

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Determinasi Daun Sirih Hijau dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta pada tanggal 16 Mei 2025 dengan nomor pendaftaran 319/Lab.Bio/B/V/2025. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan Daun Sirih Hijau (*Pipper betle L*). Hasil dapat dilihat pada Lampiran 2.

2. Persiapan Sampel

a. Pembuatan Simplisia

Sirih hijau (*Pipper betle L*) yang segar berwarna hijau sebanyak 9 Kg dan dibagi menjadi tiga bagian masing-masing 3 kg sesuai dengan pengeringan yaitu O, SML, SMTL kemudian diranjang dan dicuci bersih dengan air mengalir dan tiriskan. Daun sirih hijau dikeringkan dengan O menggunakan suhu 40°C selama 2 hari di Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Untuk pengeringan SML dijemur di kost dengan menggunakan sinar matahari langsung selama 4 hari, dan SMTL dijemur di kost dengan kain ditutupi kain hitam selama 5 hari, simplisia yang sudah kering ditandai dengan kondisi daun yang mudah diramas. Tahap selanjutnya yaitu daun sirih hijau dengan masing-masing pengeringan diserbuk kasar dengan menggunakan grinder kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Serbuk daun sirih hijau yang sudah diperoleh selanjutnya diekstraksi menggunakan UAE.

b. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Serbuk dari masing-masing cara pengeringan ditimbang sebanyak 25 gram dan ditempatkan dalam gelas Erlenmeyer menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 250 mL. Gelas Erlenmeyer kemudia ditutup dengan aluminium foil dilakukan proses ekstraksi menggunakan UAE selama 30

menit dengan suhu 40°C dan frekuensi gelombang 40 kHz, setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Kemudian diuapkan hingga menjadi kental. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perhitungan % Rendemen

Cara Pengeringan	% Rendemen (%)	Literatur (Amaliah et al., 2019)
O	17,78 %	>10%
SML	15,56 %	
SMTL	15,84 %	

3. Kontrol Kualitas

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik adalah Indera atau uji sensori yang merupakan cara pengujian dengan menggunakan Indera manusia. Indera yang dipakai dalam uji organoleptik adalah Indera penglihatan/mata, Indera penciuman/hidung, Indera pengecap/lidah, dan Indera peraba/tangan (Gusnadi et al., 2021). Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptik

Uji Organoleptik	Hasil
Warna	Coklat Kehitaman
Bau	Aromatik khas daun sirih hijau
Bentuk	Cair
Rasa	Sedikit pahit

b. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode uji yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) secara kualitatif (Putri & Lubis, 2022). Hasil skrining fitokimia ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) menunjukkan hasil positif senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	Cara Pengeringan		
		O	SML	SMTL
Alkaloid	Dragendorff	+	+	+
	Wagner	+	+	+
	Mayer	+	+	+
Saponin	Aquadest	+	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+	+
Flavonoid	Serbuk	+	+	+
	Magnesium+ HCl			

Keterangan:

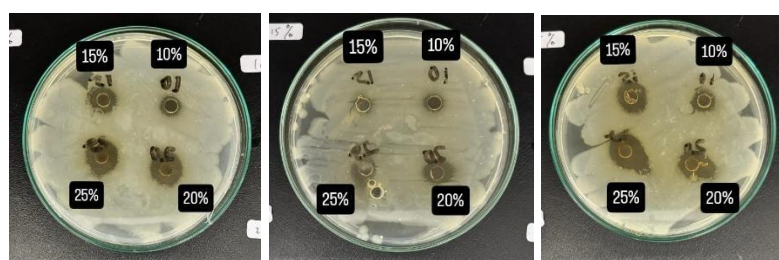
(+) = terdapat golongan senyawa uji

(-) = tidak terdapat golongan senyawa uji

Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Purba et al., 2024) ekstrak daun sirih mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, saponin, dan flavanoid.

4. Uji Aktivitas Antibakteri

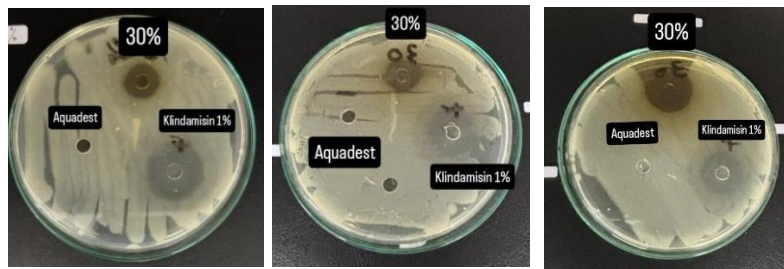
Pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan ekstrak daun sirih hijau yang dilakukan dengan metode difusi sumuran. Ekstrak daun sirih hijau dibuat dalam beberapa konsentrasi disetiap pengeringan O, SML, SMTL dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Kontrol positif dari uji ini yaitu Klindamisin 1% dan kontrol negatifnya yaitu aquadest. Zona hambat bakteri yang terbentuk pada pengeringan Oven oleh bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 ditunjukkan pada gambar 5.



Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3



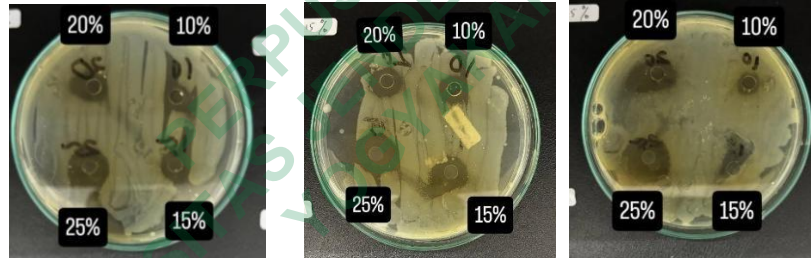
Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3

Gambar 5. Zona Hambat Daun Sirih Hijau Pengeringan O Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

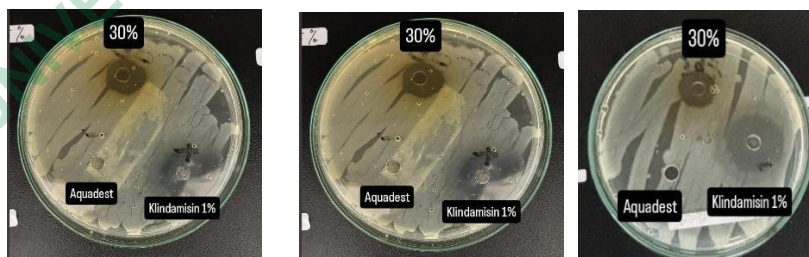
Untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% dan kontrol positif klindamisin 1%, kontrol negatif akuades menggunakan metode difusi sumuran terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada pengeringan sinar matahari langsung dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang diujikan. Zona hambat bakteri yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 6.



Replikasi 1

Replikasi 2

Replikasi 3



Replikasi 1

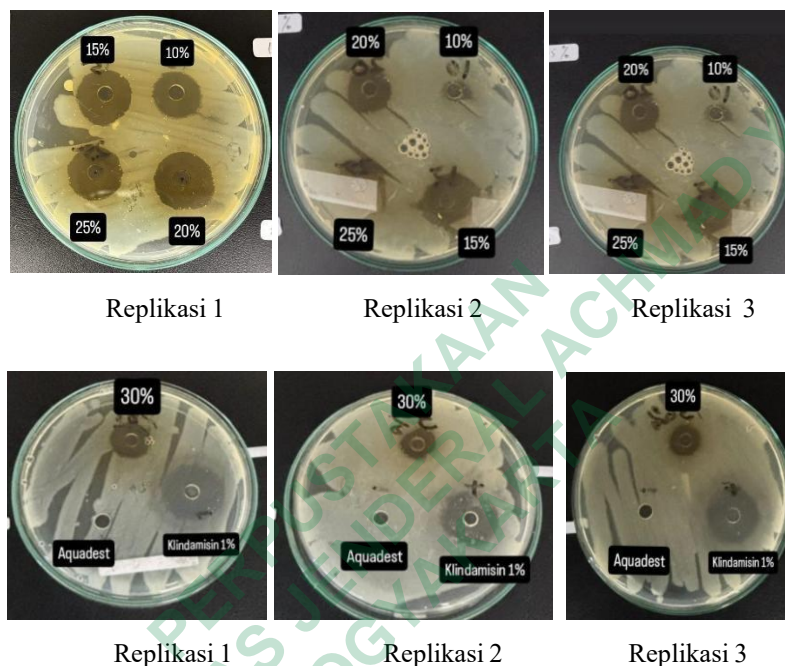
Replikasi 2

Replikasi 3

Gambar 6. Zona Hambat Daun Sirih Hijau Pengeringan SML Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak Untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% dan kontrol positif

klindamisin 1%, kontrol negatif akuades menggunakan metode difusi sumuran terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 pada pengeringan sinar matahari tidak langsung dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang diujikan. Zona hambat bakteri yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Zona Hambat Daun Sirih Hijau Pengeringan SMTL Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922

Zona hambat pada uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara mengukur zona bening disekitar sumuran secara vertikal, horizontal, dan diagonal dengan menggunakan jangka sorong. Hasil rata-rata diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 8 dan Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Diameter Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*

No Sampel	Perlakuan %	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata(mm)	Kategori
		I	II	III		
1. Oven	10%	9,24	9,2	10,94	9,74	Sedang
	15%	10,97	10,6	11,35	10,97	Kuat
	20%	11,25	11,53	12,28	11,68	Kuat
	25%	11,91	12,63	12,43	12,32	Kuat
	30%	12,35	12,24	13,26	12,61	Kuat
	K+ Klindamisin 1%	15,91	15,85	15,98	15,91	Kuat
	K- Akuades	0	0	0	0	Tidak ada
2. Sinar Matahari Langsung	10%	11,63	11,26	9,28	10,72	Kuat
	15%	12,39	11,35	11,19	11,64	Kuat
	20%	12,14	11,39	12,27	11,93	Kuat
	25%	12,88	12,32	12,32	12,50	Kuat
	30%	13,24	12,41	12,67	12,77	Kuat
	K+ Klindamisin 1%	15,33	15,94	15,97	15,74	Kuat
	K- Akuades	0	0	0	0	Tidak ada
2. Sinar Matahari Tidak Langsung	10%	11,38	11,31	9,12	10,60	Sedang
	15%	12,35	12,11	12,31	12,25	Kuat

20%	12,14	12,35	12,39	12,29	Kuat
25%	13,15	13,27	12,43	12,95	Kuat
30%	13,89	13,40	12,81	13,36	Kuat
K+ Klindamisin 1%	15,95	14,52	15,92	15,46	Kuat
K- Akuades	0	0	0	0	Tidakada

Berdasarkan hasil rata-rata zona hambat dari tiga cara pengeringan daun sirih hijau (*Piper betle* L) pengeringan O ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan nilai hasil rata-rata tertinggi pada konsentrasi 30% sebesar 12,61 mm dan konsentrasi terendah 10% dengan hasil rata-rata 9,79 mm dengan daya hambat kuat. Sedangkan untuk pengeringan SML hasil rata-rata zona hambat pada ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan nilai hasil rata-rata tertinggi pada konsentrasi 30% sebesar 12,77 mm dan konsentrasi terendah 10% dengan hasil rata-rata 10,72 mm dengan daya hambat kuat.

Untuk pengeringan SMTL hasil rata-rata zona hambat pada ekstrakdaun sirih hijau dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan nilai hasil rata-rata tertinggi pada konsentrasi 30% sebesar 13,36 mm dan konsentrasi terendah 10% dengan hasil rata-rata 10,6 mm dengan daya hambat kuat. Dari ketiga cara pengeringan yang terbaik adalah metode SMTL menhgasilkan zona hambat terbesar pada konsentrasi 30% dengan nilai rata- rata 13,36 mm dengan daya hambat kuat.

5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari diameter zona hambat tersebut dianalisis secara statistik dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 29. Analisis pertama yang dilakukan yaitu uji *Shapiro-wilk*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui data yang diperoleh terdistribusi dengan normal atau tidak. Uji *Shapiro-wilk* ini efektif untuk data kurang dari 50 sampel ($N < 50$). Suatu data dapat dikatakan terdistribusi normal apabila nilai signifikan lebih dari 0,05 ($\text{sig} > 0,05$). Hasil yang didapat dari uji *Shapiro-wilk* data diameter zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 terdistribusi normal.

Tahap uji kedua yaitu uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene's*, tujuan dari uji homogenitas yaitu untuk mengetahui data yang diperoleh homogen atau tidak. Data dapat dikatakan homogen apabila nilai signifikan lebih dari 0,05 ($\text{sig} > 0,05$). Hasil yang didapat dari uji homogenitas pada pengeringan O yaitu sebesar 0,140, SML sebesar 0,064, dan SMTL 0,130 data ini dapat dikatakan homogen karena memiliki nilainya lebih dari 0,05.

Setelah dipastikan data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *One way ANOVA*. Uji ini dilakukan untuk melihat data yang diperoleh berbeda signifikan atau tidak dari setiap konsentrasi sampel. Data dapat dikatakan signifikan apabila nilai data tersebut $< 0,05$. Jika data yang diperoleh signifikan akan dilanjutkan untuk uji selanjutnya yaitu uji *Post Hoc*. Hasil data yang diperoleh dari uji *One Way ANOVA* yaitu pada pengeringan O sebesar 5,95, SML sebesar 0,39, dan SMTL 0,05 nilai ini tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena $> 0,05$. Hasil analisis data dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisis Data SPSS Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Kelompok	Konsentrasi	Uji Shapiro-wilk	Uji Levene's (Homogenitas)	One Way ANOVA
Oven	10%	0,304	0,014	5,95
	15%	0,062		
	20%	0,508		
	25%	0,520		
	30%	0,188		

Kelompok	Konsentrasi	Uji Shapiro-wilk	Uji Levene's (Homogenitas)	One Way ANOVA
SML	10%	0,281	0,064	0,39
	15%	0,235		
	20%	0,262		
	25%	0,030		
	30%	0,594		

Kelompok	Konsentrasi	Uji Shapiro-wilk	Uji Levene's Homogenitas	One Way ANOVA
SMTL	10%	0,052	0,013	0,005
	15%	0,298		
	20%	0,286		
	25%	0,266		
	30%	0,898		

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *One Way ANOVA* zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki perbedaan yang signifikan, sehingga analisis tidak dilanjutkan dengan uji selanjutnya (Hamad *et al.*, 2017).

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cara pengeringan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode difusi sumuran. Cara pengeringan yang digunakan adalah oven (O), sinar matahari langsung (SML), dan sinar matahari tidak langsung (SMTL). Penelitian ini diawali dengan determinasi tanaman terlebih dahulu yang bertujuan untuk memastikan bahwa jenis tanaman yang digunakan sesuai, hal ini dilakukan untuk mencegah kesalahan dalam pengambilan sampel uji. Hasil determinasi dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Pipper betle* L.).

Proses selanjutnya adalah pengeringan sampel yang dilanjutkan proses ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 70%, metode ini dipilih karena mampu mengekstraksi senyawa polar hingga semi-polar secara efisien. UAE bekerja dengan prinsip gelombang ultrasonik yang mempercepat penetrasi pelarut ke dalam jaringan tumbuhan, mempercepat pelepasan senyawa aktif tanpa memerlukan suhu tinggi, sehingga mengurangi risiko degradasi termal senyawa bioaktif. Hasil skrining fitokimia terhadap ketiga metode pengeringan menunjukkan adanya kandungan alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid pada setiap ekstrak.

Uji senyawa alkaloid dilakukan menggunakan tiga jenis pereaksi, yaitu Dragendorff, Wagner, dan Mayer. Hasil positif terhadap kandungan alkaloid ditunjukkan oleh terbentuknya endapan putih saat ekstrak diteteskan dengan pereaksi Mayer. Penambahan pereaksi Wagner menghasilkan endapan berwarna cokelat, sedangkan pereaksi Dragendorff menunjukkan perubahan warna menjadi biru kehitaman. Ketiga reaksi tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak daun sirih hijau mengandung alkaloid. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Marfu'ah et al., (2021) yang menyatakan bahwa senyawa alkaloid dinyatakan positif adanya terbentuk endapan

berwarna putih. Hal ini disebabkan oleh reaksi yang melibatkan atom nitrogen dalam struktur alkaloid bereaksi dengan ion kalium tetraiodomercurat (II) sehingga menghasilkan endapan kompleks kalium-alkaloid. Reagen Dragendorff menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan jingga, akibat terbentuknya kompleks antara alkaloid dan ion logam dalam senyawa kalium tetraiodobismutat (III) melalui ikatan kovalen koordinasi, menghasilkan ion kompleks $[BiI_4]^-$. Namun, pada reagen Wagner ditemukan hasil positif, ditandai dengan terbentuknya endapan coklat. Uji saponin yang duji positif yang ditandai dengan terbentuknya buih stabil setelah ekstrak dikocok dengan akuades. Adanya buih ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak terdapat glikosida saponin yang mampu membentuk busa dalam air akibat ikatan glikosidik terhidrolisis. Hasil ini didukung oleh penelitian (Kiko et al., 2023) yang dilakukan yang menyebutkan ekstrak sirih hijau positif mengandung senyawa saponin yang ditandai dengan adanya buih pada skrining fitokimia. Uji terhadap senyawa tanin juga menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kehijauan. Tanin merupakan senyawa polar yang memiliki gugus hidroksil ($-OH$), dan akan bereaksi dengan larutan $FeCl_3$ menghasilkan perubahan warna menjadi biru kehitaman hingga hijau kehitaman. Hasil ini konsisten dengan penelitian Wahyuni, et al., (2024) yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirih hijau yang mengandung tanin terbentuk endapan berwarna kehijauan setelah direalisasikan dengan $FeCl_3$. Sementara itu, uji senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna pada ekstrak setelah penambahan pereaksi spesifik. Perubahan ini menunjukkan adanya struktur fenolik khas flavonoid dalam ekstrak. Hasil ini didukung oleh penelitian Kurniawan et al., (2021) yang menunjukkan adanya hasil positif terhadap ekstrak, yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada ekstrak setelah ditambahkan serbuk magnesium dan HCL pekat.

Hal ini membuktikan bahwa metode UAE dengan pelarut etanol 70% cukup efektif dalam melarutkan berbagai senyawa metabolit sekunder dari daun sirih hijau. Senyawa-senyawa tersebut memiliki karakteristik

kelarutan yang baik dalam pelarut etanol-air dan secara umum bersifat sensitif terhadap panas.

Oleh karena itu, keberhasilannya dalam terdeteksi di semua ekstrak juga menunjukkan bahwa proses pengeringan dan ekstraksi yang digunakan masih mampu mempertahankan integritas senyawa tersebut. Namun demikian, meskipun secara kualitatif kandungan fitokimia tampak serupa, kemungkinan besar terdapat perbedaan kadar antar cara pengeringan. Hal ini turut menjelaskan mengapa aktivitas antibakteri ekstrak hasil pengeringan dengan metode sinar matahari tidak langsung (SMTL) menunjukkan hasil paling kuat dibandingkan O dan SML. Cara pengeringan SMTL diduga mampu mempertahankan kandungan senyawa aktif lebih optimal, yang kemudian diekstraksi lebih baik dengan metode UAE.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 menggunakan metode difusi sumuran menunjukkan bahwa semua sampel ekstrak dari ketiga cara pengeringan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pengeringan O dengan hasil terkecil yaitu konsentrasi 10% dengan nilai rata-rata 9,79 mm, sedangkan untuk konsentrasi tertinggi 30% dengan hasil rata-rata 12,61 mm, pengeringan SML zona hambat terkecil yaitu konsentrasi 10% dengan hasil rata-rata 10,72 mm, sedangkan untuk zona hambat tertinggi pada konsentrasi 30% hasil rata-rata 12,77 mm, pengeringan SMTL zona hambat terkecil pada konsentrasi 10% dengan hasil rata-rata 10,6 mm, sedangkan untuk konsentrasi terbesar yaitu 30% dengan hasil rata-rata 13,36 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa metode pengeringan berpengaruh terhadap kekuatan antibakteri ekstrak.

Penelitian Zulfikri et al (2023) melaporkan bahwa pengeringan dengan cara O ekstrak etanol daun sirih hijau pada konsentrasi 20% menghasilkan zona hambat sebesar 6,58 mm terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Meskipun konsentrasinya berbeda, hasil penelitian ini menunjukkan pola yang sejalan: bahwa konsentrasi yang lebih tinggi berhubungan dengan zona hambat yang lebih besar, dan cara pengeringan yang tepat dapat meningkatkan efektivitas ekstrak.

Lebih lanjut, penelitian oleh Pinatik et al., (2017) menggunakan metode difusi agar untuk menilai efektivitas ekstrak daun sirih hijau menunjukkan pola serupa, yakni zona hambat 6–16 mm pada konsentrasi 25% dan metode ekstraksi SMTL.

Hasil penelitian ini memperkuat bahwa pengeringan yang lebih minim sinar matahari seperti SMTL lebih baik menjaga stabilitas senyawa bioaktif daripada pengeringan oven yang menggunakan panas tinggi.

Mekanisme antibakteri utama dari ekstrak daun sirih hijau diduga berasal dari senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Wu et al. (2013) melaporkan bahwa flavonoid mampu merusak membran sel bakteri serta menghambat enzim DNA gyrase, sedangkan tanin berfungsi dengan mengendapkan protein membran sel. Kombinasi ini menjelaskan mengapa zona hambat ekstrak yang diproses dengan SMTL cukup besar, karena pengeringan SMTL dianggap mampu mempertahankan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel.

Selain pengaruh metode pengeringan, peningkatan konsentrasi ekstrak dari 10% hingga 30% juga menunjukkan peningkatan diameter zona hambat. Hal ini membuktikan adanya hubungan antara konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak dengan kekuatan antibakterinya, di mana konsentrasi lebih tinggi cenderung menghasilkan efek hambat yang lebih besar. Uji statistik ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok pengeringan terhadap zona hambat, dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini memperkuat bahwa metode pengeringan memang memengaruhi aktivitas antibakteri. Uji lanjutan menunjukkan bahwa SMTL secara konsisten memberikan hasil yang paling efektif dibandingkan SML maupun O.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode pengeringan berpengaruh terhadap efektivitas ekstrak daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922. Metode SMTL terbukti sebagai teknik pengeringan terbaik dalam mempertahankan aktivitas antibakteri. Temuan ini mendukung potensi penggunaan daun sirih hijau sebagai bahan alam alternatif antibakteri, sekaligus menegaskan pentingnya perhatian terhadap proses pascapanen simplisia dalam produksi fitofarmaka.