

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Daun Kecubung (*Datura metel* L.)

Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan komponen-komponen bioaktif suatu bahan (Harborne, 1987). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Sampel sebanyak 177 g dimaserasi masing-masing menggunakan 3 pelarut yaitu metanol, etanol dan etil asetat selama 5 x 24 jam kemudian dipekatkan dan ekstrak kental masing-masing yang diperoleh yaitu metanol 33,69 g, etanol 34,73 g, etil asetat 11,16 g dengan rendemen berturut-turut sebesar 19,03%, 19,63%, 6,3%. Sifat fisik dari ekstrak yang diperoleh yakni: berwarna hijau kehitaman, berbentuk pasta, bersifat lengket dan larut dalam aquades. Ekstrak kental yang diperoleh digunakan untuk analisis selanjutnya yakni: identifikasi fitokimia uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dan uji antioksidan dengan metode DPPH.

4.2 Identifikasi Fitokimia Ekstrak Daun Kecubung (*Datura metel* L.)

Identifikasi fitokimia menggunakan metode (Harbone, 1987) untuk mengetahui jenis kandungan senyawa metabolit sekunder yang merupakan golongan senyawa aktif dalam ekstrak daun kecubung.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kecubung Asal Desa Pakubaun

Senyawa	Pereaksi	Warna teoritis	Hasil Uji	Ket
Alkaloid	- Mayer	- Endapan putih	- Endapan putih	+
	- Wagner	- Endapan coklat	- Endapan coklat	+
	- Dragendorff	- Endapan jingga	- Endapan jingga	+
Flavonoid	Metanol, H ₂ SO ₄	Hijau	Hijau	+
Saponin	Aquades	Busa	Berbusa	+
Tanin	FeCl ₃	Hijau kehitaman atau biru kehitaman	Kuning	-

Keterangan : Ada (+), Tidak ada (-)

Sumber : (Harbone, 1987)

Berdasarkan Tabel 4.1 di atas tampak bahwa sampel daun kecubung asal Pakubaun positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin.

a) Alkaloid

Dari hasil pengujian diketahui bahwa sampel ekstrak daun kecubung positif mengandung alkaloid. Peraksi wagner akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna coklat. Hasil positif alkaloid pada uji wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Alkaloid umumnya berada dalam bentuk garamnya dan larut dalam air. Alkaloid dapat diidentifikasi langsung dengan satu atau lebih reaksi pengendap. Namun, senyawa alkaloid dengan struktur nitrogen heterosiklik dan alkaloid kuartener tidak dapat terdeteksi dengan pereaksi pengendap. Hal ini akan menghasilkan negatif palsu pada pengujian alkaloid dengan pereaksi pengendap.

b) Flavonoid

Dari hasil pengujian diketahui bahwa sampel ekstrak daun kecubung positif mengandung flavonoid. Hal ini terlihat dari warna yang terbentuk. Pereaksi akan bereaksi dengan flavonoid dan membentuk warna hijau (Robinson, 1995). Flavonoid sering menjadi senyawa pereduksi yang baik yang menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzimatis, sehingga flavonoid merupakan suatu antioksidan yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker. Flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan mulai dari fungi sampai angiospermae. Pada tumbuhan tingkat tinggi, flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga (Robinson, 1995). Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak, sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1996).

c) Saponin

Dari hasil pengujian diketahui bahwa sampel ekstrak daun kecubung positif mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa setelah pengocokan. Menurut (Robinson, 1995) senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan air dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam, keadaan inilah yang tampak seperti busa. Saponin adalah glikosida dalam tanaman dan terdiri atas gugus sapogenin, heksosa, pentosa, atau unsur asam uronat. Saponin diberikan nama demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun (bahasa Latin *sapo* berarti sabun). Busa yang ditimbulkan saponin dikarenakan adanya kombinasi struktur senyawa

penyusunnya yaitu rantai sapogenin non-polar dan rantai samping polar yang larut dalam air.

d) Tanin

Tanin merupakan golongan polihidroksi fenol (polifenol) yang dapat dibedakan dari fenol lain karena kemampuannya mengendapkan protein. Pada uji ini digunakan pereaksi FeCl_3 untuk mengidentifikasi adanya tanin dalam sampel. Perubahan warna menjadi kuning menandakan tidak ada senyawa tanin dalam ekstrak, daun kecubung. Pada tumbuhan, tanin berfungsi sebagai pertahanan diri dari serangan bakteri dan virus. Golongan tanin terkondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman jika direaksikan dengan pereaksi FeCl_3 (Agustina, dkk., 2016).

4.3 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kecubung (*Datura metel* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, etanol dan etil asetat dari sampel daun kecubung (*Datura metel* L.), diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi yang rendah sampai pada konsentrasi yang tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar sumur difusi.

Tabel 4.2 Daftar Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kecubung (*Datura metel* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi larutan uji (%), (v/v)	Pengulangan			Jumlah	Rata-rata (mm)	Keterangan
	I	II	III		Zona bening	
1%	13,2	11,2	14,2	38,6	12,9	Kuat
5%	14,2	15,2	15,2	44,6	14,9	Kuat
10%	16,2	16,2	17,2	49,6	16,5	Kuat
15%	19,2	16,5	18,3	53,9	18	Kuat
25%	18,2	19,3	19,2	56,7	18,9	Kuat
50%	20,2	19,3	19,3	58,8	19,6	Kuat
75%	23,3	22,1	23,3	68,6	22,9	Sangat kuat
100%	24,9	23,8	23,9	72,5	24,2	Sangat kuat
Aquades	0	0	0	0	0	0
Ampisilin 1%	30,5	29,6	31,6	91,6	30,5	Sangat kuat

Data pada Tabel 4.2, memperlihatkan ukuran luas zona bening yang terbentuk di sekitar sumur difusi. Hasil inkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran rata-rata diameter zona bening di sekitar sumur difusi. Tampak bahwa ekstrak metanol sampel daun kecubung dengan konsentrasi 75% dan 100%, memiliki daya hambat yang sangat kuat terhadap pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, dan 50% memiliki daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.3 Daftar Hasil Uji ktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecubung (*Datura metel* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi larutan uji (%), (v/v)	Pengulangan			Jumlah	Rata-rata (mm)	
	I	II	III		Zona bening	Keterangan
1%	12,1	13,6	13,8	39,5	13,2	Kuat
5%	14,2	15	13,2	42,3	14,1	Kuat
10%	15,2	16,2	16,2	47,6	15,9	Kuat
15%	16,2	17,3	15,3	48,7	16,2	Kuat
25%	18,2	19,2	18,3	55,7	18,6	Kuat
50%	19,3	21,3	19,2	59,8	19,9	Kuat
75%	23,7	23,5	22,3	69,5	23,2	Sangat kuat
100%	24,3	25,8	23,9	74	24,7	Sangat kuat
Aquades	0	0	0	0	0	0
Ampisilin 1%	30,5	29,6	31,6	91,6	30,5	Sangat kuat

Data pada Tabel 4.3, memperlihatkan ukuran luas zona bening yang terbentuk di sekitar sumur difusi. Hasil inkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran rata-rata diameter zona bening di sekitar sumur difusi. Tampak bahwa ekstrak etanol sampel daun kecubung dengan konsentrasi 75% dan 100%, memiliki daya hambat yang sangat kuat terhadap pertumbuhan bakteri. Pada konsetrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, dan 50% memiliki daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.4 Daftar Hasil Uji ktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Kecubung (*Datura metel* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi larutan uji (%), (v/v)	Pengulangan			Jumlah	Rata-rata (mm)	Keterangan
	I	II	III		Zona bening	
1%	13,5	12	12,3	37,7	12,6	Kuat
5%	12,3	13,3	14,3	39,9	13,3	Kuat
10%	15,3	16,3	16,2	47,7	15,9	Kuat
15%	17,3	15,3	16,3	48,8	16,3	Kuat
25%	19,3	17,6	18,6	55,6	18,5	Kuat
50%	19,3	20,3	18,8	58,5	19,5	Kuat
75%	20,2	22,4	21,4	64	21,3	Sangat kuat
100%	23,2	21,5	22,3	67	22,3	Sangat kuat
Aquades	0	0	0	0	0	0
Ampisilin 1%	30,5	29,6	31,6	91,6	30,5	Sangat kuat

Data pada Tabel 4.4, memperlihatkan ukuran luas zona bening yang terbentuk di sekitar sumur difusi. Hasil inkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran rata-rata diameter zona bening di sekitar sumur difusi. Tampak bahwa ekstrak etil asetat sampel daun kecubung dengan konsentrasi 75% dan 100%, memiliki daya hambat yang sangat kuat terhadap pertumbuhan bakteri. Pada konsetrasi 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, dan 50% memiliki daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri. Menurut (Davis dan Stout, 1971), apabila zona bening berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatnya dinyatakan lemah. Jika zona hambat berkisar 5-10 mm, maka dinyatakan sedang, zona bening berukuran 10-19 mm dinyatakan kuat dan luas zona bening 20 mm atau lebih dinyatakan sangat kuat.

Maka dari hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak sampel daun kecubung dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur difusi terhadap isolat bakteri *Staphylococcus aureus*. Dari konsentrasi terendah yaitu konsentrasi 1%, konsentrasi 5%, dan konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hal ini dapat disebabkan karena kemampuan antibakteri dari ekstrak kecubung sangat tinggi. ketiga ekstrak daun kecubung yang aktif terhadap *Staphylococcus aureus* disebabkan karena struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki struktur dinding sel dengan banyak lapisan peptidoglikan dan relatif sedikit lipid. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung banyak lapisan peptidoglikan (murein) yang membentuk struktur yang tebal dan kaku, dan asam teikoat yang mengandung alkohol dan fosfat. Peptidoglikan merupakan polimer (molekul besar) yang terdiri atas perulangan disakarida yang tersusun atas monosakarida N-*acetylglucosamine* (NAG) dan N-*acetylmuramic acid* (NAM). Dinding sel bakteri gram positif tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga senyawa antibakteri yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat melewati dinding sel bakteri gram positif melalui mekanisme difusi pasif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel (Tortora, dkk., 2007).

Adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur difusi oleh ekstrak daun kecubung, dapat disebabkan karena kandungan kimiawi dalam ekstrak daun kecubung, sebagaimana yang terdeteksi pada identifikasi fitokimia. Pada uji

fitokimia terhadap ekstrak sampel daun kecubung, diketahui mengandung senyawa-senyawa yang bersifat sebagai antibakteri yakni: alkaloid, flavonoid dan saponin.

Mekanisme kerja alkaloid, flavonoid dan saponin dalam aktivitasnya sebagai antibakteri, dijelaskan oleh (Rika P.R, dkk., 2014) sebagai berikut: alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen flavonoid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Flavonoid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang permeable terhadap senyawa senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis. Saponin menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi pada membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.

Akuades steril yang digunakan sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan zona bening di sekitar sumur difusi, karena aquades steril tidak mengandung zat

yang memiliki aktivitas antibakteri. Ampisilin yang digunakan sebagai kontrol positif menghasilkan zona bening dengan rata-rata 30,5 mm. Hal ini dapat terjadi karena ampisilin merupakan bahan antibiotik sintetis.

4.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kecubung (*Datura metel* L.) terhadap DPPH

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana dan paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu sampel senyawa aktif secara *in vitro*. Keunggulan yang lain ialah dapat dilakukan dalam waktu cepat serta bahan kimia dan sampel yang digunakan hanya sedikit.

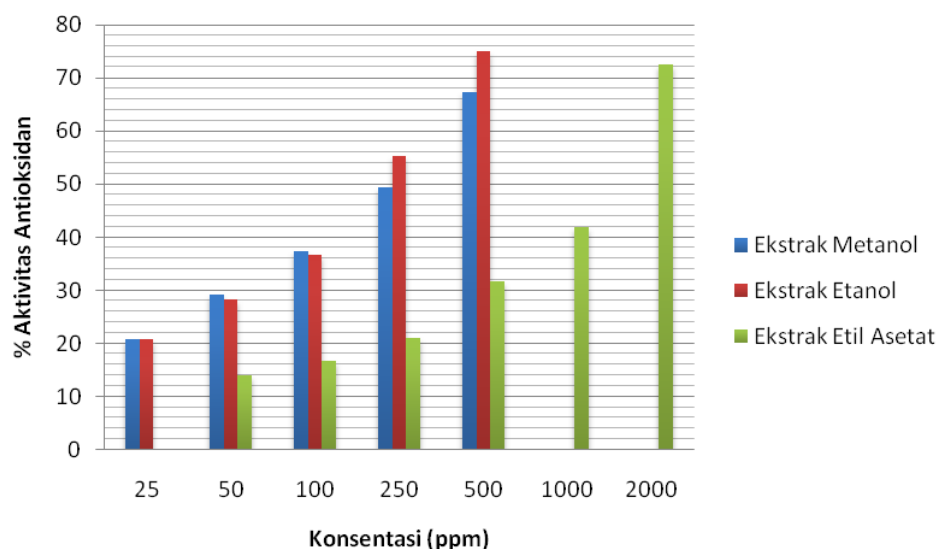
Reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dengan molekul sampel (RH) menurut persamaan reaksi umum:



Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi DPPH dengan Antioksidan

Perubahan warna larutan DPPH akan berubah dari ungu menjadi kuning ketika ditambahkan dengan sampel. Perubahan warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi radikal bebas dari DPPH, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai antioksidannya. DPPH yang bereaksi

dengan senyawa antioksidan akan menghasilkan bentuk DPPH tereduksi dengan radikal antioksidan (Sulandi, 2013). Hasil presentase aktivitas antioksidan dari ekstrak kecubung dengan menggunakan variasi pelarut ditunjukkan pada Gambar 4.2.



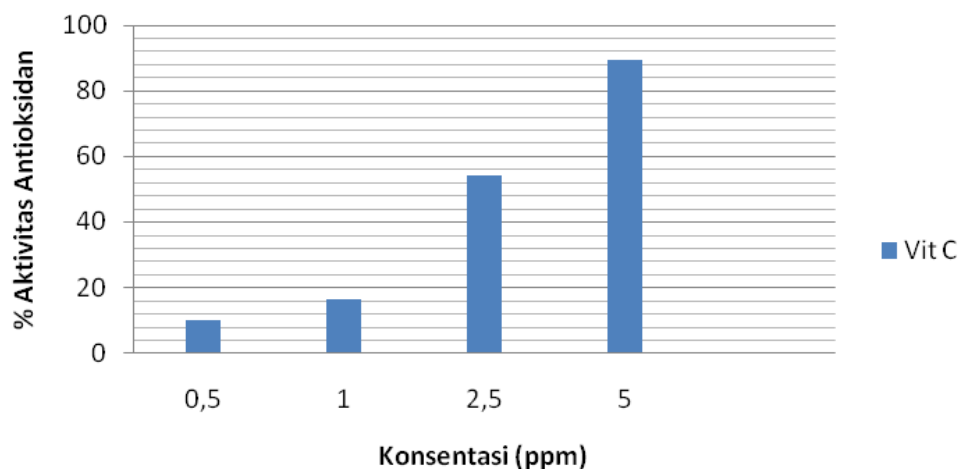
Gambar 4.2 Grafik Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kecubung

Semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar % aktivitas antioksidan. Hasil ini didukung oleh penelitian (Hanani, dkk., 2005) dan (Dewi, dkk., 2007) yang menyatakan bahwa persentase aktivitas antioksidan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi 500 ppm merupakan konsentrasi maksimum ekstrak metanol dan ekstrak etanol karena pada konsentrasi tersebut memiliki nilai persen aktivitas antioksidan tertinggi yaitu ekstrak metanol 67,26% dan ekstrak etanol 75,04%. Hal ini diduga akibat terjadinya sinergisme antar senyawa-senyawa antioksidan dalam ekstrak sehingga aktivitas antioksidan tetap stabil dan naik secara

signifikan. Berbeda dengan ekstrak etil asetat yang mengalami penurunan daya antioksidan terhadap sampel hingga konsentrasi 2000 ppm dengan nilai persen aktivitas antioksidan yaitu 72,63%. Hal ini diduga disebabkan adanya pengaruh polaritas larutan yang mengakibatkan sampel tidak larut sempurna dalam DPPH.

Menurut (Dewi, dkk., 2007) pelarut yang berbeda dapat mempengaruhi terhadap besarnya aktivitas antioksidan. Besarnya daya antioksidan pada ekstrak kecubung diduga karena pada ekstrak tersebut terdapat senyawa steroid dan triterpenoid (Nurjihan, 2017). Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya terhadap senyawa steroid yang terdapat pada ekstrak etanol dari *inonotus obliquus* mampu meredam radikal DPPH (Cui, 2003). Senyawa triterpenoid dilaporkan memiliki sebagai aktivitas antioksidan (Hashem dkk., 2012; Marliana, 2007). Aktivitas antioksidan pada senyawa steroid dan triterpenoid merupakan golongan senyawa fenolik, yaitu senyawa dengan gugus OH yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik. Senyawa fenolik ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal bebas DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Semakin banyak gugus hidroksil yang dimiliki senyawa fenolik, maka semakin besar aktivitas antioksidan yang diperoleh (Sulandi, 2013).

Sampel pembanding pada pengukuran aktivitas antioksidan dalam penelitian ini yaitu vitamin C. Hasil presentase aktivitas antioksidan vitamin C sangat aktif dalam meredam radikal DPPH yaitu sebesar 89,52%. Hasil presentase aktivitas antioksidan dari vitamin C ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Parameter lain yang digunakan untuk mengetahui kekuatan antioksidan ialah IC_{50} (Inhibition Concentration 50 Value). IC_{50} merupakan konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil IC_{50} menandakan semakin besar aktivitas antioksidan (Molyneux, 2013). Nilai IC_{50} ekstrak kecubung dengan variasi pelarut ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Nilai IC_{50} Ekstrak Kecubung

Sampel	Nilai IC_{50} (mg/L)
Ekstrak Metanol	286,72
Ekstrak Etanol	246,63
Ekstrak Etil Asetat	1.245,86
Vitamin C	2,70

Hasil pengukuran IC_{50} ekstrak metanol, ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat masing-masing sebesar 286,72 mg/L, 246,63 mg/L dan 1245,86 mg/L. Ekstrak metanol dan ekstrak etanol tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Menurut (Molyneux, 2004) suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar

antara 200-1000 mg/L, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Oleh karena itu, masih ada kemungkinan senyawa murni yang dikandung memiliki aktivitas peredaman radikal bebas lebih kuat dibandingkan ekstraknya.