

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi dan deskripsi tanaman kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman untuk penelitian ini adalah tanaman kucai (*Allium schoenoprasum* L.), famili Amaryllidaceae. Determinasi tanaman untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan morfologi tanaman, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Hasil determinasi tanaman kucai menurut C.A. Backer & Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) sebagai berikut.

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b_____218.
Amaryllidaceae 1a-2b-3a-4a_____1. *Allium*
1a-2b_____ *Allium schoenoprasum* L.

Hasil determinasi dan deskripsi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pemilihan dan pengumpulan daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Daun kucai yang akan digunakan dalam penelitian diperoleh dari Kelompok Tani Gondosuli, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Daun yang dipilih masih segar, berwarna hijau, tidak busuk, tidak terlalu tua, dan tidak terlalu muda serta bebas dari hama. Daun kucai yang telah dipilih kemudian disortir dari batang sehingga dapat daun murni kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan cemaran. Pengumpulan daun kucai dilakukan dengan cara, daun dipetik dan dipilih secara acak.

3. Pengeringan daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air yang terkandung didalam simplisia tanaman sehingga mencegah timbulnya jamur dan mikroorganisme lain yang dapat merusak simplisia. Hasil perhitungan rendemen yang diperoleh di lihat pada lampiran 12. Adapun rendemen bobot kering

terhadap bobot basah daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)b/b
14000	1500	10,71

4. Pembutan serbuk daun kucai kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Tujuan dilakukan penyerbukan adalah untuk memperluas permukaan sehingga mempermudah simplisia untuk larut dalam zat penyari. Hasil perhitungan rendemen serbuk dapat dilihat pada lampiran 13. Adapun rendemen serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Presentase rendemen serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Bobot kering (gram)	Bobot serbuk (gram)	Rendemen (%) b/b
1500	900	60%

5. Hasil penetapan kadar susut pengeringan serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes 2000). Pengukuran serbuk daun kucai dilakukan pengeringan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* pada suhu 105°C, serbuk daun kucai sebanyak 2 gram. Kadar susut pengeringan serbuk yang baik adalah tidak lebih dari 10% (BPOM RI 2004). Presentase susut pengeringan serbuk daun kucai dapat dilihat pada Tabel 3. berikut.

Tabel 3. Presentase susut pengeringan serbuk daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Replikasi	Bobot serbuk daun kucai (gram)	Kadar lembab (%)
1	2,00	7,0
2	2,00	7,5
3	2,00	7,5
Rata-rata		7,33

Hasil penetapan kadar susut pengeringan serbuk daun kucai setelah diukur menggunakan *moisture balance* adalah 7,33% dengan suhu 105°C selama kisaran waktu ± 7 menit. Hasil kadar susut pengeringan serbuk daun kucai memenuhi syarat yaitu kadarnya tidak lebih dari 10%. Kadar susut pengeringan yang melebihi 10% menyebabkan serbuk akan ditumbuhui jamur. Kadar susut

pengeringan yang rendah atau kurang dari 10% akan mencegah adanya pertumbuhan mikroorganisme dan jamur (Ratnani *et al.* 2015). Hasil perhitungan penetapan kadar susut pengeringan serbuk daun kucai dapat dilihat di lampiran 14.

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

Penetapan kadar air pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* menggunakan pelarut toluen. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun kucai dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Replikasi	Bobot ekstrak (g)	Volume pada skala (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			5,91

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam ekstrak. Penghilangan kadar air digunakan untuk memperpanjang daya tahan ekstrak selama penyimpanan, berkaitan dengan kontaminasi ekstrak terhadap mikroorganisme. Hasil penetapan kadar air rata-rata ekstrak dengan metode destilasi *Sterling-Bidwell* yaitu 5,91% sehingga memenuhi syarat karena tidak lebih dari 10% (DepKes RI 2000). Perolehan kadar yang terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari bahan simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia tersebut. Perhitungan kadar air ekstrak dapat dilihat pada lampiran 15.

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

Pembuatan ekstrak etanol daun kucai ini menggunakan metode ekstraksi yaitu metode maserasi. Maserasi digunakan dalam penelitian ini karena pengeraan dan peralatan yang sederhana serta waktu yang tidak terlalu lama. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan etanol 70%. Etanol lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Pemilihan pelarut etanol 70% karena penyarian yang dilakukan optimal sehingga banyak senyawa aktif yang terkandung didalamnya dan etanol

70% lebih bersifat polar dibandingkan pelarut etanol 96% untuk mengekstraksi senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tanin yang bersifat polar.

Serbuk dari daun kucai ditimbang sebanyak 900 gram kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 70%. Proses maserasi dilakukan di dalam wadah yang tertutup dan gelap seperti botol maserasi berwarna coklat dengan tujuan untuk mencegah reaksi oksidasi oleh cahaya matahari atau perubahan warna (DepKes RI 1979). Rendemen ekstrak etanol daun kucai dapat dilihat pada Tabel 5. berikut.

Tabel 5. Presentase rendemen ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Bobot Serbuk (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen Ekstrak (%) b/b
900	292,861	32,54

Hasil randemen dapat dilihat pada tabel 4, bahwa presentase randemen ekstrak etanol daun kucai 32,54%. Serbuk daun kucai 900 gram yang dilarutkan dengan etanol 70% 900 ml kemudian didapatkan ekstrak 292,861 gram. Hasil perhitungan persen rendemen ekstrak etanol daun kucai dapat dilihat di lampiran 16.

8. Hasil uji bebas etanol dari ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Ekstrak etanol daun kucai dilakukan uji bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi. Uji bebas etanol ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada Tabel 6. berikut.

Tabel 6. Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Uji Bebas Etanol	Hasil Pengujian
Ekstrak etanol daun kucai + asam sulfat (H_2SO_4) pekat + asam asetat (CH_3COOH), dipanaskan	Tidak adanya bau ester yang khas

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ekstrak etanol daun kucai benar-benar bebas dari etanol. Apabila masih mengandung etanol dikhawatirkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri, karena etanol mempunyai kemampuan membunuh bakteri. Tabel 6, hasil uji bebas etanol dari ekstrak etanol daun kucai ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari reaksi esterifikasi yang dilakukan. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 5.

9. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tanaman. Pelarut yang digunakan antara lain *n*-heksana, etil asetat, dan air. *n*-Heksana merupakan pelarut non polar dan pelarut semipolar yang digunakan etil asetat. Pelarut polar yang digunakan adalah air. Senyawa-senyawa bersifat polar akan masuk dalam pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar. *n*-heksana molarutkan senyawa-senyawa nonpolar, seperti minyak atsiri, lemak, asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, dan karotenoid. Etيل asetat molarutkan senyawa-senyawa semipolar, seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin. Air molarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin (DepKes RI 1986). Rendemen hasil fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.) dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 7. Presentase rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

No.	Bobot Ekstrak (gram)	Bobot Fraksi <i>n</i> -heksana (gram)	Rendemen (%)	Bobot Fraksi etil asetat (gram)	Rendemen (%)	Bobot Fraksi air (gram)	Rendemen (%)
1.	10,00	0,469	4,69	0,963	9,63	8,165	81,65
2.	10,00	0,506	5,06	0,850	8,5	8,034	80,34
3.	10,00	0,438	4,38	0,836	8,36	8,106	81,06
4.	10,00	0,486	4,86	0,906	9,06	7,951	79,51
5.	10,00	0,513	5,13	0,971	9,71	7,937	79,37
Rata-rata		0,482	4,82	0,905	9,05	8,039	80,39

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan presentase rata-rata randemen fraksi *n*-heksana daun kucai didapat sebanyak 4,82%. Perhitungan presentase rata-rata randemen fraksi etil asetat daun kucai didapat sebanyak 9,05%. Perhitungan presentase rata-rata randemen fraksi air daun kucai didapat sebanyak 80,39%. Hasil perhitungan rendemen dapat fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air daun kucai dilihat dalam lampiran 17. Hasil rendemen fraksi yang didapatkan tidak 100%, disebabkan karena hilang saat proses fraksinasi di corong

pisah, hilang saat proses penguapan menempel di dinding-dinding gelas, dan beaker glass.

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

Ekstrak etanol daun kucai yang didapat dilakukan identifikasi kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam daun kucai. Identifikasi kandungan kimia daun kucai menggunakan perekasi kimia. Kandungan kimia yang diidentifikasi pada penelitian ini adalah saponin, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan alkaloid. Berdasarkan hasil uji identifikasi reaksi tabung ekstrak daun kucai positif mengandung saponin, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan alkaloid, senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas antibakteri. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kucai dapat dilihat pada lampiran 7. Tabel 8 menunjukkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kucai secara kualitatif.

Tabel 8. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kucai Secara Kualitatif

Senyawa	Interpretasi Hasil Ekstrak Etanol Daun Kucai	Pustaka
Saponin	Terbentuk busa	Reaksi positif apabila terbentuk busa dan setelah ditambahkan 2 tetes HCl 1 N busa yang terbentuk tetap stabil (Hayati <i>et al.</i> 2013)
Triterpenoid	Terbentuk cincin berwarna merah kecoklatan	Reaksi positif terbentuknya cincin merah kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut (Indayani <i>et al.</i> 2006)
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Reaksi positif terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hijau kehitaman (Simaremare 2014)
Flavonoid	Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif terbentuk warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol (Indrayani <i>et al.</i> 2006)
Alkaloid	Dragendorf: Terbentuk endapan berwarna jingga kecoklatan. Wagner: Terbentuk endapan coklat Mayer: Terbentuk endapan berwarna putih	Reaksi positif pada perekasi Dragendorf terbentuknya endapan jingga coklat dan perekasi Wagner terbentuknya endapan coklat sampai hitam. Mayer terbentuknya endapan berwarna putih (Harbone 1987)

11. Identifikasi bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175

11.1 Identifikasi mikroskopis. Identifikasi mikroskopis bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dilakukan dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan bakteri ke dalam dua kelompok

utama yaitu Gram positif dan Gram negatif. Hasil pengujian pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 termasuk bakteri Gram positif yang ditandai dengan dipertahankannya warna ungu dari kristal violet. Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang diamati pada mikroskop berwana ungu, berbentuk bulat, dan membentuk rantai. Pada sel Gram positif kandungan lipid yang sedikit mudah larut dalam alkohol sehingga menyebabkan pembentukan pori-pori dinding sel yang kecil. Pori yang kecil ditutupi oleh alkohol yang mempunyai daya dehidrasi, akibatnya zat warna primer yang terikat kuat menjadi sulit dihilangkan dan sel tetap berwana ungu (Volk dan Margaret 1990). Hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 9.

11.2 Identifikasi makroskopis. Identifikasi makroskopik merupakan uji biokimia yang dilakukan pengujian dengan media MSA dan Agar Darah. Media MSA termasuk ke dalam media selektif dan differensial. Media selektif adalah media yang mampu menumbuhkan bakteri tertentu (bakteri target atau bakteri yang kita inginkan) dan menghambat pertumbuhan bakteri lain (bakteri non target). Media differensial digunakan untuk membedakan bentuk dan karakter koloni bakteri yang tumbuh. Beberapa bakteri dapat tumbuh di dalam media ini, tetapi hanya beberapa jenis saja yang mempunyai penampilan pertumbuhan yang khas. Manitol dalam media ini differensial oleh bakteri yang dapat mendeteksi produksi asam oleh bakteri, sehingga mengubah indikator *phenol red* dalam media menjadi warna kuning (Aroza *et al.* 2017). Warna merah pada media MSA berubah menjadi kuning setelah ditusuk dengan biakan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 9.

Media Agar Darah digunakan untuk membedakan mikroorganisme bakteri berdasarkan kemampuan menghemolisa sel darah merah yang terdapat dalam media. Pengujian media Agar Darah dilakukan dengan cara menginokulasi bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 pada media Agar Darah kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya koloni bakteri berwana putih dengan tepian koloni berwana hijau. Warna koloni pada media Agar Darah menunjukkan bahwa

bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 bersifat alfa hemolisis (Suwito *et al.* 2018). Hemolisis alfa adalah hemolisis parsial yang akan menimbulkan warna hijau disekitar koloni bakteri. warna hijau berasal dari biliverdin yang merupakan produk sampingan dari pemecahan hemoglobin (Akhdya *et al.* 2018). Hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 9.

11.3 Uji Katalase. Uji katalase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H_2O dan O_2 . hidrogen peroksida bersifat toksik karena bahan ini menginaktifkan enzim didalam sel. Hidrogen peroksida akan terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga bakteri yang tumbuh dalam lingkungan aerob akan menguraikan bahan tersebut. Katalase positif ditunjukkan adanya gelembung gas O_2 oleh genus *Staphylococcus sp* (Manu *et al.* 2016). Hasil uji katalase pada penelitian ini adalah negatif karena tidak adanya buih (gelembung-gelembung gas O_2). Hal ini menunjukkan bahwa benar bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 genus *Streptococcus sp.* tidak memiliki enzim katalase karena hidrogen peroksida (H_2O_2) yang diberikan tidak diuraikan oleh bakteri, sehingga tidak menghasilkan oksigen dan air. Hasil pengujian katalase dapat dilihat pada lampiran 9.

11.4 Uji Koagulase. Uji koagulase menggunakan plasma darah yang ditambahkan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sebanyak 3-5 koloni dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji koagulase pada penelitian ini adalah positif dengan menunjukkan adanya gumpalan putih pada dasar tabung. Koagulase positif ditunjukkan adanya gumpalan plasma berwarna putih. Gumpalan yang terbentuk pada uji koagulase terjadi karena adanya kerja enzim koagulase yang mengubah fibrinogen dalam plasma sitrat menjadi fibrin (Manu *et al.* 2016). Hasil pengujian koagulase dapat dilihat pada lampiran 9.

12. Pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Pembuatan suspensi bakteri uji *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan mengambil bakteri dari biakan murni sebanyak dua ose, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diberi BHI. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kekeruhan diamati dan dibandingkan dengan standar Mc

Farland 0,5. Jika hasilnya lebih keruh dari standar Mc Farland maka dibuat perbandingan pengenceran 1:1000. Tujuan pengenceran untuk mengurangi jumlah koloni.

13. Hasil uji aktivitas antibakteri metode difusi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui ekstrak atau fraksi teraktif berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan. Cara kerja difusi cakram yaitu ekstrak atau fraksi yang akan diuji diserapkan pada kertas cakram dan ditempelkan pada media MHA yang telah di sterilkan dan diratakan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat di daerah sekitar cakram. Penentuan konsentrasi hambat minimum berdasarkan penurunan konsentrasi yang dimulai dari 50%, 25%, dan 12,5%. Pengujian antibakteri dengan tingkatan konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk melihat konsentrasi yang berbeda untuk melihat pengaruh setiap konsentrasi ekstrak dan fraksi pada bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pelarut DMSO 5% sebagai kontrol negatif tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri karena tidak memiliki zona bening pada cakram, sehingga diameter hambat yang dihasilkan murni berasal dari ekstrak daun kucai tidak dipengaruhi oleh pelarut. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian adalah ciprofloxacin 5 μ g. Kontrol positif ini sebagai pembanding terhadap aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi, karena antibiotik merupakan senyawa antimikroba yang telah dibuat secara standar. Ciprofloxacin sebagai kontrol positif terlihat memiliki diameter hambat yang besar dan sangat mencolok dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi. Perhitungan larutan stok dan seri pengenceran dapat dilihat pada lampiran 18 dan 19. Hasil luas daerah hambat dari ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun kucai terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan metode dilusi dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 9. Hasil Pengujian Difusi Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Daun Kucai Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata ± SD
Ekstrak 50%	9	10,50	11	10,17 ± 1,04
Ekstrak 25%	10	8	9	9,00 ± 1,00
Ekstrak 12,5%	8	7	8	7,67 ± 0,58
Fraksi n-heksana 50%	11	12	10	11,00 ± 1,00
Fraksi n-heksana 25%	10	9	10,50	9,83 ± 0,76
Fraksi n-heksana 12,5%	9	8	9	8,67 ± 0,58
Fraksi etil asetat 50%	16	16	16,50	16,17 ± 0,29
Fraksi etil asetat 25%	13	12	13	12,67 ± 0,57
Fraksi etil asetat 12,5%	12	13,50	12,50	12,67 ± 0,76
Fraksi air 50%	14	12	12,50	12,83 ± 1,04
Fraksi air 25%	12	11,50	10	11,17 ± 1,04
Fraksi air 12,5%	10	10	11	10,33 ± 0,58
Fraksi Air	10	10	11	10,33 ± 0,58
Kontrol positif (+)	20,50	22	24,50	22,33 ± 2,02
Ciprofloksasin 5 μ g				
Kontrol negatif (-)	0	0	0	0 ± 0
DMSO 5%				

Hasil pengukuran diameter zona hambat pada bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh bahwa aktivitas antibakteri yang paling efektif jika diurutkan yaitu fraksi etil asetat, fraksi air, fraksi n-heksana, dan ekstrak etanol daun kucai. Faksi etil asetat daun kucai memberikan aktivitas antibakteri yang efektif pada *Streptococcus mutans*. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun kucai memiliki kandungan metabolit yang lebih banyak yaitu adanya alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin.

Diameter yang terbentuk aktivitas antibakteri dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu lemah (diameter hambat <5 mm), sedang (diameter hambat antara 5-10 mm), kuat (diameter hambat 10-20 mm), dan tergolong sangat kuat (diameter hambat >20 mm) (Suriawiria 2005). Hasil rata-rata diameter hambat fraksi etil asetat dengan masing-masing konsentrasi yaitu 50% (16,17 mm), 25% (12,67 mm), dan 12,5% (12,67 mm). Fraksi dan ekstrak pada konsentrasi 50% memiliki diameter hambat yang lebih besar dari pada konsentrasi 25% dan 12,5%. Hasil uji aktivitas antibakteri pada tabel 9, menunjukkan adanya perbedaan diameter hambat bahwa fraksi etil asetat daun kucai dengan konsentrasi

50% memiliki diameter hambat yang paling besar dan efektif dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air dari daun kuai dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi fraksi yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi fraksi yang digunakan, semakin luas diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk.

Hasil penelitian secara difusi dihubungkan dengan penelitian sebelumnya oleh Ervianingsih dan Razak (2017) menggunakan ekstrak etanol daun kuai dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 8% didapatkan hasil diameter zona hambat 9,33 mm, 10,66 mm, dan 12,5 mm. Hasil dari penelitian tersebut dengan konsentrasi rendah telah didapatkan diameter zona hambat cukup kuat, sedangkan dalam penelitian ini dengan konsentrasi 12,5% dan 25% didapatkan diameter zona hambat 12,67 dan konsentrasi 50% didapatkan diameter zona hambat 16,17 mm. Perbedaan daya hambat disebabkan oleh perbedaan sensitivitas organisme, mekanisme dan kesinergisan kerja antara senyawa aktif dalam ekstrak maupun fraksi.

Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik, untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel ekstrak dan fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan faksi air dari daun kuai. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi secara statistik dengan *One-way Analysis of Varians* (ANOVA). Prasyarat uji *One-way* ANOVA, data harus terdistribusi normal dan memiliki varian yang homogen. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi $0,183 > 0,05$ maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal. Hasil uji *homogeneity of Variances* nilai signifikansi yaitu $0,094$ ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa varian data adalah homogen. sehingga dapat dilakukan uji parametrik *One-way* ANOVA. Hasil uji *One-way* ANOVA tabel replikasi diperoleh $F = 83,536$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ yang berarti dari tiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Perbandingan ganda dilakukan dengan uji Post Hoc Tukey dan Bonferroni. Uji Post Hoc Tukey dan Bonfferoni

dapat menunjukkan pasangan kelompok sampel memberikan perbedaan signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan signifikan. Berdasarkan tabel Tukey dan Bonferroni terdapat tanda * pada Mean Difference, tanda tersebut menunjukkan bahwa adanya perbedaan diameter hambat antibakteri tersebut signifikan. Apabila tidak ada tanda * maka diameter hambat antibakteri tidak signifikan, tidak memiliki perbedaan. Kemudian dilakukan analisis *homogeneous subsets* terbagi dalam 4 subset, sampel yang tergabung dalam satu grup maka tidak mempunyai perbedaan yang nyata. Hasil analisis Tukey, Bonferroni, dan *homogeneous subsets* dapat dilihat pada lampiran 21. Berbagai subsets diketahui bahwa semakin kekanan semakin besar diameter hambatnya.

Berdasarkan tabel dan hasil analisis data maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dan mempunyai aktivitas antibakteri terbesar dibandingkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air.

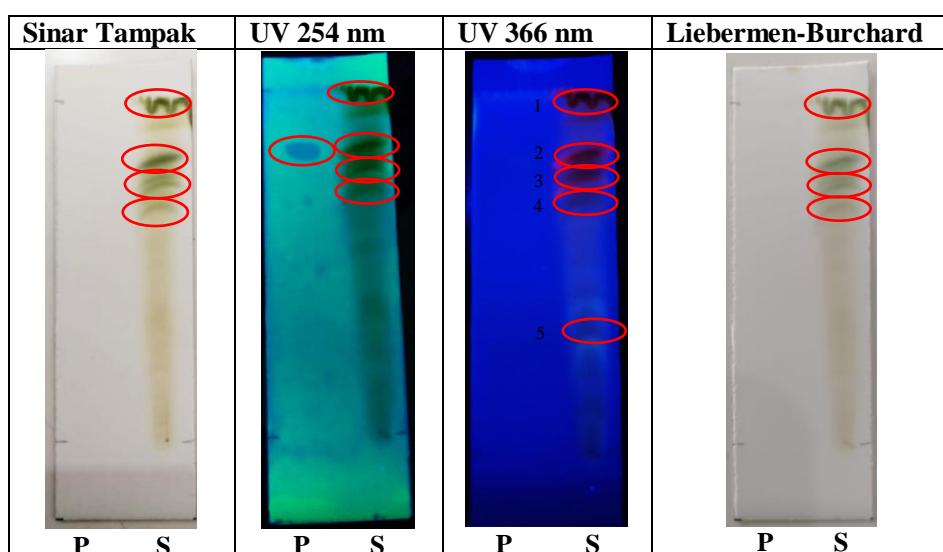
14. Hasil identifikasi golongan senyawa dengan KLT ekstrak daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Syarat KLT yang baik, yaitu dengan rentang nilai R_f 0,2 – 0,8 (Dewi *et al.* 2015). Identifikasi dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi etil asetat. Hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 8.

14.1 Hasil identifikasi saponin. Senyawa saponin dari fraksi etil asetat daun kucai dalam penelitian ini menggunakan fase gerak kloroform : metanol : aquadest (13 : 7 : 2). Baku pembandingnya adalah glisirisin. Pereaksi semprot yang digunakan Lieberman Burchard. Hasil yang didapat dan diamati secara visual tidak terlihat bercak noda pada lempeng KLT yang telah ditotolkan dan telah terelusi oleh eluen. Kromatogram diamati dibawah sinar UV 254 dan UV 366 nm. Pada sinar UV 254 terlihat bercak noda gelap atau ungu. Menurut

penelitian Rachman (2015) hasil elusi dan diidentifikasi di bawah sinar UV 254 menunjukkan noda berwarna gelap.

Hasil perhitungan Rf sampel didapatkan sebesar 0,97; 0,8; 0,75; 0,67; dan 0,33. Rf pembanding didapatkan 0,8. Fraksi etil asetat daun kuai dapat disimpulkan positif mengandung saponin karena hasil penampak bercak sama dengan baku pembanding yaitu bercak berwarna hijau. Hasil perhitungan Rf sampel sama dengan Rf baku pembanding. Perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 8.



Gambar 6. Hasil KLT senyawa saponin

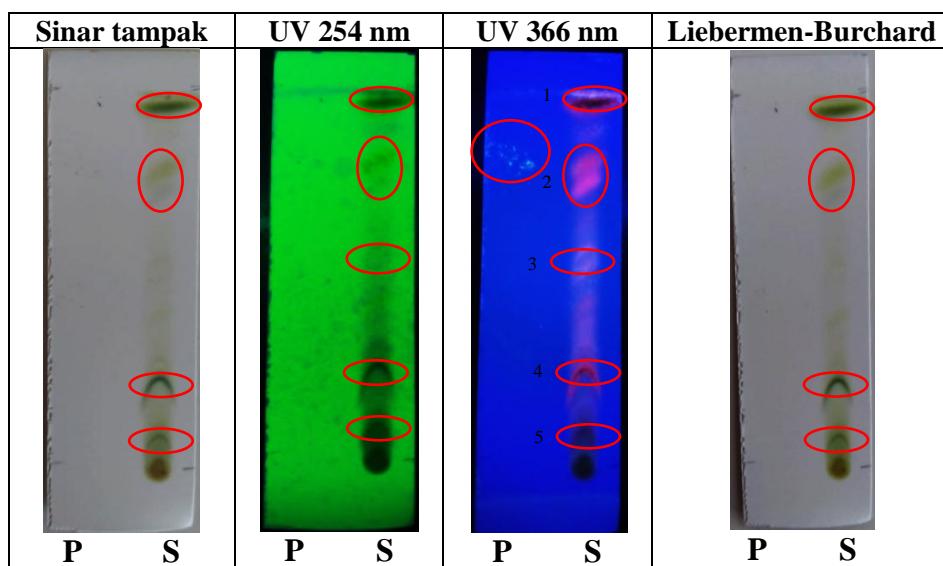
Keterangan:

P : Baku pembanding glisirisin
 S 1, 2, 3, 4, 5: Sampel fraksi etil asetat daun kuai

14.2. Hasil identifikasi triterpenoid. Senyawa tritepenoid dari fraksi etil asetat daun kuai dalam penelitian ini menggunakan fase gerak kloroform : metanol (9:1) dengan pereaksi semprot Lieberman-Burchard dan baku pembanding stigmasterol. Hasil identifikasi dinyatakan positif triterpenoid apabila setelah dielusi dan dilakukan penyemprotan dengan pereaksi semprot stigmasterol menghasilkan warna hijau biru dan berfluoresensi berwarna biru pada sinar UV 366 nm (Yuda *et al.* 2017).

Hasil perhitungan Rf sampel didapatkan 0,98; 0,73; 0,55; 0,25; 0,08 dan Rf pembanding didapatkan 0,73. Diduga pada Rf sampel 2 yaitu 0,73 merupakan senyawa triterpenoid karena adanya noda berwarna hijau biru setelah disemprot

dengan pereaksi Lieberman Buchard, seperti yang terlihat pada gambar 7. Fraksi etil asetat daun kuai dapat disimpulkan positif mengandung triterpenoid karena Rf baku pembanding sama dengan Rf sampel. Perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 8.



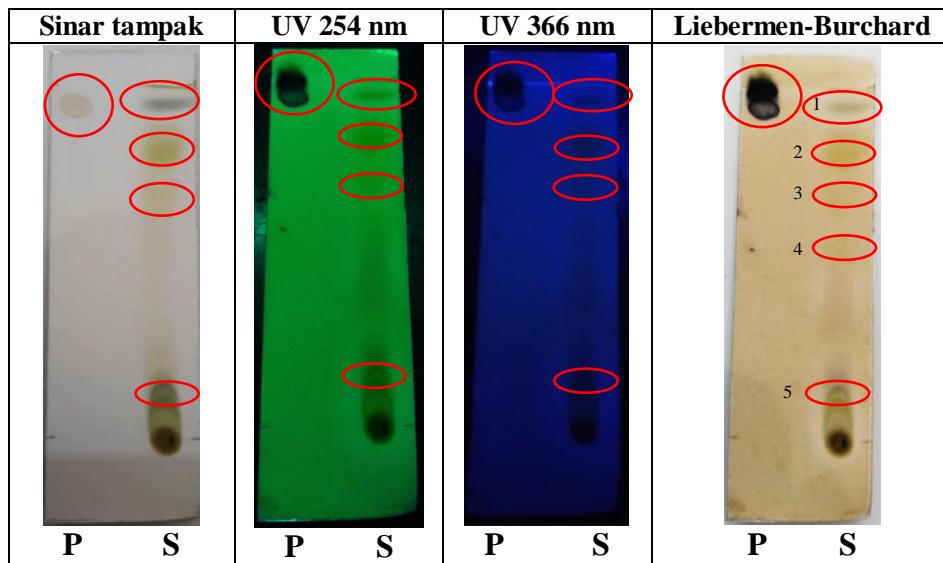
Gambar 7. Hasil KLT senyawa triterpenoid

Keterangan:

P : Baku pembanding stigmasterol
 S 1, 2, 3, 4, 5: Sampel fraksi etil asetat daun kuai

14.3. Hasil identifikasi tanin. Senyawa tanin dari fraksi etil asetat daun kuai dalam penelitian ini menggunakan fase gerak n-butanol : kloroform : air (4:1:5) dengan pereaksi FeCl_3 dan baku pembanding asam galat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam setelah disemprot pereaksi FeCl_3 (Sari *et al.* 2015).

Hasil perhitungan Rf sampel didapatkan 0,95; 0,83; 0,76; 0,58; 0,17 dan Rf baku pembanding didapatkan 0,95. Diduga pada Rf 0,95 adalah senyawa tanin karena noda berwarna hitam setelah disemprot dengan FeCl_3 seperti terlihat pada gambar . Fraksi etil asetat daun kuai dapat disimpulkan positif mengandung tanin karena noda bercak berwarna hitam setalah diberi pereaksi semprot FeCl_3 dan Rf baku pembanding sama dengan Rf sampel. Perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 8.



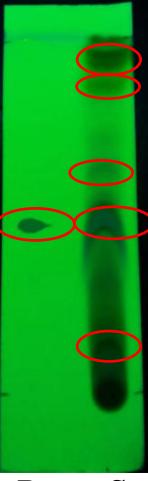
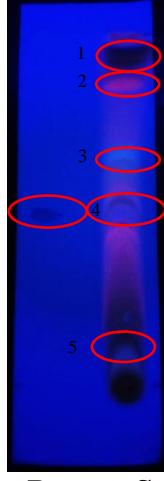
Gambar 8. Hasil KLT senyawa tanin

Keterangan:

P : Baku pembanding asam galat
 S 1, 2, 3, 4, 5: Sampel fraksi etil asetat daun kucai

14.4. Hasil identifikasi flavonoid. Senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat daun kucai dalam penelitian ini menggunakan fase gerak asam asetat glacial: butanol : air (1:4:5) dengan pereaksi semprot sitroborat dan baku pembanding rutin. Hasil identifikasi dinyatakan positif flavonoid apabila setelah dielusi dan dilakukan penyemprotan dengan pereaksi semprot sitroborat menghasilkan warna kuning dan akan terjadi peredaman di bawah sinar UV 254 nm serta berwarna biru pada sinar UV 366 nm (Yuda *et al.* 2017). Hasil identifikasi senyawa flavonoid yang didapat dan diamati secara visual terlihat bercak noda berwarna kuning kecoklatan pada sampel dan baku pembanding. Noda berwarna gelap karena adanya peredaman pada sinar UV 254 dan berwarna biru pada sinar UV 366 nm terlihat pada sampel dan baku pembanding.

Hasil perhitungan R_f sampel didapatkan sebesar 0,91; 0,73; 0,67; 0,58; 0,18 dan R_f pembanding didapatkan 0,58. Fraksi etil asetat daun kucai dapat disimpulkan positif mengandung flavonoid karena hasil penampak bercak sama dengan baku pembanding dan hasil perhitungan R_f sampel sama dengan R_f baku pembanding. Perhitungan R_f dapat dilihat pada lampiran 8.

Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Liebermen-Burchard
			

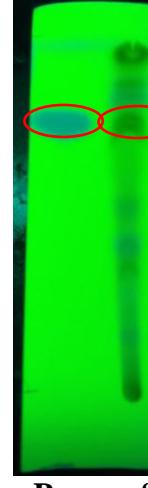
Gambar 9. Hasil KLT senyawa flavonoid

Keterangan:

P : Baku pembanding rutin
 S 1, 2, 3, 4, 5: Sampel fraksi etil asetat daun kuai

14.5 Hasil identifikasi alkaloid. Senyawa alkaloid dari fraksi etil asetat daun kuai dalam penelitian ini menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : air (16:1:2) dengan pereaksi semprot dragendrof dan baku pembanding papaverin. Hasil identifikasi dinyatakan positif alkaloid apabila setelah dielusi dan dilakukan penyemprotan dengan pereaksi semprot dragendrof menghasilkan warna coklat atau jingga secara visual, terjadi peredaman pada sinar UV 254 nm dan berfluoresensi kuning, biru, atau ungu gelap pada sinar UV 366 nm (Depkes 1989). Hasil identifikasi senyawa alkaloid yang didapat dan diamati secara visual terlihat bercak noda berwarna kuning pada sampel dan baku pembanding. Noda berwarna gelap karena adanya peredaman pada sinar UV 254 dan berwarna ungu gelap pada sinar UV 366 nm terlihat pada sampel dan baku pembanding.

Hasil perhitungan Rf sampel didapatkan sebesar 0,62 dan Rf baku pembanding didapatkan 0,62. Fraksi etil asetat daun kuai dapat disimpulkan positif mengandung alkaloid karena hasil penampak bercak sama dengan baku pembanding dan hasil perhitungan Rf sampel sama dengan Rf baku pembanding. Perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 8.

Sinar tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Liebermen-Burchard
			

Gambar 10. Hasil KLT senyawa alkaloid

Keterangan:

P : Baku pembanding papaverin
 S 1, 2, 3, 4, 5: Sampel fraksi etil asetat daun kucai

15. Hasil uji aktivitas antibakteri metode dilusi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kucai (*Allium schoenoprasum* L.)

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dilakukan dengan metode dilusi untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menggunakan fraksi paling aktif yaitu fraksi etil asetat yang diperoleh dari metode difusi. Pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat daun kucai terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan konsentrasi larutan masing-masing 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,562; 0,781; 0,391; 0,195; 0,098%, kontrol positif (suspensi bakteri), dan kontrol negatif (fraksi etil asetat). Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang digunakan disesuaikan kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 dalam medium BHI yang mempunyai perbandingan 1:1000.

KHM dapat ditentukan dengan mengamati tingkat kekeruhan dan kejernihan pada tabung yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terkecil, bakteri tersebut masih dapat tumbuh. KBM ditentukan

dengan cara mengamati tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media Agar Darah. Penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali agar diperoleh hasil yang valid. Hasil pengujian dilusuri aktivitas antibakteri ekstrak dari daun kucai terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dapat dilihat pada Tabel 10. berikut.

Tabel 10. Hasil Pengujian KBM Fraksi Etil Asetat dari Daun Kucai Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175

No.	Konsentrasi (% b/v)	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
1.	Kontrol (-)	-	-	-
2.	50	-	-	-
3.	25	-	-	-
4.	12,5	-	-	-
5.	6,2	+	+	+
6.	3,125	+	+	+
7.	1,562	+	+	+
8.	0,781	+	+	+
9.	0,391	+	+	+
10.	0,195	+	+	+
11.	0,098	+	+	+
12.	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan:

Kontrol (-) : larutan fraksi etil asetat

Kontrol (+) : suspensi bakteri

(+) : ada pertumbuhan bakteri

(-) : tidak ada pertumbuhan bakteri

Dari uji dilusuri yang dilakukan didapat bahwa KHM dari fraksi etil asetat tidak diketahui, hal ini disebabkan warna dari fraksi etil asetat terlalu pekat sehingga tidak dapat diketahui nilai dari KHM. Larutan fraksi etil asetat terlalu pekat dikarenakan adanya klorofil dan bahan lainnya yang terekstraksi. Seharusnya dalam mengisolasi suatu senyawa tersebut bebas dari bahan atau komponen lain yang tidak berguna dan dapat mengganggu analisis. Penghilangan klorofil, lemak daun, dan bahan pengotor lain harus dilakukan pada tahap awal sebelum pemekatan, dengan cara mencuci ekstrak berulang-ulang menggunakan *n*-heksana. Berdasarkan tabel 10. menunjukkan bahwa daerah konsentrasi 50; 25; dan 12,5% tidak adanya pertumbuhan bakteri. Daerah konsentrasi 6,25; 3,125; 1,562; 0,781; 0,391; 0,195; dan 0,098% menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 pada media Agar Darah. Nilai KBM

yaitu 12,5% ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan warna koloni kuning kehijauan pada media Agar Darah. Menurut Maftuhah (2015), bahwa semakin tinggi konsentrasi zat anti mikroba maka semakin besar kemampuannya untuk mengendalikan dan membunuh mikroorganisme tersebut. Hasil pengujian dilusi dapat dilihat pada lampiran 11.

Fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif dan pada konsentrasi 12,5% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya kandungan senyawa semipolar di fraksi etil asetat yang lebih optimum dibandingkan senyawa di dalam fraksi n-heksana, air, dan ekstrak daun kucai dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175, sehingga diduga aktivitas antibakteri yang efektif dari fraksi etil asetat daun kucai adalah alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan saponin.

Senyawa alkaloid memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri (Robinson 1995). Saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana 2015).

Flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitikrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat (Bontjura *et al.* 2015).

Triterpenoid dapat bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhannya akan terhambat atau mati (Amalia *et al.* 2014).