

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Penyiapan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman jati belanda yang diperoleh dari kebun Manoko Lembang, Bandung. Setelah bahan tanaman terkumpul, dideterminasi di Herbarium Bandungese, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman tersebut benar adalah tanaman jati belanda. Hasil determinasi jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dapat dilihat pada **Lampiran 1**

Pengolahan simplisia dilakukan melalui proses sortasi untuk menghilangkan kotoran seperti tanah dan debu, untuk menjamin kualitas simplisia. Selanjutnya dikeringkan untuk mengurangi kadar air, dan dapat menghambat proses pembusukan. Setelah kering simplisia dihaluskan menjadi serbuk.

5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Jati Belanda

Proses ekstraksi simplisia sebanyak 200 g menggunakan metode soxhletasi dengan menggunakan 1500 mL pelarut etanol 96% untuk menarik lebih banyak senyawa yang terkandung dalam simplisia. Dari hasil ekstraksi didapatkan ekstrak pekat hijau kehitaman dengan bau khas jati belanda sebanyak 22,53 g dengan rendemen 11,27%.

5.3. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air bertujuan mengetahui kadar air yang terkandung dalam simplisia, karena air merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Jika kandungan air tinggi maka simplisia akan mudah ditumbuhi mikroba, daya simpannya singkat karena terjadinya proses pembusukan pada simplisia sehingga akan menurunkan kualitas simplisia, maka dilakukan penetapan kadar air. Hasil penetapan kadar air yang diperoleh yaitu 8,5%, hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan karena dibawah 10% (Depkes RI, 1995).

5.4. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia dan ekstrak. Penapisan fitokimia merupakan tahapan awal untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia dan ekstrak pekat tersebut. Penapisan fitokimia dilakukan pada simplisia dan ekstrak karena untuk mengetahui apakah proses ekstraksi yang dilakukan mempengaruhi senyawa yang terkandung. Hasil dari penapisan fitokimia dapat dilihat pada **Tabel V.1**.

Tabel V.1 Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak etanol daun jati belanda

Golongan Senyawa	Identifikasi			
	Simplisia		Ekstrak	
	(+)	(-)	(+)	(-)
Alkaloid	√	-	√	-
Flavonoid	√	-	√	-
Saponin	-	√	-	√
Tanin	√	-	√	-
Kuinon	√	-	√	-
Polifenolat	√	-	√	-
Monoterpen dan Seskuiterpen	√	-	√	-
Triterpen dan Steroid	-	√	-	√

Keterangan :

(+) = Terdeteksi

(-) = Tidak Terdeteksi

Penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, polifenolat, monoterpen, dan seskuiterpen, tidak terdapat perbedaan kandungan senyawa antara simplisia dan ekstrak.

Daun jati belanda mengandung tanin, lendir dan damar (Depkes, 1978). Menurut Hartanto (1986) bahwa daun jati belanda mengandung senyawa tanin, asam fenolat, karotenoid. Menurut Astuti (1997) bahwa jati belanda mengandung flavonoid. Menurut Hanifatan (2010) daun jati belanda mengandung alkaloid, dan polifenol. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri yaitu flavonoid, tanin dan kuinon (Windradi, 2010). Hasil penapisan fitokimia menunjukkan pada simplisia dan ekstrak positif terkandung senyawa tersebut.

5.5. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri daun jati belanda dilakukan terhadap bakteri *Bacillus cereus* mewakili bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* mewakili bakteri Gram negatif. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan lubang perforator sebesar 7,5 mm. Metode ini dipilih karena lebih mudah dan praktis, dalam satu cawan petri bisa menggunakan lebih dari satu konsentrasi larutan uji sehingga membutuhkan media yang lebih sedikit dibandingkan metode dilusi, dan mempermudah pengamatan zona hambatan pertumbuhan bakteri. Pengujian aktivitas menggunakan ekstrak etanol daun jati belanda yang sudah diencerkan dengan Dimetil Sulfoxide (DMSO), pemakaian DMSO sebagai pelarut karena ekstrak etanol daun jati belanda larut dalam DMSO. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri

yaitu 20%; 15%; 10%; 5%; 2,5%; 1%; 0,75%; dan 0,5% serta digunakan DMSO sebagai kontrol dan kloramfenikol sebagai pembanding sebagai validasi metode pengujian. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada **Tabel V.2**.

Tabel V.2 Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jati belanda pada *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

Konsentrasi (%)	Rata-Rata Diameter Hambat (mm) ± SD	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Kontrol (DMSO)	-	-
20	5,2 ± 0,06	5,1 ± 0,06
15	3,8 ± 0,06	3,1 ± 0,31
10	3,2 ± 0,1	2,7 ± 0,31
5	2,7 ± 0,23	2,2 ± 0,12
2,5	1,2 ± 0,06	1,4 ± 0,21
1	0,9 ± 0,03	0,9 ± 0,03
0,75	-	-
0,5	-	-
Pembanding (Kloramfenikol 100 ppm)	13,4 ± 0,92	13,3 ± 0,31

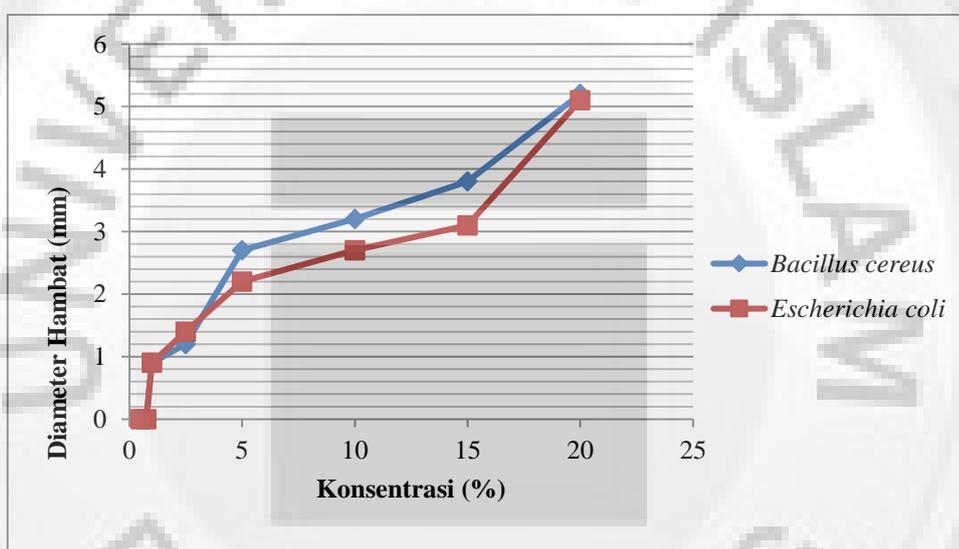
Keterangan :

(-) = Tidak terdapat zona hambat
Diameter Perforasi : 7,5 mm

Hasil pengujian menunjukkan kontrol (DMSO) tidak memberikan hambatan terhadap kedua bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol tidak memiliki aktivitas antibakteri dan tidak akan berpengaruh atau mengganggu ketika pengujian. Sedangkan hasil pengujian pembanding (kloramfenikol) memberikan hambatan pada kedua bakteri dengan diameter hambatan 13,4 mm pada *Bacillus cereus* dan 13,3 mm pada *Escherichia coli*, karena hasilnya positif maka metode pengujian yang dilakukan valid dan prosedur pengujian yang dilakukan benar.

Hasil pengujian untuk ekstrak etanol daun jati belanda pada masing-masing konsentrasi memberikan hambatan terhadap kedua bakteri dengan terbentuknya zona bening. Diameter hambat yang terbesar pada konsentrasi 20%

dengan diameter 5,2 mm pada *Bacillus cereus* dan 5,1 mm pada *Escherichia coli*, dan pada konsentrasi 1% memberikan hambatan yang terkecil dengan diameter hambatan 0,9 mm untuk kedua bakteri. Berdasarkan hasil, ekstrak daun jati belanda memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, serta dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula diameter hambat yang terbentuk, dapat dilihat pada **Grafik V.1**.



Grafik V.1 Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun jati belanda terhadap diameter hambat

5.6. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) menggunakan metode yang sama dengan pengujian aktivitas antibakteri, dengan konsentrasi 1% sebagai acuan karena menghasilkan diameter hambat terkecil, maka konsentrasi yang digunakan untuk penentuan KHM konsentrasinya lebih rendah dari 1%, sehingga konsentrasi yang digunakan ialah 1%; 0,75%; dan 0,5%.

Hasil penentuan KHM menunjukkan bahwa yang memberikan hambatan hanya pada konsentrasi 1% dengan diameter hambat 0,9 mm pada *Bacillus cereus* dan 0,9 mm pada *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa KHM dari ekstrak daun jati belanda untuk kedua bakteri tersebut adalah konsentrasi 1%.

5.7. Uji Kesetaraan Aktivitas Ekstrak dan Antibiotik Pembeding

Pada penelitian ini dilakukan juga uji kesetaraan antibiotik pembeding yaitu kloramfenikol dan ekstrak daun jati belanda dengan menggunakan metode difusi agar, untuk menentukan kesetaraan pada konsentrasi berapa ekstrak etanol daun jati belanda yang memiliki aktivitas antibakteri yang setara dengan konsentrasi kloramfenikol. Pemilihan kloramfenikol sebagai antibiotik pembeding karena merupakan antibiotik dengan spektrum yang luas yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Konsentrasi kloramfenikol yang digunakan adalah 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm, 9 ppm, 8 ppm, 7 ppm, 6 ppm, 5 ppm, 1 ppm. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kloramfenikol dapat dilihat pada **Tabel V.3**.

Tabel V.3 Hasil pengujian aktivitas antibakteri kloramfenikol terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

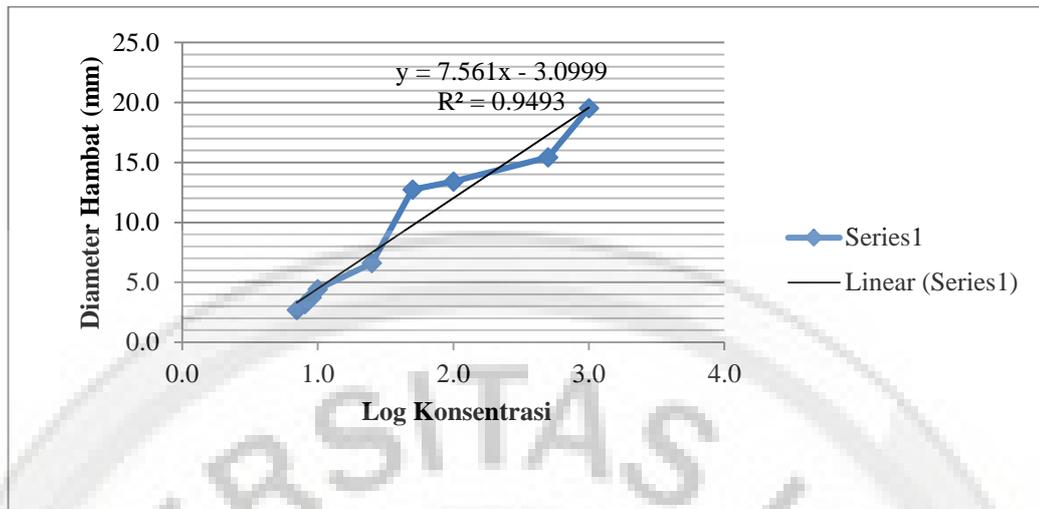
Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Rata-Rata Diameter Hambat (mm) \pm SD	
		<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1000	3,0	19,5 \pm 0,74	18,5 \pm 0,45
500	2,7	15,4 \pm 0,21	15,5 \pm 0,45
100	2,0	13,4 \pm 0,92	13,3 \pm 0,31
50	1,7	12,7 \pm 1,17	12,7 \pm 0,15
25	1,4	6,6 \pm 0,53	7,2 \pm 0,30
10	1,0	4,4 \pm 0,42	4,6 \pm 0,15
9	1,0	3,7 \pm 0,30	4,0 \pm 0,15
8	0,9	3,2 \pm 0,06	3,5 \pm 0,15
7	0,8	2,7 \pm 0,20	2,8 \pm 0,25
6	0,8	-	-
5	0,7	-	-
1	0,0	-	-

Keterangan :

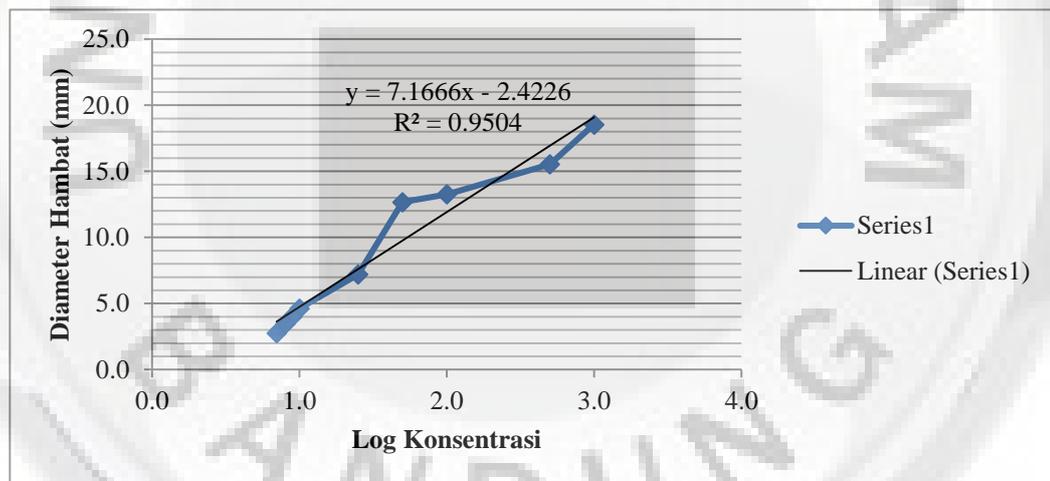
(-) = Tidak terdapat diameter hambat

Diameter perforasi : 7,5 mm

Hasil uji kesetaraan menunjukkan bahwa kloramfenikol dapat memberikan hambatan sampai konsentrasi 7 ppm dengan diameter hambat 2,7 mm pada *Bacillus cereus* dan 2,8 mm pada *Escherichia coli*, kemudian dibuat grafik kurva baku kloramfenikol antara log konsentrasi terhadap diameter hambat dari kloramfenikol untuk menentukan persamaan garisnya pada masing-masing bakteri. Grafik kurva baku kloramfenikol dapat dilihat pada **Grafik V.2.** dan **Grafik V.3.**



Grafik V.2 Grafik kurva baku kloramfenikol pada *Bacillus cereus*



Grafik V.3 Grafik kurva baku kloramfenikol pada *Escherichia coli*

Untuk menentukan kesetaraan ekstrak dengan kloramfenikol maka dari grafik kurva baku kloramfenikol ditentukan persamaan garis. Persamaan garis dapat dilihat pada **Tabel V.4**.

Tabel V.4 Persamaan garis kurva baku kloramfenikol pada *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*

Bakteri	Persamaan garis ($y = bx + a$)	R ²
<i>Bacillus cereus</i>	$y = 7,561x - 3,009$	0,949
<i>Escherichia coli</i>	$y = 7,166x - 2,422$	0,95

Pada *Bacillus cereus* dari grafik kurva baku kloramfenikol diperoleh persamaan garis $y = 7,561x - 3,009$ dengan $R^2 = 0,949$. Pada hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol daun jati belanda pada *Bacillus cereus* dengan konsentrasi 10 % (100000 ppm) memiliki diameter hambat 3,2 mm maka dengan menggunakan persamaan garis kurva baku kloramfenikol pada *Bacillus cereus* diperoleh nilai $x = 0,821$ dan anti log $x = 6,625$ sehingga ekstrak etanol daun jati belanda pada konsentrasi 10% (100000 ppm) setara dengan 6,625 ppm kloramfenikol, maka 1 mg ekstrak etanol daun jati belanda setara dengan 0,06625 μg kloramfenikol.

Pada *Escherichia coli* dari grafik kurva baku kloramfenikol diperoleh persamaan garis $y = 7,166x - 2,422$ dengan $R^2 = 0,950$. Pada hasil pengujian antibakteri ekstrak etanol daun jati belanda pada *Escherichia coli* dengan konsentrasi 10 % (100000 ppm) memiliki diameter hambat 2,7 mm dengan menggunakan persamaan garis kurva baku kloramfenikol pada *Escherichia coli* diperoleh nilai $x = 0,714$ dan anti log $x = 5,185$ sehingga ekstrak etanol daun jati belanda pada konsentrasi 10% (100000 ppm) setara dengan 5,185 ppm kloramfenikol, maka 1 mg ekstrak etanol daun jati belanda setara dengan 0,05185 μg kloramfenikol.