

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis*) Merah

4.1.1.1. Ekstraksi Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis*)

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol. Ekstraksi 1,8 Kg serbuk umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) dengan pelarut n-heksana menghasilkan ekstrak n-heksana sebanyak 56,8030 gr. Sedangkan ekstraksi dengan pelarut metanol diperoleh ekstrak sebanyak 234,0392 gr.

4.1.1.2 Pengujian Ekstrak Total dengan KLT

Terhadap ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) yang diperoleh dilakukan uji KLT. Hasil uji KLT dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji KLT ekstrak n-heksana

No	Perbandingan eluen	Keterangan	Rf
1	Heksana : Etil asetat (7:3)	3 noda	$Rf_1 = 0,22$ $Rf_2 = 0,4$ $Rf_3 = 0,64$
2	Heksana : Etil asetat (8:2)	2 noda	$Rf_1 = 0,26$ $Rf_2 = 0,6$

Tabel 3. Hasil uji KLT ekstrak metanol

No	Perbandingan eluen	Keterangan	Rf
1	Etil asetat : metanol (95:15)	3 noda	$Rf_1 = 0,05$ $Rf_2 = 0,7$ $Rf_3 = 0,83$
2	Etil asetat : metanol (85:25)	2 noda	$Rf_1 = 0,68$ $Rf_2 = 0,78$

4.1.1.3 Pemisahan dengan Kromatografi Vakum Cair (VLC)

Terhadap masing-masing ekstrak dilakukan pemisahan dengan menggunakan kromatografi vakum cair (VLC). Pada ekstrak n-heksana pemisahan menggunakan 3 gr ekstrak. Eluen yang digunakan mempunyai kepolaran meningkat yaitu: n-heksana 100%,

perbandingan n-heksana:etil asetat sampai n-heksana:etil asetat (5:5). Kemudian pada ekstrak metanol sebanyak 3 gr ekstrak dipisahkan menggunakan kromatografi vakum cair dengan perbandingan eluen mulai dari n-heksana:etil asetat (5:5), etil asetat 100%, etil asetat:metanol sampai metanol 100%. Hasil yang didapat ditampung dalam erlenmeyer dan selanjutnya dilakukan uji KLT. Kemudian diuapkan pelarutnya hingga kering.

4.1.1.4 Pengujian Hasil Kromatografi Vakum Cair dengan KLT

Pengujian hasil VLC dilakukan untuk menentukan fraksi-fraksi dari masing-masing ekstrak yang telah dipisahkan. Penggabungan fraksi dilakukan berdasarkan harga R_f , noda-noda yang memiliki harga R_f yang hampir sama dapat digabung menjadi satu fraksi.

Tabel 4. Hasil uji KLT fraksi-fraksi n-heksana

No. fraksi	Keterangan	R_f
F ₁	1 noda (cokelat kekuningan)	$R_f = 0,8$
F ₂	1 noda (coklat kekuningan)	$R_f = 0,74$
F ₃	1 noda (coklat kekuningan)	$R_f = 0,67$
F ₄	1 noda (warnanya tidak terlihat jelas)	$R_f = 0,48$
F ₅	1 noda (warnanya tidak terlihat jelas)	$R_f = 0,34$
F ₆	1 noda (warnanya tidak terlihat jelas)	$R_f = 0,12$

Tabel 5. Hasil uji KLT fraksi-fraksi metanol

No. fraksi	Keterangan	Rf
F ₁	1 noda (coklat kekuningan)	Rf = 0,84
F ₂	2 noda (coklat kekuningan)	Rf ₁ = 0,84 Rf ₂ = 0.66
F ₃	4 noda (coklat kekuningan)	Rf ₁ = 0.84 Rf ₂ = 0.66 Rf ₃ = 0.34 Rf ₄ = 0.24
F ₄	2 noda (coklat kekuningan)	Rf ₁ = 0.34 Rf ₂ = 0.24
F ₅	2 noda (1 bulat, 1 memanjang)	Rf ₁ = 0,90 Rf ₂ = 0,78
F ₆	Noda tidak terlihat jelas	-

4.1.1.5 Hasil Uji Antijamur Ekstrak Total

Dari hasil ujiaktivitas antijamur yang dilakukan dengan variasi konsentras dan tiga kali pengulangan diketahui, bahwa ekstrak total n-heksana dan metanol dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Candida utilis*. Hasil uji aktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 6 dan 7 yang berupa rata-rata dari 3 (tiga) kali pengulangan.

Tabel 6. Diameter hambat tumbuh (mm) *C.albicans* dan *C.utilis* oleh ekstrak n- heksana umbi dahlia merah

Variasi jamur Konsentrasi	Diameter hambatan (mm)				
	2%	4%	6%	8%	10%
<i>Candida albicans</i>	7,5	7,5	7,5	8	8
<i>Candida utilis</i>	7	7,5	7,5	7,5	8

Tabel 7. Diameter hambat tumbuh (mm) *C.albicans* dan *C.utilis* oleh ekstrak metanol umbi dahlia merah

Variasi jamur Konsentrasi	Diameter hambatan (mm)				
	2%	4%	6%	8%	10%
<i>Candida albicans</i>	9	9	9	10	10
<i>Candida utilis</i>	8	8	10	12	12

4.1.1.6. Hasil Uji Antijamur Fraksi-fraksi n-heksana dan metanol

Pengujian aktivitas antijamur terhadap fraksi-fraksi dilakukan dengan konsentrasi 2% dan tiga kali pengulangan pada masing-masing jamur uji. Dari hasil uji antijamur yang diperoleh diketahui bahwa fraksi-fraksi n-heksana mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan *Candida utilis*, namun tidak sebaik fraksi-fraksi metanol. Pada konsentrasi 2%, fraksi ketiga ekstrak n-heksana dan fraksi kedua ekstrak metanol masih memperlihatkan aktivitas yang sangat baik dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan diameter hambatan 15 mm dan 17 mm, berturut-turut. Hasil uji aktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Diameterambat tumbuh (mm) *C.albicans* dan *C.utilis* oleh faksi-fraksi n-heksana

Variasi jamur Fraksi	Diameter hambatan (mm)					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
<i>Candida albicans</i>	9	9,5	15	9	9	9
<i>Candida utilis</i>	3	-	-	-	-	2,7

Tabel 9. Diameterambat tumbuh (mm) *C.albicans* oleh faksi-fraksi methanol

Pengulangan	Diameter hambatan (mm)					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
I	12	15	8	12	8	7.5
II	11.5	19.5	7.5	12.5	7	7.5
III	8	16.5	7.5	9	-	-

4.1.2. Uji Aktivitas Ekstrak Batang dan Daun Dahlia (*Dahlia variabilis*) merah

4.1.2.1. Ekstraksi Batang dan Daun Dahlia merah

Sampel batang dan daun *Dahlia variabilis* yang bunganya berwarna merah diekstraksi dengan pelarut n-heksan dan pelarut metanol. Dari hasil ekstraksi 520 gram serbuk halus daun dan batang *Dahlia variabilis* menggunakan pelarut n-heksan diperoleh ekstrak n-heksan yang berwarna hijau sebanyak 20,4271 gram. Sedangkan

hasil ekstraksi dengan pelarut metanol diperoleh ekstrak metanol yang berwarna hijau kecoklatan sebanyak 55,1051 gram.

4.1.2.2. Pengujian Ekstrak Total dengan KLT

Terhadap ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol daun dan batang dahlia merah tersebut dilakukan uji KLT. Hasil uji KLT dapat dilihat pada Tabel 10 dan Tabel 11.

Tabel 10. Hasil uji KLT ekstrak n-heksana

No	Perbandingan eluen	Keterangan	Rf
1	Heksana : Etil asetat (7:3)	3 noda	$Rf_1 = 0.51$ $Rf_2 = 0.65$ $Rf_3 = 0.75$
2	Heksana : Etil asetat (8:2)	5 noda	$Rf_1 = 0.05$ $Rf_2 = 0.22$ $Rf_3 = 0.40$ $Rf_4 = 0.58$ $Rf_5 = 0.69$

Tabel 11. Hasil uji KLT ekstrak metanol

No	Perbandingan eluen	Keterangan	Rf
1	Etil asetat : metanol (8:2)	2 noda	$Rf_1 = 0.46$ $Rf_2 = 0.83$
2	Etil asetat 100%	3 noda	$Rf_1 = 0.22$ $Rf_2 = 0.34$ $Rf_3 = 0.68$

4.1.2.3. Pemisahan dengan Kromatografi Vakum Cair (VLC)

Terhadap masing-masing ekstrak dilakukan pemisahan dengan menggunakan kromatografi vakum cair (VLC). Pemisahan pada ekstrak n-heksana menggunakan ekstrak sebanyak 9,0420 gram dan pemisahan pada ekstrak metanol menggunakan ekstrak sebanyak 10,0012 gram. Eluen yang digunakan pada pemisahan ekstrak n-heksana yaitu: n-heksana 100%, perbandingan n-heksana:etil asetat sampai n-heksana:etil asetat (5:5). Sedangkan eluen pada pemisahan ekstrak metanol yaitu: n-heksana:etil asetat (5:5), etil asetat 100%, etil asetat:metanol sampai metanol 100%. Dari hasil kromatografi vakum cair, masing-masing diperoleh 16 erlenmeyer kemudian hasil diuapkan dan selanjutnya dilakukan uji KLT untuk melihat hasil fraksinasinya.

4.1.2.4 Pengujian Hasil Kromatografi Vakum Cair dengan KLT

Pengujian hasil VLC dilakukan untuk menentukan fraksi-fraksi dari masing-masing ekstrak yang telah dipisahkan. Penggabungan fraksi dilakukan berdasarkan

harga Rf, noda-noda yang memiliki harga Rf yang hampir sama dapat digabung menjadi satu fraksi (Tabel 12 dan 13).

Tabel 12. Hasil uji KLT fraksi-fraksi n-heksana batang dan daun dahlia merah

No. fraksi	Keterangan	Rf
F ₁	1 noda	Rf = 0.82
F ₂	3 noda	Rf ₁ = 0.62 Rf ₂ = 0.69 Rf ₃ = 0.72
F ₃	1 noda (memanjang)	Rf = 0.39
F ₄	1 noda (memanjang)	Rf = 0.22
F ₅	1 noda	Rf = 0.06

Tabel 13. Hasil uji KLT fraksi-fraksi metanol batang dan daun dahlia merah

No. fraksi	Keterangan	Rf
F ₁	1 noda	Rf = 0.84
F ₂	1 noda (agak memanjang)	Rf = 0.80
F ₃	1 noda (memanjang)	Rf = 0.69
F ₄	2 noda (1 bulat, 1 noda agak memanjang)	Rf ₁ = 0.42 Rf ₂ = 0.52
F ₅	3 noda (1 bulat, 2 agak memanjang)	Rf ₁ = 0.27 Rf ₂ = 0.46 Rf ₃ = 0.80
F ₆	1 noda (tidak terlihat jelas)	Rf = 0.16

4.1.2.5. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak total batang dan daun Dahlia merah

Hasil pengujian aktivitas antijamur ekstrak n-heksana batang dan daun Dahlia merah terhadap *Candida albicans* dan *Microsporum gypseum* dapat dilihat pada Tabel 14 yang berupa rata-rata dari tiga kali pengulangan.

Tabel 14. Diameter hambatan tumbuh (mm) *C. albicans* dan *M. gypseum* oleh ekstrak n-heksana

Variasi jamur Konsentrasi	Diameter hambatan (mm)				
	2%	4%	6%	8%	10%
<i>Candida albicans</i>	7.33	8.33	7.67	9	9.33
<i>Candida utilis</i>	-	-	-	-	-

<i>M. gypseum</i>	6,3	-	3	-	3,3
-------------------	-----	---	---	---	-----

4.1.3. Uji Aktivitas Antibakteri Umbi, Batang, dan Daun Dahlia (*Dahlia variabilis*) putih dan merah

4.1.3.1. Uji Fitokimia

Dari proses maserasi 306,9 g serbuk halus umbi, 42,6 g serbuk daun, dan 5,6 g serbuk bunga dahlia putih dengan pelarut etanol, diperoleh ekstrak etanol berturut-turut sebanyak 24,8 g, 7,7 g, dan 3,7 g. Dari hasil uji fitokimia diperoleh hasil bahwa umbi dan daun dahlia yang bunganya berwarna merah dan putih positif mengandung fenolik, sedangkan bunganya tidak mengandung fenolik.

4.1.3.2. Uji aktivitas antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol umbi, daun, dan bunga dahlia (*Dahlia variabilis*), dengan konsentrasi 20 dan 40 µl, dapat dilihat pada Tabel 15. pada kadar terkecil, 20 µl, ekstrak etanol umbi, bunga, dan daun dahlia merah menunjukkan aktivitas terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis*, sedangkan terhadap *Escherichia coli* hanya umbinya yang mempunyai aktivitas. Ekstrak etanol umbi dan daun dahlia putih mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, namun tidak untuk bunganya.

Tabel 15. Diameter (mm) hambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak etanol

Variasi Bakteri	Diameter hambatan (mm)					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
	20 µl					
<i>Escherichia coli</i>	-	-	8	8	7	-
<i>Bacillus subtilis</i>	11	8	7	7	7	-
	40 µl					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
	40 µl					
<i>Escherichia coli</i>	9	7	21	7	10	14
<i>Bacillus subtilis</i>	17	8	16	17	21	17

Keterangan:

F1 : Ekstrak etanol bunga dahlia merah

F2 : Ekstrak etanol daun dahlia merah

F3 : Ekstrak etanol umbi dahlia merah

F4 : Ekstrak etanol daun dahlia putih

F5 : Ekstrak etanol umbi dahlia putih

F6 : Ekstrak etanol bunga dahlia putih

4.2. Pembahasan

4.2.1. Ekstraksi dan Uji aktivitas antijamur umbi, batang, dan daun Dahlia merah

Proses ekstraksi sampel dimulai dengan pengeringan di udara terbuka. Sampel tidak boleh terpapar sinar matahari langsung karena sinar matahari dapat merusak struktur senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam sampel. Sebelum diekstraksi, sampel dihaluskan hingga berbentuk serbuk. Hal ini dimaksudkan untuk memperluas permukaan sampel agar kontak antara pelarut dengan sampel semakin luas sehingga proses pelarutan senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel menjadi lebih mudah.

Sebanyak 1,8 kg serbuk halus umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) dimaserasi terlebih dahulu menggunakan pelarut nonpolar yaitu n-heksana. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan senyawa nonpolar yang mungkin ada dalam sampel. Kemudian residu dimaserasi lagi dengan pelarut metanol yang bersifat polar, karena metanol dapat melarutkan hampir semua jenis metabolit sekunder (Gritter, 1991).

Maserasi merupakan metode isolasi yang cocok untuk bagian tumbuhan yang lunak seperti bunga, daun, serat, dan umbi. Maserasi dilakukan setiap 24 jam, dan selanjutnya maserat diultrasonikasi ± 30 menit agar pelarut yang digunakan untuk maserasi dapat larut secara homogen ke dalam maserat. Maserat yang didapat kemudian dikeringkan menggunakan *Rotary evaporator* dan divakum karena tekanan uap pelarut akan menurun dalam keadaan vakum. Hal ini menyebabkan pelarut akan mendidih pada temperatur yang lebih rendah dari titik didihnya sehingga dapat mengurangi kerusakan senyawa termolabil yang ada dalam sampel (Sharp *et al.*, 1989). Dari proses ekstraksi 1,8 kg serbuk halus umbi dahlia tersebut diperoleh ekstrak n-heksana sebanyak 56,8030 gr dan 234,0392 gr ekstrak metanol. Sedangkan dari 520 gram serbuk halus daun dan

batang dahlia merah diperoleh ekstrak n-heksana sebanyak 20,4271 gram dan ekstrak metanol sebanyak 55,1051 gram.

Sebelum dipisahkan dengan kromatografi vakum cair, dilakukan dahulu uji KLT terhadap ekstrak total n-heksana dan metanol umbi Dahlia merah (Tabel 2 dan 3) dan daun dan batang dahlia merah (tabel 9 dan 10) . Proses ini dilakukan untuk mengetahui jenis eluen yang sesuai untuk kromatografi vakum cair dan untuk mengetahui jumlah senyawa yang terdapat dalam ekstrak n-heksana dan metanol tersebut (Gritter, 1991).

Kromatografi vakum cair dilakukan terhadap masing-masing 3 gr ekstrak n-heksana dan ekstrak methanol umbi dahlia merah, serta 9,0420 gram ekstrak n-heksana dan 10,0012 gram ekstrak metanol batang dan daun dahlia merah. Dari tahap ini diharapkan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak dapat dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya. Kolom kromatografi vakum cair dibuat dengan menggunakan silika gel 230-400 mesh tanpa dibasahi pelarut atau dibuat dalam keadaan kering (Hosettmann *et al.*, 1995).

Pemisahan terhadap ekstrak n-heksana umbi dahlia merah dilakukan berdasarkan warna pita filtrat yang ditampung dalam 45 erlenmeyer, kemudian dievaporasi dan diuji KLT. Dari hasil KLT yang dilakukan terhadap hasil kromatografi vakum cair ekstrak n-heksana, diperoleh 6 fraksi yang dikelompokkan berdasarkan harga Rf yang sama. Pada pemisahan ekstrak metanol umbi dahlia merah dilakukan berdasarkan volume sehingga diperoleh 16 erlenmeyer. Setelah dilakukan uji KLT diperoleh 8 fraksi berdasarkan harga Rf yang sama (Tabel 4 dan 5).

Pemisahan terhadap ekstrak n-heksana batang dan daun Dahlia merah dilakukan berdasarkan volume yang ditampung dalam 16 erlenmeyer, kemudian dievaporasi dan diuji KLT. Dari hasil KLT diperoleh 5 fraksi yang dikelompokkan berdasarkan harga Rf yang mendekati sama. Pada pemisahan ekstrak metanol batang dan daun Dahlia merah dilakukan berdasarkan volume sehingga diperoleh 16 erlenmeyer. Setelah dilakukan uji KLT diperoleh 6 fraksi berdasarkan harga Rf yang sama (Tabel 12 dan 13).

Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi agar yang dilakukan terhadap dua jamur uji, yaitu *Mycosporum gipseum* (penyebab panu) dan *Candida albicans* (penyebab keputihan). Pengujian dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol 2%, 4%, 6%, 8% dan 10% yang dilarutkan dalam etanol

absolut. Etanol absolut digunakan sebagai pelarut dari ekstrak-ekstrak tersebut dan sekaligus menjadi kontrol negatifnya. Untuk tiap tahapan kerja ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Masing-masing ekstrak yang telah dilarutkan tersebut selanjutnya diabsorbsikan ke kertas cakram dan dibiarkan hingga kering sebelum diaplikasikan ke media uji.

Aktivitas antijamur ekstrak n-heksana dan metanol umbi *Dahlia variabilis* dapat dilihat dari ukuran diameter daerah hambatan atau zona bening yang terbentuk (Lampiran 5). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol umbi Dahlia merah memiliki aktivitas yang lebih tinggi terhadap *Candida albicans* dan *Candida utilis* dibandingkan ekstrak n-heksannya (Tabel 6 dan 7). Pada konsentrasi 2%, fraksi ketiga ekstrak n-heksana dan fraksi kedua ekstrak metanol masih memperlihatkan aktivitas yang sangat baik dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan diameter hambatan 15 mm dan 17 mm, berturut-turut (Tabel 8 dan 9). Untuk ekstrak n-heksana batang dan daun Dahlia merah, aktivitasnya lebih tinggi terhadap *Candida albicans* dibandingkan *Candida utilis* dan *Microsporum gypseum* (Tabel 13).

Penghambatan pertumbuhan jamur disebabkan oleh terpecahnya metabolisme sel mikroba dengan cara (1) menginaktifkan protein -SH yaitu dengan teroksidasinya tiol menjadi disulfida, (2) penghambatan secara kompetitif aktivitas komponen-komponen sulfidril seperti sistein dan glutathione dengan membentuk ikatan bersama keduanya, (3) atau dengan cara penghambatan nonkompetitif fungsi enzim dengan oksidasi ikatan -SH pada situs alosterik. Aktivitas antijamur ekstrak n-heksana dan metanol tersebut dimungkinkan karena golongan senyawa kimia yang terkandung di dalam umbi dahlia ini memiliki gugus aktif yang cukup banyak, seperti gugus O-H dan gugus aktif lainnya (Suriawiria, 1990).

4.2.2. Uji Aktivitas Antibakteri Umbi, Batang, dan Daun Dahlia putih dan merah

Untuk dahlia merah, ekstrak etanol umbi, bunga, dan daunnya menunjukkan aktivitas terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis*, sedangkan terhadap *Escherichia coli* hanya umbinya yang mempunyai aktivitas. Ekstrak etanol umbi dan daun dahlia putih mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, namun tidak untuk

bunganya. Aktivitas antibakteri ini dimungkinkan oleh adanya kandungan fenolik pada umbi dan daun kedua jenis sampel.

Untuk dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji/ ekstrak masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang strukturnya mengandung banyak peptidoglikan dan relatif sedikit lipid, sementara bakteri Gram negatif lebih banyak mengandung lipid. Apabila dinding sel bakteri telah dirusak maka akan terjadi lisis yang menyebabkan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri yang memiliki tekanan osmotik yang tinggi. Bakteri Gram positif memiliki tekanan osmotik dalam 3-5 kali lebih besar dari bakteri Gram negatif, sehingga lebih mudah mengalami lisis (Aulia, 2007). Tanpa dinding sel, bakteri tidak dapat bertahan dari pengaruh luar dan akan segera mati (Aulia, 2007).