

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Hasil menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan merupakan seledri (*Apium graveolens* L.) yang dapat dilihat pada Lampiran 2.

2. Persiapan sampel

a. Pembuatan simplisia

Daun dan batang seledri segar masing-masing dikumpulkan sebanyak ± 3 kg dengan memisahkan bagian daun dan batangnya. Untuk menghilangkan kotoran, daun dan batang seledri dicuci. Daun dan batang seledri selanjutnya ditiriskan dan lakukan perajangan dengan memotong kecil bagian daun dan batang seledri untuk memperkecil simplisia dan mempercepat proses pengeringan. Daun dan batang seledri dikeringkan pada suhu 40°C-50°C dalam oven di Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta selama tiga hari. Tujuannya agar menghasilkan simplisia yang tahan lama dan tahan terhadap kerusakan. Saringan 40 mesh digunakan untuk mengayak batang dan daun seledri kering menjadi bubuk halus. Hasil diperoleh serbuk daun sebanyak 401,85 gram dan serbuk batang sebanyak 226,91 gram.

b. Pembuatan Ekstrak

Prosedur maserasi dengan pelarut etanol 70% digunakan untuk membuat ekstrak daun dan batang seledri. Rasio ekstraksi adalah 1:10, dimana serbuk simplisia 200 gram dan pelarut 2000 ml. Maserasi berlangsung selama 3 hari. Setelah perendaman selama 3 hari dilakukan penyaringan dan residu direndam kembali. Filtrat yang didapatkan dari perendaman pertama dan kedua digabungkan untuk diuapkan menggunakan penangas air menggunakan suhu 40°C sampai 50°C

untuk mendapatkan ekstrak kental daun dan batang seledri. Hasil rendemen ekstrak kental dapat dilihat dibawah ini.

Tabel 3. Rendemen Ekstrak Kental Daun dan Batang Seledri

Sampel	Berat Simplisia Serbuk (gram)	Berat Ekstrak (gram)	% Rendemen (b/b)
Ekstrak Daun seledri	200,90	44,46	22,24
Ekstrak Batang seledri	200,88	40,46	20,23

3. Kontrol Kualitas

a. Pemeriksaan Organoleptik

Uji organoleptik pada ekstrak daun dan batang seledri (*Apium graveolens* L.) menggunakan panca indera pada ekstrak untuk menentukan bentuk, warna, aroma, dan rasanya. Hasilnya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik

Uji Organoleptik	Keterangan	
	Ekstrak Daun seledri	Ekstrak Batang seledri
Warna	Hijau tua	Hijau kekuningan
Bentuk	Kental	Kental
Aroma	Khas	Khas
Rasa	Pahit	Pahit

Berdasarkan hasil pemeriksaan organoleptik ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) sudah sebanding dengan literatur Farmakope Herbal Indonesia (FHI) tahun 2017, yaitu mempunyai karakteristik berwarna hijau tua, bentuk ekstrak kental, memiliki rasa pahit dan beraroma khas. Hasil uji organoleptik pada ekstrak batang seledri sudah sesuai literatur menurut Fajriyah & Qulub, (2018) yaitu berwarna hijau kekuningan, beraroma khas, bentuk ekstrak kental, dan memiliki rasa pahit.

b. Skrining Fitokimia

Hasil menunjukkan ekstrak daun dan batang seledri mengandung flavonoid, tanin, dan saponin, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Skrining Fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil	
		Ekstrak daun	Ekstrak batang
Alkaloid	Mayer	-	-
	Dragendorff	+	+
	Wagner	-	-
Flavonoid	Mg + HCl	+	+
Saponin	Akuades + HCl 2N	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+
Steroid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	-	-
Terpenoid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	-	-

Keterangan :

(+): Senyawa metabolit sekunder memberikan hasil yang baik.

(-): Senyawa metabolit sekunder memberikan hasil kurang baik

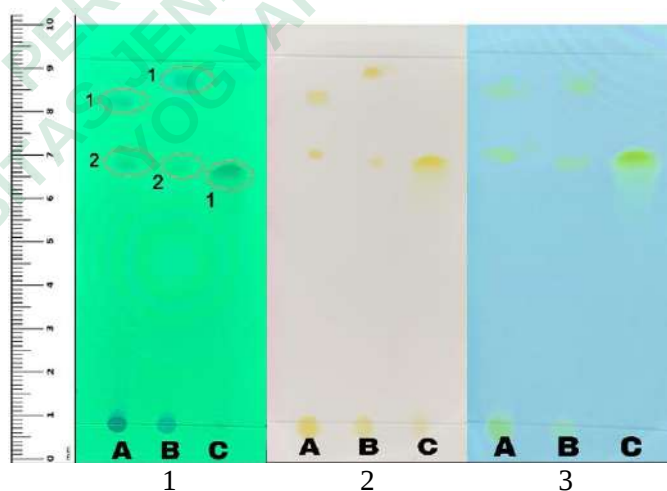
c. Identifikasi golongan senyawa dengan metode KLT

Ada tidaknya kandungan flavonoid pada daun dan batang seledri adalah tujuan dari pengujian ini. Pembanding yang digunakan yaitu larutan standar kuersetin 0,1%. Plat silika GF 254 berukuran 10 x 4 cm, dengan garis atas dan bawah 1 cm. Tabel 6 menunjukkan hasil dari berbagai jenis optimasi fase gerak. Tahap pertama adalah menentukan fase gerak mana yang akan menghasilkan pemisahan terbaik.

Tabel 6. Optimasi Fase Gerak

No	Fase gerak	Hasil
1	Kloroform : metanol (8:2)	Standar terelusi dan sampel tidak terelusi sehingga tidak terjadi pemisahan
2	Kloroform : etil asetat (7:3)	Standar terelusi dan sampel tidak terelusi sehingga tidak terjadi pemisahan
3	Kloroform : metanol (7:3)	Standar dan sampel terelusi namun terjadi tailing pada sampel
4	Kloroform : metanol : etil asetat (3:5:2)	Standar terelusi dan sampel tidak terelusi sehingga tidak terjadi pemisahan
5	n-heksan : etil asetat (3:7)	Standar dan sampel terelusi dan terjadi pemisahan dengan baik

n-heksan:etil asetat (3:7) dipilih berdasarkan hasil dari optimasi fase gerak karena menghasilkan pemisahan yang optimal. Hasil pemisahan senyawa ditampilkan pada Gambar 6. Berdasarkan hasil dari optimasi fase gerak maka n-heksan:etil asetat (3:7) dipilih karena membentuk pemisahan yang optimal. Hasil pemisahan senyawa dapat dicermati pada Gambar 6.

**Gambar 6. Hasil Uji KLT**

Keterangan: (1) Deteksi dengan UV 254 nanometer; (2) Setelah di semprot AlCl_3 ; (3) Deteksi dengan UV 365 nanometer. (A) Ekstrak Batang Seledri; (B) Ekstrak Daun Seledri; (C) Standar kuersetin 0,1%

Hasil menunjukkan noda yang jelas berwarna kuning pudar pada keduanya, seperti pada Gambar 6. Hal tersebut menunjukkan positif

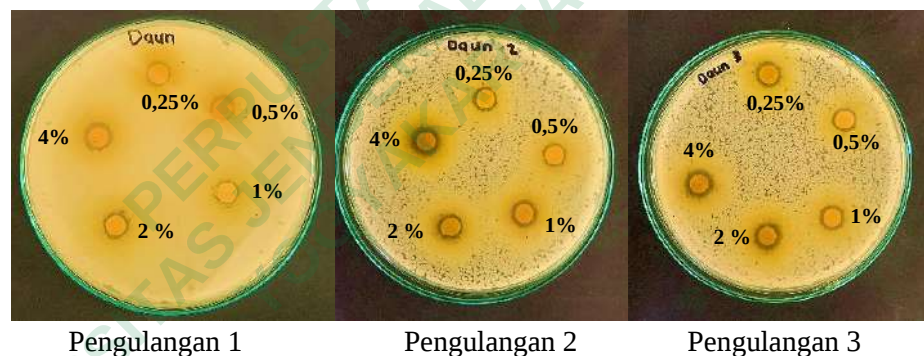
mengandung flavonoid (Koirewoa *et al.*, 2012). Data yang diperoleh dihitung nilai Rf nya menggunakan rumus Rf. Hasil perhitungan nilai Rf dari bercak noda pada Tabel 7.

Tabel 7. Nilai Rf pada Uji KLT Senyawa Flavonoid

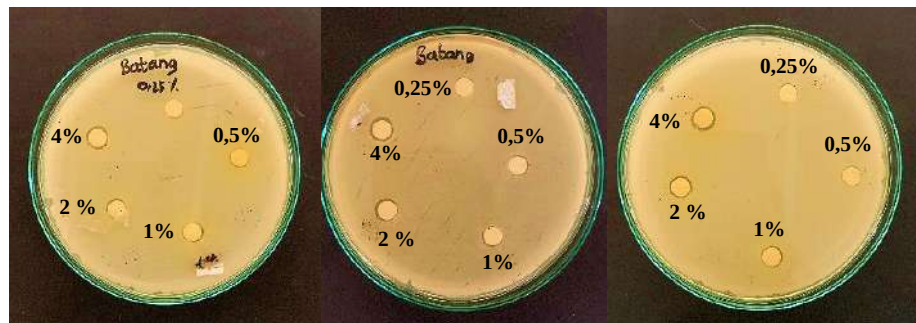
Bercak		Nilai Rf		Standar Kuersetin 0,1%	Literatur (Mustapa <i>et al.</i> , 2019)
Ekstrak Sampel					
	Daun Seledri	Batang Seledri			
Bercak 1	0,96	0,90		0,70	0,69-0,80
Bercak 2	0,70	0,72			

4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak dibuat dalam jumlah banyak menggunakan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2% dan 4%. 10%. Kloramfenikol 30 µg berperan sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Temuan zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* disajikan dalam dibawah ini.



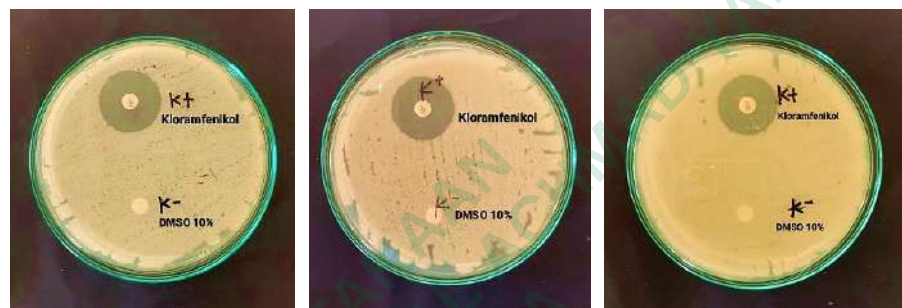
Gambar 7. Zona Hambat Ekstrak Daun Seledri



Pengulangan 1

Pengulangan 2

Pengulangan 3

Gambar 8. Zona Hambat Ekstrak Batang Seledri

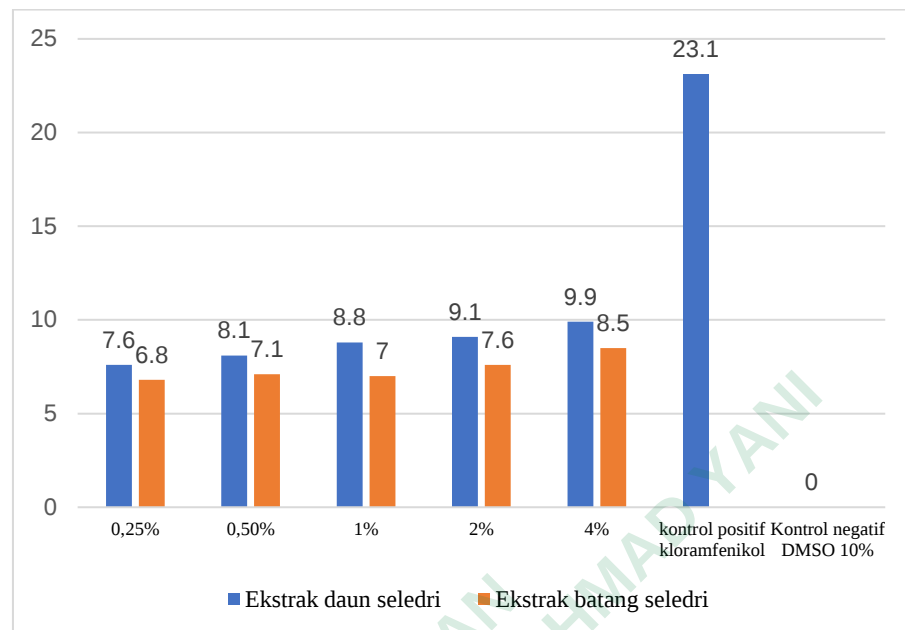
Pengulangan 1

Pengulangan 2

Pengulangan 3

Gambar 9. Zona Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Rata-rata diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Rata-rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Dan Batang Seledri

Ekstrak daun dan batang seledri dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, dan 4% mampu menghambat perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam klasifikasi sedang, sesuai hasil diameter zona hambat pada Tabel 8.

5. Analisis Data

Pemrograman SPSS versi 29 dipakai untuk melakukan analisis statistik terhadap data yang dikumpulkan dari diameter zona hambat dalam percobaan ini. Tujuannya adalah untuk membandingkan konsentrasi setiap sampel bakteri uji. Analisis data awal yaitu uji normalitas, dilanjutkan dengan uji homogenitas. Tabel 8 menampilkan temuan analisis zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk setiap variasi konsentrasi.

Tabel 8. Hasil Analisis Data Statistik Zona Hambat Kelompok Perlakuan Dan Kontrol

Kelompok	Konsentrasi	Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	Homogenitas <i>Levene's</i>	<i>Kruskal Wallis</i>
Daun	0,25%	0,174	0,045	0,184
	0,5%	0,001		
	1%	0,150		
	2%	0,241		
	4%	0,100		
Batang	0,25%	0,328		
	0,5%	0,220		
	1%	0,497		
	2%	0,890		
	4%	0,463		
Kontrol positif (kloramfenikol 30 µg)		0,497		

Temuan metode uji Normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan distribusi data zona hambat daun dan batang seledri normal ($\text{sig} > 0,05$). Namun terdapat distribusi konsentrasi 0,5% pada daun seledri yang tidak normal ($\text{sig} < 0,05$). Dengan metode uji *Levene's*, uji homogenitas menunjukkan bahwa seluruh data tidak homogen ($\text{sig} < 0,05$). Uji *Kruskal-Wallis* digunakan selanjutnya karena data tidak terdistribusi secara teratur. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata ($\text{sig} > 0,05$) pada konsentrasi berapapun. Jika nilai signya kurang dari 0,05 maka data tersebut dianggap signifikan.

B. Pembahasan

Penelitian ini membandingkan efektivitas antibakteri menggunakan desain eksperimental laboratorium. Penentuan tanaman adalah langkah pertama dalam penyelidikan ini. Untuk menjamin validitas sampel yang digunakan dalam penelitian maka dilakukan determinasi (Ekayani *et al.*, 2021).

Pada masing-masing ekstrak dilakukan pengujian organoleptik terlebih dahulu dengan hasil pada ekstrak daun seledri berwarna hijau tua, bentuk kental, aroma khas, dan rasa pahit. Sedangkan pada ekstrak batang seledri menunjukkan warna hijau kekuningan, bentuk kental, aroma khas, dan rasa pahit. Berdasarkan hasil pemeriksaan organoleptik ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) sudah sesuai dengan literatur Farmakope Herbal Indonesia (FHI) tahun 2017, yaitu mempunyai karakteristik berwarna hijau tua, bentuk ekstrak kental, memiliki rasa pahit dan beraroma khas. Hasil uji organoleptik pada ekstrak batang seledri sudah sesuai literatur menurut Fajriyah & Qulub, (2018) yaitu berwarna hijau kekuningan, beraroma khas, bentuk ekstrak kental, dan memiliki rasa pahit.

Setelah itu proses skrining fitokimia untuk menemukan kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak batang dan daun seledri. Proses ini melibatkan pengujian terpenoid, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan tanin. Alkaloid, steroid, dan terpenoid memberikan hasil negatif dari proses penyaringan fitokimia, namun flavonoid, tanin, dan saponin ditemukan pada ekstrak daun seledri dan ekstrak batang. Penelitian sebelumnya mengenai skrining fitokimia, termasuk yang dilakukan oleh Shinta Kusuma & Riyanto (2018) melaporkan bahwa ekstrak seledri mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Pada penelitian tersebut hanya menggunakan ekstrak seledri sedangkan pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun dan ekstrak batang seledri.

Dalam memperkuat adanya senyawa flavonoid pada ekstrak daun dan ekstrak batang seledri maka dilakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung di dalam ekstrak, tetapi pada penelitian ini hanya difokuskan untuk senyawa flavonoid. Penelitian terdahulu Fitriana *et al.*, (2021) untuk pengujian KLT memperoleh hasil yang positif pada golongan fenol yang bisa digunakan sebagai

antibakteri. Hasil pengujian KLT menunjukkan adanya dua noda yang muncul pada pengamatan menggunakan UV 254 nm dan 365 nm. Kedua noda tersebut memiliki nilai R_f yang berurutan yaitu pada ekstrak daun seledri (0,96), (0,70) dan pada ekstrak batang seledri (0,90), (0,72). Pada penelitian yang dilakukan didapatkan nilai R_f kuersetin 0,70, sampel mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan bercak yang sejajar dengan standar yang digunakan yaitu kuersetin, maka bercak yang mendekati kuersetin yaitu bercak 2. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan daun dan batang seledri mengandung kuersetin golongan flavonoid yang berpotensi sebagai antibakteri. Kejenuhan bejana, jumlah cuplikan yang digunakan, suhu dan struktur senyawa yang dipisahkan memengaruhi nilai R_f (Kusnadi & Devi, 2017).

Setelah melakukan uji skrining fitokimia dan KLT, uji aktivitas antibakteri adalah langkah selanjutnya. Tujuan dari uji aktivitas antibakteri adalah untuk mengevaluasi seberapa baik ekstrak daun dan batang seledri dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pelarut DMSO 10% digunakan untuk membuat larutan uji ekstrak daun dan batang seledri, dengan masing-masing konsentrasi. Hasil rata-rata zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditunjukkan pada Gambar 10, dimana aktivitas antibakteri ekstrak daun ditunjukkan dengan urutan sebagai berikut: 7,6; 8,1; 8,8; 9,1; dan 9,9 dalam satuan mm. Setelah itu hasil pengukuran batang seledri adalah 6,8; 7,1; 7,0; dan 7,6 dalam satuan mm secara berurutan. Kekuatan zona hambat dari semua konsentrasi termasuk dalam kategori sedang (6-10 mm). Ukuran diameter zona hambat dapat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak daun dan ekstrak batang seledri. Menurut penelitian Daud *et al.*, (2023), semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi zona bening atau daya hambatnya. Pada penelitian ini, teori ini tidak sejalan dengan hasil penelitian yang diperoleh. Hasil penelitian pada ekstrak batang seledri konsentrasi 1% menunjukkan adanya penurunan ukuran diameter zona hambat. Hal ini sejalan dengan penelitian Shinta (2021), yang menunjukkan konsentrasi yang tinggi mengalami penurunan ukuran diameter zona hambat. Konsentrasi paling efektif di penelitian ini terdapat pada konsentrasi 4% dan ekstrak daun seledri lebih efektif dibandingkan dengan batang seledri.

Data zona hambat antibakteri kemudian dianalisis statistik menggunakan SPSS versi 29. Karena data tidak homogen dan tidak normal ($\text{sig} < 0,05$), data zona hambat daun dan batang seledri pada kelompok kontrol dianalisis menggunakan Test *Kruskal-Wallis*. Temuan uji *Kruskal-Wallis* tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($\text{sig} > 0,05$) pada seluruh data. Uji *Post Hoc* dilakukan sebagai uji perbandingan dengan menggunakan uji *Tukey* untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Hasil uji *Post Hoc* tergolong signifikan apabila nilai yang diperoleh berada pada kolom yang berbeda. Demikian pula temuan yang berada pada kotak yang sama atau tidak berbeda secara statistik diklasifikasikan sebagai tidak signifikan. Perbandingan daun dan batang seledri dengan kelompok kontrol berada pada kolom tersendiri menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata, berdasarkan hasil uji *Post Hoc*. Temuan ini menunjukkan bahwa zona hambat ekstrak batang dan daun seledri berbeda dengan kontrol positif dan negatif yang digunakan. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kontrol positif menggunakan kloramfenikol mendapatkan rata-rata zona hambat 23,1 mm dengan kategori sangat kuat. Prinsip kerja antibiotik kloramfenikol dalam mematikan bakteri adalah dengan cara mengganggu proses sintesis protein (Rismawati, 2018).

Pada penelitian Gustiana (2022), ekstrak etanol daun seledri menunjukkan daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%; dan 100%. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Nurdiansyah, menyatakan bahwa ekstrak batang seledri menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 12,5%; 15%; 25%, 75%; dan 100%. Dapat dilihat pada Gambar 10, rata-rata zona hambat bakteri yang terbentuk pada setiap replikasi bervariasi. Kepekaan pertumbuhan bakteri, reaksi antara zat aktif dan medium, dan suhu inkubasi adalah beberapa faktor yang dapat memengaruhi pembentukan zona hambat. Perbedaan zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan besar atau kecil konsentrasi atau kandungan zat aktif antibakteri di dalamnya (Lestari *et al.*, 2016). Aktivitas penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak daun dan batang seledri dapat disebabkan karena adanya senyawa flavonoid, tanin, dan saponin pada ekstrak daun dan batang

seledri (Florentina Yohana *et al.*, 2022). Hal tersebut sejalan dengan hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak daun dan ekstrak batang seledri mendapatkan hasil positif mengandung flavonoid, tanin, dan saponin.

Sifat flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat metabolisme bakteri, fungsi membran sitoplasma, dan produksi asam nukleat (Manik *et al.*, 2014). Tanin menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, yang mencegah pertumbuhan bakteri, dengan bersentuhan dengan membran sel, menonaktifkan enzim, dan menonaktifkan aktivitas materi genetik (Rijayanti, 2014). Denaturasi protein merupakan cara kerja saponin sebagai antibakteri. Karena permukaan bahan aktif saponin menyerupai deterjen maka saponin digunakan sebagai antibakteri dalam situasi dimana permeabilitas membran bakteri terganggu dan tegangan permukaan dinding sel bakteri menurun (Sudarmi *et al.*, 2017).