

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

#### **A. Detereminasi Tanaman**

Determinasi tanaman merupakan tahap awal yang dilakukan sebelum menuju tahap lebih lanjut pada proses penelitian. Determinasi tanaman merupakan proses dalam menentukan nama/jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas SAINS dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar daun sirih hijau (*Piper betle L*). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

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

Daun sirih hijau (*Piper betle L*) diperoleh dari daerah ungaran. Daun sirih hijau (*Piper betle L*) diambil dalam kondisi segar, berwarna hijau dan belum terdapat bagian yang kering. Pembentukan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Daun sirih dicuci bersih lalu dikeringkan. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 450 gram daun sirih ditambah 3375 ml etanol 96% dibiarkan selama 5 hari sambil diaduk berulang-ulang. Ekstrak disaring dengan kain flannel. Ampas dilakukan remaserasi dengan etanol 96% sebanyak 1125 ml selama 2 hari. Maserat yang sudah terkumpul diuapkan terlebih dahulu menggunakan rotary evaporator sampai semi kental. Rotary evaporator merupakan instrumen yang tergabung antara beberapa instrumen

dengan menggunakan prinsip destilasi. Prinsip utama dalam instrumen ini terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat, pemutaran labu alas bulat agar pelarut dapat menguap lebih cepat dibawah titik didihnya, sehingga suatu pelarut akan menguap dan senyawa yang larut dalam pelarut tersebut tidak ikut menguap namun mengendap. Dan dengan pemanasan dibawah titik didih pelarut, senyawa yang terkandung dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi (Alexander, 2014).

Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun sirih hijau berbentuk kental dan sulit dituang, berwarna hitam kecoklatan dan berbau khas aromatik. Hasil maserasi dan remaserasi satu kali ekstrak daun sirih dengan menggunakan 450 gram daun sirih segar menghasilkan ekstrak kental daun sirih 123,6 gram dan didapatkan rendemen sebanyak 11,4% ekstrak kental daun sirih. Hal ini menunjukkan bahwa proses maserasi efektif karena hasil randemen ekstrak >10% dari jumlah serbuk simplisia yang dimaserasi. Adapun faktor yang mempengaruhi nilai randemen adalah metode ekstraksi yang digunakan, perbandingan jumlah sampel terhadap jumlah pelarut yang digunakan dan jenis pelerut yang digunakan memiliki sifat kepolaran yang sama dengan sebagian komponen yang terdapat pada daun sirih hijau (Melodita, 2011).

### **C. Uji Bebas Etanol**

Ekstrak kental daun sirih yang diperoleh dilakukan uji bebas etanol dengan cara ekstrak kental ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat lalu ditambah dengan CH<sub>3</sub>COOH 0,4 N kemudian dipanaskan dengan hasil ekstrak kental daun sirih

tidak tercium bau khas ester. Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan etanol dalam ekstrak tersebut sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujiannya.

#### **D. Penafisan Fitokimia**

##### **1. Identifikasi Senyawa Flavonoid**

Flavonoid merupakan senyawa yang sudah cenderung memiliki aktivitas antibakteri karena tingkat kepolaran dari senyawa tersebut, dengan kepolaran yang tinggi dari senyawa flavonoid maka akan dengan mudah menembus dinding sel dari bakteri *Propionibacterium acne*. Setelah berhasil menembus dinding sel dari bakteri maka senyawa akan dengan merusak permeabilitas dari membran sitoplasma sehingga nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk tetap hidup akan sulit untuk masuk dan protein-protein penyusun sel akan keluar dengan sendirinya karena permeabilitas dari sitoplasma yang sudah rusak, dan diakhiri dengan kematian sel bakteri. Berdasarkan hasil identifikasi senyawa flavonoid dimana Sampel diambil 0,1 gram ditetaskan metanol sampai terendam lalu panaskan filtratnya ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> adanya perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi warna merah



**Gambar 5.1 Identifikasi Senyawa Flavonoid**

## 2. Uji Saponin

Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat sebagai pengkelat dengan bentuk strukturnya adalah ester. Bentuk struktur ester memiliki dua bagian yang sifat kepolarannya berbeda sehingga dapat memecah kandungan air pada sel bakteri. Berdasarkan hasil identifikasi senyawa saponin dimana Sampel 0,05 mg dilarutkan kedalam 20 ml air panas. Kocok dengan kuat tambahkan 1 tetes HCl 2N. Terbentuk Busa setelah 30 menit penetesan HCl 2N.

## E. Evaluasi Sediaan Gel Ekstrak Daun Sirih Hijau

### 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis

Pada pemeriksaan organoleptis sediaan gel ekstrak daun sirih hijau dari tiga formula dengan mengamati warna, bentuk, daun, bau gel. Gel ekstrak daun sirih hijau pada tiga formula memiliki warna coklat tua dengan bentuk lunak kenyal dan bau khas daun sirih hijau. Perbedaan

komposisi Na-CMC dan karbopol tidak mempengaruhi warna dan bau sediaan gel ekstrak daun sirih hijau.

## 2. Hasil Pemeriksaan Homogenitas Gel

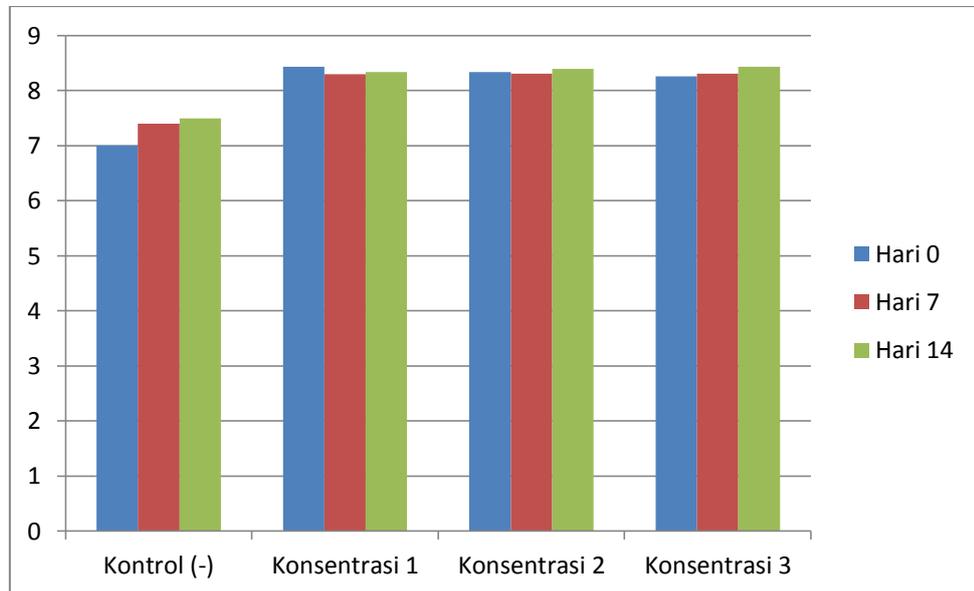
Uji homogenitas gel ekstrak daun sirih hijau dilakukan menggunakan kaca arloji. Dengan penyimpanan hari ke 0 sampai hari ke 14 Hasil uji homogenitas gel pada semua formula menunjukkan hasil yang homogen. Hasil pemeriksaan homogenitas gel (Tabel 4.2)

## 3. Pemeriksaan pH Gel

Uji pH bertujuan untuk mengetahui pH sediaan topikal karena pH yang terlalu asam atau basa akan mengiritasi kulit. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang dicelupkan kedalam sediaan gel. Alat pH meter dikalibrasi menggunakan larutan dapar pH 7 dan pH 4. Elektro pH meter dicelupkan kedalam sampel gel yang telah diuji, jarum pH meter akan dibiarkan bergerak sampai menunjukkan posisi tetap, pH gel berkisar 4,5-6,5 (Tranggono dan Latifa, 2007).

Hasil dari pengujian memiliki hasil pH rata-rata 7-8. Sehingga sediaan gel ekstrak daun sirih melebihi batas normal kulit. Dilakukan Uji T-test sehingga diperoleh hari ke 0 – hari ke 7  $>0,05$  tidak berbeda signifikan, hari ke 0 – hari ke 14  $>0,05$  tidak berbeda signifikan, hari ke 7 – hari ke 14  $<0,05$  berbeda signifikan (Tabel 4.4)

**Gambar 5.2 Hasil Pengujian pH**



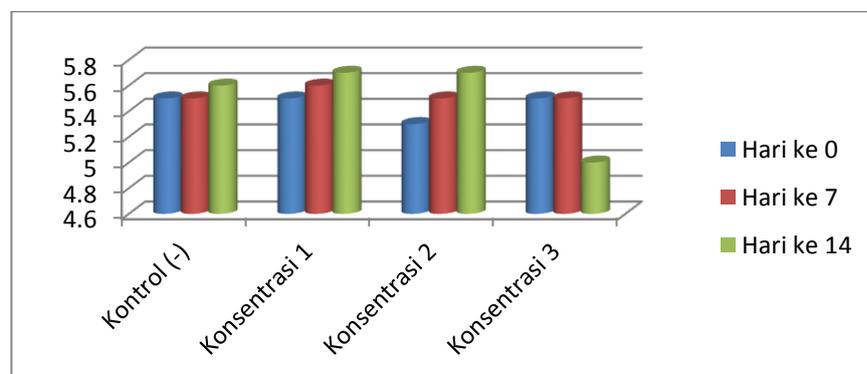
**Gambar 5.2 Hasil Pengujian pH**

#### 4. Uji Daya Sebar

Kenaikan konsentrasi *gelling agent* Na-CMC menyebabkan daya sebar semakin kecil, hal itu disebabkan karena viskositas sediaan gel ekstrak daun sirih hijau yang semakin kental akan memperkecil kemampuan untuk menyebar. Salah satu faktor yang mempengaruhi daya sebar gel adalah jumlah dan kekuatan matriks gel. Semakin banyak dan kuat matriks gel maka daya sebar gel akan menurun. Dalam sistem gel yang bertanggung jawab dalam pembentukan matriks gel adalah *gelling agent* adanya peningkatan konsentrasi basis dan penambahan beban berpengaruh terhadap peningkatan luas daya sebar sediaan gel. Sediaan gel yang baik adalah dapat menyebar dengan mudah dan merata ditempat aksi sehingga efektifitasnya dalam penyembuhan semakin optimal (Roroningtyas, 2012). Jadi hasil yang diperoleh untuk uji daya sebar

memperoleh hasil yang sesuai dengan normalitas uji daya sebar yaitu antara 5-7 cm (Garg *et.*, 2002).

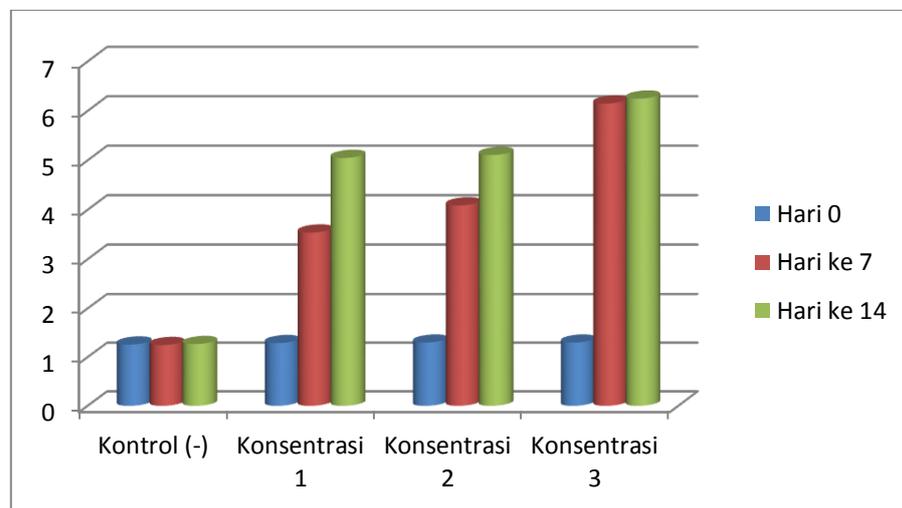
Hasil pengamatan daya sebar memperlihatkan kemampuan gel untuk menyebar pada permukaan pada saat pengaplikasian. Daya sebar dari gel yang dihasilkan berkisar antara 5,3–5,5 cm, nilai daya sebar gel yang baik antara 5–7 cm. Berdasarkan hasil pengujian yang telah didapat diketahui bahwa konsentrasi 1%, 2% dan 3% memiliki daya sebar yang baik. Tingginya nilai daya sebar dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti suhu ruangan pada saat pengujian, suhu penyimpanan, dan viskositas sediaan yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai viskositas dari sediaan gel tersebut maka akan semakin rendah daya sebar yang dihasilkan, sebaliknya semakin rendah nilai viskositas sediaan akan menghasilkan daya sebar yang luas juga. Dalam hal ini viskositas sediaan konsentrasi 1% (9.984), konsentrasi 2% (10.610) dan konsentrasi 3% (11.740) menandakan daya sebar gel yang baik.



**Gambar 5.3 Hasil Uji Daya Sebar**

## 5. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kekuatan gel melekat pada kulit. Semakin lama gel melekat pada kulit, kerja obat pada tempat aksi semakin baik, tetapi jika terlalu lama melekat pada kulit maka akan sulit dihilangkan dan akan mengganggu absorpsi obat ke dalam kulit pada pemakaian gel selanjutnya. Daya lekat berbanding lurus dengan viskositas, apabila viskositas besar maka daya lekat yang dihasilkan juga semakin besar. Pengujian daya lekat berhubungan dengan lamanya sediaan dapat melekat pada kulit sehingga mempengaruhi absorpsi zat aktif ke dalam kulit dan waktu penetrasi obat akan maksimal (Wahyuningsih dan Uchti, 2015).



**Gambar 5.4 Hasil Uji Daya Lekat**

## F. Identifikasi Bakteri

Pewarnaan Gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Rostinawati, 2009). Pada pewarnaan Gram bakteri Gram positif akan berwarna ungu disebabkan karena tetap mempertahankan kompleks zat warna kristal violet yodium, meskipun diberi larutan pemucat aseton alkohol.

Hasil pewarnaan Gram bakteri *Propionibacterium acne* menunjukkan bahwa sel bakteri berwarna ungu yang berarti termasuk bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki ketebalan struktur dinding 15-80nm yang berlapis tunggal dan memiliki kandungan lipid rendah (1-4%), peptidoglikan yang lebih banyak sehingga penyerapan warna dari cat kristal violet yang terserap dalam sel akan bertahan walaupun dilakukan pencucian menggunakan cat peluntur (alkohol-lugol) yang diharapkan dapat melunturkan cat warna pertama, dengan bertahannya cat warna kristal violet yang berwarna ungu didalam sel bakteri maka cat gram D (safranin) sebagai cat lanjutan tidak akan bisa terserap lagi, sehingga warna sel akan tetap berwarna seperti warna cat yang dipakai pertama (Kristal violet) (J Michael *et al*, 1988).

Lapisan bakteri Gram positif berstruktur peptidoglikan, sedikit lipid dan asam teikoat. Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air dan bersifat polar. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang bersifat non polar (Dewi, 2014).

## G. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji Aktivitas Antibakteri pada penelitian ini menggunakan cakram kertas saring yang mendukung zat antimikroba dengan kekuatan tertentu. Cakram kertas tersebut diletakkan pada permukaan agar yang telah ditanami mikroba uji, lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C, kemudian diameter hambatnya diukur. Kelebihan dari metode ini adalah jumlah zat yang digunakan dapat diatur, namun kekurangannya tidak kuantitatif karena tidak semua zat aktif terserap dalam agar (Jawetz & Adelberg, 2005). Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

Metode difusi cakram dilakukan dengan meletakkan kertas cakram pada media yang sudah ditanami bakteri kemudian pada kertas cakram dimasukkan gel ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L*) sesuai konsentrasi masing-masing, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Waktu inkubasi bakteri dilakukan selama 24 jam karena pada waktu tersebut bakteri telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial, pada fase tersebut bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah sel meningkat. Waktu 24 jam merupakan waktu panen, yaitu waktu jumlah sel bakteri mencapai 10 sampai 15 milyar sel bakteri per milli meter (Pelczar,2008). Zona bening di sekitar kertas cakram diukur untuk mengetahui besarnya zona hambat dari gel

ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L*). Kadar Hambat Minimum (KHM) ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram yang telah ditanami bakteri.

Parameter yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah adanya zona hambat yang ditandai dengan zona bening disekitar kertas cakram. Berdasarkan hasil perlakuan, kontrol positif memiliki zona hambat yang paling tinggi pada bakteri *Propionibacterium acne* yaitu sebesar  $22,5 \pm 0,62$  mm dan pada konsentrasi 3% didapatkan hasil  $22,41 \pm 6,38$  mm, konsentrasi 2% didapatkan hasil  $17,67 \pm 1,84$  mm, dan pada konsentrasi 1% didapatkan hasil  $10,33 \pm 1,88$  mm.

Perlakuan uji dengan gel ekstrak Daun sirih hijau pada konsentrasi 1%, 2% dan 3% didapatkan hasil yang berbeda pada penghambatan bakteri *Propionibacterium acne*. Hal ini menunjukkan bahwa adanya peningkatan konsentrasi, efektivitas penghambatan terhadap bakteri *Propionibacterium acne*

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ditemukan adanya konsentrasi dari gel ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L*) yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Propionibacterium acne* yang sebanding dengan gel *clindamysin*, yaitu gel ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L*) dengan konsentrasi 3%.

Hasil uji homogenitas menggunakan levene test untuk variabel penurunan diperoleh p-value 0,120 berdasarkan taraf kepercayaan 95% ( $<0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh homogen.

Hasil uji ANOVA diperoleh  $p = 0,000$  berdasarkan taraf kepercayaan 95% ( $<0,05$ ). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh aktivitas pemberian sediaan gel ekstrak daun sirih terhadap penghambatan bakteri *Propionibacterium acne*.

Uji LSD digunakan untuk mengetahui perbedaan zona hambat terhadap sediaan gel ekstrak daun sirih (*Piper betle L*). Berdasarkan hasil uji LSD menunjukkan adanya penghambatan sediaan gel ekstrak daun sirih hijau terhadap *Propionibacterium acne* ada perbedaan tidak signifikan antara konsentrasi 1% dengan konsentrasi 2% dan kontrol positif dengan konsentrasi 3% dengan nilai signifikan  $p > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan gel ekstrak lidah daun sirih (*Piper betle L*) dengan konsentrasi 1%, konsentrasi 2% dan konsentrasi 3% dapat menghambat bakteri *Propionibacterium acne*.