

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Relevansi Metode

Pada penelitian ini menggunakan desain metode non eksperimental dengan studi literatur tentang aktiantibakteri ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica L.*) dengan variasi pelarut menghambat bakteri *Escherichia Coli* relevansi metode dari ke-5 jurnal acuan artikel penelitian. Terdapat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Relevansi Metode

Artikel	Asal Sempel	Sampel	Pelarut	Metode Uji	Analisis Kualitatif	Metode Uji Antibakteri
(Anggraeni <i>et al.</i> , 2021) Artikel 1	Kota Banjar	Ekstrak Daun Pegagan	Etanol 70%	Maserasi	Uji Warna	Metode Difusi Sumuran
(Sandy <i>et al.</i> , 2021) Artkel 2	Karanganyar	Ekstrak Daun Pegagan	Etanol 96%	Maserasi	Uji Warna Dan Uji KLT	Metode Difusi Cakram
(Murdiyansah <i>et al.</i> , 2020) Artikel 3	NTB	Eksrtak Daun Pegagan	Etanol 95% Etil asetat	Maserasi	-	Metode Difusi Sumuran
(Widiastuti <i>et al.</i> , 2014) Artikel 4	Yogyakarta	Ekstrak Daun Pegagan	Etanol 70%	Maserasi	Uji Warna	Metode Difusi Sumuran
(Selvam <i>et al.</i> , 2019) Artikel 5	Shah Alam, Malaysia	Ekstrak Daun Pegagan	Aseton	Maserasi	Uji Warna	Metode Difusi Cakram Dan dilusi

1. Bahan Baku Simplisia

Berdasarkan dari ke-5 jurnal acuan simplisia yang digunakan yaitu daun pegagan diambil sebagai uji penghambat pertumbuhan antibakteri. Sebelum menjadi simplisia diperlukan beberapa tahapan-tahapan yang pertama pensortiran, memisahkan daun dengan benda asing dan kotoran yang tertinggal Kemudian dicuci hingga bersih dan dikeringkan pada suhu tertentu sesuai ketentuan agar tidak menurunkan mutu, dimana pengeringan berfungsi untuk penurunan kandungan air agar dapat disimpan dalam waktu yang relatif lebih lama, dan bebas dari mikroorganisme (Purwanti *et al.*, 2018).

2. Metode Ekstraksi

Berdasarkan penelitian ke-1 sampai ke-5, metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Prinsip pada metode maserasi adalah melarutkan zat aktif berdasarkan kelarutannya dalam suatu pelarut selama beberapa hari dalam suhu kamar dan terlindung dari cahaya matahari. Pelarut akan menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam sel tumbuhan yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan dari zat aktif dengan pelarut memberikan hasil dalam proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sedangkan pelarut di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidak seimbangan dari konsentrasi zat aktif di dalam dan konsentrasi zat aktif di luar sel. Konsentrasi tinggi pada suatu larutan akan terdorong

keluar sel. Kemudian digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Proses ini terjadi berulang-ulang sampai diperoleh keseimbangan dari konsentrasi larutan di dalam sel dan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

Kelebihan metode maserasi yaitu mudah dalam melakukan ekstraksi tidak membutuhkan pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam akan rusak atau terurai. Pemilihan berdasarkan kelarutan dan polaritas memudahkan pemisahan zat alami dalam sampel. Proses metode maserasi dalam keadaan didiamkan selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang terekstrak (Yunita & Khodijah, 2020). Suhu ruang adalah batas suhu yang digunakan saat proses maserasi, Tetapi pada penggunaan suhu ruang menyebabkan senyawa kurang terlarut dengan sempurna dan memakan waktu yang relatif lama. Karena itu, perlu dilakukan modifikasi suhu supaya dapat mengoptimalkan proses ekstraksi (ningrum, 2017).

3. Pelarut Ekstraksi

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dalam 5 jurnal bervariasi yaitu etanol (polar), etil asetat (semipolar), dan aseton (non polar). Untuk mendapatkan pengestrak yang baik diperlukan pelarut yang memiliki polaritas yang sama dengan senyawa yang akan diekstrak karena senyawa polar hanya larut dengan baik dalam pelarut yang polar begitu pula senyawa non polar dapat larut dengan baik pada pelarut non polar. Derajat kepolaran suatu senyawa ditentukan oleh tetapan dielektriknya dimana

senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang tinggi akan memiliki polaritas yang lebih tinggi (Sirwutubun *et al.*, 2016).

Pemilihan penggunaan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut universal. Pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dalam ekstrak, yaitu senyawa polar maupun senyawa non polar. Penggunaan varian konsentrasi pelarut dilakukan karena semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah kepolaran pelarut yang digunakan. Etanol memiliki konstanta dielektrik etanol yaitu 24,30 (Putri, 2020). Pelarut etanol mempunyai kepolaran yang tinggi sehingga mampu menghasilkan persen rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan pelarut lain. (Azis *et al.*, 2014). Penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi di atas 70% dapat menyebabkan penurunan total flavonoid dan kurang efektif untuk melarutkan senyawa flavonoid yang memiliki berat molekul rendah karena semangkin tinggi konsentrasi pelarut etanol semakin kurang tingkat kepolaranya (Riwanti *et al.*, 2020). Etanol 70% mengandung etanol murni 70% dan pelarut murni 30%, sedangkan pada etanol 96% mengandung etanol murni 96% dan pelarut murni 4% (Effendi *et al.*, 2015).

Isomer n-heksana tidak reaktif dan banyak digunakan sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena n-heksana bersifat non-polar. n-Heksana diperoleh dari penyulingan minyak mentah dimana produk industri adalah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70 °C. N-heksana umumnya digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang memiliki polaritas yang sama.

N-heksana memiliki nilai konstanta dielektrik 1,89 (Aziz *et al.*, 2013). Pelarut n-heksana adalah pelarut non-polar yang stabil dan mudah menguap, selektif melarutkan dan mengekstrak sejumlah besar aroma (Megawati & Sari, 2018).

Air merupakan pelarut dan bahan baku yang tidak berbahaya, jernih, tidak berwarna dan memiliki pH 5,0-7,0. Air merupakan pelarut yang bersifat polar karena masuk dalam rentang indeks polaritas 9 (Irfan Saputra., 2017). Konstanta dielektrik dari pelarut air yaitu sebesar 80,37 (Amalia *et al.*, 2020). Kepolaran suatu pelarut didasarkan pada nilai konstanta dielektrik dan indeks polaritas. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik dan indeks polaritas pelarut maka akan mempunyai polaritas yang semakin tinggi (Yohed & Kristianita, 2017).

Aseton memiliki salah satu karakteristik dengan sifatnya yang mudah menguap. Sifat lain pelarut aseton adalah mudah terbakar dan tidak berwarna (bening). Senyawa ini juga memiliki bau seperti daun mint dan memiliki rasa pedas (Noviantari *et al.*, 2017). Konstanta dielektrik aseton adalah 20,7 (Sri Yulianthi *et al.*, 2017). Kepolaran aseton menyebabkan aseton dapat digunakan sebagai pelarut senyawa polar dan non polar (Adiyasa *et al.*, 2015).

4. Uji Analisis Kualitatif

a. Uji Warna

Penapisan fitokimia merupakan uji pendahuluan dalam menentukan golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas

biologis dari suatu tanaman. Skrining fitokimia tumbuhan berfungsi sebagai informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam suatu tumbuhan Metode skrining fitokimia pada penelitian kali ini adalah secara kualitatif yang dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna.(Nainggolan *et al.*, 2019). Kelebihan metode skrining kimia adalah sederhana, cepat, hanya membutuhkan peralatan sederhana, khas untuk satu golongan senyawa, memiliki batas deteksi yang cukup luas. Contohnya dapat mendeteksi keberadaan senyawa bahkan dalam konsentrasi yang cukup kecil. Salah satu hal penting yang berperan dalam prosedur penyaringan fitokimia adalah pelarut untuk ekstraksi. Kekurangan sering muncul jika saat pemilihan pelarut hanya didasarkan pada istilah umum derajat kelarutan suatu senyawa yang diteliti. Hal ini disebabkan adanya senyawa dari golongan lain di dalam tumbuhan yang akan mempengaruhi proses kelarutan senyawa yang diinginkan. Setiap tumbuhan tentunya memiliki komposisi kandungan yang berbeda-beda sehingga kelarutan suatu senyawa tidak dapat ditentukan secara pasti. selain dalam proses penyaringan fitokimia adalah adanya hasil positif palsu. Sehingga komposisi campuran senyawa yang terdapat pada tumbuhan dapat memberikan hasil yang positif walaupun senyawa yang diuji tidak terdapat pada tumbuhan tersebut atau kemungkinan lain, karena campuran beberapa warna merupakan hasil reaksi dari kelompok

senyawa lain dengan pereaksi yang digunakan yang pada akhirnya akan memberikan hasil yang positif (Endarini, 2016).

Berdasarkan kelima artikel penelitian ke-1, ke-4 dan ke 5 menggunakan metode skrining fitokimia dengan metode uji kualitatif. Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi adanya glikosida, flavonoid, fenol, saponin, tanin dan steroid. Di mana Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti dengan uji kualitatif dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Susanti *et al.*, 2015).

b. Uji KLT Reagen Warna

Pada penelitian ke-2 menggunakan uji metabolit sekunder dengan melihat perubahan warna dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk menguji senyawa flavonoid, tanin dan saponin.

Pada penelitian ke-2 ini, identifikasi fraksi kimia dengan uji KLT digunakan untuk mengidentifikasi flavonoid menggunakan silika gel GF254 sebagai fase diam dan fase gerak dengan butanol : asam asetat: air dengan perbandingan (4:5:1) dengan pereaksi semprot dari sitroborat. Jika sinar UV 254 nm memberikan redaman, UV 366 nm berpendar biru, kuning, ungu tua. Di mana rasio tertinggi terdapat pada pelarut asam asetat karena fase geraknya bersifat polar sehingga menghasilkan positif flavonoid karena merupakan senyawa bersifat polar.

Dalam identifikasi tanin, fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254 dan fasa gerak yang digunakan adalah toluene : etil asetat dengan perbandingan (3:1). dimana jumlah pelarut terbesar adalah toluena yang bersifat non polar. Kemudian identifikasi saponin pada fase diam silika gel GF254 dan fase geraknya adalah fase gerak kloroform : metanol : air memiliki perbandingan (13:7:2). Dimana penggunaan pelarut bisa lebih banyak fase geraknya yaitu kloroform sehingga fase geraknya cenderung polar dan mampu menarik senyawa saponin yang bersifat polar.

5. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Dalam penelitian ke-1 ke-3 dan ke-4 menggunakan metode difusi sumuran. Kelebihan metode sumuran yaitu lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri aktif tidak hanya pada permukaan atas nutrisi agar tetapi juga sampai ke bawah. Pembuatan sumuran memiliki beberapa kesulitan, seperti adanya residu agar pada media yang digunakan untuk membuat sumur (Nurhayati *et al.*, 2020).

Sedangkan kekurangan dari metode difusi sumuran yaitu volume antara ekstrak larutan uji dan media pertumbuhan cair, aquades steril, serta suspensi bakteri/jamur harus tepat, sumur pada media harus diperhatikan ukuran dan kedalamannya, serta volume mikropipet yang digunakan harus dipastikan sesuai (Nurjannah, 2017).

Kemudian dalam artikel penelitian ke-2 menggunakan metode uji difusi cakram dan sekaligus metode dilusi. Pada penelitian ke-5

menggunakan metode uji difusi cakram. kelebihan metode cakram adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kekurangannya adalah besarnya zona bening yang terbentuk tergantung pada inkubasi, inokulum, predifusi, kondisi preinkubasi dan ketebalan (Prayoga G, 2013).

Pada penelitian ke-2 juga menggunakan metode dilusi dengan penentuan *konsentrasi hambat minimum* (KHM) dan *konsentrasi bunuh minimum* (KBM) Kelebihan dari metode dilusi adalah dapat menentukan tingkat resistensi secara kuantitatif dan kekurangan metode dilusi adalah memerlukan pengerjaan yang rumit sedangkan kelebihan metode difusi adalah pengerjaan yang sederhana dan tidak memerlukan waktu yang lama (Soleha, 2015). Tujuan melakukan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi antibakteri yang mampu menghambat maupun membunuh pertumbuhan bakteri yang diuji. Parameter yang digunakan yaitu melihat adanya kejernihan dan kekeruhan setelah dilakukan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Nuraina, 2015).

Nilai KHM ditentukan dengan pengamatan secara visual konsentrasi terkecil pada tabung yang menunjukkan kejernihan (tidak ada pertumbuhan bakteri), sedangkan dilusi padat pada konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri pada media agar ditetapkan sebagai KBM (Nuraina, 2015).

B. Relevansi Hasil

1. Rendemen

Rendemen merupakan suatu syarat penting dalam pembuatan produk. Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Dewatisari *et al.*, 2018). Jenis dan polaritas suatu pelarut sangat mempengaruhi rendemen yang dihasilkan (Stankovic *et al.*, 2012). Pelarut yang digunakan harus disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang dituju. Menurut prinsip *like dissolves like*, pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan sebaliknya (Amalia R. *et al.*, 2020).. Penelitian pada artikel ke-2 dan ke-5 memberikan hasil pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Rendemen Daun Pegagan

Jurnal	Pelarut	Metode Ekstraksi	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Persen rendemen	Bobot rendemen fraksiasi
(Monica Sandy <i>et al</i>) Jurnal ke-2	Etanol 96%	Maserasi	200 g	30,441 g	15,22%	n-heksan 22,66% Faksi etil asetat 22,08% Air 24,13%
(Darshini Arud Selvam <i>et al</i>) Jurnal ke-5	Aseton 100%	Maserasi	-	-	3,05 %	-

Berdasarkan hasil penelitian ke-2 dan ke-5 menghasilkan hasil rendemen yang berbeda pada penelitian ke-2 dengan pelarut etanol 96% nilai rendemen 15,22 % sedangkan pada penelitian ke-5 dengan pelarut aseton

100% menghasilkan 3,05 % dimana etanol pelarut memiliki sifat polar dan aseton non polar.

Berdasarkan hasil rendemen pada tabel 4.2 pada pelarut etanol 96% yang bersifat polar menghasilkan rendemen lebih tinggi jika dibandingkan dengan pelarut aseton non polar. Penggunaan jenis pelarut dengan perbedaan polaritas dapat memberikan pengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan. Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektriknya dapat dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan non polar. Semakin tinggi konstanta dielektriknya maka pelarut bersifat semakin polar. Konstanta dielektrik pada etanol yaitu 24 dan aseton 21 sehingga terbukti etanol lebih polar memiliki hasil rendemen lebih banyak karena lebih polar dari pelarut aseton (Verdiana *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil uji pada penelitian ke-2 dapat disimpulkan bahwa persentase senyawa polar pada (*centella asiatica L*) lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa nonpolar dan semipolar (Anjaswati *et al.*, 2021).

Penelitian ke-2 pada uji fraksinasi juga dilakukan perhitungan bobot rendemen. Pada tabel hasil rendemen fraksinasi memberikan hasil rendemen yang berbeda-beda pada pelarut n-heksan (non polar) 22,66%, etil asetat (semi polar) menghasilkan rendemen 22,08% dan hasil rendemen pelarut air (polar) 24,13%. Persentase rendemen yang didapatkan dari setiap fraksi berbeda, hal ini disebabkan adanya perbedaan kemampuan menarik senyawa dari masing-masing pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi. Pada pelarut air yang bersifat polar memiliki rendemen lebih besar jika

dibandingkan dengan pelarut n-heksan dan pelarut etil asetat yang bersifat nonpolar dan semipolar. Berdasarkan hasil uji pada penelitian ke-2 dapat disimpulkan bahwa persentase senyawa polar pada (*centella asiatica L*) lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa nonpolar dan semipolar (Anjaswati *et al.*, 2021).

2. Uji Analisis Kualitatif

a. Uji Reagen Warna

Tabel 4.3 Hasil Analisis Uji Kualitatif

Senyawa fitokimia	Anggraeni <i>et al</i> (Jurnal 1)	Sandy <i>et al</i> (Jurnal 2)	Widiastuti <i>et al</i> (Jurnal 4)	Selvam <i>et al</i> (2019) (Jurnal 5)
	Etanol 70%	Etanol 96%	Etanol 70%	Aseton
Alkaloid	-	-	-	-
Tanin	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	+
Saponin	+	+	+	-
Glikosida flavonoid	-	-	-	+
fenol	+	+	+	+
	-	-	-	-

Keterangan :

(+) = mengandung senyawa aktif

(-) = tidak mengandung senyawa aktif

Etanol atau sering disebut dengan etil alkohol merupakan pelarut yang ini memiliki sifat polar dengan rumus C_2H_5OH . Pelarut ini dapat larut zat yang memiliki sifat polar, semi-polar dan non-polar dan memiliki kemampuan untuk menghambat aksi enzim dan mengendapkan protein untuk mencegah reaksi hidrolisis dan oksidasi (Setiyabudi *et al.*, 2021).

Pada penelitian dalam jurnal Anggraeni *et al* (2021), Sandy *et al* (2021), Murdiyansah *et al* (2020) menggunakan pelarut etanol pada proses ekstraksi. Hasil uji analisa kualitatif pada ketiga jurnal menghasilkan positif flavonoid, tanin dan saponin. Di mana Senyawa flavonoid bersifat polar sehingga membutuhkan pelarut yang bersifat polar, tanin merupakan senyawa yang bersifat polar dengan gugus hidroksil, sehingga untuk mengekstraknya diperlukan pelarut yang bersifat polar seperti etanol (Kristanto, 2013). Polaritas ditunjukkan dengan adanya busa stabil yang terbentuk setelah penambahan reagen. Hal ini dapat terjadi karena senyawa saponin juga memiliki gugus hidrofobik yaitu aglikon (Iffah *et al.*, 2018). Sehingga digunakan pelarut etanol sebagai pelarut untuk menarik flavonoid, saponin dan tanin karena etanol mampu menarik senyawa polar maupun nonpolar.

Pada penelitian Selvam *et al* (2019) menggunakan aseton sebagai pelarut dimana aseton merupakan pelarut yang bersifat non-polar sehingga konstituen fenol dan sponin tidak diekstraksi karena memiliki kepolaran yang tinggi. Berdasarkan pada tabel 4.3 didapatkan hasil positif tanin, steroid, glikosida dan flavonoid yang memiliki sifat polar.

b. Kromatografi Lapis Tipis

Pada penelitian ke-2 dilakukan identifikasi senyawa fitokimia selain menggunakan uji kualitatif dengan perubahan warna dilakukan juga identifikasi menggunakan metode *Kromatografi Lapis Tipis* (KLT). Pada tabel 4.4 memaparkan hasil fraksi KLT.

Tabel 4.4 Hasil Uji Analisis Kualitatif Fraksi Secara KLT

Pengujian	Sinar UV	Warna Bercak	Nilai Rf
Flavonoid	254 nm, 366 nm	Fluoresensi biru	0,8 cm
Saponin	254 nm, 366 nm	bercak ungu	0,75 cm
Tanin	254 nm, 366 nm	Hijau gelap, Biru hitam	0,93 cm

Pada penelitian ini, memberikan hasil positif senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,8. Pada uji saponin menghasilkan bercak ungu mendapatkan nilai Rf 0,75 cm. Namun pada tanin menghasilkan bercak hijau gelap dan biru hitam dengan Rf bernilai 0,93 cm lebih dari ketentuan kisaran, jika didapatkan nilai Rf terlalu tinggi, maka pilihan fase gerak dengan nilai kekuatan eluent rendah (Ninla Elmawati Falabiba *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil dapat disimpulkan nilai Rf pada uji analisa kualitatif menghasilkan positif flavonoid, aponin dan tanin, Kemudian memenuhi ketentuan nilai Rf yang baik yaitu antara 0,2-0,8 (Rasyid *et al.*, 2016).

3. Uji Aktivitas Antibakteri

Tabel 4.5 Hasil Uji Antibakteri Daun Pegagan

Jurnal	Pelarut	Metode Uji	Konsentrasi Sampel	DDH (mm)	kriteria
(Anggraeni <i>et al.</i> , 2021) Jurnal 1	Etanol 70%	Difusi sumuran	30%	5	Sedang
			40%	10	Kuat
			50%	12	Kuat
			60%	16	Kuat
			70%	18	Kuat
			80%	20	Sangat kuat
			90%	22	Sangat kuat
(Sandy <i>et al.</i> , 2021) Jurnal 2	Ekstrak	Difusi cakram dan dilusi	100%	24	Sangat kuat
			1%	6,33±0,28	Sedang
			5%	6,83±0,28	Sedang
			10%	7,66±0,28	Sedang
			15%	8,50±0,50	Sedang
			20%	10,00±0,00	kuat
			N - Heksan		1%
	5%	6,83±0,28			sedang
	10%	7,33±0,28			sedang
	15%	8,16±0,28			sedang
	20%	9,00±0,00			sedang
	Etil Asetat		1%	7,66±0,57	Sedang
			5%	9,16±0,57	Sedang
			10%	10,5±0,50	sedang
			15%	12,00±0,86	Kuat
			20%	13,66±1,15	kuat
	Air		1%	5,16±0,28	Sedang
5%			6,33±0,28	Sedang	
10%			7,00±0,00	Sedang	
15%			7,66±0,28	Sedang	
20%			8,33±0,28	Sedang	
(Murdiyansah <i>et al.</i> , 2020) Jurnal 3	Etanol 95 %	Difusi sumuran	30%	9	Sedang
			50%	12,7	Kuat
			70%	13,3	kuat
	Etil Asetat		30%	17	kuat
			50%	17,7	kuat
			70%	19,7	kuat
(Widiastuti <i>et al.</i> , 2014) Jurnal 4	Etanol 70%	Difusi sumuran	20%	6,47	Sedang
			40%	6,77	Sedang
			60%	7,1	Sedang
			80%	7,57	Sedang
			100%	8,47	Sedang
(Selvam <i>et al.</i> , 2019) Jurnal 5	Aseton 100 %	Difusi cakram Dan dilusi	2,5 %	7,10±0,12	Sedang
			5 %	7,53±0,09	Sedang
			10 %	7,90±0,10	Sedang

Pada tabel 4.7 penelitian ke-1,ke-2,ke-3,ke-4 dan ke-5 menggunakan metode maserasi dengan pelarut berbeda-beda. Pada penelitian ke-1 pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%. Uji penghambatan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* digunakan metode difusi sumuran dengan menggunakan berbagai variasi konsentrasi yaitu 30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%100%. Berdasarkan hasil zona hambat dari berbagai konsentrasi . Penghambatan tertinggi terdapat pada konsentrasi 100% dengan zona hambat 24 mm dan masuk dalam kategori kuat.

Dalam penelitian ke-4 digunakan metode uji antibakteri difusi sumuran sebelum dilakukan uji antibakteri ekstrak direndam terlebih dahulu dengan pelarut etanol 70%. Kemudian dilakukan pembagian variasi konsntrasi berbeda sebagai berikut: 20%,40%,60%80%,100%. Setelah itu dilakukan uji daya hambat pada bakteri uji kemudian dilakukan pengukuran zona hambat yang memberikan hasil yang berbeda. Apabila zona hambat kuat maka semakin besar ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil menunjukan zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat 8,47 mm.

Berdasarkan jurnal penelitian ke-1 dan ke-4 memiliki persamaan konsentrasi 40%60%,80% dan 100%. Dilakukan ekstraksi dengan sama-sama menggunakan pelarut etanol 70% jika dilakukan perbandingan hasil zona hambat pada penelitian ke-1 menghasilkan zona hambat 10, 16, 20,

dan 24 . Sedangkan penelitian ke-4 menghasilkan 6,77, 7,1 7,57 dan 8,47 terjadi perbedaan hasil zona hambat pada pelarut etanol 70% . Hal ini terjadi karena tidak dilakukannya pengukuran kekeruhan suspensi pada jurnal ke 1 dan ke 4 sehingga memberikan hasil zona hambat yang berbeda pula. Faktor yang mempengaruhi hasil diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menurut yaitu kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan semakin besar, begitu pula sebaliknya jika suspensi lebih keruh maka diameter zona hambat akan semakin kecil. Dalam mengukur kekeruhan suspensi disetarakan dengan Mc Farland 0,5% (Zeniusa *et al.*, 2019).

Pada penelitian ke-3 uji aktivitas antibakteri daun pegagan menggunakan metode sumuran dengan pelarut etanol 95% dan etil asetat. Masing-masing dilakukan uji antibakteri dari konsentrasi 30%, 50% dan 70%. Berdasarkan perbandingan pelarut etanol dan etil asetat yang memiliki kategori terbesar yaitu pelarut etanol konsentrasi 70% (13,3 mm) sedangkan etil asetat konsentrasi 70% (19,7 mm). Diketahui bahwa aktivitas antibakteri yang baik diberikan oleh fraksi etil asetat. Hal ini karena etil asetat merupakan pelarut bersifat semi polar. Jika dibandingkan dengan pelarut etanol hanya bersifat polar saja. Diduga komponen senyawa aktif pada daun pegagan yang bersifat semipolar cenderung lebih mudah masuk ke dalam dinding sel bakteri gram positif dalam menghambat pertumbuhannya (Khoiriyah *et al.*, 2014). Dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan menghasilkan penghambatan

yang besar. Hal ini disebabkan nilai komponen aktif yang bersifat antibakteri akan semakin banyak pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi. Dan tentunya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Pada penelitian ke-2 ekstraksi dilakukan fraksinasi pelarut yaitu ekstrak, n-heksan (non polar), etil asetat (semipolar) dan air (polar) menggunakan metode maserasi. Metode pengujian antibakteri daun pegagan menggunakan difusi cakram dan dilusi cair dengan berbagai variasi fraksinasi pelarut pada ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu digunakan konsentrasi 1%,5%,10%15% dan 20%. Pada bahan uji yang menghasilkan zona hambat tertinggi masing-masing terdapat pada konsentrasi tertinggi yaitu 20% menghasilkan $10,00 \pm 0,00$ pada bahan uji ekstrak, zona hambat $9,00 \pm 0,00$ pada pelarut n-heksan, pelarut air menghasilkan zona hambat $8,33 \pm 0,28$ dan pada pelarut etil asetat menghasilkan zona hambat $13,66 \pm 1,15$. Berdasarkan hasil dari data penelitian pada konsentrasi 20% mempunyai zona penghambatan yang paling besar adalah $13,66 \pm 1,15$ mm pada pelarut etil asetat. Di mana memiliki kriteria hambatan pertumbuhan yang kuat. Zona hambat yang terbentuk disekitar cakram menunjukkan adanya pengaruh dari ekstrak daun pegagan yang dapat berpotensi sebagai antibakteri. etil asetat memiliki sifat semi polar sehingga mampu menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar (Murdiyansah et al., 2020). Hal ini menyebabkan fraksi etil asetat menjadi fraksi paling aktif dengan membentuk daya

hambat paling besar dibandingkan ekstrak dan fraksi lainnya (Maneak, 2018).

Berdasarkan pada uji ke-2 selanjutnya dilakukan uji Pengujian aktivitas antibakteri metode dilusi untuk mengetahui *Konsentrasi Hambat Minimum* (KHM) dan *Konsentrasi Bunuh Minimum* (KBM) digunakan hasil dari pelarut etil asetat karena paling berpotensi menghambat bakteri diantara ekstrak, N-heksan dan air. Pada konsentrasi kadar paling rendah dapat menentukan konsentrasi hambat minimum. Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dengan pelarut etil asetat terdapat pada tabel 4.6

Tabel 4.6 hasil uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Secara Dilusi

Konsentrasi (%)	Replikasi		
	I	II	III
Kontrol (-) fraksi etil asetat	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	+	+	+
3,12%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,195%	+	+	+
0,098%	+	+	+
kontrol+suspensi+media NB	+	+	+

Keterangan: (-) tidak ada pertumbuhan bakteri/jernih

(+) ada pertumbuhan bakteri(keruh)

Pada penelitian ke-2 dilakukan metode dilusi untuk mengetahui KHM dan KBM. Pada uji KHM dilakukan dengan metode dilusi cair prinsip dari metode ini tabung reaksi diisi media cair dan sel bakteri *Escherichia coli* dan biakan mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan

mikroba) (Fitriana & Fitri, 2020). KBM ditentukan pada MHA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Untuk menentukan nilai KHM dilakukan Teknik dilusi dengan pengenceran menggunakan 13 tabung steril dengan cara mengambil penurunan konsentrasi setengahnya dari 50% hingga 0,095% setelah dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C, maka dilakukan pengamatan secara visual terkait kejernihan dan kekeruhan pada tabung reaksi untuk memperoleh nilai KHM. Hasil menunjukkan terdapat larutan uji yang terlihat jernih yaitu pada konsentrasi 12,5%, 25% dan 50%.

Konsentrasi Bunuh Minimum yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media MHA pada cawan petri, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan pada media MHA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 12,5%.

Uji KHM dilakukan dengan Tabung reaksi yang terlihat jernih dilanjutkan uji penegasan nilai KBM dengan metode dilusi padat. Penetapan hasil KBM dilakukan dengan pengamatan yang ditandai tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada NA. Efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* diperoleh nilai KBM sebesar >12,5 mg/mL, sedangkan

ekstrak daun pegagan pada konsentrasi diuji sebesar 12,5 mg/mL menunjukkan aktivitas bakterisida (membunuh bakteri) tetapi juga bersifat sebagai bakteriostatik atau menghambat bakteri.

Pada artikel penelitian ke-5 pembuatan ekstrak daun pegagan dalam penelitian ini hanya diambil metode maserasi saja pelarut yang digunakan adalah aseton. Sebelum ekstrak daun jambu pegagan dilakukan pengujian terhadap daerah hambat aktivitas antibakteri, maka dilakukan pembuatan variasi konsentrasi secara berturut-turut diantaranya konsentrasi berbeda yaitu 2,5%, 5% dan 10 %. Uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram, dimana cakram ditempatkan pada agar Mueller Hinton yang telah diinokulasi bakteri (15×10^8 sel/ml yang disesuaikan dengan kekeruhan McFarland). Pelat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter zona . Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dengan variasi konsentrasi 10 % mampu menghambat aktivitas bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat $7,90 \pm 0,10$ mm.

Pada penelitian ke-5 dilakukan pengujian penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) atau Minimum inhibitory Concentration (MIC) pengujian dengan menggunakan metode dilusi cair dimana pertumbuhan bakteri ditentukan berdasarkan kekeruhan pada masing-masing ekstrak. Dilakukan percobaan tabung /dilusi tube yang memberikaan hasil MIC. Berdasarkan hasil menunjukan hasil MIC tertinggi dengan metode maserasi yaitu 1,5625 mg/ml terhadap *Escherichia coli*. Metode maserasi

dingin ditemukan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Karena maserasi dingin diyakini dapat mengekstraksi glikosida dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang lain karena glikosida.

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri daun pegagan dengan variasi pelarut dari kelima jurnal acuan, pelarut yang paling efektif menghambat *Escherichia coli* adalah pelarut etanol 70% yang memiliki zona hambat 24 mm dengan metode uji antibakteri difusi sumuran. Sedangkan pada metode uji difusi cakram pelarut yang paling efektif yaitu pelarut etil asetat pada konsentrasi 20 % dengan hasil zona hambat $13,66 \pm 1,15$. Hasil zona hambat yang bervariasi tergantung banyaknya faktor salah satunya konsentrasi pelarut, kepolaran pelarut.

C. Pernyataan hasil

1. Metabolit sekunder yang terdapat pada daun pegagan yaitu tanin, steroid, saponin, glikosida, flavonoid .yang telah terbukti efektif menghambat *Escherichia coli*.
2. Pelarut ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica L*) ekstraksi menggunakan pelarut yang bersifat dengan pelarut polar, semi polar dan nonpolar. Pelarut yang digunakan memiliki polaritas yang berbeda dimana n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), air (polar) etanol (polar). Berdasarkan sifat kelarutan pelarut yang menunjukkan hasil paling baik berdasarkan pada hasil uji aktivitas antibakteri yaitu etanol yang memiliki sifat polar, dan etil

asetat bersifat semipolar dan berpengaruh pada aktivitas ekstrak sehingga memberikan hasil zona hambat dari kategori sedang hingga sangat kuat.

3. Ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica L*) berpotensi Sebagai antibakteri mampu menghambat *Escherichia coli* pada penelitian ke-1 pelarut etanol 70 % ,menghasilkan zona hambat terendah 5 mm dan zona hambat tertinggi 24 mm. Pada penelitian ke-2 menghasilkan zona hambat terendah $5,16 \pm 0,28$ dalam pelarut air sementra zona hambat tertinggi $13,66 \pm 1,15$ terdapat pada pelarut etil asetat dengan konsentrasi 20%. Pada penelitian ke-3 menghasilkan zona hambat terendah dengan pelarut etanol 95% dalam konsentrasi 30% menghasilkan zona hambat 9 mm dan menghasilkan zona hambat tertinggi 19,7 mm pada pelarut etil asetat dengan konsentrasi pelarut 70% . kemudian pada penelitian ke-4 menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan zona hambat terendah 6,47 mm pada konsentrasi 20% sementara zona hambat tertinggi yaitu pada konsentrasi 100% dengan zona hambat 8,47 mm. Terakhir pada penelitian ke lima zona hambat terkecil $7,10 \pm 0,12$ terdapat pada konsentrasi 2,5% . Sedangkan zona hambat terbesar $7,90 \pm 0,10$ terdapat pada konsentrasi 10%.

D. Keterbatasan

1. Pada artikel ,tidak menampilkan hasil rendemen pada bebrapa jurnal acuan, sehingga mempersulit dalam perbandingan hasil rendemen ekstrak daun pegagan.
2. Pada salah satu jurnal acuan tidak semua melakukan uji skrining fitokima sehingga memberikan kesulitan saat perbandingan hasil senyawa kimia.
3. Pada artikel penelitian digunakan perbandingan konsentrasi yang terlalu bervariasi sehingga mempersulit dalam penulis memasukan data pada pembahasan dan keterbatasan isi pada penelitian kurang detail.