

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Determinasi kayu secang yang dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor /Lab.Bio/B/V/2025. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

2. Persiapan Sampel Tanaman

Kayu secang yang digunakan yaitu kayu secang yang dipanen pada usia 3-4 tahun yang diperoleh dari Shafulana Atsiri yang berlokasi di Kebonsungu 1, Dlingo Kecamatan Dlingo, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Hasil pengeringan kayu secang dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Lampiran 5**.

Tabel 3. Hasil pengeringan kayu secang

Kayu secang segar	Kayu secang kering
1 kg	430 gram

3. Hasil Rebusan Kayu Secang

Air rebusan konsentrasi 50% dengan masing-masing durasi rebusan (10, 20, 30, dan 40 menit) menghasilkan volume yang berbeda. Semakin lama durasi rebusan, volume yang dihasilkan semakin berkurang. Volume hasil rebusan kayu secang dengan konsentrasi 50% dapat dilihat pada **Tabel 4** dan **Lampiran 5**.

Tabel 4. Hasil Volume Rebusan Kayu Secang

Konsentrasi	Waktu Rebusan (menit)	Volume Hasil Rebusan (mL)
50%	10	12
	20	11
	30	10
	40	8

4. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara mengamati warna, bentuk, dan aroma. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Lampiran 5**.

Tabel 5. Uji Organoleptik Rebusan Kayu Secang

Konsentrasi	Waktu Rebusan (menit)	Warna	Bau	Bentuk	Referensi (Leswara <i>et al.</i> , 2024) Warna, Bau dan Bentuk
		Merah pekat	Aromatik khas secang		
50%	10	+	+	Cair	+
	20	++	++		++
	30	+++	+++		+++
	40	++++	++++		++++

Keterangan

- + : Sedikit
- ++ : Sedang
- +++ : Kuat
- ++++ : Sangat kuat

5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode uji yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada rebusan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin. Hasil skrining fitokimia rebusan kayu secang dapat dilihat pada **Tabel 6** dan **Lampiran 4**.

Tabel 6. Uji Skrining Fitokimia Kayu Secang Konsentrasi 50%

Senyawa	Pereaksi	Waktu Rebusan (menit)				Referensi (Leswara <i>et al.</i> , 2024)
		10	20	30	40	
Alkaloid	Dragendorff	-	-	-	-	-
	Wagner	-	-	-	-	-
	Mayer	-	-	-	-	-
Flavonoid	HCL pekat +Serbuk Mg	+	+	+	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+	+	+	+
Saponin	Akuades	+	+	+	+	+

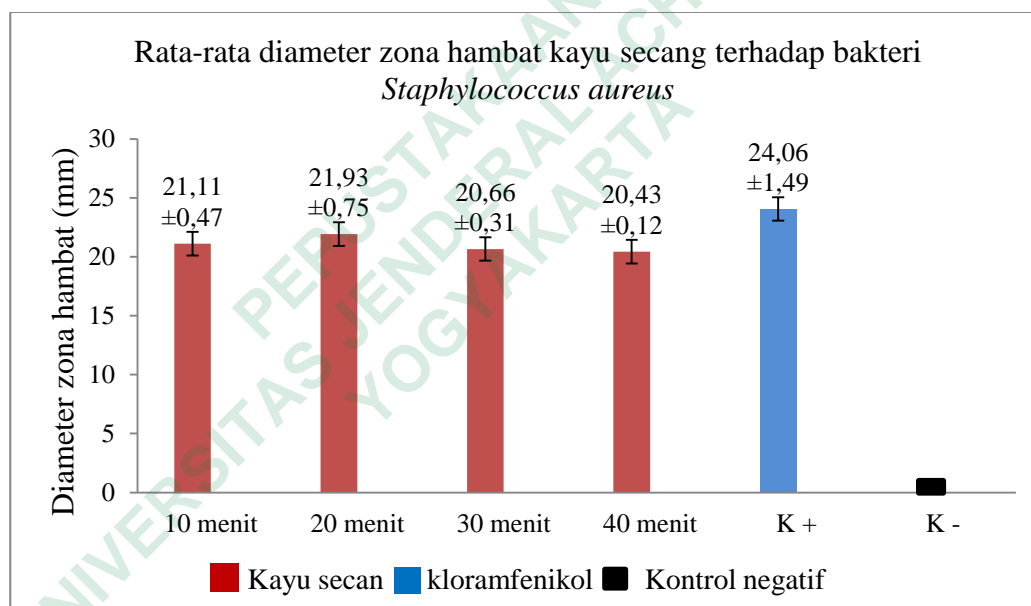
Keterangan

Positif (+) = Terdapat golongan senyawa uji

Negatif (-) = Tidak terdapat golongan senyawa uji

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Pada uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan rebusan kayu secang dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Rebusan kayu secang dengan konsentrasi 50% dibuat dalam beberapa durasi waktu rebusan yaitu 10, 20, 30, dan 40 menit. Kontrol positif yang digunakan yaitu kertas cakram Kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan kertas cakram kosong. Hasil zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Hasil rata-rata zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Keterangan:

K+ : Kontrol positif

K- : Kontrol negatif

Gambar 5. Hasil Rata-Rata Diameter zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

7. Analisis Data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat tersebut selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 26. Tujuan dari analisis ini adalah membandingkan nilai rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh dari setiap durasi rebusan pada konsentrasi 50%. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada **Tabel 7**, **Tabel 8** dan **Lampiran 11**.

Tabel 7. Hasil Analisis Data Zona Hambat

Konsentrasi	Waktu (Menit)	Normalitas Shapiro-Wilk	Homogenitas Levene's	Kruskall Wallis
50%	10	0,061 ^a	0,012 ^c = < 0,05	0,017 ^d = < 0,05
	20	0,000 ^b		
	30	0,215 ^a		
	40	0,485 ^a		
	kontrol positif	0,387 ^a		

Keterangan :

- a : Data terdistribusi normal
- b : Data tidak terdistribusi normal
- c : Data tidak homogen (sig p< 0,05)
- d : Terdapat perbedaan signifikan (sig p< 0,05)

Tabel 8. Hasil Analisis Lanjutan (Uji Mann-Whitney)

Waktu (Menit)	10	20	30	40	Kontrol Positif
10	-	0,046 ^a	0,275 ^b	0,050 ^a	0,050 ^a
20	0,046 ^a	-	0,046 ^a	0,046 ^a	0,121 ^b
30	0,275 ^b	0,046 ^a	-	0,376 ^b	0,050 ^a
40	0,050 ^a	0,046 ^a	0,376 ^b	-	0,050 ^a
Kontrol Positif	0,050 ^a	0,121 ^b	0,050 ^a	0,050 ^a	-

Keterangan:

- a : Data berbeda signifikan
- b : Data tidak berbeda signifikan

B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh durasi rebusan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Durasi perebusan yang diteliti adalah 10, 20, 30, dan 40 menit. Penelitian ini diawali dengan melakukan determinasi tanaman dengan tujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan sesuai, determinasi dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan pengambilan sampel. Hasil dari uji determinasi yang dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta menyatakan bahwa benar sampel uji yang digunakan adalah tanaman secang (*Caesalpinia sappan* L.). Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Proses yang dilakukan setelah determinasi dilanjutkan dengan persiapan sampel dengan cara memanen kayu secang yang berusia $\pm 3-4$ tahun, waktu panen ini dipilih karena pada rentang usia tersebut, kandungan senyawa aktif dalam kayu secang mencapai kadar optimal, khususnya brazilin, yaitu senyawa utama yang memberi warna merah dan memiliki aktivitas farmakologis seperti antibakteri, antioksidan dan antiinflamasi. Proses pengeringan kayu secang dilakukan dengan tujuan untuk menurunkan kadar air didalam simplisia, sehingga mencegah pertumbuhan mikroba seperti jamur dan bakteri dan juga untuk memperpanjang masa simpan, proses pengeringan ini dilakukan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 1 jam atau proses pemanasan dihentikan apabila simplisia sudah mudah dipatahkan menggunakan tangan, proses pengeringan menggunakan suhu 60°C dipilih karena pada suhu tersebut optimal untuk mengeringkan simplisia tanpa merusak kandungan senyawa aktifnya. Suhu ini cukup untuk menguapkan air tanpa menyebabkan degradasi pada senyawa aktif tanaman, sehingga kualitas dan eektivitas simplisia tetap terjaga. Proses ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode rebusan dengan durasi perebusan yang berbeda yaitu 10, 20, 30, dan 40 menit. Metode ini cocok untuk bahan tanaman yang memiliki tekstur keras seperti kayu, kulit, akar, atau rimpang, termasuk kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Metode ini melibatkan pemanasan langsung air dan simplisia pada suhu 90°C , yang bertujuan untuk melarutkan senyawa aktif yang bersifat polar, seperti flavonoid, brazilin, tanin, dan saponin. Namun lamanya pemanasan dapat mempengaruhi kestabilan senyawa tersebut. Jika pemanasan dilakukan terlalu lama, beberapa senyawa aktif yang sensitif terhadap suhu, seperti flavonoid, dapat mengalami degradasi sehingga efektivitasnya menurun (Tiwari, P. *et al.* (2011).

Selama proses ini, terjadi pelepasan senyawa dari sel tanaman ke dalam air melalui mekanisme difusi dan pelunakan dinding sel. Seiring dengan bertambahnya waktu perebusan, terjadi penguapan air yang signifikan akibat pemanasan terus-menerus. Berdasarkan hasil penelitian ini, volume hasil rebusan dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Lampiran 5** mengalami penurunan seiring lamanya durasi perebusan. Volume tertinggi diperoleh pada perebusan 10 menit,

sedangkan volume terendah terjadi pada perebusan 40 menit. Penurunan volume ini berbanding lurus dengan meningkatnya laju penguapan cairan. Namun, penurunan volume ini tidak serta-merta menunjukkan peningkatan efektivitas antibakteri, karena perebusan yang terlalu lama dapat menurunkan stabilitas senyawa aktif. Oleh karena itu, durasi perebusan yang tepat menjadi penting untuk menyeimbangkan antara efisiensi ekstraksi dan kestabilan senyawa bioaktif dalam larutan (Kholifah *et al.*, 2021)

Hasil uji organoleptic rebusan kayu secang menunjukkan perubahan yang signifikan pada warna, aroma, dan rasa. Warna rebusan berubah dari merah muda terang pada perebusan 10 menit menjadi merah tua hingga kecokelatan pada perebusan 30–40 menit. Perubahan ini menandakan semakin banyaknya senyawa seperti brazilin yang terekstraksi, yaitu pigmen utama dalam kayu secang, durasi perebusan selama 30-40 menit dapat menyebabkan kerusakan senyawa antibakteri yang sensitif terhadap panas, sehingga meskipun intensitas warna meningkat, efektifitas antibakterinya justru menurun (Irawan *et al.*, 2022). Aroma menjadi lebih tajam dan khas seiring bertambahnya waktu, dan rasa sepat-pahit juga menjadi lebih kuat. Rasa ini diduga berasal dari senyawa tanin, yang dikenal memberikan sensasi astringen dan larut baik dalam air panas. (Salpiyah & Mahyar, 2023) sehingga intensitas warna, aroma, dan rasa ini tidak selalu berkorelasi dengan aktivitas antibakteri, karena efektivitas biologis lebih ditentukan oleh stabilitas dan jenis senyawa aktif yang terekstraksi, dengan demikian durasi perebusan yang optimal tidak hanya ditentukan oleh warna ekstrak, melainkan juga oleh kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara efektif, yang dipengaruhi oleh stabilitas dan kelarutan senyawa aktif selama proses ekstraksi.

Skrining fitokimia menunjukkan bahwa rebusan kayu secang mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin pada semua durasi perebusan. Ketiga kelompok senyawa tersebut memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda-beda. Flavonoid diketahui mampu merusak membran sel bakteri dan menghambat sintesis DNA dan RNA. Tanin bekerja dengan cara mengendapkan protein pada dinding sel bakteri sehingga menghambat fungsi vitalnya, sedangkan saponin

memiliki kemampuan menurunkan tegangan permukaan membran dan menyebabkan kebocoran sel (Sunani, S., & Hendriani, R. (2023). Sebaliknya, hasil uji terhadap alkaloid menunjukkan hasil negatif. Hal ini dapat dijelaskan karena kayu secang bukan tanaman yang secara khas mengandung alkaloid, dan metode ekstraksi dengan pelarut air tidak efektif melarutkan senyawa alkaloid yang umumnya lebih larut dalam pelarut organik. (Depkes RI. (2000).

Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa semua sampel rebusan memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan kekuatan zona hambat yang tergolong kuat hingga sangat kuat. Aktivitas antibakteri tertinggi ditunjukkan oleh rebusan dengan durasi 20 menit, yang menghasilkan diameter zona hambat paling besar, hal ini menunjukkan bahwa waktu tersebut merupakan titik optimal dalam mengekstraksi senyawa aktif secara efektif tanpa terjadi degradasi akibat pemanasan berlebih. Aktivitas kemudian menurun pada durasi 30 dan 40 menit, meskipun secara organoleptik larutan tampak lebih pekat dan intens. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi hubungan linier antara lamanya perebusan dan kekuatan antibakteri. Dengan kata lain, semakin lama perebusan tidak selalu berarti semakin kuat daya hambatnya. Penurunan efektivitas pada durasi lebih lama diduga karena senyawa aktif mulai mengalami degradasi akibat paparan panas yang berkepanjangan (Tiwari, P. *et al.* (2011). Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Dewi *et al.*, (2019), yang menyebutkan waktu ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan penurunan kadar flavonoid dan potensi kehilangan senyawa aktif lainnya, akibat proses penguapan atau kerusakan struktur senyawa pada suhu tinggi. Penelitian lain oleh (Silviani *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, meskipun menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Oleh karena itu, hasil penelitian ini memberikan kontribusi baru bahwa rebusan kayu secang pada durasi 20 menit merupakan kondisi optimal untuk memperoleh aktivitas antibakteri yang maksimal dengan kestabilan senyawa yang masih terjaga.

Data diameter zona hambat yang diperoleh dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS versi 26 untuk menganalisis aktivitas antibakteri rebusan

kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Langkah awal yang dilakukan yaitu uji normalitas untuk masing-masing waktu perebusan kayu secang pada konsentrasi 50% dengan durasi perebusan 10, 20, 30, dan 40 menit serta kontrol positif berturut-turut adalah 0,061; 0,000; 0,215; 0,485; dan 0,387. Data pada waktu 10, 30 dan 40 menit, dan kontrol positif terdistribusi normal, sedangkan data pada waktu 20 menit tidak terdistribusi normal karena nilai signifikansinya $< 0,05$. Berdasarkan hasil uji homogenitas varians menggunakan *Leaven'S Test* berdasarkan mean, diperoleh nilai signifikasi sebesar 0,012 yang berarti nilai ini $< 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa varian data diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi rebusan kayu secang tidak homogen atau berbeda. Hasil ini tidak memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, sehingga dilakukan uji lanjutan menggunakan uji non parametik yaitu dengan menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. Berdasarkan hasil uji *Kruskall-wallis*, diketahui bahwa nilai signifikasi sebesar 0,017 yang artinya $< 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang signifikan antar kelompok durasi rebusan kayu secang. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa durasi prebusan mempengaruhi aktivitas antibakteri rebusan kayu secang terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok durasi rebusan kayu secang $< 0,05$, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui kelompok duasi yang memiliki perbedaan yang nyata. Uji lanjutan yang dilakukan adalah *Mann-Whitney* hasil uji menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara durasi rebusan 10 menit dengan 30 menit maupun 30 menit dengan 10 menit ($p = 0,275$) dan antara 30 menit dengan 40 menit atau 40 menit dengan 30 menit ($p = 0,376$), karena nilai signifikansinya $> 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan durasi perebusan tersebut tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Perbedaan durasi lain seperti 10 menit dengan 20 menit ($p = 0,046$), 10 menit dengan 40 menit atau 40 menit dengan 10 menit ($p = 0,050$), 20 menit dengan 30 menit ($p = 0,046$), dan 20 menit dengan 40 menit atau 40 menit dengan 20 menit ($p = 0,046$) menunjukkan

perbedaan yang signifikan $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan durasi perebusan tersebut memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Meskipun beberapa nilai p berada di ambang batas signifikansi ($p = 0,050$), secara statistik tetap dianggap signifikan. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, hampir seluruh durasi rebusan (10, 30, dan 40 menit) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,050$), kecuali perebusan 20 menit ($p = 0,121$), yang tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki daya hambat yang signifikan dibandingkan ekstrak kayu secang pada konsentrasi 50% untuk sebagian besar durasi perebusan, kecuali pada durasi 20 menit yang hasilnya tidak signifikan. Hasil uji *Mann-Whitne* dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

Pada durasi perebusan 20 menit menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat dan signifikan dibandingkan dengan durasi lain 10, 30, dan 40, sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Neswati & Ismanto, 2017) yang menyebutkan bahwa kemungkinan hal ini terjadi karena senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin rentan rusak terhadap suhu pemanasan yang terlalu tinggi. Suhu perebusan yang terlalu tinggi dan waktu perebusan yang terlalu lama serta melewati batas waktu optimum dapat menyebabkan hilangnya senyawa-senyawa aktif karena adanya penguapan, begitu juga sebaliknya jika suhu perebusan terlalu rendah akan menyebabkan senyawa yang terkandung didalam simplisia tidak diperoleh secara sempurna. Durasi 20 menit merupakan waktu yang optimal untuk memperoleh aktivitas antibakteri yang optimum. Bertambahnya waktu perebusan mengakibatkan kandungan tanin, saponin, brazilin dan flavonoid menurun, sehingga lamanya proses perebusan mempunyai pengaruh yang penting terhadap manfaat obat dari bahan herbal tradisional (Dewatisari & Hariyadi, 2024).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu hanya satu konsentrasi rebusan (50%) yang digunakan, sehingga tidak dapat diketahui hubungan antara konsentrasi dan kekuatan antibakteri. Selain itu, penelitian ini hanya menggunakan satu jenis bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yang merupakan bakteri Gram positif. Belum dilakukan uji terhadap bakteri Gram negatif yang

memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Ketiga, belum dilakukan analisis kuantitatif terhadap kadar senyawa aktif seperti flavonoid total atau brazilllin, sehingga kontribusi tiap senyawa terhadap aktivitas antibakteri belum dapat dipastikan. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Leswara *et al.*, 2024), yang menyebutkan bahwa rebusan kayu secang memiliki aktivitas antibakteri.

Hasil penelitian ini memberikan kontribusi terhadap pengembangan obat tradisional atau produk herbal berbasis rebusan kayu secang. Penetapan durasi rebusan yang optimal penting untuk memastikan efektivitas dan keamanan produk herbal yang dikonsumsi masyarakat. Selain itu, temuan ini dapat menjadi referensi awal untuk pengembangan formulasi produk cair antiseptik alami atau minuman fungsional dengan aktivitas antibakteri.

PEPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANING
YOGYAKARTA