ini dikarenakan adanya zat antibakteri yang ada dalam ekstrak tersebut. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) mengandung beberapa senyawa antibakteri seperti flavonoid. Hal tersebut sesuai dengan literatur yang dijadikan acuan (Naufalin dan Rukmini, (2010) dan Hakim (2009)).

Untuk melihat keefektipan ekstrak bunga kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut digunakan pembanding Siprofloksasin sebagai kontrol positif. Siprofloksasin merupakan antibiotik spektrum luas (*broad spectrum*) golongan floroquinolon yang paling umum digunakan dengan mekanisme menghambat DNA girase yang terdapat dalam bakteri (Chaudari *et al*, 2004).

Berdasarkan pengamatan uji aktivitas antibakteri dari masing konsentrasi dan control positif diketahui bahwa perlakuan beberapa konsentrasi ekstrak memiliki efek yang sama dengan siprofloksasin sebagai control positif, namun hasil pengamatan diketahui bahwa kemampuan penghambatan ekstrak bunga kecombrang lebih lemah apabila dibandingkan dengan siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Data hasil pengujian antibakteri dari masing-masing konsentrasi selanjutnya dilakukan analisis untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.

Nilai DZI yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi dan siprofloksasin dilakukan analisis deskriptif dan parametrik dengan uji *one way* ANOVA berguna untuk mengetahui perbedaan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Analisis deskriptif bertujuan untuk mengetahui rata-rata dari konsentrasi dan siprofloksasin yang memiliki DZI terbesar. Hasil dari analisis deskriptif dari konsentrasi dan siprofloksasin disajikan pada lampiran 5 (A dan B).

Selanjutnya untuk melihat signifikansi diantara hasil konsentrasi dan siprofloksasin tersebut dilakukan dengan uji parametrik *one way* ANOVA. Sebelum dilakukan uji *one way* ANOVA dilakukan pengujian normalitas data dan varians sebagai syarat pengujian. Dari hasil uji diketahui bahwa data yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdistribusi normal dan memiliki varians yang identik sehingga memenuhi persyaratan uji *one way* ANOVA. Hasil analisa uji *one way* ANOVA menunjukkan bahwa rata-rata DZI dari konsentrasi dan siprofloksasin tersebut memang berbeda. Untuk mengetahui perbedaan yang signifikan pada

konsentrasi dan siprofloksasin tersebut maka dilakukan uji lanjutan melalui *multiple comparison* dengan uji Tukey.

Hasil uji Tukey tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 75%, 90% dan siprofloksasin lebih signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Dari hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang dengan konsentrasi 75% dan 90% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*.