

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi tanaman kayu putih

Berdasarkan surat keterangan nomor 266/Lab.Bio/B/V/2024 dari kepala Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan menunjukkan bahwa tanaman tersebut benar *Melaleuca leucadendra* (L.)

2. Persiapan sampel

Sampel yang diambil yaitu sebanyak 2.000 gram. Pencucian dilakukan agar kotoran pada permukaan daun terbawa air sehingga tidak menempel kembali ke daun kayu putih yang telah dibersihkan. Daun kayu putih dikeringkan dengan oven suhu 45°C, alasan menggunakan oven karena oven lebih baik untuk kandungan fitokimia simplisia, karena suhu yang digunakan dapat dimonitor agar tetap stabil dan dapat diselesaikan dengan cepat (Warnis et al., 2020). Suhu yang baik untuk pengeringan tidak lebih dari 60°C, karena dapat menyebabkan perubahan senyawa dalam tanaman (Widayanti et al., 2023). Daun kayu putih yang telah kering yaitu sebanyak 670 gram kemudian dihaluskan menggunakan grinder, didapatkan serbuk simplisia sebanyak 468,99 gram.

3. Pembuatan ekstrak daun kayu putih

Dilakukan perhitungan nilai rendemen ekstrak yang didapatkan agar diketahui berapa banyak ekstrak yang dihasilkan saat maserasi. Hasil nilai rendemen dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Rendemen

Berat ekstrak (gram)	Hasil rendemen % (b/b)
92,99	23,24

Berdasarkan Tabel 3, ekstrak etanol daun kayu putih mempunyai rendemen sebesar 23,24%, hasil tersebut memenuhi persyaratan karena tidak kurang dari 10%.

4. Kontrol kualitas ekstrak etanol daun kayu putih

a. Uji organoleptik

Dilakukan pengamatan uji organoleptik menggunakan indra manusia, pengamatan berupa warna, bentuk serta aroma. Hasil uji organoleptik dapat di lihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih

Pengamatan	Hasil
Warna	Coklat kehitaman
Bentuk	Kental
Aroma	Khas

Tabel 4 menunjukkan hasil uji organoleptik yaitu berwarna coklat kehitaman, berbentuk kental dan beraroma khas daun kayu putih.

b. Uji fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih

Uji fitokimia	Hasil	Keterangan
Uji alkaloid Pereaksi mayer	Tidak terbentuk endapan putih	Negatif
Uji alkaloid Pereaksi wagner	Tidak terbentuk endapan coklat	Negatif
Uji alkaloid Pereaksi dagendroff	Tidak terbentuk endapan jingga	Negatif
Uji flavonoid	Terjadi perubahan warna menjadi jingga	Positif
Saponin	Terbentuknya busa yang stabil	Positif
Tanin	Terjadi perubahan warna menjadi hitam	Positif
Terpenoid	Terjadi perubahan warna menjadi merah	Positif

Tabel 5 menunjukkan hasil uji fitokimia yaitu, ekstrak etanol daun kayu putih mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin serta terpenoid.

5. Uji aktivitas antibakteri

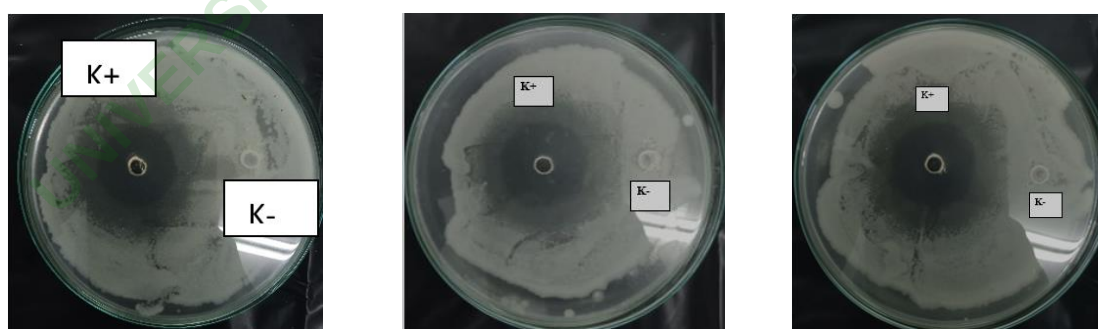
Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Kayu Putih Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 6919

No	Sampel	Konsentrasi (%)	Rata-rata (mm) $\pm$ SD	Daya hambat
1	Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih	25	18,31 $\pm$ 0,55	Kuat
		50	19,58 $\pm$ 0,60	Kuat
		75	22,35 $\pm$ 1,42	Sangat kuat
		100	23,76 $\pm$ 0,32	Sangat kuat
2	Kontrol Positif: Klindamisin	0,03	25,84 $\pm$ 1,05	Sangat kuat
3	Kontrol Negatif: DMSO	10	0	Tidak terbentuk zona hambat

Tabel 6 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kayu putih memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter zona hambat terkecil terlihat pada konsentrasi 25%.

Hasil uji berupa zona bening pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol terhadap *Propionibacterium acnes* dapat dilihat pada Gambar 6 dan Gambar 7.

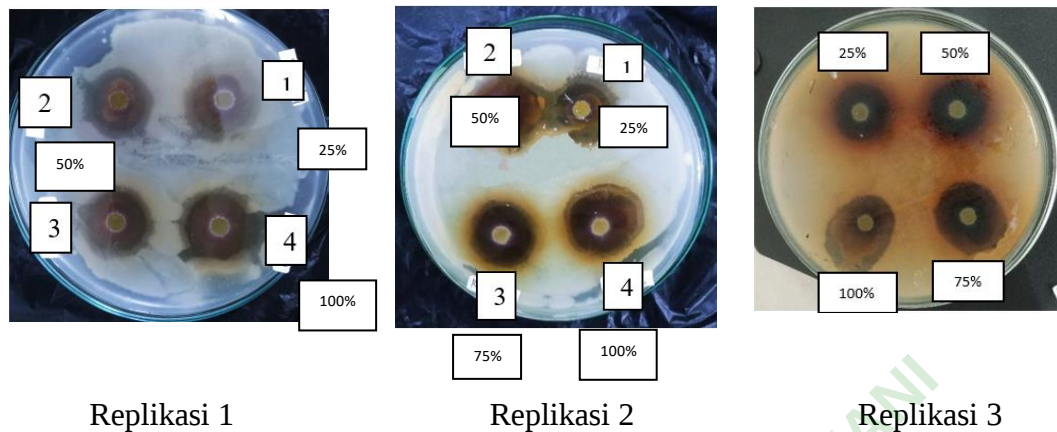


Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3

Gambar 6. Diameter Zona Hambat Kontrol



Gambar 7. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih

6. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan SPSS. Data yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Analisis Statistik Menggunakan SPSS

Kelompok perlakuan	Konsentrasi (%)	Uji Normalitas (Shapiro-wilk)	Uji homogenitas	One-Way ANOVA
Ekstrak etanol daun kayu putih	25	0,761	0,281	0,000
	50	0,726		
	75	0,938		
	100	0,298		
K. positif	0,03	0,200		
K. negatif	-	-		

Dari Tabel 7, diketahui bahwa nilai sig yaitu 0,000 menunjukkan nilai sig <0,05 yang berarti terdapat perbedaan diameter zona hambat yang bermakna antar kelompok perlakuan.

B. Pembahasan

Persiapan sampel dimulai dari determinasi tanaman kayu putih, determinasi dilakukan agar tidak adanya kesalahan saat pengambilan sampel, hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diambil termasuk dalam jenis *Melaleuca leucadendra* L. Metode ekstraksi yang diterapkan dalam membuat

ekstrak etanol daun kayu putih yaitu maserasi, digunakannya metode maserasi agar mencegah senyawa-senyawa yang mudah rusak akibat panas (Mukhriani, 2014). Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena bersifat lebih polar, sehingga diharapkan zat aktif terekstraksi dengan baik. Diperoleh ekstrak kental yaitu 92,99 gram, dengan hasil rendemen yaitu 23,24%. Hasil rendemen suatu sampel berhubungan dengan banyaknya zat aktif dalam suatu sampel, jika nilai rendemen tinggi, maka zat aktif dalam sampel juga akan tinggi. Nilai rendemen dinyatakan baik jika >10% (Subaryanti *et al.*, 2022).

Proses selanjutnya yaitu uji fitokimia, penambahan HCl pada identifikasi alkaloid agar terbentuk garam alkaloid. Penambahan reagen *Mayer* agar ion logam K^+ dari $K_2 [Hg I_4]$ bereaksi dengan N_2 pada alkaloid yang akan menjadi kompleks kalium-alkaloid dan terbentuk endapan. Pereaksi *Dragendorff* terdiri dari bismut nitrat yang bereaksi dengan kalium iodida dan menyebabkan terbentuknya bismut (III) iodida yang mengendap, lalu larut dalam kalium iodida dan menjadi kompleks kalium tetraiodobismutat yang mengendap (Dewi *et al.*, 2021). Hasil didapatkan sampel negatif mengandung alkaloid, karena tidak terbentuk endapan berwarna putih, coklat maupun jingga. Adapun hasil penelitian oleh Setyowati *et al.* (2019) ekstrak etanol daun kayu putih mengandung alkaloid, hasil identifikasi alkaloid negatif mungkin bisa disebabkan karena senyawa tidak terekstraksi dengan sempurna karena pengadukan yang kurang optimal atau penyimpanan yang kurang baik pada saat proses maserasi. Tetapi hal ini sejalan dengan penelitian Qolbi & Yuliani (2018) ekstrak etanol daun kayu putih negatif alkaloid.

Hasil dari identifikasi senyawa flavonoid positif karena adanya perubahan warna menjadi jingga. Fungsi penambahan serbuk Mg dengan HCL pekat pada uji flavonoid agar inti benzopiron flavonoid tereduksi dan membentuk garam flavilium. Mg dan HCL akan bereaksi dan membentuk gelembung (hidrogen) (Dewi *et al.*, 2021). Hal tersebut sejalan oleh penelitian Qolbi & Yuliani (2018) ekstrak etanol daun kayu putih positif flavonoid. Mekanisme antibakteri flavonoid yaitu dengan menyebabkan gangguan fungsi dinding sel peptidoglikan bakteri, dimana dinding sel pada bakteri berfungsi

sebagai pelindung dari lisis osmotik sehingga jika fungsi dinding sel terganggu maka akan menyebabkan kematian pada sel bakteri (Fitriani & Nashihah, 2021)

Hasil identifikasi senyawa saponin positif karena adanya buih yang stabil setelah dikocok. Penambahan HCl 2N pada identifikasi saponin dimaksudkan agar kepolaran meningkat, sehingga gugus hidrofilik mempunyai ikatan yang lebih kuat dan buih yang terbentuk akan menjadi stabil (Dewi *et al.*, 2021). Hasil identifikasi senyawa saponin positif karena adanya buih yang stabil setelah dikocok. Penambahan HCl 2N pada identifikasi saponin dimaksudkan agar kepolaran meningkat, sehingga gugus hidrofilik mempunyai ikatan yang lebih kuat dan buih yang terbentuk akan menjadi stabil (Fitriani & Nashihah, 2021).

Hasil identifikasi tanin positif dengan berubahnya warna menjadi biru kehitaman. Pereaksi FeCl_3 pada identifikasi tanin menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dengan ion Fe^{3+} , sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi biru kehitaman (Datu *et al.*, 2021). Hal ini selaras dengan penelitian oleh Qolbi & Yuliani (2018) yaitu positif tanin. Tanin bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang mengakibatkan turunnya tegangan permukaan, menyebabkan meningkatnya permeabilitas bakteri sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri dan terjadi kematian sel (Fitriani & Nashihah, 2021).

Hasil identifikasi senyawa steroid dan terpenoid yaitu positif terpenoid, karena berubahnya warna menjadi merah. Penambahan CH_3COOH dan H_2SO_4 pada identifikasi terpenoid akan berikatan dengan senyawa terpenoid/steroid dan menghasilkan reaksi perubahan warna (Agustina *et al.*, 2017). Hal ini sama dengan penelitian Qolbi & Yuliani (2018) sampel positif terpenoid. Mekanisme antibakteri terpenoid yaitu terpenoid akan bereaksi dengan protein transmembrane pada membran luar dinding sel bakteri, sehingga terbentuk ikatan polimer yang kuat yang menyebabkan rusaknya protein transmembran, menurunkan permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau mati karena kurangnya nutrisi pada sel bakteri (Wulansari *et al.*, 2020).

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran, metode sumuran digunakan karena isolat beraktivitas hingga kebawah permukaan (Retnaningsih *et al.*, 2019). Penggunaan DMSO sebagai kontrol negatif karena tidak adanya aktivitas antibakteri sehingga tidak memengaruhi hasil pengamatan. Klindamisin digunakan untuk kontrol positif karena klindamisin adalah golongan antibiotik yang paling banyak digunakan sebagai penanganan jerawat (Fitriani & Nashihah, 2021). Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa klindamisin membentuk zona hambat sebesar 25,84 mm, hasil dari DMSO 10% tidak terbentuknya zona bening. Pada penelitian Marselia *et.al* (2015) penggunaan DMSO 10% terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* juga tidak terbentuk zona zona bening, membuktikan bahwa DMSO 10% tidak mempunyai aktivitas antibakteri.

Pada Tabel 6. Hasil rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% berturut-turut yaitu 18,31 mm; 19,58 mm; 22,35 mm dan 23,76 mm, ekstrak etanol daun kayu putih mempunyai daya hambat kategori kuat untuk konsentrasi 25%, 50% dan sangat kuat untuk konsentrasi 75%, 100%. Pada penelitian Hakim *et.al* (2019) pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80% dan 100% menunjukkan zona hambat berturut-turut sebesar 17mm; 18,1 mm; 19,1 mm; 19,4 mm; 19,7 mm; dan 20,1 mm, maka semakin besar konsentrasi, semakin besar juga daya hambat yang dihasilkan.

Adapun beberapa hal yang dapat memengaruhi aktivitas antibakteri seperti tingkat konsentrasi ekstrak, kandungan dari senyawa metabolit dalam sampel, dan jenis bakteri yang diuji. Hasil penelitian menunjukkan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka daya hambat yang dihasilkan akan semakin besar. Aktivitas antibakteri juga dapat dipengaruhi oleh struktur dinding sel, bakteri *Propionibacterium acnes* termasuk bakteri Gram positif yang tidak memiliki lapisan lipopolisakarida pada dinding selnya, sehingga lebih rentan terhadap senyawa antibakteri, karena fungsi lipopolisakarida adalah sebagai penghalang masuknya senyawa antibakteri (Sunny *et al.*, 2015).

Data dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*. Diperoleh hasil untuk nilai normalitas yaitu $>0,05$ sehingga dinyatakan terdistribusi normal, untuk uji homogenitas, hasil yang diperoleh yaitu 0,281 yang menunjukkan bahwa hasil

data dari penelitian homogen, kemudian dilakukan uji *One Way Anova* diperoleh nilai $\text{sig.} 0,000 < 0,05$ yang berarti antar konsentrasi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol memiliki perbedaan yang signifikan.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA