

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstrak Kental dan Fraksi Dari Batang Pucuk Idat

Hasil ekstrak kental dan fraksi dari batang pucuk idat dapat dilihat pada tabel 4.1:

Tabel 4.1 Hasil ekstrak kental dan fraksi batang pucuk idat.

Ekstrak kental	Fraksi MeOH : air	Fraksi etil asetat	Fraksi <i>n</i> -heksana
95,1421 gram	26,2830 gram	10,6579 gram	2,1334 gram

Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapat komponen kimia yang terdapat dalam simplisia yang didasarkan berpindahannya massa komponen zat padat ke dalam pelarut yang mula-mula terjadi pada lapisan antar muka, lalu terjadi difusi masuk ke dalam pelarut (Mulyati, 2009). Kemudian untuk hasil fraksinasi yang diperoleh dari masing-masing fraksi MeOH : air sebanyak 26,283 gram, fraksi etil asetat sebanyak 10,6579 gram, dan fraksi *n*-heksana sebanyak 2,1334 gram. Prinsip dari fraksinasi adalah penarikan suatu senyawa pada suatu ekstrak menggunakan pelarut yang bersifat tidak saling campur. Hasil proses fraksinasi dapat menunjukkan sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Menurut Mutiasari (2012), senyawa-senyawa bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar sedangkan senyawa yang bersifat non-polar akan larut dalam pelarut non-polar.

Pada proses fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana diperoleh hasil fraksi yang sedikit hal ini dikarenakan *n*-heksana bersifat non-polar sehingga dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada didalam ekstrak kental batang pucuk idat hanya memiliki sedikit senyawa non-polar. Berdasarkan pernyataan Maulida & Zulkarnaen, (2010) *n*-heksana termasuk dalam pelarut non-polar sehingga dapat melarutkan senyawa yang bersifat non-polar seperti steroid, terpenoid, karotenoid dan triterpenoid. Pada pelarut etil asetat diperoleh hasil fraksi yang cukup banyak dikarenakan pelarut etil asetat

bersifat semi polar sehingga cukup kuat untuk menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder senyawa bersifat semi polar yang ada pada ekstrak batang pucuk idat. Menurut Putri, dkk (2013) senyawa yang dapat larut dalam pelarut etil asetat adalah senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol, Sedangkan untuk hasil fraksinasi menggunakan pelarut MeOH : air diperoleh hasil fraksi yang paling banyak. hal ini, dikarenakan MeOH : air memiliki sifat kepolaran yang tinggi. Metanol termasuk dalam pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa polar seperti golongan fenol (Kusumaningtyas, dkk 2008). Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pada ekstrak batang pucuk idat banyak mengandung senyawa matabolit sekunder yang bersifat polar. Hasil fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.2 :

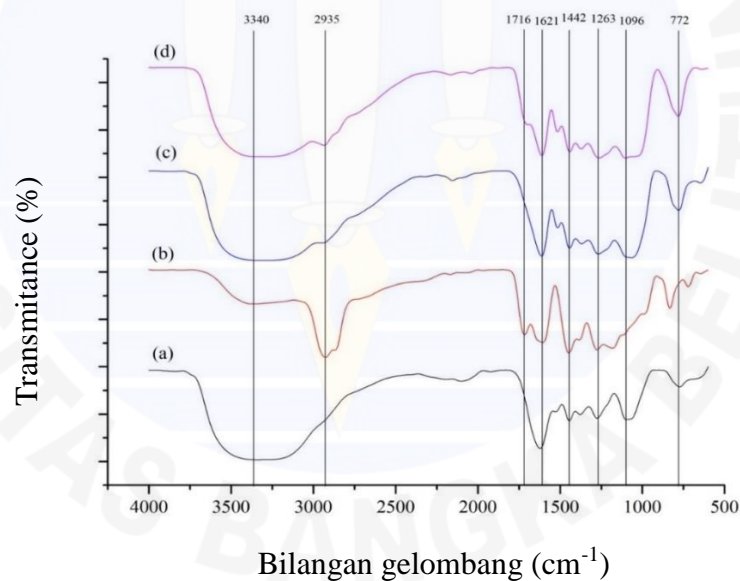
4.2 Hasil Uji Fitokimia dan Analisis FT-IR

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Dari Ekstrak Kental dan Fraksi.

NO	Uji Fitokimia	Ekstrak	F. MeOh : air	F. Etil asetat	F. n-heksana	Hasil
1.	Alkaloid : P. Mayer	-	-	-	-	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan dan jingga.
	P.Wagner	-	-	-	-	
2.	Steroid	-	-	-	-	tidak terbentuk warna larutan menjadi putih.
3.	Saponin	-	-	-	-	Tidak terbentuk busa.
4.	Fenolik	+	+	+	-	Terbentuk warna hijau tua.
5.	Flavonoid	+	+	+	+	terbentuk warna jingga.

Berdasarkan hasil fitokimia terhadap ekstrak kental dan masing-masing fraksi pada alkaloid, steroid dan saponin menunjukkan hasil yang negatif sedangkan pada senyawa fenolik dan flavonoid menunjukkan ekstrak kental, fraksi MeOH : air, fraksi etil asetat positif mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik dan flavonoid sedangkan fraksi *n*-heksana menunjukkan hasil negatif pada uji senyawa fenolik hal ini dikarenakan adanya perbedaan sifat kepolaran antara senyawa fenolik yang bersifat polar dan pelarut *n*-heksana bersifat non-polar sehingga pelarut *n*-heksana tidak dapat mengekstraksi senyawa fenolik yang terdapat didalam sampel batang pucuk idat.

Hasil analisis FT-IR yang dilakukan pada ekstrak kental, fraksi MeOH : air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana bertujuan untuk melihat gugus fungsi yang terdapat ekstrak kental dan masing-masing fraksi yang ditunjukkan timbulnya serapan pada panjang gelombang tertentu. Hasil FT-IR dapat dilihat pada gambar 4.1 dan tabel 4.3 :



Gambar 4.1 Hasil analisis FT-IR pada (a) ekstrak kental, (b) fraksi *n*-heksana, (c) fraksi etil asetat dan (d) fraksi MeOH : air.

Berdasarkan spektrum serapan panjang gelombang dari hasil analisis FT-IR pada ekstrak kental, fraksi MeOH : air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana yang akan di analisis dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Tabel 4.3 Hasil data analisis FT-IR pada ekstrak kental dan fraksi batang pucuk idat.

Gugus Fungsi	Bentuk Pita	Bilangan Gelombang (cm^{-1})			
		Ekstrak	Fraksi N-heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi Metanol:Air
O-H ulur	Melebar	3341	3367	3322	3340
C-H (pada CH_3) ulur	Tajam	-	2925	2900	2935
C=O ulur	Tajam	-	1716	-	1700
C=C ulur	Tajam	1621	1605	1612	1610
C-H (pada CH_2) tekuk	Tajam	1444	1447	1442	1442
C-O ulur	Tajam	1275	1275	1267	1263
C-H tekuk	Tajam	772	832	778	781

Hasil data analisis FT-IR menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 3000-3600 cm^{-1} terdapat gugus OH pada ekstrak kental dan masing-masing fraksi batang pucuk idat. Serapan panjang gelombang 2900-2935 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H (CH_3) ulur dari masing-masing fraksi sedangkan pada ekstrak kental serapan panjang gelombang tidak muncul. Serapan panjang gelombang 1700 dan 1716 menunjukkan adanya dugaan gugus C=O pada fraksi *n*-heksana dan fraksi MeOH : air. Pada serapan panjang gelombang 1442-1447 menunjukkan adanya dugaan gugus C-H (CH_2) dari ekstrak kental dan masing-masing fraksi batang pucuk idat. Dan yang terakhir serapan panjang gelombang 1263-1275 menunjukkan adanya dugaan gugus C-O pada ekstrak kental dan masing-masing fraksi batang pucuk idat.

Berdasarkan struktur senyawa turunan fenolik seperti antrakuinon dan santon menunjukkan adanya gugus OH. Selain itu, pada senyawa fenolik ditandai dengan adanya cincin benzena, gugus karbonil (C=O) dan juga gugus alifatik seperti CH_3 dan CH_2 . Berdasarkan dari hasil analisis FT-IR menunjukkan kesesuaian dengan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa turunan fenolik.

4.2 Karakteristik Nanoemulsi Fraksi Batang Pucuk Idat

Pembuatan nanoemulsi dari masing-masing fraksi batang pucuk idat dengan konsentrasi yang sama dilakukan menggunakan alat homogenizer pada kecepatan pengadukan 8000 rpm selama 30 menit. Dalam pembuatan nanoemulsi terdiri dari beberapa komponen yaitu berupa fase minyak, fase air dan surfaktan. Fase minyak yang digunakan berupa minyak VCO (*Virgin Coconut Oil*) hal ini dikarenakan didalam VCO terkandung rantai lemak menengah MCT (*Medium Chain Triglycerides*) yang sangat stabil baik dalam suhu rendah maupun tinggi (Syah & Sumangat, 2005). Fase air dalam pembuatan nanoemulsi berupa akuades. Kemudian surfaktan yang digunakan dalam pembuatan nanoemulsi berupa tween 80 berupa cairan kuning yang termasuk surfaktan non ionik, tidak bersifat toksik serta tidak mengakibatkan iritasi pada kulit (Rowe, dkk 2009).

Tabel 4.4 Uji karakteristik nanoemulsi fraksi batang pucuk idat.

Nanoemulsi	pH	ρ (g/mL)	Viskositas (Pa.s)	Persen transmitan	Sentrifugasi	Warna	Ukuran (nm)
MeOH : air	5	0,9861	0,05782	80,33%	Homogen	Bening	101
Etil asetat	5	0,9860	0,05439	50,35%	Homogen	Coklat muda	300
<i>n</i> -heksana	5	0,9843	0,04931	37,33%	Homogen	Kuning	253



(a)



(b)



(c)

Gambar 4.2 (a) Nanoemulsi MeOH : air, (b) nanoemulsi etil asetat, (c)

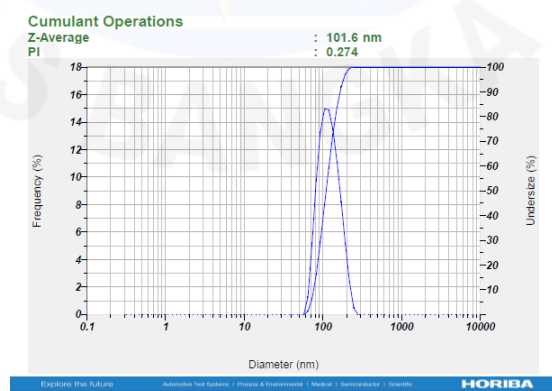
Nanoemulsi *n*-heksana.

Berdasarkan hasil uji karakteristik nanoemulsi yang dilakukan pada tabel 4.2 menunjukkan hasil pH yang sama dari masing-masing fraksi yaitu pada pH 5. Hasil yang diperoleh tersebut dapat diketahui bahwa perbedaan pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi tidak mempengaruhi pH dalam sediaan nanoemulsi. Menurut (Talegaonkar dkk, 2011) interpretasi pH nanoemulsi dibandingkan dengan pH pada kulit yang berkisaran 4,5-6,5. Dari hasil pH masing-masing fraksi yang didapatkan masih termasuk dalam rentang pH kulit. Jika pH terlalu asam atau basa sediaan nanoemulsi yang diperoleh dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Hasil uji massa jenis nanoemulsi menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam sediaan nanoemulsi. Nilai massa jenis yang paling tinggi terdapat pada nanoemulsi fraksi MeOH : air yaitu 0,9861 g/mL. Nanoemulsi fraksi MeOH : air memiliki massa jenis paling tinggi dikarenakan senyawa yang terlarut dalam MeOH : air memiliki berat molekul yang lebih besar dibandingkan etil asetat dan *n*-heksana.

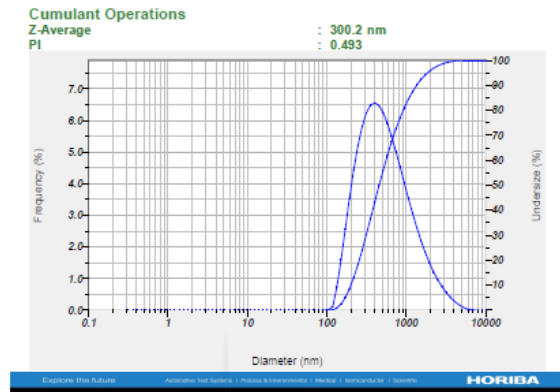
Menurut pernyataan dari Kramer (1996), viskositas merupakan resistensi suatu bahan untuk mengalir yang dikarenakan adanya gesekan atau perubahan bentuk akibat dikenai gaya tertentu. Uji viskositas yang ditunjukkan dari sediaan nanoemulsi yang dihasilkan mengalami penurunan. Jika dilihat dari hasil uji semakin rendah kepolaran pelarut yang digunakan terjadi penurunan nilai viskositas. Viskositas tertinggi terdapat pada sediaan nanoemulsi fraksi MeOH : air yaitu 0,05782 Pa.s. Tingginya kecepatan dan semakin lama energi yang diberikan pada saat pembuatan nanoemulsi maka akan menyebabkan semakin kecil ukuran butiran dan dapat meningkatkan nilai viskositas. Semakin meningkatnya viskositas menunjukkan bahwa terjadinya interaksi yang kuat antara butiran fase terdispersi dengan fase pendispersi. Dari hasil pengujian persen transmittan bertujuan untuk mengetahui kejernihan sediaan nanoemulsi fraksi batang pucuk idat. Nanoemulsi yang berkualitas baik ditunjukkan dengan keadaan visual yang jernih dan transparan serta memiliki nilai persen transmittan 90-100 % (Costa dkk, 2012). Nanoemulsi dari fraksi MeOH : air menghasilkan persen transmittan yang paling baik yaitu 80,33% dibandingkan dengan nanoemulsi fraksi etil asetat dan *n*-heksana. Nanoemulsi fraksi *n*-heksana memiliki persen transmittan paling kecil yaitu 37,33%. Hal ini dikarenakan nanoemulsi fraksi *n*-

heksana tidak begitu larut dalam fase air. Hasil sentrifugasi nanoemulsi dari masing-masing fraksi menunjukkan hasil yang homogen atau tidak terbentuk endapan setelah dilakukan sentrifugasi selama 15 menit.

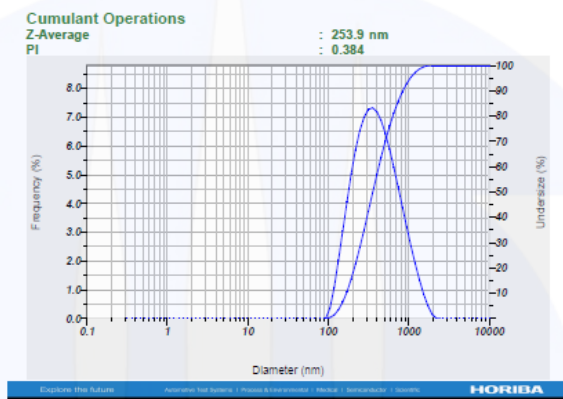
Ukuran droplet dan nilai PI (Indeks Polidispersitas) nanoemulsi dari fraksi batang pucuk idat diukur menggunakan alat instrumen PSA (*Particle size analyzer*) HORIBA SZ-100. Nilai PI (Indeks Polidispersitas) merupakan parameter untuk mengetahui keseragaman ukuran droplet serta memberikan informasi tentang kestabilan dari nanoemulsi. Semakin rendah nilai PI maka ukuran suatu partikel akan semakin seragam serta gambar grafik yang didapatkan cenderung lebih curam. Nanoemulsi yang terbentuk dengan ukuran droplet <200 dan nilai $PI\ 0,2 < 0,6$ akan stabil dan tidak memiliki kemungkinan terjadinya pertumbukan antar partikel (Ahmed dkk, 2012). Nanoemulsi fraksi MeOH : Air dari batang pucuk idat memiliki ukuran droplet 101,6 nm dengan nilai PI sebesar 0,274. Hal ini menunjukkan bahwa nanoemulsi fraksi MeOH : air dari batang pucuk idat tergolong dalam nanoemulsi yang stabil. Nanoemulsi fraksi etil asetat dari batang pucuk idat menghasilkan ukuran droplet 300,2 nm dan nilai PI 0,493. Dari hasil tersebut masih belum begitu stabil jika dibandingkan dengan nanoemulsi fraksi MeOH : air dikarenakan ukuran droplet yang berada diatas 200 nm. Sama hal dengan nanoemulsi fraksi *n*-heksana yang menghasilkan ukuran droplet 253,9 nm dan nilai PI 0,384. Hasil pengukuran PSA (*Particle size analyzer*) nanoemulsi fraksi MeOH : air (a), nanoemulsi fraksi etil aetat (b) dan nanoemulsi fraksi *n*-heksana (c) dapat dilihat pada gambar 4.3 :



(a)



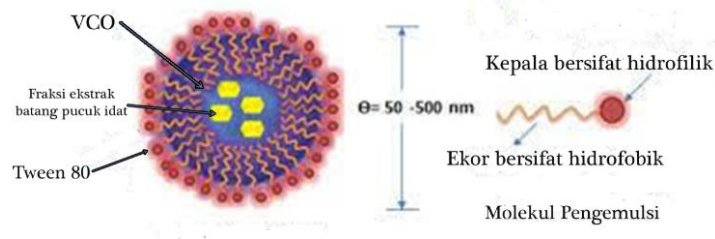
(b)



(c)

Gambar 4.3 hasil pengujian PSA (*Particle size analyzer*) nanoemulsi (a) fraksi MeOH : air, (b) nanoemulsi fraksi etil aetat dan (c) nanoemulsi fraksi *n*-heksana.

Hasil uji PSA menunjukkan adanya perbedaan ukuran partikel yang diperoleh dari setiap nanoemulsi. Pada nanoemulsi fraksi MeOH : air diperoleh ukuran partikel yang paling kecil (101 nm) daripada nanoemulsi fraksi etil aetat dan *n*-heksana, hal ini dikarenakan nanoemulsi fraksi MeOH : air pada fase terdispersinya larut dengan sempurna terhadap fase pendispersinya yang berupa air dan tween 80. Hal ini juga didukung oleh hasil massa jenis diperoleh. Sedangkan, pada nanoemulsi fraksi etil aetat diperoleh ukuran partikel yang paling besar (300 nm) yang menunjukkan adanya proses dispersi yang belum sempurna antara fase terdispersi dengan pendispersinya (Nina dkk, 2019).

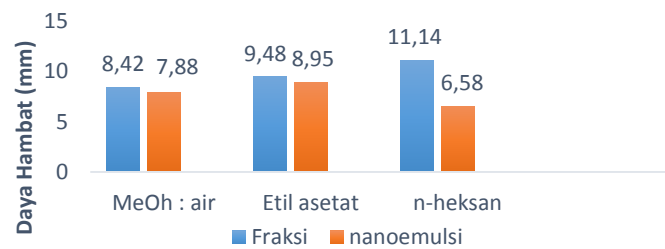


Gambar 4.4 Sistem sediaan nanoemulsi dari fraksi ekstrak batang pucuk idat
(Chen dkk, 2010)

Berdasarkan gambar 4.4 dapat dijelaskan bahwa fraksi batang pucuk idat di lindungi oleh fase minyak dan surfaktan yang memiliki dua sifat berbeda. Pada bagian luar atau kepala yang berupa gugus karboksil (COO) dari VCO yang dikelilingi surfaktan. Pada bagian kepala ini memiliki sifat hidrofilik sedangkan pada bagian dalam atau ekornya memiliki sifat hidrofobik yang merupakan gugus alifatik dari VCO. Hal tersebut yang membuat sediaan nanoemulsi menjadi stabil.

4.3 Hasil Uji Antibakteri

Hasil uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi yang bertujuan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk berupa zona bening sebagai patokan kekuatan hambatan terhadap bakteri (Jawets dkk, 2007). Metode difusi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu menggunakan silinder, menggunakan lubang atau sumur dan menggunakan kertas cakram. Pada penelitian ini dilakukan metode difusi menggunakan kertas cakram. Adapun beberapa faktor yang dapat mempengaruhi metode difusi yang pertama ada pradifusi, komposisi media agar, suhu inkubasi yang digunakan, ketebalan inokulum, dan pengaruh pH. Ketebalan media nutrisi sangat penting karena dapat mempengaruhi sensitivitas ketika dilakukan pengujian. Adanya perbedaan ketebalan media agar menyebabkan difusi dari zat uji ke dalam nutrisi agar terganggu serta akan mempengaruhi diameter zona hambat dalam pengujian. Semakin tebal media nutrisi agar maka akan semakin kecil diameter zona hambat yang terbentuk (Rostinawati, 2009). Hasil uji antibakteri *E.coli* dapat dilihat pada gambar 4.5 :



Gambar 4.5 Diagram hasil Uji Bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan hasil uji antibakteri *E. coli* pada tabel diatas memperlihatkan ekstrak kental, fraksi dan nanoemulsi dari batang pucuk idat memiliki kinerja sebagai antibakteri yang ditunjukkan terbentuknya zona bening atau zona hambat pada cawan dengan pembandingan *Amoxillin* sebagai kontrol (+) dan DMSO sebagai kontrol (-). Pemilihan *Amoxillin* sebagai kontrol (+) dikarenakan *Amoxillin* termasuk antibiotik dari golongan penisilin yang berspektrum luas. DMSO yang digunakan dalam uji antibakteri berguna sebagai bahan pengencer larutan baku. Media nutrien agar berfungsi sebagai media yang selektif untuk pertumbuhan bakteri yang digunakan. Zona hambat yang terbentuk berukuran < 5 mm maka aktivitas antibakteri di kategorikan lemah. Jika zona hambat yang terbentuk berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm termasuk kategori kuat dan apabila zona hambat berukuran > 20 mm dikategorikan sangat kuat (Davis & Stout, 1971).

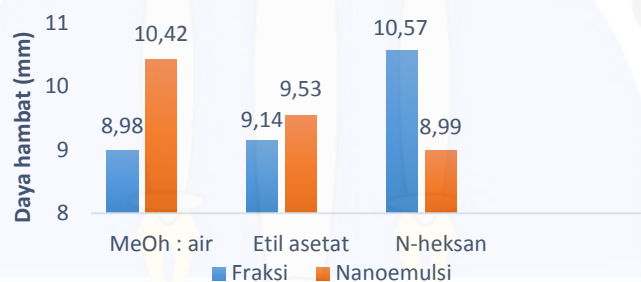
Perbandingan hasil uji bakteri dari ekstrak kental dengan fraksi menunjukkan hasil daya hambat fraksi MeOH : air sebesar 8,42 mm lebih kecil daripada ekstrak kental yang memiliki zona hambat sebesar 8,96 mm. Namun untuk hasil daya hambat fraksi etil asetat (9,48 mm) dan *n*-heksana (11,14 mm) mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan ekstrak kental. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi polar dan non-polar pada batang pucuk idat bekerja dengan baik terhadap aktivitas antibakteri *E. coli*.

Perbandingan hasil antibakteri antara nanoemulsi dengan fraksi dan ekstrak kental menunjukkan bahwa nanoemulsi cenderung rendah jika dibandingkan dengan ekstrak kental dan fraksi pucuk idat untuk bakteri *E. coli*. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sediaan nanoemulsi dari fraksi batang pucuk

tidak dapat berkerja secara maksimal terhadap bakteri *E.coli*. Hal ini dikarenakan bakteri *E.coli* merupakan salah satu bakteri gram negatif.

Bakteri gram negatif memiliki sensitivitas lebih rendah terhadap senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram positif hal ini disebabkan adanya perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri (Renhoran, 2012). Menurut pernyataan Tjitroso (1986) bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang kompleks dengan membran luar yang terlapis oleh peptidoglikan. Adanya peptidoglikan pada dinding sel menyebabkan terbentuknya lapisan lipopolisakarida yang dapat berfungsi sebagai penghalang masuknya substansi termasuk antibiotik.

Hasil uji antibakteri *S.aureus* juga menunjukkan adanya daya hambat antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening dari ekstrak kental, fraksi dan nanoemulsi. Hasil uji antibakteri *S.aureus* dapat dilihat pada gambar 4.6 :



Gambar 4.6 Diagram hasil uji antibakteri *Staphylococcus aureus*

Daya hambat ekstrak kental, fraksi MeOH : air dan fraksi etil asetat dikategorikan sedang, namun untuk fraksi n-heksan termasuk dalam kategori kuat. Fraksi n-heksana memiliki zona hambat yang lebih besar yaitu 10,57 mm daripada fraksi MeOH : air, etil asetat dan ekstrak kental hal ini disebabkan fraksi n-heksana bekerja dengan baik dalam menarik senyawa non-polar pada ekstrak serta adanya kemungkinan senyawa polar atau semi polar pada ekstrak juga tertarik ke dalam fraksi n-heksana pada saat proses fraksinasi yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dari fraksi n-heksana. Selain itu, fraksi n-heksana lebih aktif daripada ekstrak kental disebabkan ekstrak kental masih banyak senyawa-senyawa lain yang tidak mampu bekerja dengan baik terhadap aktivitas antibakteri.

Berdasarkan hasil perbandingan daya hambat uji antibakteri *S.aureus* diketahui bahwa nanoemulsi fraksi MeOH : air (10,42 mm) memiliki zona hambat yang paling tinggi dari nanoemulsi fraksi etil asetat (9,53 mm) dan *n*-heksana (8,99 mm). Nilai 10,42 mm dapat dikategorikan daya hambat yang kuat. Jika dibandingkan antara hasil zona hambat dari nanoemulsi dengan fraksi dan ekstrak menunjukkan bahwa nanoemulsi memiliki zona hambat yang lebih tinggi dikarenakan nanoemulsi memiliki ukuran partikel yang kecil sehingga dapat dengan mudah melakukan penetrasi kedalam membran bakteri.

Mekanisme kerja antibakteri dari senyawa turunan fenolik seperti antrakuinon dan santon yaitu dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan pada dinding sel bakteri yang terdapat ikatan hidrogen sehingga terjadi perubahan permeabilitas pada membran sel bakteri. Gugus hidroksil senyawa fenol (OH) berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri yang dapat menyebabkan denaturasi protein melalui proses adsorpsi yang mengganggu ikatan hidrogen (Jawetz, 2005)

Dari hasil keseluruhan uji antibakteri nanoemulsi fraksi batang pucuk idat dapat disimpulkan bahwa pada uji antibakteri *E.coli* sediaan nanoemulsi mengalami penurunan zona hambat jika dibandingkan dengan fraksi, sedangkan hasil uji antibakteri *S.aureus* sediaan nanoemulsi cenderung mengalami kenaikan zona hambat jika dibandingkan dengan fraksi. Selain itu juga, dapat disimpulkan bahwa sediaan nanoemulsi fraksi MeOH : air lebih aktif terhadap bakteri *S.aureus* dibandingkan dengan *E.coli* dikarenakan bakteri *S.aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif yang hanya memiliki dinding sel berlapis tunggal sehingga sediaan nanoemulsi dapat dengan mudah masuk kedalam membran sel bakteri. Berbeda dengan bakteri *E.coli* yang memiliki dinding sel berlapis tiga yang dapat melindungi bakteri dari zat antibiotik.

Hasil uji antibakteri sediaan nanoemulsi yang berasal dari ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura.l*) yang pernah dilakukan sebelumnya oleh Septiana dkk (2020) di peroleh daya hambat antibakteri *S.aureus* sebesar 5,46 mm. Hal ini menunjukkan hasil uji antibakteri dari nanoemulsi fraksi batang pucuk idat memiliki daya hambat antibakteri *S.aureus* lebih tinggi dibandingkan nanoemulsi kersen dengan nilai daya hambat sebesar 10,42 mm.