

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi Tanaman

Hasil identifikasi tanaman yang dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L) Jacq). Determinasi tanaman mahoni dapat dilihat pada Lampiran 1.

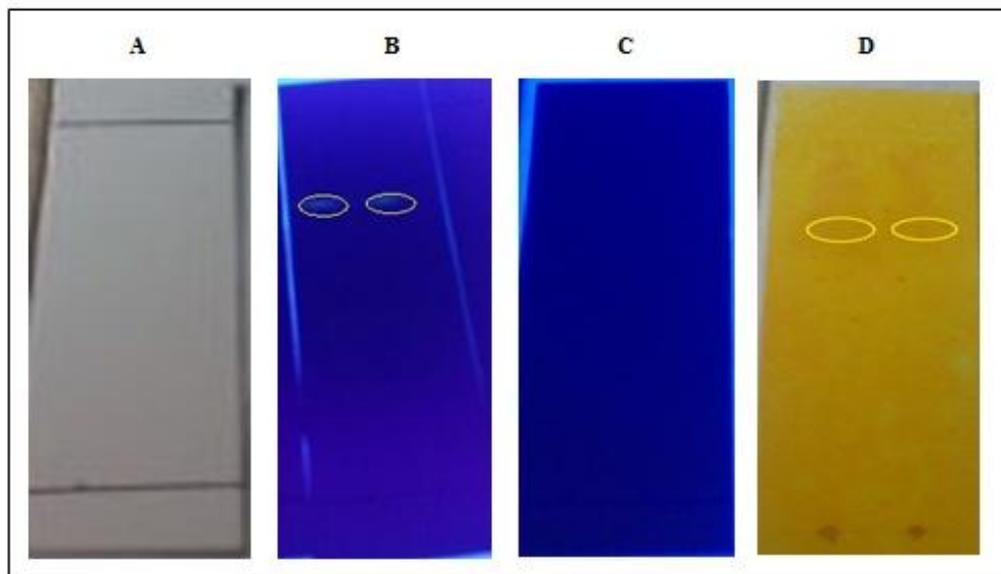
2. Ekstraksi Biji Mahoni

Biji mahoni yang didapatkan sejumlah 1 kg selanjutnya dibersihkan dengan cara dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang terdapat pada biji mahoni. Proses selanjutnya yaitu dilakukan pengeringan terhadap biji mahoni dengan cara dikering udarakan dan terhindar dari matahari langsung hingga menjadi simplisia kering. Biji mahoni yang telah dikeringkan selanjutnya diblender hingga menjadi serbuk untuk meningkatkan luas permukaan bahan simplisia. Hasil dari proses ini diperoleh serbuk simplisia dengan berat 700 gr. Proses ekstraksi untuk menarik senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1 : 8 b/v (Nurjana, 2014) selama 4 hari dan remaserasi 2 hari. Seluruh filtrat yang dihasilkan dari proses maserasi dan remaserasi selanjutnya dicampur dan dipekatkan (Sarker

et al, 2006). Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak kental metanolik berwarna coklat kemerahan sebanyak 23 gr.

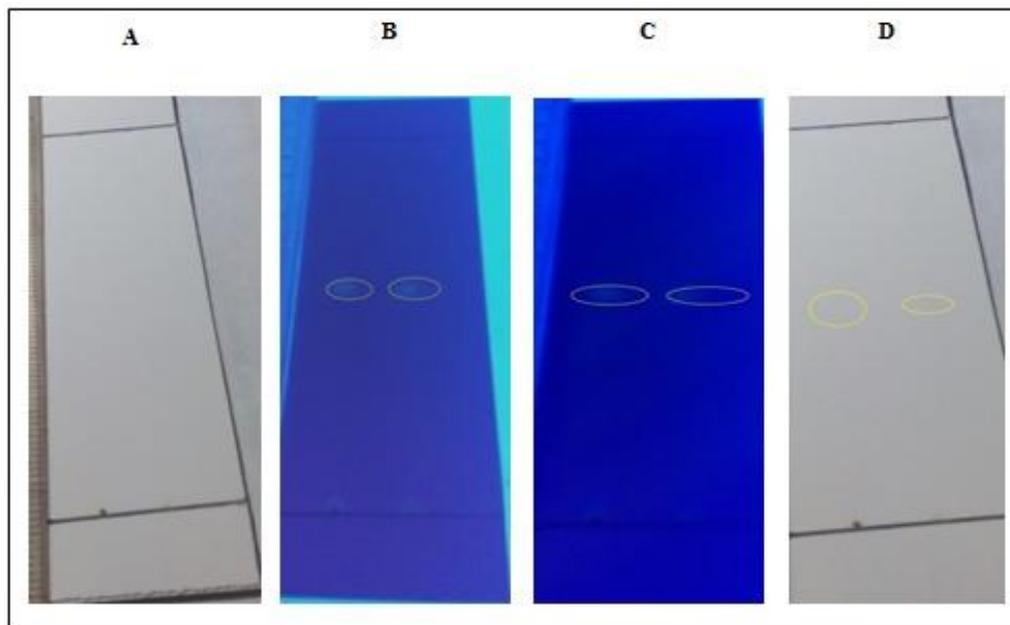
3. Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Biji Mahoni

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) yang dilakukan pada penelitian ini adalah untuk memastikan adanya kandungan senyawa alkaloid dan flavonoid yang terkandung dalam biji mahoni secara kualitatif. Fase diam yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid dan flavonoid yang terkandung dalam biji mahoni yaitu menggunakan Silika gel 60 F₂₅₄ dengan panjang lempengan 3 × 10 cm. Sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu campuran dari etil asetat : kloroform (6 : 1) untuk alkaloid (Haryanti, 2002) dan n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) untuk flavonoid (Marliana, 2007). Sebelum proses penotolan pada lempengan silika sebagai fase diam ekstrak dari biji mahoni diencerkan terlebih dahulu menggunakan metanol. Kemudian dilakukan penotolan pada silika dan dideteksi menggunakan lampu UV 254 nm dan UV 366 nm untuk melihat penampakan bercak khas senyawa yang terdapat pada ekstrak. Hasil dari uji KLT dapat dilihat pada hasil uji alkaloid (gambar 5) dan flavonoid (gambar 6) pada halaman selanjutnya.



Gambar 5. Hasil KLT Alkaloid Biji Mahoni: gambar A pada sinar tampak, gambar B pada sinar UV 254 nm, gambar C pada sinar UV 366 nm., gambar D pada sinar tampak setelah disemprot

Pengamatan hasil uji KLT pada penelitian ini dilakukan secara *visible* dan di bawah sinar tampak, UV 254 nm dan 366 nm sebelum dan sesudah penambahan pereaksi. Menurut Harborne (1987) ekstrak mengandung alkaloid ditandai dengan terbentuknya warna jingga setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Pada hasil uji alkaloid setelah disemprot pereaksi Dragendorff terlihat jelas bercak berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning pada sinar tampak dengan kromatogram sampel menunjukkan nilai Rf 0,77 dan nilai Rf yang dihasilkan telah menunjukkan pemisahan terjadi dengan baik karena terletak diantara 0,2-0,8 (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Hasil identifikasi ini menunjukkan ekstrak tanaman biji mahoni diduga mengandung senyawa alkaloid.



Gambar 6. Hasil KLT Flavonoid Biji Mahoni: gambar A pada sinar tampak, gambar B pada sinar UV 254, gambar C pada sinar UV 366 nm, gambar D pada sinar tampak setelah disemprot

Menurut Damayanti (2001) Flavonoid secara teori akan terdeteksi warna bercak kuning berfluorosensi jika dideteksi dengan sinar UV 366 nm karena memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, sehingga dapat terdeteksi sinar UV dan menimbulkan warna. Pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 6 dimana flavonoid terdeteksi pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm dengan bercak berwarna kuning berfluorosensi. Untuk memperjelas warna bercak pada uji flavonoid, maka ditambahkan pereaksi Sitoborat. Hasil bercak berwarna kuning yang dapat dilihat pada sinar tampak (gambar 6) pada penelitian ini mempertegas adanya senyawa flavonoid dan nilai Rf yang didapat yaitu 0,48. Hasil pemisahan dengan nilai Rf 0,48 menunjukkan pemisahan terjadi dengan baik dikarenakan nilai Rf terletak diantara 0,2-0,8 (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Berdasarkan hasil identifikasi pada penelitian ini dapat

disimpulkan bahwa tanaman biji mahoni diduga mengandung flavonoid. Hasil uji KLT alkaloid dan flavonoid lebih jelas dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Analisis KLT

Senyawa kimia	Pereaksi	Deteksi		Warna hasil deteksi	Rf	Ket
Alkaloid	Dragendroff	Sinar tampak	Sebelum disemprot	-	0,77	+
			Setelah disemprot	Coklat jingga		
		Sinar UV 254 nm	Sebelum disemprot	Biru Meredam		
			Setelah disemprot	Biru Meredam		
		Sinar UV 366 nm	Sebelum disemprot	-		
			Setelah disemprot	-		
Flavonoid	Sitoborat	Sinar tampak	Sebelum disemprot	-	0,48	+
			Setelah disemprot	Kuning		
		Sinar UV 254 nm	Sebelum disemprot	Kuning Meredam		
			Setelah disemprot	Kuning Meredam		
		Sinar UV 366 nm	Sebelum disemprot	Kuning Meredam		
			Setelah disemprot	Tidak Meredam		

4. Hasil Uji Daya Antibakteri Ekstrak Metanolik Biji Mahoni

Ekstrak kental metanolik biji mahoni yang telah didapatkan dari proses ekstraksi selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi dengan kertas cakram untuk mengetahui apakah ekstrak metanolik memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Shigella flexneri*. Pada penelitian ini ekstrak kental yang didapat dibuat dengan variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60% dan 80% sebagai rentang konsentrasi yang dianggap dapat mewakili. Variasi dari ekstrak tersebut dilakukan pengujian dengan tiga kali replikasi. Data yang diperoleh dari pengujian ini digunakan sebagai parameter untuk melihat nilai diameter hambatan dari kemampuan ekstrak metanolik biji mahoni untuk menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri*. Nilai diameter hambatan didasarkan pada luas zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang dapat diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong dengan satuan milimeter (mm). Semakin luas zona bening yang terbentuk maka semakin baik keefektifan daya antibakteri dari sampel yang diujikan. Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini juga dilakukan pada ciprofloksasin sebagai kontrol positif. Hasil pengujian ekstrak metanolik dinyatakan dalam tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Konsentrasi	Diameter Hambatan			
	I	II	III	Rata-rata
20 %	7,5 mm	8,5 mm	8,25 mm	8,1 mm
40 %	11,25 mm	11,5 mm	11 mm	11,25 mm
60 %	16,25 mm	17 mm	16 mm	16,4 mm
80 %	20 mm	20,5 mm	20 mm	20,2 mm
Ciprofloksasin	30,5 mm	30 mm	30 mm	30,2 mm

Keterangan : I (Replikasi pertama), II (Replikasi kedua), III (Replikasi ketiga)

Hasil pengujian ekstrak metanolik pada tabel 2 menunjukkan bahwa keempat variasi konsentrasi menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap *Shigella flexneri*. Hasil ini dinyatakan dengan nilai rata-rata dari ketiga replikasi pada konsentrasi 20% menunjukkan nilai diameter hambatan sebesar 8,1 mm, pada konsentrasi 40% nilai diameter zona hambatan yang terbentuk sebesar 11,25 mm, pada konsentrasi 60% sebesar 16,4 mm dan pada konsentrasi tertinggi 80% sebesar 20,2 mm. Sedangkan nilai rata-rata diameter hambatan ciprofloksasin dengan konsentrasi 0,612% yang digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian ini yaitu 30,2 mm. Dari hasil yang diperoleh dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa diameter hambatan terendah dari ekstrak metanolik berada pada konsentrasi 20% yakni 8,1 mm dan jika dibandingkan dengan ciprofloksasin sebagai kontrol positif, diameter hambatan tertinggi dari ekstrak metanolik yang diujikan yakni pada konsentrasi 80% sebesar 20,2 mm masih di bawah nilai diameter hambatan dari ciprofloksasin yakni 30,2 mm.

Nilai zona hambat dari ekstrak metanolik selanjutnya dilakukan uji analisis parametik menggunakan uji *one way ANOVA* yang berguna untuk melihat perbedaan daya hambat dari tiap konsentrasi ekstrak. Sebelum dilakukan uji *one way ANOVA* dilakukan uji normalitas data sebagai syarat uji parametik *one way ANOVA*. Pada uji normalitas data dilakukan pengujian dengan uji *sapiro-wilk* dikarenakan data yang diperoleh sesuai dengan syarat uji *sapiro-wilk* yaitu data yang ingin diujikan kurang dari 50. Dari hasil uji normalitas yang dapat dilihat pada lampiran 6 diketahui bahwa data yang

digunakan dalam penelitian ini terdistribusi normal sehingga memenuhi syarat uji parametrik *one way* ANOVA. Hasil uji *one way* ANOVA yang dapat menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat dari tiap konsentrasi ekstrak memang berbeda.

B. Pembahasan

Banyak tanaman obat yang telah digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit infeksi yang diderita. Diantara tanaman obat tersebut salah satunya yaitu mahoni. Semua bagian dari mahoni dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat, namun yang paling banyak dimanfaatkan khasiatnya sebagai tanaman obat yaitu bijinya. Biji mahoni telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, antidiare, anti malaria, dan antimikroba (Falah *et al*, 2007).

Langkah awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel yang diuji yaitu dengan cara uji determinasi tanaman. Uji determinasi tanaman dimaksudkan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan sehingga tidak terjadi kesalahan dalam jenis sampel penelitian. Berdasarkan hasil uji determinasi tanaman, diperoleh bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar biji mahoni (*Swietenia mahagoni* (L) Jacq). Setelah diperoleh, simplisia disortasi dengan cara mengupas kulit biji seperti kemudian memisahkannya dari simplisia yang rusak. Setelah disortasi, biji dikeringkan. Tujuan dari pengeringan ini dilakukan untuk menghilangkan kadar air pada sampel tumbuhan agar tidak merusak kandungan atau senyawa yang diduga sebagai agen antibakteri oleh reaksi enzimatis dan juga mencegah terjadinya pembusukan selama proses penyimpanan (Katno, 2008). Simplisia

yang telah kering kemudian ditimbang untuk mengetahui berat bahan awal. Selanjutnya simplisia biji mahoni yang didapatkan diblender hingga menjadi serbuk. Tujuan penghalusan pada simplisia yaitu untuk memperluas daerah penarikan kandungan kimia, sehingga pada saat proses ekstraksi kontak antara pelarut dan sampel lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak dengan optimal. Proses pembuatan serbuk simplisia dapat mempengaruhi kualitas ekstrak sehingga harus dilakukan dengan hati-hati (Depkes RI, 2000).

Proses ekstraksi dengan pelarut metanol dilakukan dengan metode maserasi selama 4 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Proses maserasi dengan pengulangan (remaserasi) akan lebih efisien dibandingkan dengan maserasi tunggal, hal ini terjadi karena ada kemungkinan sejumlah besar senyawa aktif dalam sampel masih tertinggal dari proses maserasi pertama sehingga hasil ekstraksi yang optimal bisa didapatkan. Menurut Ditjen POM (2000) menyatakan bahwa proses ekstraksi suatu tanaman harus dilakukan secara berulang agar bisa mendapatkan kadar zat aktif yang maksimal sehingga dapat dicapai potensi terapi yang maksimal. Metanol digunakan sebagai pelarut dengan alasan metanol merupakan pelarut organik yang bersifat universal yang sering digunakan pada saat melakukan ekstraksi karena dapat melarutkan analit yang bersifat polar karena mempunyai gugus $-OH$ dan melarutkan analit non polar karena mempunyai gugus $-CH_3$ sehingga dapat mengekstrak biji mahoni secara optimal. Selain itu senyawa yang diekstrak dengan pelarut metanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan pelarut yang lain (Kuntorini dkk, 2013). Proses ekstraksi dilakukan terhadap 200 gr serbuk

simplisia dengan 1600 ml metanol (1 : 8 b/v) (Nurjana, 2014). Menurut Voigh (1995) menyatakan bahwa semakin besar perbandingan antara serbuk simplisia dengan cairan pengekstraksi, maka akan semakin banyak hasil yang diperoleh dari proses maserasi tersebut. Selama periode ekstraksi ini dilakukan pengadukan secara periodik yang dimaksudkan untuk memberi kemudahan pelarut untuk melarutkan senyawa yang terdapat dalam sel tanaman (Baraja, 2008).

Apabila terjadi keadaan diam selama proses maserasi berlangsung, hal ini dapat menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif dari dalam sel menuju ke luar sel, sehingga memperlama proses keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel (Voigh, 1995). Ekstrak yang didapatkan kemudian dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan menggunakan penangas air sehingga hasil ekstraksi ini diperoleh ekstrak kental 23,14 gr biji mahoni. Proses pemekatan hasil ekstraksi menggunakan *rotary evaporator* dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut yang masih tertinggal saat proses ekstraksi dan meningkatkan konsentrasi larutan agar lebih tinggi (Voigh, 1995). Pemekatan dengan bantuan *rotary evaporator* digunakan agar proses pemekatan menjadi lebih cepat serta pelarut yang digunakan dapat diperoleh kembali sehingga lebih efisien.

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri, ekstrak yang didapat terlebih dahulu dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder untuk mengetahui adanya kandungan alkaloid dan flavonoid pada biji mahoni yang diduga memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode KLT yang merupakan metode pemisahan fisiko kimia secara kualitatif. Pemilihan

identifikasi dengan metode KLT dikarenakan memiliki keuntungan yaitu waktu yang diperlukan dalam pengujian yang tergolong cepat dan juga kemudahan dalam proses pengerjaan serta cuplikan yang digunakan sangat sedikit sehingga dapat diulang (Sastrohamidjojo, 2002).

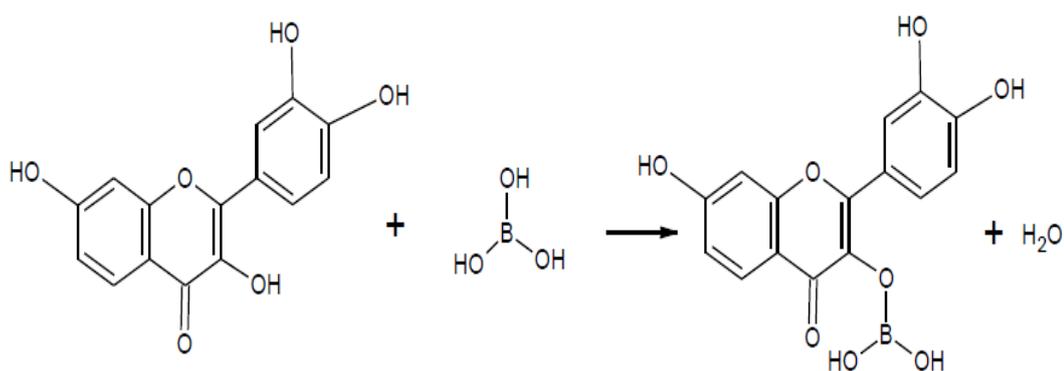
Langkah awal yang dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa pada penelitian ini yaitu melarutkan 1,5 gr ekstrak metanolik biji mahoni pada wadah dengan metanol secukupnya. Hal ini dilakukan untuk mempermudah penotolan dengan menggunakan pipa kapiler. Proses penotolan sampel pada fase diam silika dilakukan dengan 2 tempat penotolan yang berbeda untuk melihat efektifitas penotolan dengan bercak yang akan terlihat pada UV 254 nm dan UV 366 nm serta ukuran penotolan yang dibuat sekecil dan sesempit mungkin untuk mendapatkan pemisahan yang optimal pada KLT (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Fase diam yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu silika gel 60 F₂₅₄ yakni silika yang bersifat asam yang berguna untuk kromatografi pembagian dan penyerapan serta terdiri dari indikator flourosensi yang akan berflourosensi pada λ 254 nm. Sedangkan fase gerak yang digunakan merupakan campuran dari beberapa pelarut yang telah disesuaikan dan dibuat dalam volume total masing-masing 5 ml untuk tiap senyawa.

Pengembangan sampel ekstrak biji mahoni yang telah ditotolkan pada silika gel dilakukan dengan cara merendam lempengan ke dalam bejana yang telah terisi fase gerak. Bejana terlebih dahulu dibuat dalam keadaan yang sudah terjenuhi dengan cara menempelkan kertas saring yang bagian bawahnya tercelup pada fase gerak dalam bejana. Kemudian fase gerak akan merambat keatas

membasahi kertas saring, dengan demikian keadaan jenuh dalam bejana akan lebih cepat tercapai. Tujuan dari penjenjuran uap di dalam bejana adalah agar arah pengembangannya tidak miring sehingga menghasilkan spot atau bercak warna yang tidak menyebar. Batas rambatan fase gerak pada penelitian ini ditentukan oleh peneliti sendiri yakni sepanjang 8 cm. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan), selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakan (Stahl, 1985). Deteksi warna pada penelitian ini diperjelas dengan reaksi penyemprotan menggunakan pereaksi Dragendorff untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa alkaloid dan pereaksi Sitoborat untuk mendeteksi adanya kandungan senyawa flavonoid karena pada masing-masing senyawa tidak menunjukkan bercak khas pada sinar tampak sebelum ditambahkan pereaksi.

Berdasarkan hasil identifikasi yang terlihat seperti pada tabel 1 menunjukkan alkaloid yang sebelum disemprot dengan pereaksi menunjukkan bercak biru berfluorosensi pada sinar UV 254 nm dan setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff menampilkan bercak khas berwarna coklat jingga yang dapat terlihat pada sinar tampak dengan nilai R_f 0,77. Hal ini dikarenakan adanya ikatan alkaloid dengan ion logam yang terkandung dalam pereaksi Dragendorff sehingga membentuk senyawa kompleks yang berwarna. Atom nitrogen pada alkaloid yang mempunyai pasangan elektron bebas dapat membentuk ikatan kovalen kordinat dengan ion logam (Mc Murry, 2004). Sedangkan hasil identifikasi flavonoid menunjukkan bercak kuning berfluorosensi yang dapat terlihat pada UV 254 nm dan 366 nm sebelum penambahan pereaksi Sitoborat dan dengan penambahan pereaksi Sitoborat terbentuk bercak khas berwarna kuning

yang dapat dilihat pada sinar tampak dengan nilai Rf 0,48. Hal ini terjadi karena adanya reaksi antara flavonoid dan asam borat yang terdapat pada Sitoborat sehingga membentuk khelat yang berwarna kuning (Markham, 1982). Adapun mekanisme yang terjadi seperti pada gambar 7 di bawah ini.



Gambar 7. Mekanisme Reaksi Sitoborat dan Flavonoid (Estuti, 2015)

Hasil bercak maupun nilai Rf yang ditunjukkan masing-masing senyawa menunjukkan adanya kandungan alkaloid dan flavonoid dalam biji mahoni yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri.

Selanjutnya untuk mengetahui apakah ekstrak metanolik biji mahoni dapat berkhasiat sebagai antibakteri, maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella flexneri*. Tahap pertama yang dilakukan dalam pengujian yaitu melakukan sterilisasi. Sterilisasi dilakukan pada alat atau bahan yang akan digunakan selama pengujian sehingga dapat terbebas dari mikroorganisme pengganggu yang dapat mempengaruhi hasil pengujian. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan ekstrak kental metanolik biji mahoni dengan konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%. Pembuatan konsentrasi larutan uji ekstrak metanolik dengan variasi konsentrasi tersebut menggunakan aquades sebagai

pelarut pengencer. Tujuan pembuatan variasi konsentrasi ini adalah untuk mengetahui nilai diameter zona hambatan dari berbagai konsentrasi yang diujikan pada suatu senyawa antibakteri terhadap bakteri yang diujikan.

Metode yang digunakan dalam uji antibakteri ekstrak metanolik biji mahoni ini adalah metode difusi menggunakan kertas cakram. Pemilihan metode difusi pada penelitian ini dikarenakan pada metode ini ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri dapat terlihat dengan jelas sehingga dapat memudahkan pengamatan pada bakteri uji. Parameter yang digunakan pada metode ini yaitu zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram. Zona hambatan berupa area jernih yang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar. Semakin luas zona hambatan maka dapat dikatakan semakin besar efektifitas sebagai antibakteri. Kertas cakram yang digunakan dalam penelitian ini memiliki diameter 5 mm. Kertas cakram yang telah diaplikasikan pada masing-masing sampel selanjutnya akan mengasobrsi air dari media agar dan agen-agen antibakteri akan berdifusi dalam agar. 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 (Bauer *et al*, 1966), berat molekul senyawa antibakteri dan tebal media (Hudzicki, 2013). Ketika suspensi bakteri diinokulasi ke dalam media dan dalam waktu yang bersamaan dilakukan aplikasi kertas cakram yang mengandung sampel ke dalam media, maka secara simultan pertumbuhan bakteri dan difusi senyawa antibakteri terjadi. Pertumbuhan bakteri yang tidak terjadi ditunjukkan oleh adanya zona

hambatan berupa area bening disekitar kertas cakram yang akan dijadikan sebagai parameter efektifitas dari sampel yang diujikan.

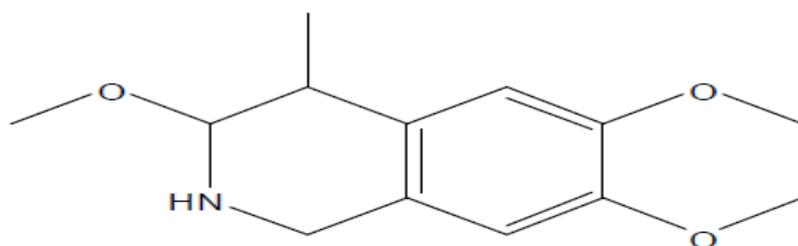
Dalam penelitian ini dilakukan perlakuan khusus pada kertas cakram yang telah direndam dengan ekstrak metanolik yaitu dengan kertas cakram didiamkan terlebih dahulu selama 2 jam sebelum diletakan di atas permukaan agar untuk menguapkan pelarut metanol yang mungkin masih tersisa di dalam ekstrak sehingga dapat dengan jelas dipastikan bahwa yang menghambat pertumbuhan bakteri benar-benar kandungan senyawa biji mahoni (Rhimou *et al*, 2010).

Penelitian aktivitas antibakteri ini digunakan kontrol positif sebagai pembanding. Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding untuk melihat apakah setiap perlakuan mempunyai efek yang sama terhadap antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah ciprofloksasin 500 mg. Penggunaan ciprofloksasin sebagai kontrol positif karena menurut Sepdahlia (2013) ciprofloksasin mempunyai sensitifitas terhadap bakteri *Shigella flexneri* dengan zona hambat 30 mm. Ciprofloksasin bekerja dengan cara menghambat DNA pada bakteri. Keefektifitas ciprofloksasin sebagai kontrol positif pada penelitian ini terbukti dengan adanya diameter hambatan yang ditunjukkan oleh zona bening disekitar kertas cakram rendaman ciprofloksasin. Ketentuan daya hambat antibakteri adalah sebagai berikut : daerah hambatan lebih dari 20 mm berarti kuat, daerah hambatan 16-20 mm berarti sedang, 10-15 mm berarti lemah dan daerah hambatan kurang dari 10 mm dapat diartikan daya hambat yang dihasilkan kurang efektif (Greenwood, 1995).

Hasil penelitian yang didapatkan pada tabel 2 menunjukkan nilai rata-rata zona hambat ekstrak metanolik yang berada pada konsentrasi 20% yakni 8,1 mm tergolong kurang efektif, sedangkan pada konsentrasi 40%, 60% dan 80% berturut-turut menghasilkan rata-rata zona hambat tergolong lemah, sedang, dan kuat yakni 11,25 mm, 16,4 mm, 20,2 mm. Berdasarkan hasil pengujian yang didapat pada tabel 2 menunjukkan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri* yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak 80% lebih besar dibandingkan konsentrasi ekstrak 20%, 40% dan 60%. Hasil ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji mahoni yang diberikan maka semakin besar pula aktivitas antibakterinya. Hal ini dikarenakan kuantitas senyawa aktif semakin besar sehingga kemampuan ekstrak metanolik biji mahoni dalam menghambat bakteri juga semakin besar. Hasil ini sejalan dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2005) yang menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar efek atau aktivitas yang dihasilkan. Namun jika dibandingkan dengan rata-rata nilai zona hambat ciprofloksasin sebagai kontrol positif dalam pengujian ekstrak metanolik biji mahoni yakni 30,2 mm, maka nilai diameter zona hambat dari ekstrak dapat dikatakan lebih kecil. Hal ini bisa terjadi karena ekstrak merupakan campuran senyawa, sedangkan ciprofloksasin merupakan senyawa murni, akan tetapi ekstrak metanolik biji mahoni yang diujikan dalam penelitian ini memiliki potensi sebagai bahan antibakteri alami karena mampu menghambat pertumbuhan *Shigella flexneri*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pada sekitar kertas cakram rendaman ekstrak. Zat antibakteri menyebabkan membran sel berada dalam lingkungan yang

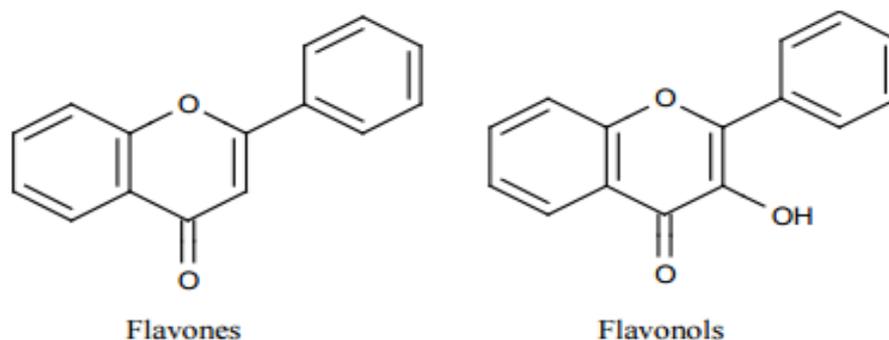
hipertonik. Suatu keadaan hipertonik dapat menyebabkan penghambatan pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran sel yang tipis (Jawetz dkk, 2005). Membran sel bakteri gram negatif seperti *Shigella flexneri* tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tipis dan memiliki lapisan fosfolipid yang tebal. Senyawa antibakteri dapat melisiskan membran sel dengan melarutkan lapisan fosfolipid dari membran sel bakteri (Kusumaningrum, 2002).

Menurut Ajizah (2004) selain faktor konsentrasi, jenis bahan antimikroba juga menentukan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penelitian ini aktivitas antibakteri biji mahoni diduga karena adanya senyawa-senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri seperti alkaloid dan flavonoid. Penelitian yang dilakukan Ayuni dan Sukarta (2013) menunjukkan bahwa alkaloid yang terkandung pada biji mahoni adalah 3,6,7-trimetoksi-4-metil-1,2,3,4-tetrahidroisokuinolin dengan dugaan struktur seperti pada gambar 8 di bawah ini.



Gambar 8. Struktur 3,6,7-trimetoksi-4-metil-1,2,3,4-tetrahidroisokuinolin (Ayuni dan Sukarta, 2013)

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Hajli (2011) menunjukkan bahwa golongan flavonoid yang terkandung dalam biji mahoni merupakan senyawa flavon dan flavonol dengan struktur seperti pada gambar 9 di halaman selanjutnya.



Gambar 9. Struktur Senyawa Flavon dan Flavonol (Mabry *et al*, 1970)

Keberadaan metabolit sekunder dalam biji mahoni ini menjadi faktor penting dalam mekanismenya menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan alkaloid pada biji mahoni dapat mengubah susunan rantai DNA pada inti sel bakteri. Diduga mekanismenya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995). Sedangkan mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan hidrogen, sehingga menyebabkan struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil. Akibatnya fungsi permeabilitas bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri (Harborne, 2003).