

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Daun Kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

1. Hasil determinasi tanaman daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

1.1 Determinasi tanaman. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri – ciri morfologi tanaman daun kucai terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium mikrobiologi, Fakultas Biologi Universitas Sebelas Maret.

1.2 Deskripsi tanaman. Deskripsi tanaman daun kucai sebagai berikut : Tanaman semusim, tumbuh tegak, tinggi 15 – 50 cm. Umbi berbau aromatis, bentuk elipsoid, warna putih kusam. Akar serabut, muncul dari bawah cakram, putih kotor atau putih kekuningan. Daun tunggal, bentuk bulat memanjang atau hampir persegi, ujung runcing, panjang 20 – 40 cm, tebal 2 – 3 mm, berongga dibagian tengah, bewarna hijau. Bunga majemuk tipe payung, bulat atau membulat, terdiri atas banyak kuntum bunga yang tersusun sangat rapat. Buah bulat, kapsul dan hijau. Biji berbentuk segitiga, panjang 2 mm, lebar 1 – 2 mm, hitam, mengkerut setelah kering. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.). Hasil determinasi tanaman daun kucai dalam penelitian dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan daun kucai dan pembuatan serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Tanaman daun kucai yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kelompok Tani Gondosuli, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2019. Daun diambil dalam keadaan segar, tidak busuk, berwarna hijau pada daunnya dan bersih dari kotoran,

Daun kucai yang telah diambil kemudian dilakukan pembersihan untuk menghilangkan kotoran pada daun dicuci dengan air bersih yang mengalir. Daun kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50° C selama 5 hari, pengeringan bahan dilakukan bertujuan untuk mengurangi kadar air serta

mencegah timbulnya jamur dan mikroorganisme lain yang dapat menyebabkan pembusukan dan mencegah perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Bahan dihaluskan dengan penggilingan, blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40.

Data rendemen berat daun kering terhadap berat basah daun kucai dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah

Berat basah (Kg)	Berat kering (Kg)	Rendemen (b/b)
14	1,5	10,71 %

Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah yang diperoleh sebesar 10,71, karena daun kucai diduga memiliki kandungan air yang besar karena tanaman diambil pada saat musim penghujan sehingga penyusutan pada saat pengeringan terlalu banyak. Hasil perhitungan rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah dapat dilihat pada lampiran 21.

Tabel 2. Hasil rendemen serbuk daun kucai

Berat basah (Kg)	Berat kering (Kg)	Rendemen (b/b)
1,5	0,9	60 %

Rendemen serbuk daun kucai diperoleh sebesar 60 %, karena daun kucai yang kering di haluskan dengan alat penggiling, blender dan diayak menggunakan mesh 40 yang menyebabkan berat serbuk berkurang. Hasil perhitungan rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah dapat dilihat pada lampiran 22.

3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Penetapan kadar lembab daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) menggunakan alat moisture balance. Hasil penetapannya tercantum pada tabel dibawah ini :

Tabel 3. Hasil penetapan kadar lembab serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

No	Bobot serbuk (gram)	Kadar lembab (%)
1	2,00	7,0
2	2,00	7,5
3	2,00	7,5
Rata – rata ± SD		7,33 ± 0,28

Hasil penetapan kadar lembab daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) didapatkan rata – rata sebesar 7,33 %. Kadar lembab memenuhi syarat di mana kadar lembab serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10 %, karena dengan kadar lembab kurang dari 10 % sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (DepKes 2000).

4. Hasil pembuatan ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Pembuatan ekstrak etanol 70 % dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi, maserasi adalah ekstraksi yang paling sederhana. Keuntungan menggunakan maserasi cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan sehingga komponen yang tidak tahan panas tetap ada dalam ekstrak. Hasil pembuatan ekstrak kental maserasi daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada tabel 4 dan hasil perhitungan maserasi dapat dilihat pada lampiran 23.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (b/b)
900	311,27	34,51 %

Hasil rendemen ekstrak maserasi daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) yang diperoleh adalah 34,51 % dan hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 23.

5. Hasil uji bebas etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Hasil pengujian bebas etanol ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Hasil	Pustaka
Tidak tercium bau ester	Tidak tercium bau ester (Sayuti 2015)

Hasil uji ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) positif bebas etanol karena tidak tercium bau ester yaitu bau khas ester dari etanol (seperti bau balon tiup) harum yang menunjukkan bahwa ekstrak telah terbebas dari cairan penyaringnya (Sayuti 2015 & Septiyana 2013). Tujuan uji bebas etanol pada ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan pada penelitian selanjutnya yaitu

pada uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 karena etanol memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 7.

6. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Penetapan kadar air dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam ekstrak. Penghilangan kadar air berguna untuk memperpanjang daya tahan ekstrak selama penyimpanan agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme. Uji ini digunakan pelarut yang memiliki titik didih yang lebih tinggi daripada air, tidak tercampur dengan air, dan memiliki bobot jenis yang lebih rendah daripada air (Rohman & Sumantri 2014), pelarut yang dapat digunakan salah satunya adalah toluen. Toluena dapat menarik air, sehingga harus dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, agar pada saat proses destilasi toluena tidak lagi mengikat air dari ekstrak daun kucai sehingga air yang diperoleh hanya berasal dari ekstrak daun kucai. Standar dari hasil penetapan kadar air adalah tidak lebih dari 10 %, kadar air dibawah 10 % dapat mencegah terjadinya reaksi hidrolisis dan pertumbuhan mikroba (Puspawati 2013). Hasil rata – rata dari penetapan kadar air ekstrak daun kucai adalah 5,91 %, hasil ini menunjukkan bahwa kadar air ekstrak daun kucai memenuhi standar, yaitu tidak lebih dari 10 %. Perhitungan kadar air serbuk daun kucai dapat dilihat pada lampiran 25.

Tabel 6. Persentase kadar air ekstrak daun kucai

Replikasi	Bobot ekstrak (gram)	Volume air (mL)	Kadar air (%)
1	20,33	1,0	4,92
2	20,27	1,4	6,91
3	20,30	1,2	5,91
Rata – rata ± SD			5,91 ± 0,99

7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Ekstrak etanol 70 % daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) selanjutnya dilakukan pengujian kimia untuk mengetahui kandungan kimia seperti tanin, saponin, alkaloid, triterpenoid dan flavonoid. Dari hasil identifikasi kandungan

kimia ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) menggunakan tabung reaksi. Hasil dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Senyawa	Hasil	Pustaka	Ket
Tanin	Berwarna hijau kehitaman	Sampel dinyatakan positif apabila mengalami perubahan warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Alamsyah <i>et al.</i> 2014)	+
Saponin	Terdapat busa, dan busa tidak hilang selama 30 menit setinggi 2cm	Sampel dinyatakan positif jika busa masih terbentuk selama 30 menit setelah peneteskan HCl 2N (Alamsyah <i>et al.</i> 2014)	+
Alkaloid	Wagner terbentuk endapan merah kecoklatan, Dragendorf terbentuk endapan jingga, Mayer terbentuk endapan putih	Sampel dinyatakan positif apabila terbentuk endapan merah atau jingga pada pereaksi Dragendorf dan terbentuk endapan putih pada pereaksi Mayer, Wagner terbentuk endapan coklat (Putri 2015).	+
Triterpenoid/ Steroid	Adanya cincin berwarna merah kecoklatan	Sampel dinyatakan positif triterpenoid apabila terbentuk cincin merah kecoklatan atau violet, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Indrayani <i>et al.</i> 2006).	Triterpenoid (+) Steroid (-)
Flavonoid	Lapisan atas amil alkohol berwarna kuning, jingga, merah	Sampel dinyatakan positif apabila timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Alamsyah <i>et al.</i> 2014).	+

Hasil gambar identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol 70% daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada lampiran 9. Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dengan menggunakan tabung reaksi, berdasarkan tabel 7 diatas dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) positif mengandung tanin, saponin, alkaloid, triterpenoid dan flavonoid yang diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri.

8. Hasil fraksi ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Penyarian awal yang dilakukan adalah maserasi yang dengan pelarut etanol 70 %. Pelarut etanol 70 % menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik non polar, semi polar maupun polar, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi. Senyawa non polar akan terekstraksi dalam pelarut *n*-heksan, senyawa semi polar akan terekstraksi dalam pelarut etil asetat sehingga dapat memperkirakan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Hasil persentase rendemen fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil persentase rendemen fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air

Fraksi	Berat ekstrak (gram)	Berat fraksi (gram)	Rendemen %
<i>n</i> -heksana	40	1,98	4,96
Etil asetat	40	3,57	8,93
Air	40	32,08	80,20

8.1. Hasil fraksi *n*-heksana. Hasil sediaan ekstrak maserasi yang telah didapatkan ditimbang kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut non polar (*n*-heksana), diekstraksi 4 kali dengan pelarut *n*-heksana masing – masing 75 ml, kemudian fraksi *n*-heksana yang didapat dilakukan pemekatan dengan cara diuapkan pada oven. Residu yang didapat dilanjutkan ekstraksi lanjutan dengan pelarut etil asetat.

8.2. Hasil fraksi etil asetat. Residu dari hasil fraksi *n*-heksana difraksinasi 4 kali dengan pelarut etil asetat masing – masing sebanyak 75 ml, kemudian fraksi etil asetat dilakukan pemekatan dengan cara diuapkan dengan oven.

8.3. Hasil fraksi air. Hasil residu dari fraksi etil asetat dilanjutkan pemekatan dengan cara diuapkan di oven sehingga didapatkan fraksi air. Hasil fraksi air didapatkan lebih banyak dibandingkan fraksi yang lain karena rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing – masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) berbeda.

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa perhitungan rata-rata rendemen fraksi *n*-heksan daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) didapat 4,96 %, fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) 8,93 % dan fraksi air daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) didapat 80,20 %. Hasil fraksi air yang didapatkan

lebih banyak dibandingkan dengan fraksi yang lain karena sebagian besar senyawa dalam daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) bersifat polar. Rendemen yang didapatkan setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 70 % daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) berbeda. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat dilihat pada lampiran 26.

9. Hasil pembuatan suspensi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 diambil dari biakan murni sebanyak 1 ose, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml media cair BHI kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 37 °C. Tabung reaksi yang berisi BHI dan bakteri uji setelah diinkubasi kemudian disetarakan kekeruhannya dengan standart *Mc Farland* 0,5 yang dianggap setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, standarisasi *Mc Farland* bertujuan agar jumlah bakteri yang digunakan dalam penelitian sama dan mengurangi kepadatan bakteri selama pengujian. Metode dilusi digunakan suspensi bakteri yang telah distandarisasi dengan *Mc Farland* kemudian diambil suspensi bakteri 1 mL dimasukkan ke dalam 9 mL BHI sampai konsentrasi 5×10^5 (CLSI 2012). Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 11.

10. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

10.1. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 berdasarkan koloni. Bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasikan pada medium *Pseudomonas* Selektif Agar (PSA) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 - 48 jam. Penampakan berbentuk koloni bulat halus dengan membentuk pigmen yang berwarna kehijauan (Jawetz *et al.* 2014). Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 berdasarkan koloni menunjukkan penampakan koloni bulat halus dengan membentuk pigmen berwarna hijau karena memiliki pigmen piosianin yang akan muncul karena adanya kandungan media seperti MgCl, kalium sulfat dan penambahan gliserin secara inokulasi dapat dilihat pada lampiran 12.

10.2. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara fisiologi. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara fisiologi dengan uji biokimia dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara fisiologi

Media uji	Hasil	Pustaka (Bonang & Koeswardono 1982)
SIM	--+	--+
KIA	K/KS ⁻	K/KS ⁻
LIA	K/KS ⁻	K/KS ⁻
CITRAT	+	+

Keterangan :

SIM	: Sulfida Indol Motility	A : Acid
KIA	: Kliger Iron Agar	K : Alkali (basa)
LIA	: Lysin Iron Agar	S : Sulfida
+	: Reaksi positif	G : Gas
-	: Reaksi negatif	N : Netral

Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, hasil pengujian pada medium SIM untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Uji sulfida (-) karena tidak dapat menghasilkan thiosulfate sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfat yang menyebabkan media tidak berwarna hitam. Uji indol (-) karena tidak terbentuk cincin warna merah setelah penambahan reagen Erlich A dan B karena tidak terjadi pemecahan asam amino triptopan oleh enzim triptonase menjadi indol dan asam piruvat, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak menghasilkan triptonase. Uji motilitas positif artinya *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bersifat motil yang menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menyebar keseluruhan medium (Bonang & Koeswardono 1982). Hasil uji SIM identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada lampiran 13.

Biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, hasil pengujian pada medium KIA bertujuan untuk mengetahui fermentasi karbohidrat, ada atau tidaknya gas dan pembentukan sulfida, hasil yang diperoleh menunjukkan K/KS⁻, K/K artinya pada lereng dan dasar medium berwarna merah yang menunjukkan

bahwa bakteri tidak dapat memfermentasikan glukosa dan laktosa. S (-) artinya uji H₂S negatif yang menunjukkan tidak terbentuknya warna hitam pada media KIA, karena bakteri tidak dapat mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media. (Bonang & Koeswardono 1982). Hasil uji KIA identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada lampiran 13.

Hasil pengujian LIA untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfide. Pengujian dengan medium LIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C menunjukkan hasil K'KS⁻, K/K artinya pada lereng dasar media bewarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa (warna ungu) diseluruh media, S (-) artinya uji H₂S negatif ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terbentuk warna hitam (Bonang & Koeswardono 1982). Hasil uji LIA identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada lampiran 13.

Hasil pengujian *Citrat* untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan *Citrat* sebagai sumber karbon tunggal. Hasil pengujian dengan medium *Citrat* setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C menunjukkan hasil positif sehingga warna media berubah warna dari warna hijau menjadi biru, hasil menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menggunakan *Citrat* sebagai sumber karbon yang menyebabkan suasana menjadi basa sehingga terjadi peningkatan pH pada media karena adanya ammonia yang berasal dari *Bromothymol blue* yang terdapat pada media (Sardiani *et al.* 2015). Hasil uji *Citrat* identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat dilihat pada lampiran 13.

11. Hasil identifikasi bakteri secara morfologi.

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang. Pewarnaan Gram berguna untuk dapat meyakinkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* merupakan Gram negatif. Pewarnaan Gram dimulai

dengan pemberian zat warna dasar, kristal violet. Larutan iodium diberikan selanjutnya, seluruh bakteri akan terwarnai biru pada tahap ini dalam proses pewarnaan, kemudian sel diberikan alkohol. Sel Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks kristal violet-iodin sehingga tetap berwarna biru, sel Gram negatif kehilangan warna oleh alkohol. Sebagai langkah akhir, zat warna lawan, safranin (pewarna merah) diberikan sehingga sel – sel Gram negatif yang tidak berwarna akan berwarna merah sedangkan sel Gram positif akan tetap berwarna ungu (Jawetz *et al.* 2014). Hasil identifikasi bakteri secara morfologi dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada lampiran 14.

12. Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dilakukan dengan cara menempelkan kertas cakram yang telah berisi ekstrak, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air ke atas permukaan media MHA yang telah ditumbuhkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar atas cakram. Fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan air dengan konsentrasi 25 %, 20 %, 15 % b/v, DMSO5% (kontrol negatif) dan gentamisin 10 µg (kontrol positif). Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70 % dari daun kucai terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari daun kucai terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi.

Konsentrasi	Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			
		1	2	3	Rata-rata ± SD
Konsentrasi 25%	Ekstrak	9,5	9	9	9,166±0,288
	Fraksi n-Heksana	8	7,5	8	7,83 ±0,288
	Fraksi Etil Asetat	15	14,5	14,5	14,6±0,5
	Fraksi Air	8	8,5	8	8,16±0,288
Konsentrasi 20%	Ekstrak	9	8,5	8,5	8,66±0,28
	Fraksi n-Heksana	7,5	7,5	8	7,66±0,288
	Fraksi Etil Asetat	11	11	11,5	11,16±0,25
	Fraksi Air	7,5	8	7	7,5±0,5
Konsentrasi 15%	Ekstrak	8	8	7,5	7,8±0
	Fraksi n-Heksana	7,5	7	7	7,16±0,288
	Fraksi Etil Asetat	11	10,5	11	10,83±0,38
	Fraksi Air	7	7	7,5	7,08±0,14
Kontrol +	Gentamisin 10 µg	17	17	17	17±0
Kontrol -	DMSO 5%	-	-	-	-

Hasil uji difusi menunjukkan bahwa ekstrak dengan konsentrasi 25 % memiliki diameter daya hambat yang lebih besar dari konsentrasi 20 % dan 15 %, berdasarkan hasil dari tabel 8 dapat dilihat pada fraksi etil asetat memiliki daya hambat lebih efektif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Hasil rata – rata diameter daya hambat fraksi etil asetat dengan masing – masing konsentrasi 25 %, 20 % dan 15 % adalah 14,6 mm, 11,6 mm dan 10,8 mm. Pengujian antibakteri dengan tingkat konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk melihat pengaruh setiap konsentrasi ekstrak dan fraksi pada bakteri yang diujikan. Pada penelitian sebelumnya pada konsentrasi 5 % ekstrak etanol memiliki daya hambat sebesar 10 mm dan pada konsentrasi 10% memiliki daya hambat sebesar 15 mm yang menunjukkan hasil lebih efektif dibandingkan penelitian selanjutnya yaitu pada konsentrasi 25 % ekstrak memiliki zona hambat sebesar 9,1 mm, konsentrasi 20 % memiliki zona hambat sebesar 8,6 mm dan konsentrasi 15 % sebesar 7,1 %.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pelarut *n*-heksan dan DMSO 5 % tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah cakram gentamisin 10 µg sebagai pembanding terhadap aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi, gentamisin memiliki aktivitas antibakteri lebih besar terhadap bakteri uji dibandingkan ekstrak etanol 70 %, *n*-heksan, etil asetat dan air pada setiap konsentrasi. Diameter zona hambat yang dihasilkan antibiotik gentamisin 10 µg terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sebesar 17 mm. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70 % daun kucai terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara difusi dapat dilihat pada lampiran 15.

Hasil dari uji difusi dari tabel diatas diuji kebenarannya dengan menggunakan uji SPSS *one way* ANOVA, uji digunakan untuk membandingkan sampel pada setiap konsentrasi. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara fraksi *n*-heksana, stil asetat, air, ekstrak etanol, kontrol positif dan kontrol negatif untuk mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *One Sampel Kolmogorov Smirnov* menunjukkan bahwa nilai signifikansinya sebesar $0,884 > 0,05$ maka H_0 diterima (terdistribusi normal), uji variasi homogenitas signifikasinya sebesar $0,094 > 0,05$ maka H_0 diterima sehingga dapat dilakukan uji selanjutnya yaitu *Analysis of Varians* (ANOVA). Hasil uji ANOVA didapatkan hasil diameter zona hambat $F=552,115$ dengan probabilitas $0,00 > 0,05$ yaitu sediaan uji menunjukkan adanya perbedaan nyata pada penghambatan aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Hasil uji *tukey test* menunjukkan tanda (*) pada angka *mean difference*, artinya hasil diameter zona hambat fraksi *n*-heksana, stil asetat, air dan ekstrak etanol 70% menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Analisis *Homogeneous Subsets* untuk mencari kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Tabel *Homogeneous Subsets* terbagi dalam 8 subset dapat disimpulkan bahwa sampel yang tergabung dalam satu kelompok maka tidak mempunyai perbedaan yang nyata. Tabel SPSS dapat dilihat pada lampiran 30.

Fraksi teraktif yang didapatkan adalah fraksi etil asetat karena diduga mengandung senyawa kimia yang kompleks yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dibandingkan pada senyawa non polar dan polar, etil asetat bersifat semi polar yang dapat melarutkan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Putri *et al.* 2013), fraksi *n*-heksana yang bersifat non polar dapat melarutkan senyawa steroid/triterpenoid (Yusnawan 2013) dan fraksi air karena sifatnya polar senyawa yang larut dalam adalah glikosida, saponin, dan tanin (Depkes 1986).

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang mengandung atom N heterosiklik (Endarini 2016), mekanisme antibakteri dari alkaloid yaitu dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Darsana *et al.* 2012).

Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa saponin, glikosida saponin bisa berupa saponin steroid atau saponin triterpenoida yang tersebar luas diantara tanaman tinggi. (Endarini 2016). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, yang

mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Rahmawati 2014).

Tanin merupakan senyawa yang terdapat luas dalam tumbuhan yang berpembuluh, tanin dapat bereaksi dengan protein yang membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. (Endarini 2016). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.* 2009).

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik (Rinawati 2011). Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba, antivirus dan anti insektisida (Endarini 2016). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.* 2009).

13. Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi

Hasil fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%, 0.39%, 0.19%, 0.09%, 0,04% dengan kontrol positif berupa bakteri uji dalam media BHI dan kontrol negatif berupa bakteri uji dalam media BHI dan kontrol negatif berupa fraksi etil asetat. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak bisa dilihat dari kejernihannya karena ditutupi oleh kekeruhan dari bagian fraksi yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri fraksi yang dapat dilihat dari pengujian fraksi terhadap bakteri uji pada tabung kemudian diinokulasikan pada *Pseudomonas Selektif Agar (PSA)* dengan

tidak atau adanya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media PSA. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari daun kucai terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol dari daun kucai terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi.

No	Konsentrasi (% b/v)	Fraksi Etil asetat		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	25%	-	-	-
3	12.5%	-	-	-
4	6.25%	-	-	-
5	3.13%	-	-	-
6	1.56%	+	+	+
7	0.78%	+	+	+
8	0.39%	+	+	+
9	0.19%	+	+	+
10	0.09%	+	+	+
11	0,04%	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan stok fraksi Etil asetat 25 %

Kontrol (+) : Suspensi bakteri

Tabung 2-11 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Tabel 11 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan tiga kali pengulangan dengan konsentrasi fraksi yang dipakai yaitu 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%, 0.39%, 0.19%, 0.09%, 0,04%. Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah 3,13 %, hasil uji dilusi menunjukkan bahwa pada konsentrasi 3,13 % tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada replikasi pertama, kedua dan ketiga. Pertumbuhan bakteri ditemukan pada konsentrasi 1,56 % pada replikasi pertama, kedua dan ketiga, sehingga dapat disimpulkan Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi etil asetat adalah 3,13 %. Hasil gambar uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 16 dan 17.

14. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi etil asetat, nilai Rf yang baik apabila memenuhi range antara 0,2 – 0,8 (Gandjar & Rohman 2017).

14.1 Hasil identifikasi tanin. Uji kandungan kimia golongan tanin dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dengan pereaksi semprot FeCl₃, menggunakan baku pembanding asam galat. Hasil identifikasi tanin fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) menunjukkan bahwa senyawa tanin setelah disemprot memberikan noda warna ungu kehitaman, pada UV 254 memberikan peredaman dan bewarna ungu kehitaman pada UV 366. Hasil nilai Rf pada baku pembanding adalah 0,95, sedangkan bercak sampel pada S₁ adalah 0,95 dan S₂ adalah 0,83. Nilai Rf S₁ dengan baku pembanding mempunyai nilai Rf yang sama dan warna yang sama yang menandakan positif tanin meskipun tidak memasuki range Rf yang baik.

14.2 Hasil identifikasi saponin. Uji kandungan kimia golongan saponin dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) dengan pereaksi semprot Lieberman Bouchardat menggunakan baku pembanding gliserisin. Hasil identifikasi saponin fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) menunjukkan bahwa senyawa saponin pada UV 254 memberikan peredaman dan terbentuk noda gelap atau ungu pada UV 366. Nilai Rf bercak adalah 0,8 yang sama dengan pembanding gliserisin dengan nilai Rf 0,8 yang menandakan positif adanya saponin dan memasuki range Rf yang baik.

14.3 Hasil identifikasi alkaloid. Uji kandungan kimia golongan alkaloid dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : metanol : air (4 : 5 : 1) dengan pereaksi semprot Dragendorf

menggunakan baku pembanding papaverin. Hasil identifikasi alkaloid fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) menunjukkan bahwa senyawa alkaloid setelah disemprot noda bewarna jingga, pada UV 254 memberikan peredaman dan bewarna jingga pada UV 366. Nilai Rf bercak adalah 0,62 yang sama dengan pembanding papaverin dengan nilai Rf 0,62 dan warna bercak yang sama yang menandakan positif adanya alkaloid dan termasuk Rf yang baik.

14.4 Hasil identifikasi triterpenoid. Uji kandungan kimia golongan saponin dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform: metanol (7:3) dengan pereaksi semprot Lieberman Bouchard menggunakan baku pembanding stigmasterol. Hasil identifikasi triterpenoid fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) senyawa triterpenoid pada UV 254 memberikan peredaman dan pada UV 366 menunjukkan warna merah sedangkan untuk hasil positifnya warna ungu, baku pembanding berwarna biru yang menunjukkan bahwa triterpenoid negatif. Nilai Rf bercak adalah 0,73 yang sama dengan pembanding asam stigmasterol dengan nilai Rf 0,73.

14.5 Hasil identifikasi flavonoid. Uji kandungan kimia golongan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol : asam asetat : air (3 : 1 : 1) dengan pereaksi semprot sitroborat menggunakan baku pembanding rutin. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid setelah disemprot pada UV 254 memberikan peredaman dan bewarna biru pada UV 366. Nilai Rf bercak adalah 0,58 yang sama dengan pembanding rutin dengan nilai Rf 0,58 dan warna bercak yang sama yang menandakan positif adanya flavonoid dan memasuki range Rf yang baik.