

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi Tanaman

Hasil identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*).

2. Pembuatan Ekstrak Etanolik

Umbi bawang Dayak sebanyak 2 kg yang telah dibersihkan dengan air bersih dan dirajang tipis, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain berwarna hitam, setelah kering simplisia di *blender* hingga menjadi serbuk untuk meningkatkan luas permukaan bahan baku. Hasil dari *blender* diperoleh simplisia serbuk sebanyak 1 kg. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7 b/v dan dilakukan pengadukan selama 5 hari. Setelah dilakukan pengadukan selama 5 hari ekstrak disaring menggunakan kain planel dan kertas saring serta dibantu dengan alat vakum untuk mempercepat penyaringannya, kemudian dilakukan rotary untuk mendapatkan ekstrak kental dan dilakukan penguapan menggunakan waterbath. Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak kental etanolik bawang Dayak sebanyak 108,41 gram berwarna merah tua.

Tabel 4.1.Karakteristik ekstrak bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*)

Karakteristik ekstrak	Hasil
Rendemen	10,84 %
Warna	Merah tua
Rasa	Asam
Bau	Wangi khas bawang Dayak, seperti bau umbi-umbian

3. Skrining Fitokimia

Tabel 4.2.Hasil Skrining fitokimia ekstrak bawang Dayak

No	Pemeriksaan	Preaksi	Hasil	Keterangan
1	Flavonoid	HCl, Mg	+	Terbentuk warna merah jingga
2	Kuinon	NaOH	+	Terbentuk warna merah keunguan
3	Saponin	Aquadest, HCl	+	Terbentuk busa
4	Steroid	H ₂ SO ₄	-	Terbentuk warna hitam
5	Tanin	FeCl ₃ 0,1 %	+	Terbentuk endapan keruh

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dilakukan dengan berbagai konsentrasi yaitu, 20%, 40%, 60%, dan 80%. Pelarut yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah Tween 20%. Varian konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Metode

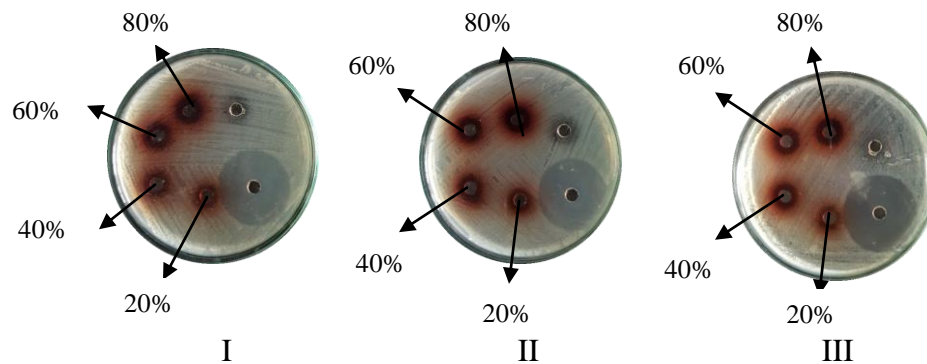
yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi dilanjutkan dengan melubangi pada bagian media agar. Hasil diameter zona inhibisi dapat dilihat pada **Tabel 4.3.**

Tabel 4.3. Diameter zona inhibisi ekstrak bawang Dayak terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

Konsentrasi	Replikasi (mm)			Rata-rata (mm)	± SD
	I	II	III		
80%	11,6	11,6	12	11,7	±0.230
60%	11	11	11,3	11,1	±0.173
40%	10,6	10,6	10,3	10,5	±0.173
20%	9	9,3	9	9,1	±0.173
K - (Tween)	0	0	0	0	0
K+ (Antiotik)	32	31,3	32	31,7	±0.404

Keterangan :

Tiap lubang replikasi dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali



Gambar 4.1. Hasil zona bening ekstrak bawang Dayak percobaan I, II, dan III.

5. Analisis Data SPSS *Kruskal Wallish*

Pada penelitian ini digunakan analisis data menggunakan program SPSS. Hasil dari data uji normalitas memiliki nilai <0.05 , maka data tidak terdistribusi normal sehingga menggunakan uji analisis statistik *Kruskal Wallish*. Hasil uji analisis statistik *Kruskal Wallish* dikatakan ada perbedaan jika nilai signifikannya lebih kecil dari ($P < 0.05$).

Tabel 4.4. Hasil uji normalitas

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.	Statistik	df	Sig.
Konsentrasi 80%	.385	3	.	.750	3	0.00
Konsentrasi 60%	.385	3	.	.750	3	0.00
Konsentrasi 40%	.385	3	.	.750	3	0.00
Konsentrasi 20%	.385	3	.	.750	3	0.00
K + (Antibiotik)	.385	3	.	.750	3	0.00

Tabel 4.5. Hasil uji *Kruskal Wallish*

	DZI
<i>Chi-Square</i>	13.622
df	4
<i>Asymp. Sig.</i>	0.009

B. Pembahasan

Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) adalah salah satu tanaman yang memiliki banyak kegunaan terutama berkhasiat untuk pengobatan. Penelitian secara empiris bawang Dayak merupakan tanaman obat multifungsi untuk

pengobatan diabetes militus, obat bisul, sakit perut, dan hipertensi (Galingging, 2007).

Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) yang digunakan pada penelitian ini adalah bawang Dayak yang diperoleh dari Kecamatan Kota Besi, Kabupaten Kotawaringin timur, Sampit, Kalimantan tengah.

Langkah awal sebelum dilakukannya pembuatan ekstrak etanolik adalah determinasi. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan digunakan sehingga tidak terjadi kesalahan dalam jenis sampel penelitian . Berdasarkan hasil determinasi, diperoleh informasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*).

Untuk melakukan proses ekstraksi, bawang Dayak terlebih dahulu dibersihkan menggunakan air mengalir dan dirajang tipis-tipis, kemudian bawang Dayak dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam untuk menghilangkan kadar airnya agar mencegah terjadinya proses pembusukan pada saat penyimpanan. Tujuan dari penutupan kain hitam pada saat dilakukannya pengeringan adalah untuk menghindari kontak langsung antara bawang Dayak dengan sinar matahari sehingga kerusakan senyawa-senyawa yang bisa merusak bawang Dayak bisa dikurangi. Penggunaan kain hitam juga bersifat menyerap panas sehingga proses pengeringan dengan menggunakan kain hitam tidak akan mengganggu proses pengeringan (Anggraini *et al.*, 2007).Setelah dikeringkan simplisia dihaluskan menggunakan *blender* hingga menjadi serbuk. Penyerbukan

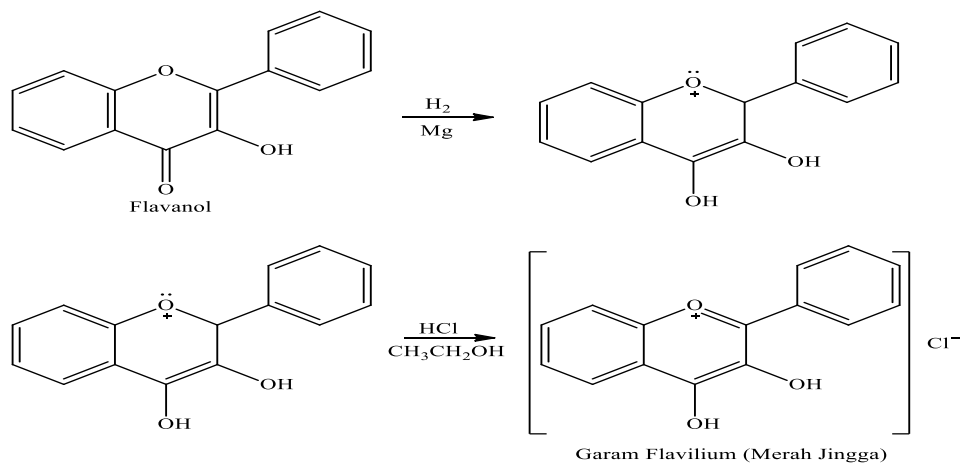
bertujuan untuk memperluas permukaan agar mudah menarik senyawa kimia yang terkandung. Proses penyerbukan simplisia harus dilakukan dengan sangat hati-hati karena dapat mempengaruhi kualitas ekstrak (Depkes, 2000).

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan direndam selama 5x24 jam. Etanol biasanya digunakan sebagai pelarut karena merupakan pelarut yang bersifat universal yang mana mampu melarutkan senyawa yang kepolarannya relatif tinggi hingga relatif rendah (Wulandari, 2011). Kelebihan dari pembuatan ekstrak dengan metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah memerlukan waktu yang cukup lama dalam proses pembuatannya (Voight, 1995). Proses ekstraksi dilakukan dengan 1 kg serbuk simplisia dengan 7 liter etanol 70% (1 : 7 b/v). Sebelum priode ekstraksi ini ekstrak dilalukan pengadukan secara periodik untuk memudahkan pelarut dalam melarutkan senyawa yang tedapat dalam sel tanaman, kemudian ekstrak dimasukan dalamalat *rotary evaporator* untuk menghilangkan kadar air dan kadar pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak yang cukup kental, setelah itu dilakukan lagi penguapan menggunakan *waterbath* agar ekstrak yang didapat benar-benar kental.

Ekstrak kental selanjutnyadilakukan *skrining* fitokimia untuk mengetahui senyawa flavonoid, kuinon, saponin, steroid, dan tanin yang terkandung dalam ekstrak bawang Dayak. *Skrining* fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan

secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa kimia metabolit skunder pada tumbuhan.

Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi logam Magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Penambahan serbuk logam Mg bertujuan agar membentuk ikatan gugus karbonil pada senyawa flavonoid, kemudian penambahan HCl pekat bertujuan untuk pembentukan garam flavilium yang ditandai dengan perubahan warna merah jingga (Depkes, 1995). Berikut reaksi yang terjadi saat uji flavonoid ditunjukkan pada **Gambar4.2**.

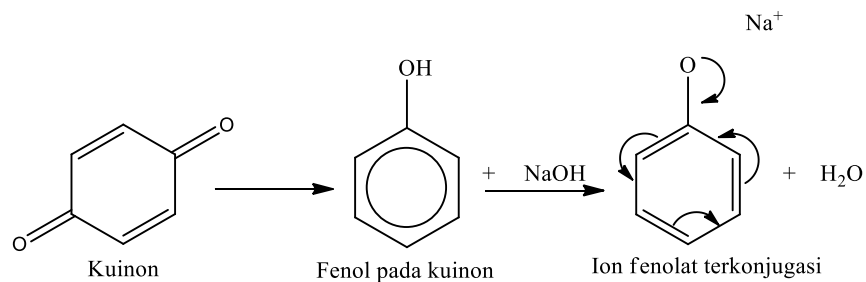


Gambar4.2. Reaksi senyawa flavonoid dengan pereaksi Mg dan HCl

Pada pengujian flavonoid ini didapatkan kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak bawang Dayak yang ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Flavonoid mempunyai mekanisme sebagai antibakteri yang berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein rusak,

kestabilan dinding sel dan membran plasma terganggu kemudian bakteri akan mengalami lisis (Rinawati, 2011). Flavonoid juga memiliki aktivitas biologis antara lain sebagai antioksidan, hepatoprotektif, antibakteri, antikanker, dan antiviral (Hayashi *et al*, 1998).

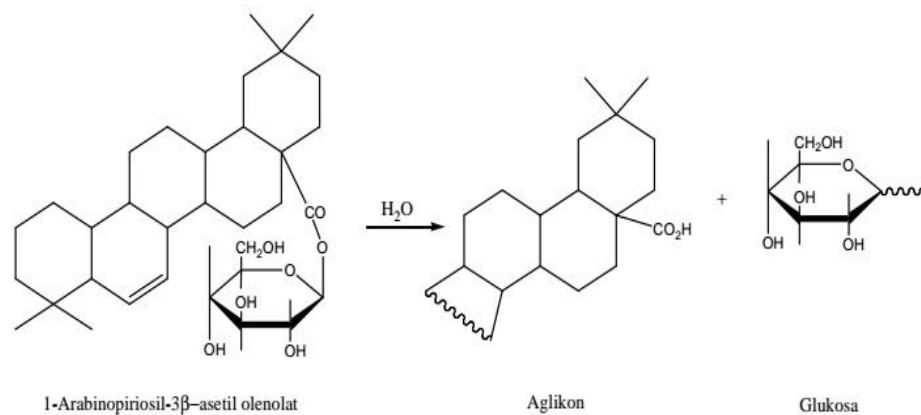
Uji kuinon dilakukan dengan menggunakan pereaksi larutan natrium hidroksida (NaOH) 1 N. Pereaksi NaOH 1N berfungsi untuk mendeptonasi gugus fenol pada kuinon sehingga terbentuk ion fenolat. Ion fenolat ini dapat menyerap cahaya tertentu dan menimbulkan warna merah (Harborne, 1987). Berikut reaksi yang terjadi pada uji kuinon ditunjukkan pada **Gambar 4.3**.



Gambar4.3.Reaksi uji kuinon

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada penelitian ini terbentuknya warna merah ke unguan yang menunjukkan terdapatnya senyawa kuinon pada ekstrak bawang Dayak. Senyawa kuinon sendiri mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan berikatan pada protein dan membuat rangkaian kompleks dengan asam amino sehingga akan mengganggu metabolisme sel bakteri dan menyebabkan protein kehilangan fungsinya (Cowan, 1999).

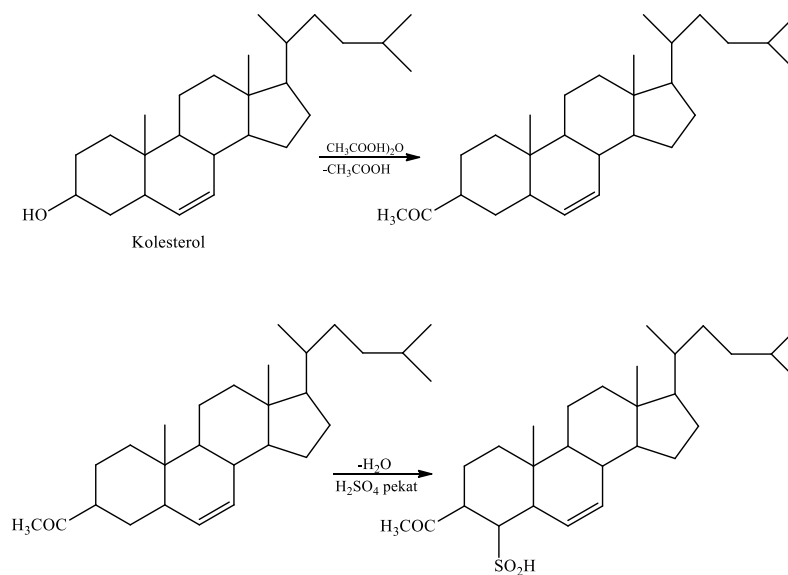
Uji saponin dilakukan dengan menggunakan pereaksi aquadest sampai membentuk buih diamkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 1 tetes asam klorida (HCl) bila buih tetap tidak hilang menunjukkan adanya senyawa saponin. Timbulnya buih menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Berikut reaksi yang terjadi pada uji saponin ditunjukkan pada **Gambar 4.4**.



Gambar 4.4.Reaksi hidrolisis saponin dalam air

Berdasarkan hasil penelitian menunjukan adanya buih pada tabung reaksi yang mengindikasikan terdapatnya senyawa saponin dalam ekstrak bawang Dayak. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang bersifat seperti sabun yang diindikasikan terbentuknya busa / buih. Saponin juga mempunyai mekanisme sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi membunuh mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga luka tidak mengalami infeksi yang berat (Robinson, 1995).

Uji steroid dilakukan dengan penambahan pereaksi anhidrida asetat ($C_4H_6O_3$), kloroform ($CHCl_3$), dan tambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4), ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu (Depkes, 1980). Berikut reaksi yang terjadi pada uji steroid ditunjukkan pada **Gambar 4.5**.

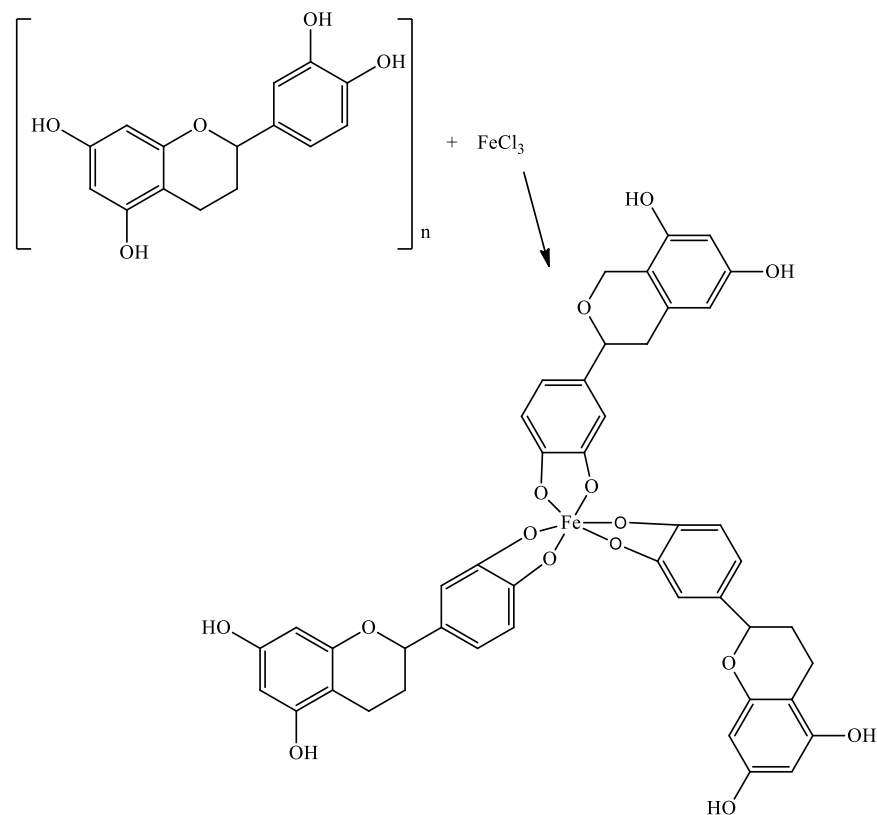


Gambar 4.5. Reaksi uji steroid.

Berdasarkan hasil yang didapat terjadinya perubahan warna hitam yang mengindikasikan tidak terdapatnya senyawa steroid dalam ekstrak bawang Dayak. Steroid sendiri mempunyai mekanisme sebagai antibakteri yang berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Steroid dapat juga berinteraksi dengan membran fosfolipid sel bersifat permiebele terhadap senyawa lipofilik sehingga

menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed, 2007).

Uji tanin dilakukan dengan menambahkan pereaksi FeCl_3 , ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam dan terdapat endapan (Harborne, 1987). Berikut reaksi yang terjadi antar tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan pada **Gambar 4.6**.



Gambar 4.6.Reaksi antara tanin dengan FeCl_3

Berdasarkan hasil yang didapat pada penelitian ini warna yang ditunjukkan adalah hitam dan terdapat endapan yang mengidentifikasi bahwa senyawa tanin terdapat pada ekstrak bawang Dayak. Mekanisme tanin sebagai antibiotik

berhubungan dengan kemampuan yang menginaktifkan sel mikroba dan juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga memiliki senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil didalamnya, maka mekanisme dalam menginaktifkan bakteri dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Apabila bakteri semakin banyak mengandung lipid maka membutuhkan konsentrasi tinggi untuk membuat bakteri tersebut lisis (Ngajow *et al.*, 2013).

Sterilisasi alat dilakukan sebelum uji aktivitas antibakteri dengan tujuan untuk membebaskan atau menghilangkan mikroorganisme seperti bakteri, fungi (jamur), protozoa dan virus yang masih terdapat pada alat. Setiap alat dan bahan harus dalam keadaan steril sebelum digunakan hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya kontaminasi pada proses uji aktivitas antibakteri. Proses sterilisasi pada penelitian ini adalah sterilisasi panas kering (oven dan *flaming*) dan sterilisasi basah (autoklaf). Alat-alat yang disterilisasi menggunakan oven (sterilisasi panas kering) adalah alat-alat gelas seperti tabung reaksi, erlenmeyer dan alat-alat lainnya sebelum disterilisasi menggunakan oven alat-alat tersebut terlebih dahulu dibungkus menggunakan *aluminium foil*. Sedangkan untuk alat-alat yang tidak tahan panas seperti media NA, *yellow tip*, *blue tipe*, Tween, dan aquadest juga ditutup rapat dengan *aluminium foil* serta dilapisi dengan plastik, kemudian disterilisasi dengan metode panas basah dengan alat autoklaf. Tujuan dari *aluminium foil* adalah untuk menjaga kesterilan dari alat-alat tersebut setelah keluar dari oven atau autoklaf.

Sterilisasi dengan menggunakan oven dilakukan pada suhu 160-180°C selama 2 jam, sedangkan sterilisasi dengan autoklaf dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi menggunakan oven lebih lama dari pada menggunakan autoklaf karena sterilisasi oven menggunakan suhu yang lebih tinggi (Dwidjoseputro, 2005).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan setelah semua alat disterilisasi. Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran. Keuntungan dari metode difusi sumuran untuk antibakteri adalah sederhana, relatif lebih murah, pengerjaannya mudah. Kekurangan dari metode ini adalah volume antara larutan uji dan media pertumbuhan cair serta suspensi bakteri harus tepat, volume mikropipet yang digunakan harus sesuai dan lubang sumuran pada media harus diukur kedalamannya (Nurjannah, 2017). Media bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah nutrient agar (NA). Langkah pertama pembuatan larutan sampel dengan konsentrasi 80%, 60%, 40%, dan 20%.

Hasil dari analisis data menggunakan *Kruskal Willish* menunjukkan bahwa data tersebut mempunyai perbedaan nyata diameter zona inhibisinya ($P < 0.05$). Hasil pada percobaan dapat dilihat di **Tabel 4.1**. menunjukkan bahwa pada diameter zona inhibisi dengan konsentrasi 80% memiliki diameter yang paling besar dari konsentrasi lainnya. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasinya maka semakin besar juga diameter zona inhibisinya, sedangkan pada konsentrasi 20% didapatkan diameter zona inhibisi yang paling kecil. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kotrimoksazol. Kotrimoksazol merupakan

antibiotik kombinasi antara sulfametoksazol dan trimetoprim yang bersifat membunuh bakteri (bakterisid) dengan spektrum yang lebih luas dibandingkan sulfonamid. Sulfametaksazol bekerja dengan menghambat sintesis asam folat, sedangkan trimetoprim menghambat reduksi asam dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat sehingga menghambat enzim pada alur sintesis asam folat. Aktivitas antimikroba yang dimiliki kortrimoksazol salah satunya kuman gram negatif *Escherichia coli* (Depkes, 2005). Pemelihan tween sebagai kontrol negatif karena tween bersifat netral atau tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri dan juga memiliki kelarutan yang sempurna terhadap ekstrak bawang Dayak.