

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Penentuan tanaman daun sirih hijau dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor sertifikat 479/Lab.Bio/B/XII/2023. Hasil determinasi menunjukkan sampel tanaman yang dideterminasi adalah daun sirih hijau dengan nama latin *Piper betle* L. Hasil determinasi sampel penelitian dapat disajikan pada Lampiran 2.

2. Pengumpulan Tanaman

Sampel yang dipakai adalah daun segar dengan warna hijau tua, yang diambil secara *random* di perkebunan Imogiri Timur Km 7.5, Grojogan, Wirokerten, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul, Yogyakarta.

3. Hasil Rebusan Daun Sirih Hijau

Air rebusan daun sirih hijau pada konsentrasi 25% dan 50% (durasi rebusan 10, 20, 30 dan 40 menit) menghasilkan volume yang berbeda. Semakin lama durasi rebusan menunjukan volume yang dihasilkan semakin berkurang. Volume hasil rebusan daun sirih hijau pada masing-masing konsentrasi dan durasi rebusan dapat diamati pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Volume Rebusan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Waktu Rebusan (menit)	Volume Hasil Rebusan (mL)	
	Konsentrasi 25%	Konsentrasi 50%
10	94	89
20	83	69
30	54	53
40	45	43

4. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau, bentuk dan rasa menggunakan panca indra. Hasil uji organoleptik disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik Rebusan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Konsentrasi	Waktu rebusan (menit)	Warna	Bau	Rasa	Bentuk
		Hijau Kecoklatan	Aromatik khas daun sirih hijau	Pedas	
25%	10	+	+	+	Cair
	20	++	++	++	
	30	+++	+++	+++	
	40	++++	++++	++++	
50%	10	+	+	+	
	20	++	++	++	
	30	+++	+++	+++	
	40	++++	++++	++++	

Keterangan

+: Sedikit

++: Sedang

+++ : Kuat

++++ : Sangat kuat

5. Skrining Fitokimia

Tujuan dari Skrining fitokimia ini untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam air rebusan daun sirih hijau. Pengujian mengungkapkan bahwa air rebusan daun sirih hijau mengandung senyawa saponin, tanin, alkaloid, flavonoid dan fenol pada air rebusan daun sirih hijau. Hasil skrining fitokimia disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Air Rebusan Daun Sirih Hijau (Konsentrasi 25%, Durasi Rebusan 10 Menit)

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	-	Positif mengandung alkaloid
	Wagner	+	
	Mayer	+	
Saponin	Aquades	+	Positif mengandung saponin
Tanin	FeCl ₃	+	Positif mengandung tanin
Flavonoid	HCl pekat + Serbuk Mg	+	Positif mengandung flavonoid
Fenol	FeCl ₃	+	Positif mengandung fenol

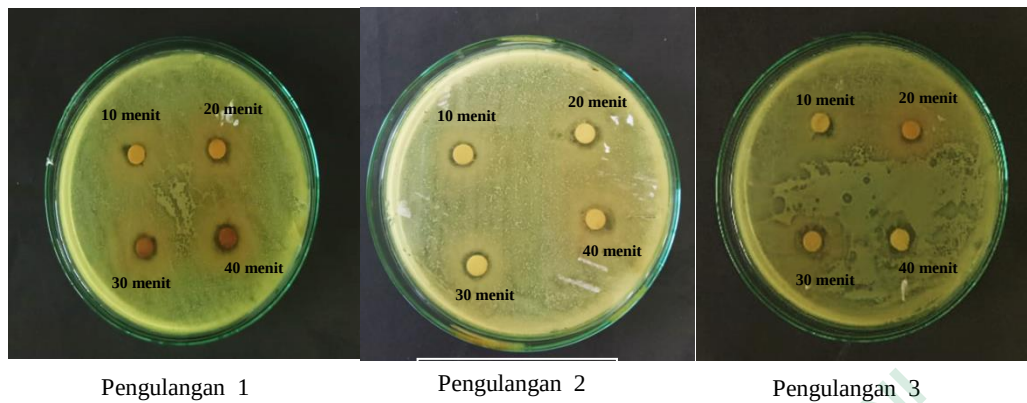
Keterangan :

Positif (+) = Terdapat golongan senyawa uji

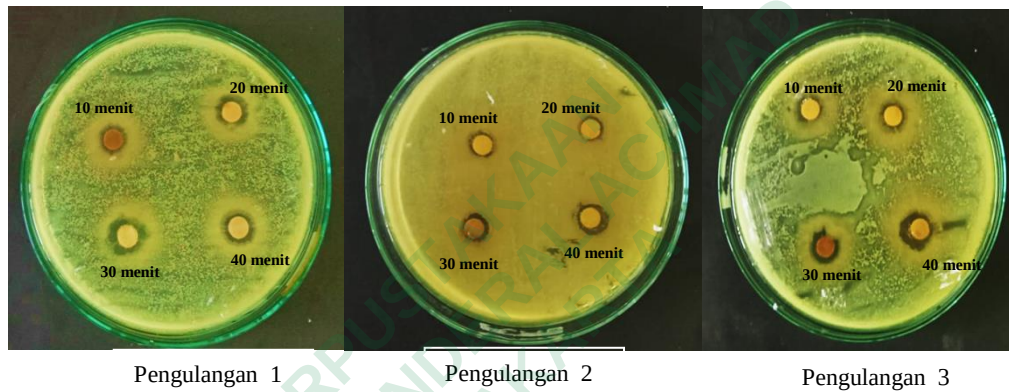
Negatif (-) = Tidak terdapat golongan senyawa uji

6. Uji Aktivitas Antibakteri

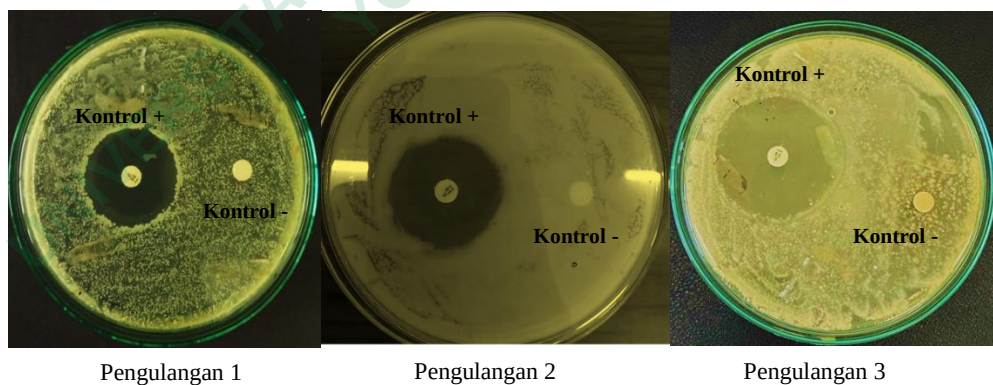
Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram pada dua kelompok uji, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan meliputi rebusan daun sirih hijau pada konsentrasi 25% dan 50% dengan durasi rebusan 10, 20, 30 dan 40 menit, kelompok kontrol meliputi kontrol positif (Kloramfenikol 30µg/disk) dan kontrol negatif (aquades). Zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 disajikan pada Gambar 4, 5 dan 6.



Gambar 4. Zona hambat pada konsentrasi 25%



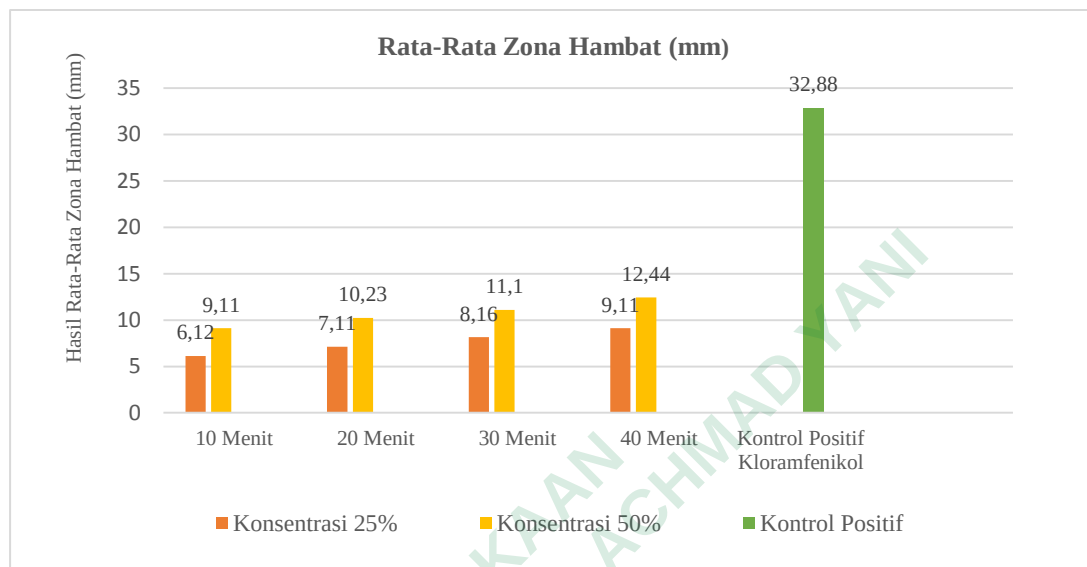
Gambar 5. Zona hambat pada konsentrasi 50%



Gambar 6. Zona Hambat Pada Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Pengamatan zona hambat dilakukan dengan mengukur area bening yang terbentuk disekitar cakram menggunakan jangka sorong secara horizontal, vertikal dan diagonal. Nilai rata-rata zona hambat air rebusan daun sirih hijau

terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ditampilkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Rata-Rata Diameter Zona Hambat Pada Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175

7. Analisis Data

Analisis statistika dilakukan menggunakan software SPSS versi 26 dalam penelitian ini. Tujuan analisis ini untuk membandingkan nilai hasil rata-rata diameter zona hambat yang didapat pada setiap durasi rebusan dan konsentrasi. Hasil analisis statistika disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisis Data Zona Hambat

Konsentrasi	Durasi Rebusan (menit)	Normalitas Shapiro-Wilk	Homogenitas Levene's	One way ANOVA
25%	10	0,191	0,483	0,001
	20	0,258		
	30	0,059		
	40	0,171		
50%	10	0,303	0,739	0,001
	20	0,201		
	30	0,612		
	40	0,713		

B. Pembahasan

Penelitian ini adalah studi eksperimental yang dilakukan di laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh durasi rebusan dan konsentrasi air rebusan daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan menggunakan metode difusi cakram. Penelitian ini diawali dengan melakukan determinasi tanaman yang bertujuan untuk memastikan bahwa jenis tanaman yang digunakan sudah sesuai tepat. Langkah ini diambil untuk mencegah kesalahan dalam pengambilan sampel uji. Hasil menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun sirih hijau dengan nama latin *Piper betle* L.

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode dekok atau rebusan dengan durasi rebusan 10, 20, 30 dan 40 menit. Pemilihan metode rebusan tersebut dikarena metode ini cepat, mudah dan tidak memerlukan pelarut yang banyak. Rebusan merupakan ekstraksi dengan cara panas menggunakan pelarut aquades. Aquades memiliki sifat polar sehingga cocok digunakan untuk menarik kandungan senyawa dalam daun sirih hijau yang memiliki tingkat kepolaran yang sama (Chandra, 2023). Semakin lama durasi rebusan menunjukkan semakin berkurang volume air rebusan yang didapatkan. Hal tersebut dikarenakan semakin lama durasi pemanasan terhadap sampel. Durasi pemanasan akan menyebabkan volume aquades menurun

dikarenakan terjadinya penguapan air. Penguapan air terjadi karena adanya perbedaan tekanan air pada sampel sehingga menyebabkan perpindahan massa air dari sampel ke udara. (Fitriani, 2008).

Proses selanjutnya yaitu uji organoleptik yang meliputi warna, rasa, bau dan bentuk. Hasil rebusan daun sirih hijau menunjukkan air rebusan berwarna hijau kecoklatan, memiliki rasa pedas, berbau aromatik khas daun sirih dan berbentuk cair. Semakin lama durasi rebusan, menunjukkan intensitas warna, bau dan rasa yang semakin kuat. Intensitas bau dan rasa tersebut disebabkan karena kandungan *bethalphenol* dan *kavikol* yang terkandung pada daun sirih hijau (Oktavia *et al.*, 2017). Semakin lama durasi rebusan maka kandungan *bethalphenol* dan *kavikol* yang tersari akan semakin banyak, sehingga intensitas bau dan rasa yang dihasilkan akan semakin kuat. Hasil uji organoleptik ini didukung oleh penelitian Wirahmi *et al.*, (2021) bahwa infusa daun sirih hijau menunjukkan warna hijau kecoklatan, berbau aromatik khas daun sirih hijau dan berbentuk cair.

Skrining fitokimia dilakukan pada sampel untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang diekstraksi dalam air rebusan daun sirih hijau. Uji skrining fitokimia dilakukan pada konsentrasi 25% (durasi rebusan 10 menit). Hal tersebut dikarenakan semakin besar konsentrasi dan semakin lama durasi rebusan maka akan semakin banyak zat aktif yang tersari, sehingga yang digunakan pada pengujian skrining fitokimia yaitu konsentrasi terendah (25%) dengan durasi rebusan tersingkat (10 menit) (Rahayu *et al.*, 2017). Pada penentuan kandungan alkaloid menunjukan bahwa hasil positif ketika air rebusan direaksikan dengan reagen Wagner dan Mayer sedangkan pada penambahan reagen Dragendorff menunjukkan hasil negatif. Penambahan reagen Wagner pada air rebusan menyebabkan terbentuknya endapan merah kecoklatan, hal tersebut disebabkan karena adanya kompleks kalium yang dibentuk oleh ikatan kovalen koordinat antara ion logam K^+ dan nitrogen pada alkaloid hingga terbentuknya endapan merah kecoklatan (Hidayat & Safitri, 2020). Penambahan reagen Mayer pada air rebusan daun sirih hijau membentuk endapan putih. Hal tersebut disebabkan karena atom nitrogen yang

menunjukkan pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion iodum sehingga terbentuknya endapan putih (Simaremare, 2014). Pada penambahan reagen Dragendorff tidak terbentuk endapan di karenakan air rebusan daun sirih hijau memiliki sedikit alkaloid sehingga tidak terbentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ (Simaremare, 2014). Berdasarkan hasil pengujian alkaloid dapat disimpulkan bahwa air rebusan daun sirih hijau positif mengandung alkaloid dikarenakan menunjukkan hasil positif pada penambahan reagen Mayer dan Wagner. Hal tersebut sejalan dengan penelitiannya Liha *et al.*, (2023) dan (Manarisip Ester *et al.*, 2020) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau mengandung alkaloid.

Pada uji kandungan senyawa saponin dapat dilihat dengan terbentuknya buih yang stabil. Hal tersebut disebabkan karena saponin memiliki gugus polar dengan sifat surfaktan alami yang pada saat digojog dengan kuat akan membentuk buih yang stabil (Wardhani & Supartono, 2015). Hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan positif mengandung saponin karena membentuk buih yang stabil selama 10 menit. Hasil yang didapatkan tersebut sejalan dengan studi Hamzah *et al.*, (2021) dan Rahayu *et al.*, (2017) yang menunjukkan bahwa air rebusan daun sirih hijau positif mengandung senyawa saponin.

Penentuan kandungan flavonoid dilakukan dengan menambahkan magnesium dan asam klorida pada air rebusan daun sirih hijau, penambahan tersebut menyebabkan berkurangnya senyawa flavonoid pada sampel dan mengakibatkan larutan berwarna jingga (Hamzah *et al.*, 2021). Hasil pengujian menunjukkan bahwa rebusan daun sirih hijau positif mengandung flavonoid. Hal tersebut didukung oleh penelitian Rahayu *et al.*, (2017) dan Hamzah *et al.*, (2021) bahwa rebusan daun sirih hijau mengandung flavonoid.

Penentuan senyawa tanin pada rebusan daun sirih hijau dilakukan dengan cara menambahkan $FeCl_3$. $FeCl_3$ yang ditambahkan akan bereaksi membentuk gugus fenol sehingga terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Halimu *et al.*, 2020). Hasil ditunjukkan bahwa air rebusan daun sirih hijau positif mengandung senyawa tanin. Hal tersebut sejalan dengan

Rahayu *et al.*, (2017) dan Hamzah *et al.*, (2021) yang pada penelitiannya menunjukkan hasil bahwa air rebusan daun sirih hijau mengandung tannin.

Penentuan kandungan fitokimia senyawa fenol dilakukan dengan cara menambahkan FeCl_3 pada air rebusan daun sirih hijau. Hasil positif menunjukkan dengan terjadi berubah warna pada larutan menjadi biru gelap. Hal tersebut dikarenakan fenol akan membentuk senyawa kompleks dengan senyawa FeCl_3 jika direaksikan (Wardhani & Supartono, 2015). Hasil yang didapatkan ditunjukkan hasil penelitian air rebusan daun sirih hijau positif mengandung fenol. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian yang sudah dilakukan Hamzah *et al.*, (2021) dan Rahayu *et al.*, (2017) bahwa rebusan daun sirih hijau mengandung fenol. Hasil skrining fitokimia menunjukkan rebusan daun sirih hijau mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan fenol. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rahayu *et al.*, (2017) dan Hamzah *et al.*, (2021) bahwa rebusan daun sirih hijau mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan fenol.

Pengujian selanjutnya yaitu uji aktivitas antibakteri rebusan daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Kelompok perlakuan pada penelitian meliputi rebusan daun sirih hijau pada konsentrasi 25% dan 50% dengan durasi rebusan 10, 20, 30 dan 40 menit, kelompok kontrol meliputi kontrol positif (Kloramfenikol $30\mu\text{g}/\text{disk}$) dan kontrol negatif (aquades). Hasil yang didapatkan pada uji aktivitas antibakteri kelompok perlakuan yaitu pada konsentrasi 50% dengan durasi rebusan 20, 30 dan 40 menit menunjukkan kekuatan zona hambat yang kuat, sedangkan pada konsentrasi dan durasi rebusan lainnya menunjukkan kategori sedang. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama durasi rebusan maka akan semakin baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal serupa dibuktikan oleh kajian yang dilakukan Rahayu *et al.*, (2017) bahwa semakin lama durasi rebusan dan semakin besar konsentrasi maka akan semakin luas zona hambat yang terbentuk, semakin kuat kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut

dikarenakan semakin lama durasi rebusan maka zat aktif yang keluar pada saat perebusan daun sirih hijau semakin banyak.

Hasil uji statistika *one way* ANOVA yang dilakukan pada nilai zona hambat yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 menunjukkan hasil adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan. Pada uji lanjutan dapat dilihat bahwa dengan penambahan durasi rebusan selama 10 menit tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (hasil disajikan pada Lampiran 12 dan 13) perbedaan signifikan terlihat pada penambahan durasi rebusan lebih dari 10 menit. Jika dibandingkan dengan kemampuan kloramfenikol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175, air rebusan daun sirih hijau menunjukkan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 yang tidak lebih baik dibandingkan dengan kloramfenikol.

Kloramfenikol memiliki kemampuan menghambat bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 dengan kekuatan zona hambat sangat kuat. Kloramfenikol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan mengganggu enzim peptidil transferase, yang berperan dalam pembentukan ikatan peptida selama sintesis protein pada bakteri. (Jamilah, 2015). Selama obat tetap terikat pada ribosom, pembentukan ikatan peptida akan terus terhalang, sehingga pertumbuhan bakteri akan terganggu (Dian *et al.*, 2015). Kemampuan air rebusan daun sirih hijau untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* ATCC 25175 disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder yang tersari dalam air rebusan daun sirih hijau. Rebusan daun sirih hijau mengandung metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, fenol dan minyak atsiri, dimana beberapa penelitian menunjukkan senyawa tersebut berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (Dwianggraini *et al.*, 2013). Mekanisme tanin dan alkaloid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara menghancurkan membran sel bakteri, sedangkan fenol bekerja dengan menghalangi fungsi sel bakteri dari mikroba pengganggu (Lawarti & Cahyaningrum, 2022). Senyawa lainnya yang terkandung didalam air rebusan

daun sirih hijau yaitu saponin flavonoid dan alkaloid. Saponin dapat mengurangi tegangan permukaan sel, meningkatkan permeabilitas/kebocoran sel, sehingga memungkinkan senyawa intraseluler keluar. Sementara itu, flavonoid dapat menyebabkan perubahan struktur protein dalam sel bakteri dan merusak membran selnya, yang mengakibatkan kematian sel (Hidayatullah & Mourisa, 2023). Oleh karena mekanisme antibakteri yang dimiliki oleh masing-masing metabolit sekunder yang terkandung dalam air rebusan daun sirih hijau, air rebusan daun sirih hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANU
YOGYAKARTA