

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Penyiapan Bahan Tanaman

1. Determinasi tanaman kana merah dan tanaman pisang kepok

Determinasi tanaman pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman kana (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) sesuai dengan ciri morfologi, makroskopis dan mikroskopis yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah benar tanaman kana (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.). Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun kana merah dan bonggol pisang kepok

Penelitian ini menggunakan daun kana dan bonggol pisang kepok. Daun yang diambil berwarna hijau dan bonggol pisang yang diambil pada bagian bonggol atau tunasnya yang berwarna coklat. Kedua tanaman ini diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah pada bulan Desember 2018. Daun kana dan bonggol pisang dilakukan pengeringan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau mikroorganisme lainnya dan mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Daun kana dan bonggol pisang dicuci bersih terlebih dahulu dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan debu, daun kana dan bonggol pisang yang sudah bersih dipotong-potong kemudian ditimbang, setelah itu dikeringkan dengan cara di oven selama kurang lebih 5 hari pada suhu 45° C. Daun kana dan bonggol pisang yang sudah kering ditimbang dan diserbuk dengan alat penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40

sehingga diperoleh serbuk daun kana dan bonggol pisang yang mempunyai derajat kehalusan relatif homogen.

Tabel 1. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun kana dan bonggol pisang

Nama simplisia	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
A	7000,00	2900,00	41,42%
B	5000,00	3550,00	71%

Keterangan :

Simplisia A : Daun kana merah

Simplisia B : Bonggol pisang kepok

Tabel 1 menunjukkan bahwa daun kana basah sebanyak 7000,00 gram diperoleh bobot kering serbuk daun kana 2900,00 gram dan rendemen yang diperoleh sebesar 41,42%. Bonggol pisang kepok yang masih basah sebanyak 5000,00 gram diperoleh bobot kering serbuk bonggol pisang kepok 3550,00 gram dan rendemen yang diperoleh 71%.

3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk

Penetapan susut pengeringan merupakan suatu proses yang dilakukan untuk mengetahui banyaknya bagian zat yang dapat menguap dan dilakukan dengan cara pengeringan. Pengujian ini menggunakan alat *Moisture Balance*. Prinsip kerja dari alat ini yaitu pemanasan secara konstan pada sampel berupa simplisia atau ekstrak pada suhu 105°C selama beberapa waktu sehingga semua senyawa yang dapat menguap pada suhu 105°C akan teruapkan termasuk air dan minyak atsiri. Tujuan penetapan susut pengeringan untuk mengetahui batasan maksimal besarnya kandungan air di dalam bahan. Simplisia dinilai cukup aman bila nilai penetapan susut pengeringan sesuai dengan literatur untuk mencegah perubahan kimiawi yang menurunkan mutu serbuk. Hasil susut pengeringan serbuk daun kana dan serbuk bonggol pisang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan daun kana merah dan bonggol pisang kepok

Replikasi	Bobot awal (gram)		Bobot akhir (gram)		Susut pengeringan (%b/b)	
	A	B	A	B	A	B
1	2,000	2,000	1,83	1,82	8,20	9,30
2	2,000	2,000	1,83	1,81	8,10	9,60
3	2,000	2,000	1,83	1,81	8,00	9,60
	Rata-rata				8,10%	9,60%

Keterangan :

A : Serbuk daun kana

B : Serbuk bonggol pisang

Berdasarkan tabel 2, hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk daun kana yang dilakukan dengan tiga kali replikasi yaitu sebesar 8,10%b/b, hal ini sudah sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak lebih dari 10%b/b. Serbuk bonggol pisang yang dilakukan dengan tiga kali replikasi memiliki rata-rata penyusutan yaitu sebesar 9,60%b/b, sudah sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak lebih dari 10%b/b.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang

Ekstraksi terhadap serbuk daun kana dan bonggol pisang kepok dilakukan menggunakan ekstraksi cara dingin, yaitu dengan maserasi. Pada metode ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali sehingga maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% pemilihan pelarut tersebut dikarenakan etanol dengan kadar 96% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, selain itu penggunaan pelarut etanol 96% bertujuan untuk meminimalisir bahan pengganggu yang turut kedalam cairan pengesktraksi.

Ektrak yang telah dimaserasi, dipisahkan dengan *vacum rotary evaporator*. Prinsip *vacum rotary evaporator* yaitu pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu dibawah titik didih dan terpisah dari sumbernya dengan pemanasan secara vakum. *Vacum rotary evaporator*

mampu menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak oleh suhu yang tinggi. Hasil ekstrak kental dihitung sebagai rendemen ekstrak. Hasil rendemen ekstrak daun kana dan bonggol pisang kepok dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rendemen ekstrak daun kana merah dan bonggol pisang kepok

Nama simplisia	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak kental (gram)	Rendemen (% b/b)
A	500,00	136,864	27,3
B	500,00	105,903	21,2

Keterangan :

Simplisia A : Daun kana merah

Simplisia B : Bonggol pisang kepok

Berdasarkan tabel 3 di atas dapat dilihat bahwa perhitungan presentase rendemen hasil maserasi serbuk daun kana 500 gram yang dilarutkan dengan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak kental seberat 136,864 gram sehingga diperoleh rendemen 27,3% dan hasil maserasi serbuk bonggol pisang kepok 500 gram yang dilarutkan dengan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak kental seberat 105,903 gram sehingga diperoleh rendemen 21,2%. Ekstrak kental dipekatkan menggunakan evaporator sampai bobot konstan, kemudian dioven dengan suhu 50° C.

5. Hasil uji bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membuktikan bahwa tidak ada kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok. Dengan demikian hasil pada aktivitas antibakteri murni karena pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kana dan bonggol pisang kepok bukan karena senyawa pelarut etanol pada ekstrak etanol daun kana dan bonggol pisang. Hasil uji menunjukkan tidak adanya bau ester yang khas.

Tabel 4. Hasil uji bebas etanol

Bahan yang diujikan	Pereaksi	Hasil pengujian
Ekstrak daun kana merah	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas
Ekstrak bonggol pisang kepok	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas

6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok

Uji kandungan senyawa kimia merupakan pengujian pendahuluan untuk mengetahui kebenaran kandungan kimia yang ada pada ekstrak etanol daun kana dan bonggol pisang kepok. Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan uji kualitatif metode tabung atau pereaksi dilanjutkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Dari uji tersebut diamati perubahan yang terjadi dengan memberikan tanda yang khas pada hasil positif. Hasil pengujian kandungan kimia dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 6.

Tabel 5. Hasil uji kandungan kimia ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok dengan metode reaksi warna

Senyawa	Metode pengujian	Hasil pustaka (Depkes RI 1995)	Hasil percobaan	Keterangan
Flavonoid	Ekstrak+ serbuk Zn+ HCl 2N+ HCl pekat	Warna merah	Warna merah	Positif
Alkaloid	Ekstrak + H ₂ SO ₄ 2N+ pereaksi mayer/dragonraff/wagner	Endapan putih / endapan merah jingga/ endapan merah kecoklatan	Terbentuk endapan merah kecoklatan	Positif
Saponin	Ekstrak + air+ HCl	Busa tetap konstan	Busa tetap konstan	Positif
Tanin	Ekstrak + etanol + FeCl ₃ 1%	Warna biru tua atau hijau kehitaman	Warna hijau kehitaman	Positif

Hasil pengujian flavonoid menunjukkan positif karena terjadi perubahan warna kuning kemerahan yang disebabkan adanya reaksi reduksi oleh Mg yang dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl. Hasil pengujian alkaloid menunjukkan positif karena terbentuk endapan merah kecoklatan yang disebabkan nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam K⁺ dari kalium tertraiodobismutat membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap. Hasil pengujian saponin menunjukkan positif karena terbentuk buih yang stabil setelah penambahan HCl 2N. Hasil positif juga ditunjukkan pada pengujian senyawa tanin yang ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman kana merah dan bonggol pisang kepok dengan reaksi warna

menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kana dan bonggol pisang kepok mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Setelah dilakukan skrining fitokimia, kemudian dilakukan identifikasi dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mempertegas hasil senyawa antibakteri yang telah diuji dengan metode reaksi warna. Profil kromatografi dari masing-masing senyawa dengan metode KLT dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa	Fase gerak	Pereaksi semprot	Pembanding	Hasil positif (Depkes RI 1995)	Rf
Flavonoid	Etil asetat : asam formiat : asam asetat glacial : air (100:11:11: 27)	Sitroborat	-	Warna kuning/	1. 0,87
				oranye pada sinar UV	2. 0,87
Alkaloid	Toluene: etil asetat: dietil amin (7:2:1)	Dragondraf	Piperin	Warna ungu pada sinar UV	1. 0,50 2. 0,87 3. 0,48
Saponin	Kloroform: metanol: air (64:50:1)	Lieberman Bourchard	Asam gliserin	Warna ungu pada sinar UV	1. 0,81 2. 0,83 3. 0,81
Tanin	Etil asetat: asam formiat: toluene: air (6:1,5:3:0,5)	FeCl ₃	Asam galat	Warna hitam pada sinar UV	1. 0,92 2. 0,92 3. 0,81

Keterangan :

Rf sampel (1. Daun kana, 2. Bonggol pisang kepok)

Rf pembanding (3. Larutan baku)

Hasil identifikasi flavonoid pada sinar UV 254 nm berflouresensi hijau, pada UV 366 nm bercak ekstrak etanol daun kana merah menunjukkan warna biru sedangkan pada ekstrak etanol bonggol pisang kepok bercak tidak terlihat dan setelah diuapkan dengan ammonia terlihat adanya noda kuning coklat pada Rf 0,87 yang diduga adalah senyawa golongan flavonoid. Penelitian lain yang telah dilakukan juga menunjukkan hasil positif flavonoid yang terkandung dalam daun kana merah (Sunaryanti 2012) dan bonggol pisang kepok (Wijavanti 2017).

Hasil identifikasi alkaloid pada ekstrak etanol daun kana merah setelah dilihat dibawah sinar UV 254 nm bercak berwarna ungu, sedangkan pada ekstrak etanol bonggol pisang kepok bercak tidak tampak dikarenakan tidak semua noda atau bercak yang menandakan adanya alkaloid dapat dilihat dengan UV 254 nm. Pengamatan dibawah sinar UV 366 nm ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok menampakkan bercak berwarna ungu. Penelitian lain yang telah dilakukan juga menunjukkan hasil positif alkaloid yang terkandung dalam daun kana merah (Sunaryanti 2012) dan bonggol pisang kepok (Azizah 2019).

Hasil identifikasi saponin menunjukkan UV 254 nm ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok menampakkan bercak berwarna coklat kehitaman, pada UV 366 nm bercak ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok berwarna ungu muda. Penelitian lain yang telah dilakukan juga menunjukkan hasil positif saponin yang terkandung dalam daun kana merah (Sunaryanti 2012) dan bonggol pisang kepok (Ningsih dan Agustien 2013).

Hasil identifikasi tanin menunjukkan pada sinar UV 254 nm ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok menampakkan bercak berwarna coklat kehitaman, pada UV 366 nm bercak ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok menunjukkan warna biru. Penelitian lain yang telah dilakukan juga menunjukkan hasil positif tanin yang terkandung dalam daun kana merah (Sunaryanti 2012) dan bonggol pisang kepok (Ningsih dan Agustien 2013).

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT), ekstrak etanol daun kana merah (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Masing-masing golongan senyawa kimia tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda dalam mematikan sel bakteri.

B. Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

1. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pembuatan suspensi bakteri uji dilakukan dengan mengambil biakan murni sebanyak satu ose bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media BHI, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dihomogenkan menggunakan alat vortek dan disetarakan kekeruhannya dengan standar *McFarland* 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ ml, selanjutnya suspensi bakteri digunakan untuk dilakukan pengujian.

2. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

2.1 Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui bakteri yang akan digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Proses identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan secara morfologi maupun fisiologi. Pengamatan secara morfologi selain dilakukan dengan mikroskopis dapat juga dilakukan secara makroskopis salah satunya dengan metode goresan (*steak plate*), pada metode ini bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 akan terbentuk koloni bulat halus dengan membentuk pigmen berwarna kehijauan. Warna hijau ini dihasilkan karena bakteri mengandung enzim piosianin dan pioverdin. Piosianin merupakan pigmen hijau kebiruan yang tidak berfluoresensi, akan berdifusi kedalam agar, sedangkan pigmen pioverdin akan berfluoresensi membentuk warna kehijauan pada agar (Aulia 2017).

Pengamatan fisiologi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dilakukan dengan cara uji biokimia, pada uji ini dilakukan dengan menggunakan media *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA) dan citrat. Hasil uji SIM setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yaitu lereng media sulfida tidak berwarna hitam(-), tidak terbentuk cincin indol berwarna merah setelah penambahan reagen Erlich (-),

uji motilitas (+) yaitu ditandai adanya pertumbuhan dan kekeruhan. Hasil uji KIA adalah bagian lereng berwarna merah (K), bagian dasar berwarna merah ditulis (K), sulfida negatif yaitu tidak terbentuk warna hitam pada media (S-). Hasil uji LIA adalah bagian lereng berwarna ungu (K), bagian dasar berwarna ungu (K), sulfida negatif tidak terbentuk warna hitam pada media (S-). Hasil uji citrat media berwarna hijau berubah menjadi warna biru.

2.2 Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode goresan. Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan goresan dilakukan dengan cara menggoreskan bakteri pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari hasil identifikasi didapatkan terbentuknya koloni bulat halus berwarna hijau yang membuktikan bahwa bakteri yang akan dipakai untuk penelitian adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 8.

2.3 Hasil identifikasi uji biokimia *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Bakteri ditanam pada media SIM, KIA, LIA dan CITRAT diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi uji bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia

Pengujian	Hasil	Pustaka
SIM	--+	Lereng media sulfida tidak berwarna hitam(-), tidak terdapat cincin indol berwarna merah(-) dan ada bakteri yang menyebar (+)
KIA	K/ K S(-)	Lereng media atas berwarna merah (K), bawah berwarna merah (K) dan tidak ada warna hitam (S-)
LIA	K/ K S(-)	Lereng media atas berwarna ungu(K), bawah berwarna ungu (K) dan tidak ada warna hitam (S-)
Citrat	+	Terjadi perubahan warna menjadibiru (+)

Keterangan:

SIM : *Sulfida Indol Motility*

KIA : *Kliger Iron Agar*

LIA : *Lysine Iron Agar*

Hasil identifikasi pada media *Sulfida Indol Motility* (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dilakukan setelah media SIM diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil yang didapat adalah --+, yang artinya pada uji sulfida bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mereduksi thiosulfat sehingga tidak menghasilkan hydrogen sulfide (H_2SO_4) yang ditunjukkan tidak ada warna hitam. Uji indol dibuktikan dengan menambahkan tiga tetes reagen Erlich A dan B, permukaan media tidak berwarna merah muda ini berarti uji indol negatif, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk cincin indol karena tidak terjadi pemecahan asam amino triptopan oleh enzim triptopanase menjadi indol dan asam pyruvat. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak menggunakan triptopan sebagai salah satu sumber karbon sehingga tidak terjadi reaksi antara indol dan paradimetil asam amino bensadehil yang akan membentuk warna merah. Uji motilitas positif ditunjukkan dengan penyebaran bakteri pada media *Sulfida Indol Motility* (SIM) karena terlihat adanya penyebaran bakteri disekitar daerah inokulasi, hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bakteri ini memiliki flagel.

Hasil identifikasi pada media *Kliger Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas dan pembentukan sulfida. Pengujian dengan media KIA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil K/K S-. Hasil S- artinya H_2S negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media, karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H_2S . Hidrogen sulfida akan bereaksi dengan Fe^{++} yang terdapat pada media, sehingga tidak terbentuk warna hitam. Media KIA mengandung 1% laktosa, 0,1% glukosa, dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam. Media KIA juga mengandung sodium thiosulfat yaitu susunan untuk penghasil hidrogen sulfida.

Media *Lysine Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfida. Pengujian dengan LIA setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil K/K S-. Hasil K/K artinya pada lereng dan dasar media

berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa sehingga berwarna ungu di seluruh media, karena warna pembedahan ini mengandung bromkresol ungu. Hasil 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. Hidrogen sulfida akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media, sehingga tidak terbentuk warna hitam.

Hasil pengujian pada media citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Pengujian dengan media citrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya warna biru pada media citrat. Hal ini karena *Pseudomonas aeruginosa* mampu menggunakan citrat sebagai sumber karbon sehingga menyebabkan suasana menjadi basa dan menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru, karena pada media citrat terdapat indikator BTB (Bromo thymol blue) yang merupakan indikator pH. Hasil uji identifikasi bakteri dapat dilihat pada lampiran 8.

3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kana dan bonggol pisang terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi

3.1 Hasil ekstrak etanol daun kana merah (*Canna cocciana* Mill.) dan bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.). Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan menggunakan seri konsentrasi pengenceran bertingkat. Seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19; 0,09% dengan kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak. Pengujian aktivitas secara dilusi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak terhadap bakteri uji.

Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan melihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ada yang tidak bisa dilihat kejernihannya karena pada penelitian ini menggunakan ekstrak yang umumnya berwarna gelap dan keruh walaupun sudah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Sehingga untuk mengetahui nilai KHM, hasil inkubasi dari konsentrasi 100% hingga konsentrasi yang menunjukkan kekeruhan, kontrol positif dan kontrol negatif digoreskan pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri ekstrak yang dapat dilihat dari pengujian ekstrak terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasi pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media PSA. Hasil uji aktivitas antibakteri dilusi ekstrak etanol daun kana merah dan ekstrak etanol bonggol pisang kepok dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji dilusi ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

No.	Konsentrasi (% b/v)	Ekstrak etanol daun kana merah			Ekstrak etanol bonggol pisang kepok		
		Replikasi			Replikasi		
		I	II	III	I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	100	-	-	-	-	-	-
3	50	-	-	-	-	-	-
4	25	-	-	-	-	-	-
5	12,5	+	+	+	-	-	-
6	6,25	+	+	+	+	+	+
7	3,12	+	+	+	+	+	+
8	1,56	+	+	+	+	+	+
9	0,78	+	+	+	+	+	+
10	0,39	+	+	+	+	+	+
11	0,19	+	+	+	+	+	+
12	0,09	+	+	+	+	+	+
13	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- + : terdapat pertumbuhan bakteri
- : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : ekstrak etanol
Kontrol (+) : suspensi bakteri

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa uji aktifitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dari ekstrak tunggal etanol daun kana merah dan bonggol pisang menggunakan seri konsentrasi mulai dari 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; dan 0,09% dengan melakukan replikasi 3 kali pengulangan. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada ekstrak etanol daun kana merah yaitu 25% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun kana merah yaitu 50%. Sedangkan pada ekstrak etanol bonggol pisang kepok mulai menunjukkan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 12,5% dan menunjukkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol bonggol pisang kepok yaitu 25%. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kana merah dan ekstrak etanol bonggol pisang kepok terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi dapat dilihat pada lampiran 9.

3.2 Hasil kombinasi ekstrak etanol daun kana merah (*Canna coccinea* Mill.) dan bonggol pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.). Pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan menggunakan seri konsentrasi pengenceran bertingkat. Seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09% dengan kontrol positif berupa suspensi bakteri dan kontrol negatif berupa ekstrak. Pengujian aktivitas secara dilusi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak terhadap bakteri uji.

Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan melihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC

27853 ada yang tidak bisa dilihat kejernihannya karena pada penelitian ini menggunakan ekstrak yang umumnya berwarna gelap dan keruh walaupun sudah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Sehingga untuk mengetahui KHM nya hasil inkubasi dari konsentrasi 100% hingga konsentrasi yang menunjukkan kekeruhan, kontrol positif dan kontrol negatif digoreskan pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri ekstrak yang dapat dilihat dari pengujian ekstrak terhadap bakteri uji pada tabung yang kemudian diinokulasi pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) untuk mengetahui ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA). Hasil uji aktivitas antibakteri dilusi kombinasi ekstrak etanol daun kana merah dan ekstrak etanol bonggol pisang kepok dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji dilusi ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

No.	Konsentrasi (% b/v)	Kombinasi 1:1			Kombinasi 1:3			Kombinasi 3:1		
		Replikasi			Replikasi			Replikasi		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	Kontrol negatif (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	12,5	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6	6,25	+	+	+	-	-	-	+	+	+
7	3,12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	1,56	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	0,78	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	0,39	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	0,19	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	0,09	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

+ : terdapat pertumbuhan bakteri

- : tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : ekstrak etanol

Kontrol (+) : suspensi bakteri

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa uji aktifitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dari kombinasi ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang menggunakan seri konsentrasi mulai dari 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; dan 0,09% dengan melakukan replikasi 3 kali pengulangan. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi ini bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi ekstrak 1:1; 1:3; 3:1. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kombinasi ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang pada perbandingan 1:1 yaitu 25%, perbandingan 1:3 yaitu 6,25%, dan perbandingan 3:1 yaitu 12,5%. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang pada perbandingan 1:1 yaitu 50%, perbandingan 1:3 yaitu 12,5%, dan perbandingan 3:1 yaitu 25%. Gambar hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kana merah terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara dilusi 1:1; 1:3 dan 3:1 dapat dilihat pada lampiran 10.

Nilai KHM berbanding terbalik dengan nilai sensitivitas bakteri, semakin rendah nilai KHM maka nilai sensitivitas bakteri semakin tinggi. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dalam penelitian ini dapat diketahui dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, setelah bakteri uji digoreskan pada media *Pseudomonas Selective Agar* (PSA). Pembuktian secara goresan pada media selektif hasil positif yang tampak pada media terlihat adanya pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang bercirikan koloni berbentuk bulat halus dengan membentuk pigmen kehijauan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, terutama jika dikombinasi dengan perbandingan 1:3 dapat menghasilkan efek yang lebih efektif. Kombinasi 1:3 terdiri dari 1 bagian ekstrak etanol daun kana merah dan 3 bagian ekstrak etanol bonggol pisang

kepok didapatkan nilai KBM 12,5%. Hal ini diduga karena kandungan bahan aktif yang berpotensi sebagai antibakteri saling memperkuat khasiatnya sehingga lebih efektif dibandingkan ekstrak tunggal daun kana merah dan bonggol pisang kepok.

Sehingga dapat diketahui efek dari kombinasi ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok menghasilkan efek yang sinergis. Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan, baik dengan mekanisme aksi yang sama maupun dengan mekanisme aksi yang berbeda. Efek sinergis pada perbandingan 1:3 diduga karena adanya kandungan senyawa saponin. Menurut Soesanto dan Ruth (2009), ekstrak bonggol pisang kepok memiliki kandungan senyawa saponin dalam jumlah yang banyak.

Ekstrak etanol daun kana merah dan bonggol pisang kepok mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Mekanisme kerja saponin mengakibatkan naiknya permeabilitas sel dan mengakibatkan senyawa intra sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007). Flavonoid sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri (Ngajow *et al.* 2013). Alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut (Sari *et al.* 2010). Tanin sebagai antibakteri dengan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna mengakibatkan sel bakteri dapat mengalami lisis (Sari *et al.* 2009).