

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 8 Mei 2025 dengan nomor pendaftaran 321/Lab.Bio/B/V/2025. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Lampiran dapat dilihat pada lampiran 3.

2. Persiapan Sampel

a. Pembuatan Simplisia

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang digunakan berukuran sedang, masih segar, utuh, tidak rusak, dan berwarna hijau tua sebanyak 3 kg untuk setiap metode pengeringan. Daun terlebih dahulu dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu ditiriskan. Pengeringan dilakukan dengan tiga metode, yaitu menggunakan oven (O), sinar matahari langsung (SML), dan sinar matahari tidak langsung (SMTL). Pada metode (O) oven, pengeringan dilakukan di Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada dengan menggunakan oven bersuhu 40°C selama 2 hari. Pada metode SML, daun dijemur di atas tampah bambu dan diletakkan langsung di bawah sinar matahari selama 5 hari. Sedangkan pada metode SMTL, daun dijemur selama 6 hari namun dilindungi dari sinar matahari langsung dengan menggunakan kain hitam (kain mori hitam) yang diletakkan di atas rak penjemuran. Daun yang telah kering ditandai mudah hancur atau remuk saat diremas. Selanjutnya, daun hasil pengeringan dari masing-masing metode giling menggunakan grinder dan diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh. Serbuk yang diperoleh kemudian diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction*.

b. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Sebanyak 50 gram serbuk daun sirih dari masing-masing cara pengeringan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, lalu ditambahkan etanol 70% sebanyak 500 mL dengan perbandingan 1:10 (b/v). Mulut Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) selama 30 menit pada suhu 40°C dengan frekuensi 40 kHz. Setelah itu, campuran disaring menggunakan kain mori untuk memisahkan ampas dan filtrat. Larutan hasil ekstraksi kemudian diuapkan hingga mengental. Ekstrak kental yang didapat kemudian dihitung rendemennya, seperti yang ditampilkan pada Tabel 3

Tabel 3. Hasil Perhitungan Rendemen

Pengeringan	Berat ekstrak (gram)	Hasil rendemen (% b/b)	Rendemen Menurut Literatur (Sutamihardja <i>et al.</i> 2018)
O	7,84	15,64	>10%
SML	7,95	15,9	
SMTL	7,52	15,04	

4. Kontrol Kualitas Ekstrak

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk menilai secara fisik berdasarkan pengamatan terhadap warna, bau, dan rasa *Manarisip et al.*, (2020). Hasil organoleptik dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji organoleptik ekstrak etanol daun sirih hijau

Pengamatan	O	SML	SMTL
Organoleptik	Warna	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
	Tekstur	Kental	Kental

Bau	Khas daun sirih	Khas daun sirih	Khas daun sirih
Rasa	Pahit	Pahit	Pahit

b. Skrining Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu ekstrak tumbuhan. 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 5.

Tabel 5. Hasil skrining fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	O	SML	SMTL
Alkaloid	Mayer	+	+	+
	Dragendroff	+	+	+
	Wagner	+	+	+
Flavonoid	Serbuk magnesium + HCl	+	+	+
Saponin	Aquadest	+	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+	+

Keterangan :

(+) : terdapat golongan senyawa uji

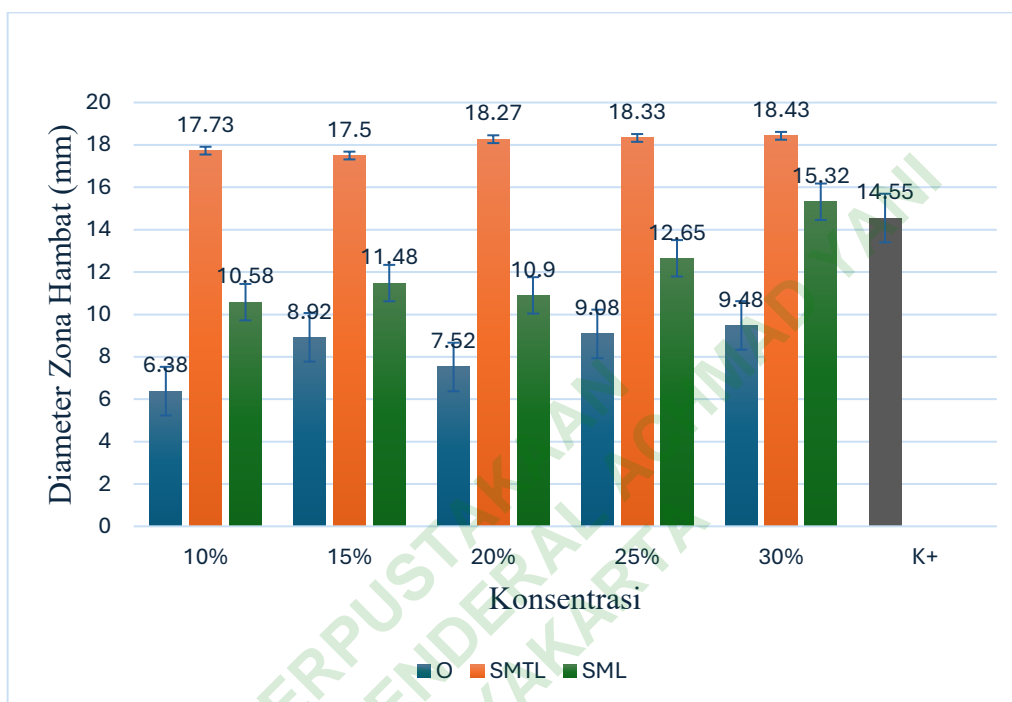
(-) : tidak terdapat golongan senyawa

Hasil uji fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Maharani *et al.*, 2025) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode cakram dengan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Ekstrak daun sirih hijau dibuat dalam seri konsentrasi untuk setiap cara pengeringan O, SML, dan SMTL dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Kontrol

positif menggunakan gentamisin dan kontrol negatifnya yaitu aquadest. Hasil zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 dapat dilihat pada lampiran 11. Hasil Rata-rata diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 .



Gambar 5. Hasil Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau Terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922

Diagram di atas menunjukkan hubungan antara variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%) dengan diameter zona hambat *Escherichia coli* ATTC 25922. Sumbu X menggambarkan konsentrasi ekstrak serta kontrol positif, sedangkan sumbu Y menunjukkan rata-rata zona hambat yang terbentuk. Grafik membandingkan tiga metode pengeringan, yaitu oven (O), sinar matahari langsung (SML), dan sinar matahari tidak langsung (SMTL). Hasil penelitian memperlihatkan bahwa metode O menghasilkan zona hambat 9,48 mm pada konsentrasi 30% dengan kategori sedang. Metode SML menghasilkan zona hambat 15,32 mm pada konsentrasi yang sama dengan kategori kuat. Sementara itu, metode SMTL memberikan zona terbesar, yaitu 18,43 mm pada konsentrasi 30% dengan kategori kuat, bahkan melebihi kontrol positif.

6. Analisis data

Sebelum dilakukan uji perbedaan antara metode pengeringan, dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Pengujian ini menggunakan data zona hambat dari setiap metode pengeringan. Hasil uji ini menentukan apakah analisis dilanjutkan dengan uji parametrik (ANOVA) atau uji *non-parametrik* (*Kruskal-Wallis*). Hasil analisis disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 6. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Metode Pengeringan	Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> (<i>P-Value</i>)	<i>Kruskal-Wallis</i> (<i>P-Value</i>)
O	0,119	0,000
SMTL	0,000	
SML	0,147	

Tabel 7. Hasil Uji Lanjutan (*Mann-Whitney*)

Metode Pengeringan	<i>P-Value</i>	Keterangan
O dan SMTL	0,000	Terdapat Perbedaan Signifikan
O dan SML	0,005	Terdapat Perbedaan Signifikan
SMTL dan SML	0,000	Terdapat Perbedaan Signifikan

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan non parametrik uji *non-parametrik* (*Kruskal-Wallis*) zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 memiliki perbedaan yang signifikan, sehingga analisis dilanjutkan dengan uji lanjutan (*Mann-Whitney*).

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan metode pengeringan, yaitu oven (O), sinar matahari langsung (SML), dan sinar matahari tidak langsung (SMTL), pada aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922 dengan difusi cakram.

Pengeringan dilakukan dengan tiga cara: oven, sinar matahari tidak langsung, dan sinar matahari langsung. Penelitian diawali dengan proses determinasi tanaman untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan benar merupakan daun sirih hijau. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, dan hasilnya menunjukkan bahwa tanaman tersebut adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

Tahap berikutnya adalah proses pengeringan sampel, yang kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 70%. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut didasarkan pada kemampuannya melarutkan senyawa aktif yang bersifat polar maupun semi-polar secara optimal. Metode UAE bekerja dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk membantu pelarut menembus jaringan tumbuhan dan mempercepat pelepasan senyawa aktif, tanpa memerlukan suhu tinggi, sehingga senyawa aktif tidak mudah rusak. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa rendemen dari masing-masing metode pengeringan berada di atas 10%. Menurut (Sutamihardja *et al.* 2018) nilai rendemen di atas 10% termasuk kategori baik karena mencerminkan efisiensi proses ekstraksi yang cukup tinggi. Selain itu, hasil uji fitokimia terhadap ekstrak dari ketiga metode pengeringan menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Temuan ini didukung penelitian yang dilakukan oleh (Maharani *et al.*, 2025)

Uji senyawa alkaloid dilakukan pada sampel ekstrak daun sirih hijau yang sama, dengan menggunakan tiga pereaksi: Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Reaksi positif teramati pada ketiganya. Penambahan pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih, pereaksi Wagner membentuk endapan coklat, dan pereaksi Dragendorff menunjukkan perubahan warna menjadi biru kehitaman. Ketiga reaksi ini mengindikasikan adanya alkaloid karena ketiga reagen tersebut mengandung ion logam berat yang bereaksi dengan gugus nitrogen (amina) dalam struktur alkaloid, membentuk senyawa kompleks yang mengendap atau berubah warna. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa alkaloid, dan temuan ini didukung oleh penelitian (Maharani *et al.*, 2025) yang melaporkan hasil serupa.

Uji flavonoid menunjukan positif mengandung flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning, merah atau jingga Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Titis *et al.*, (2013) yang menunjukan perubahan warna kuning, jingga, dan merah. Uji saponin menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya buih stabil setelah ekstrak dikocok dengan akuades. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maharani *et al.*, (2025) yang menunjukan terbentuknya buih stabil setelah dikocok dengan akuades. Uji tanin menunjukan positif mengandung tanin ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehitaman. Hal ini didukung penelitian dilakukan oleh Maharani *et al.*, (2025) positif mengandung tanin jika terbentuknya endapan hijau kehitaman atau biru kehitaman.

Hal ini menunjukan bahwa metode UAE dengan pelarut etanol 70% cukup efektif dalam melarutkan berbagai senyawa metabolit sekunder dari daun sirih hijau, karena Senyawa-senyawa tersebut memiliki karakteristik kelarutan yang baik dalam pelarut etanol 70%. Adanya senyawa tersebut dalam semua ekstrak menunjukan bahwa proses pengeringan dan ekstraksi yang diterapkan mampu mempertahankan kualitas senyawa secara optimal. Meskipun secara umum profil fitokimia tampak serupa, kemungkinan kadar senyawa berbeda bergantung pada cara pengeringan yang digunakan. Hal ini menjelaskan mengapa ekstrak daun yang dikeringkan dengan cara SMTL menunjukkan aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan dengan metode SML maupun O. Cara pengeringan SMTL mampu mempertahankan kandungan senyawa aktif secara lebih optimal karena minim paparan cahaya langsung, sehingga senyawa tidak mudah terdegradasi. Senyawa aktif yang tetap stabil ini kemudian diekstraksi dengan metode UAE, yang bekerja secara efisien memecah dinding sel dan melepaskan senyawa. Kombinasi keduanya menghasilkan ekstrak yang lebih kaya kandungan bioaktif. Meskipun rendemen ekstrak SMTL memang lebih rendah dibanding O, tetapi kestabilan senyawa aktif membuat efektivitas antibakterinya lebih tinggi. Dengan demikian, ekstrak SMTL menghasilkan zona hambat lebih besar terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922 karena kualitas fitokimia tetap terjaga.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922 menggunakan metode difusi cakram menunjukkan bahwa semua ekstrak dari ketiga cara pengeringan memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat terbesar diperoleh pada ekstrak hasil pengeringan dengan metode SMTL pada konsentrasi 30%, dengan rata-rata diameter sebesar 18,43 mm. Sebaliknya, zona hambat terkecil ditemukan pada ekstrak hasil pengeringan O dengan konsentrasi 10%, yaitu sebesar 6,38 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa metode pengeringan berpengaruh terhadap kekuatan antibakteri ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Pola ini terlihat jelas pada ketiga metode pengeringan, di mana SMTL dan SML cenderung menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan metode O.

Penelitian Mukaromah et al., (2020) melaporkan ekstrak daun sirih hijau pada konsentrasi 25% menghasilkan zona hambat 22 mm, terhadap *Escherichia coli*. Meskipun konsentrasinya berbeda, hasil penelitian ini menunjukkan pola yang sama bahwa konsentrasi yang lebih besar berhubungan dengan zona hambat yang besar, dan cara pengeringan yang tepat dapat meningkatkan efektivitas ekstrak. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Syifa et al., (2020) Menggunakan metode difusi cakram untuk menilai efektivitas ekstrak daun sirih hijau menunjukkan pola serupa, yakni zona hambat optimal terbentuk pada konsentrasi 25%, berdasarkan metode ekstraksi dan pengeringan SMTL.

Mekanisme antibakteri utama dari ekstrak daun sirih hijau diketahui berasal dari tanin, flavonoid, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri (Dwianggraini et al. 2013) Menurut penelitian yang dilakukan (Czerkas et al. 2024) tannin dapat merusak membran sel bakteri dengan mengikat protein, sementara flavonoid membantu membunuh bakteri dengan cara merusak struktur sel dan menstabilkan radikal bebas, saponin dapat menembus dan melarutkan membran sel sehingga menyebabkan kematian bakteri, sedangkan alkaloid mengganggu sintesis DNA atau protein sehingga pertumbuhan bakteri terhambat.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa semua cara pengeringan masih mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid, namun pada pengeringan O

dan SML sebagian senyawa mengalami kerusakan hal ini terlihat dari zona hambat terhadap *Escherichia coli* ATTC 25922 yang lebih kecil pada O dan SML dibandingkan SMTL. Karena kandungan senyawa aktif berkurang, kemampuan antibakterinya berkurang. meskipun rendemen ekstrak dari metode SMTL lebih sedikit, kualitas senyawa aktif lebih terjaga karena terlindung dari panas berlebih dan paparan sinar matahari, sehingga zona hambat yang terbentuk lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri lebih ditentukan oleh kualitas dan kestabilan senyawa aktif dibandingkan dengan jumlah rendemen yang diperoleh.

Selain pengaruh cara 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, dimana konsentrasi lebih tinggi cenderung menghasilkan efek hambat yang lebih besar. Uji statistik uji *non-parametrik* (*Kruskal-Wallis*) menunjukan bahwa data dari metode pengeringan oven memiliki nilai *p-value* sebesar 0,119 dan SML memiliki nilai *p-value* sebesar 0,147. Kedua metode tersebut berdistribusi normal karena nilai *p-value* > 0,05, sedangkan data dari metode SMTL tidak berdistribusi normal karena nilai *p-value* sebesar 0,000. Karena tidak semua data memenuhi asumsi normalitas, analisis perbedaan dilanjutkan dengan uji *non-parametrik* *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai *p-value* sebesar 0,000 dimana kurang dari 0,05, yang berarti terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat *Escherichia coli* ATTC 25922 antara metode pengeringan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) yang diukur dengan metode difusi cakram.

Uji lanjutan *Mann-Whitney* hasilnya menunjukkan bahwa bahwa seluruh pasangan metode pengeringan menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap diameter zona hambat *Escherichia coli* ATTC 25922. Nilai *p-value* antara metode oven dan SMTL sebesar 0,000 ($p < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Perbedaan signifikan juga terlihat pada perbandingan O dengan SML dengan *p-value* sebesar 0,005 ($p < 0,05$). Selain itu, perbandingan antara SMTL dan SML sebesar 0,000 ($p < 0,05$), menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap diameter zona hambat *Escherichia coli* ATTC 25922. Hal menunjukan

bahwa metode pengeringan berpengaruh nyata terhadap hasil ekstrak, karena tiap metode menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode pengeringan berpengaruh terhadap efektivitas ekstrak daun sirih hijau dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATTC 25922. Cara SMTL terbukti sebagai teknik pengeringan terbaik dalam mempertahankan aktivitas antibakteri. Temuan ini mendukung potensi penggunaan daun sirih hijau sebagai bahan 34 alam alternatif antibakteri, sekaligus menegaskan pentingnya perhatian terhadap proses pascapanen simplisia dalam produksi fitofarmaka.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA