

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik ekstrak bunga Hortensia (*Hydrangea macrophylla*)

Penelitian uji daya hambat antibakteri ekstrak bunga Hortensia (*Hydrangea macrophylla*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui dan menentukan adanya zona hambat aktivitas antibakteri yang terbentuk pada media agar. Pada penelitian ini menggunakan sampel segar dengan berat 5 kg yang menghasilkan 329 gram berat simplisia kering. Setelah melalui proses evaporasi sampel ekstrak kental bunga hortensia didapatkan 120 gram.



(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2025)

Gambar 7. Sampel dan Ekstrak Kental Bunga Hortensia

Hasil rendemen ekstrak diperoleh dari proses evaporasi ekstrak kemudian ditimbang dan dihitung % rendemen ekstraknya. Berdasarkan perhitungan rendemen ekstrak terdapat pada tabel didapatkan hasil 36%. Cara perhitungan hasil rendemen ekstrak terdapat pada lampiran 4 pada halaman 60.

Tabel 5
Hasil Rendemen Ekstrak

Berat Segar	Berat Simplisia	Berat Ekstrak Kental	Hasil Rendemen Ekstrak
5 kg	329 gram	120 gram	36%

Ekstrak kental dilakukan uji organoleptik dengan metode visual seperti pengamatan konsistensi, warna, bau dan rasa. Ekstrak bunga hortensia memiliki konsistensi kental dengan warna coklat tua memiliki bau khas aromatis serta rasa pahit.

Tabel 6
Uji Organoleptik

Konsistensi Ekstrak	Warna	Bau	Rasa
Kental	Coklat Tua	Khas aromatis	Pahit

2. Diameter zona hambat pada kontrol dan variasi konsentrasi ekstrak

Penelitian uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Diameter zona hambat sebagai antibakteri ekstrak bunga hortensia sebagai aktivitas pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* diamati setelah 1x24 jam. Pengukuran dilakukan sebanyak 18 kali yakni 12 kali pada tiap kelompok perlakuan dan 6 kali pada kelompok kontrol. Hasil ditunjukkan dengan adanya zona hambat terlihat pada area tidak adanya pertumbuhan bakteri sebagaimana disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 7
Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Jumlah (mm)	Rerata $\pm$ SD (mm)
	1	2	3		
Kontrol (+) Antibiotik <i>Ampicillin</i>	37.68	41.98	40.12	119.78	39.92 $\pm$ 2,16
Kontrol (-) Etanol 96%	0	0	0	0	0
Ekstrak 5%	6.68	6.76	6.28	19.72	6.57 $\pm$ 0,26
Ekstrak 10%	8.48	8.12	7.86	24.46	8.15 $\pm$ 0,31
Ekstrak 20%	7.92	8.72	7.76	24.40	8.13 $\pm$ 0,51
Ekstrak 40%	10.48	6.28	7.84	24.60	8.20 $\pm$ 2,12

a. Diameter zona hambat kontrol positif

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan, kontrol positif sebagai kontrol kerja yaitu *disc* antibiotik *Ampicillin* 10 µg dilakukan dengan tiga kali pengulangan menghasilkan diameter zona hambat yang terbentuk disekitar *disc* antibiotik diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat sebesar 39,92 mm disajikan pada Tabel 7.

b. Diameter zona hambat etanol 96%

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan, kontrol negatif yang digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi yaitu etanol 96%. Banyaknya pengulangan dalam kontrol negatif yaitu sebanyak tiga kali pengulangan menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambat sehingga tidak memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* oleh etanol 96% dengan diameter zona hambat yang diamati adalah 0 mm. Hal ini menegaskan bahwa etanol tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

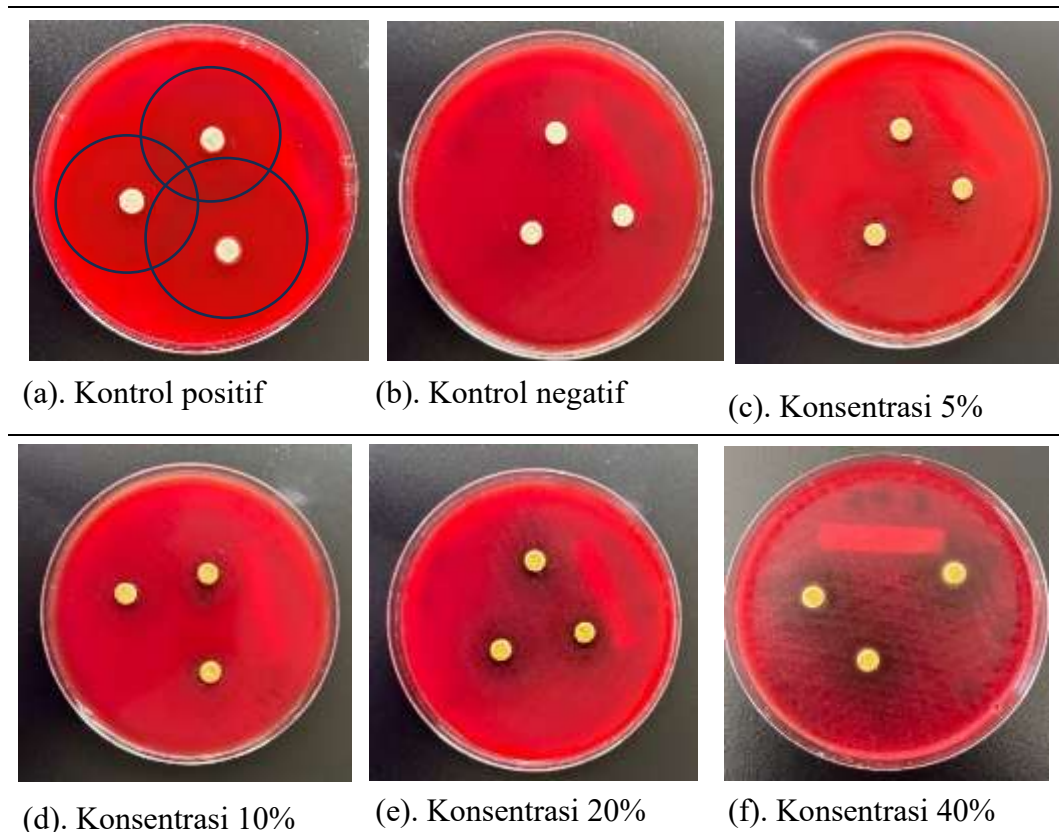
c. Diameter zona hambat konsentrasi ekstrak

Variasi konsentrasi ekstrak sebagai kelompok eksperimen digunakan untuk menentukan konsentrasi optimal yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi konsentrasi ekstrak yang paling efisien dalam menekan aktivitas bakteri tersebut. Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 5%, 10%, 20%, dan 40%. Dengan metode difusi cakram *Kirby Bauer* dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Pada konsentrasi ekstrak 5% dilakukan tiga kali pengulangan dengan diameter zona hambat sebesar 6,68 mm, 6,76 mm dan 6,28 mm. Nilai zona hambat minimum pada konsentrasi 5% sebesar 6,28 mm. Pada konsentrasi ekstrak 10% dilakukan tiga kali

pengulangan dengan diameter zona hambat sebesar 8.48 mm, 8.12 mm dan 7,86 mm. Nilai zona hambat minimum pada konsentrasi 10% sebesar 7.86 mm. Pada konsentrasi ekstrak 20% dilakukan tiga kali pengulangan dengan diameter zona hambat sebesar 7.92 mm, 8,72 mm dan 7,76 mm dengan nilai zona hambat minimum yakni sebesar 7,76 mm. Pada konsentrasi ekstrak 40% dilakukan tiga kali pengulangan dihasilkan diameter zona hambat sebesar 10,48 mm, 6,28 mm dan 7,84 mm. Nilai zona hambat minimum pada konsentrasi 40% sebesar 6,28 mm.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa rata-rata pengukuran diameter zona hambat bervariasi pada setiap konsentrasi. Konsentrasi ekstrak 5% sebesar $6.57 \pm 0,26$ mm; konsentrasi ekstrak 10% sebesar $8.15 \pm 0,31$ mm; konsentrasi ekstrak 20% sebesar $8.13 \pm 0,51$ mm; dan konsentrasi ekstrak 40% sebesar $8.20 \pm 2,12$ mm.

Berdasarkan data pada tabel 7, konsentrasi ekstrak 40% menghasilkan zona hambat terbesar dengan diameter zona hambat $8,20\text{mm} \pm 2,12$. Ekstrak etanol bunga hortensia mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan diameter zona hambat mulai dari 6.57 mm sampai 8.20 mm disajikan pada tabel 7. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat dibandingkan dengan kategori daya hambat, ekstrak etanol bunga hortensia konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% termasuk ke dalam kategori kemampuan menghambat sedang.



(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2025)

Gambar 8. Zona Hambat Kontrol Positif, Kontrol Negatif dan Sampel Ekstrak Etanol Bunga Hortensia Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Pyogenes*

3. Analisis perbedaan zona hambat pada kontrol dan variasi konsentrasi ekstrak

Hasil data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dianalisis menggunakan perangkat lunak dan akan diuji *Saphiro Wilk* pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol bunga hortensia dan kontrol positif diperoleh nilai signifikansi probabilitas kontrol positif *p value* 0,852, ekstrak 5% *p value* 0,298, ekstrak 10% *p value* 0,823, ekstrak 20% *p value* 0,298 dan ekstrak 40% *p value* 0,656. Nilai probabilitas tersebut lebih besar dari $> \alpha$ (0,05) sehingga menunjukkan data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

berdistribusi normal.

Data berdistribusi normal maka uji dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil analisis dinyatakan adanya perbedaan bermakna apabila nilai probabilitas (*p value*) $< \alpha$ (0,05). Hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai signifikansi 0,000. Nilai probabilitas tersebut lebih kecil dari α (0,05), sehingga dinyatakan terdapat perbedaan yang bermakna zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol bunga Hortensia (*Hydrangea macrophylla*). Untuk mengetahui pada variasi konsentrasi mana saja terdapat perbedaan bermakna, pengujian dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji *post hoc Least Significant Different*.

Hasil uji LSD terdapat 2 nilai yaitu $p < \alpha$ (0,05) dan $p > \alpha$ (0,05). Nilai $p < \alpha$ (0,05) menyatakan adanya perbedaan bermakna zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol bunga hortensia, sedangkan $p > \alpha$ (0,05) menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol bunga hortensia. Nilai *p value* $< \alpha$ (0,05) diperoleh antara kontrol positif dengan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40%, sedangkan antar variasi konsentrasi tidak ditemukan perbedaan bermakna.

Hasil uji LSD dinyatakan bahwa tidak ditemukan adanya perbedaan bermakna pada variasi konsentrasi namun secara deskriptif menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 10% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat lebih tinggi dibandingkan konsentrasi ekstrak 5% dan 20%. Namun, jika pada konsentrasi ekstrak 40% dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 10% dengan pengamatan deskriptif menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 40% menghasilkan rata-rata diameter zona

hambat lebih tinggi dibandingkan konsentrasi ekstrak 10% bahkan pada konsentrasi 5% serta 20%. Jika dibandingkan konsentrasi ekstrak 10% dengan konsentrasi ekstrak 40%, rata-rata diameter zona hambat konsentrasi ekstrak 40% sedikit lebih besar 8,20 mm dibandingkan konsentrasi ekstrak 10% sebesar 8.15%. Perbedaan ini tidak signifikan karena konsentrasi ekstrak 40% lebih tinggi dibandingkan dengan 10%. Namun, jika dipertimbangkan konsentrasi ekstrak 5% lebih efektif karena menghasilkan zona hambat yang hampir setara dengan konsentrasi ekstrak 40% dengan kategori yang sama yakni kategori hambat sedang. Konsentrasi 5% dengan konsentrasi bahan aktif lebih rendah menghasilkan zona hambat yang hampir setara sebagai pilihan yang lebih tepat dari segi penggunaan bahan dan potensi antibakteri.

B. Pembahasan

Pengukuran diameter zona hambat kontrol positif *ampicilin* pada penelitian ini yang tergolong kategori *sensitive*. Menurut standar yang tercantum dalam tabel *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, *ampicilin* digolongkan sebagai antibiotik *sensitive* apabila diameter zona hambatnya ≥ 24 mm, apabila diameter zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini dibandingkan dengan tabel CLSI maka kontrol positif termasuk dalam kategori *sensitive* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* (CLSI, 2020). Hasil pengukuran kontrol negatif etanol 96% yang dilakukan sebesar 0 mm atau tidak terbentuk zona hambat menandakan bahwa zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini tidak dipengaruhi oleh pelarut dalam proses ekstraksi (Dewi dkk., 2019). Hal ini mendandakan pelarut yang digunakan melainkan tidak mempengaruhi hasil namun karena adanya aktivitas senyawa yang ada pada tanaman bunga Hortensia.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa kontrol negatif etanol 96% tidak dapat menghasilkan zona hambat atau adanya pertumbuhan bakteri (Dewi, Ernawati dan Widhiartini, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada tabel 7 menunjukkan uji antibakteri yang telah dilakukan, ekstrak etanol bunga hortensia menunjukkan kemampuan dalam menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes*. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat yaitu terlihat pada area terlihat tidak ada pertumbuhan bakteri pada media yang berisi konsentrasi ekstrak etanol bunga Hortensia. Adanya aktivitas antibakteri terbentuk pada konsentrasi ekstrak terkecil hingga konsentrasi yang paling tinggi. Konsentrasi ekstrak 5%, 10%, 20% dan 40% secara berturut-turut yaitu 6.57 mm, 8.15 mm, 8.13 mm, dan 8.20 mm. Konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terendah yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*, sementara konsentrasi 40% merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Kategori diameter zona hambat dalam kandungan ekstrak etanol dengan bahan alam yang diuji terhadap bakteri diklasifikasikan dalam rentan kategori sebagai berikut : daya hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, daya hambat 6 – 10 mm dikategorikan sedang, daya hambat 11 – 20 mm dikategorikan kuat, dan daya hambat ≥ 21 mm dikategorikan daya hambat sangat kuat (Hombach, Zbinden and Böttger, 2013) dalam (Susanti, Putra dan Putri, 2023). Berdasarkan klasifikasi tersebut, aktivitas antibakteri dalam menghambat ekstrak etanol bunga Hortensia terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% dikategorikan menghambat sedang.

Daya antibakteri ekstrak etanol bunga Hortensia juga dipengaruhi faktor kandungan senyawa fitokimia atau dikenal sebagai senyawa metabolit sekunder yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri. Studi terbaru mengungkapkan bahwa ekstrak etanol bunga Hortensia positif mengandung golongan senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Noviyanti, 2024). Alkaloid dapat mengganggu komponen peptidoglikan sehingga mengalami kerusakan bahkan kematian pada sel tersebut (Sadiah, Cahyadi dan Windria, 2022). Mekanisme flavonoid dalam peranannya sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat dalam pembentukan DNA dan RNA, mengganggu fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Pendit, Zubaidah dan Sriherfyna, 2016). Flavonoid akan bereaksi dengan gugus alkohol dengan merusak dinding sel sehingga inti sel akan beraksi dengan senyawa flavonoid dan menyebabkan inti sel bakteri lisis (Sadiah, Cahyadi dan Windria, 2022).

Saponin dengan perannya sebagai antibakteri sebagai penyebab kebocoran protein serta enzim dari dalam sel sehingga mengakibatkan kematian sel. Saponin bersifat bakterisidal. Sifat molekul yang dimiliki saponin akan menurunkan tegangan permukaan sel dengan mudah kandungan antibakteri masuk ke dalam sel dan permeabilitas membran menjadi rusak dapat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Sadiah, Cahyadi dan Windria, 2022). Tanin sebagai salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri (Habibah and Ratih, 2023). Tanin sebagai antibakteri dengan perannya sebagai antibakteri menyebabkan permeabilitas sel terganggu karena terjadi mengerutkan dinding sel (Pendit, Zubaidah dan Sriherfyna, 2016). Secara umum, tanin memiliki sifat toksisitas yang mampu mengganggu atau merusak membran sel bakteri (Sadiah,

Cahyadi dan Windria, 2022).

Pada penelitian sebelumnya dengan menggunakan daun hortensia kemudian dilakukan uji antibakteri dengan metode mikrodilusi terhadap bakteri *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan mengisolasi dua senyawa metabolit sekunder hidrangenol dan thunberginol menghasilkan antibakteri dengan kategori lemah. Antioksidan yang terkandung pada ekstrak akar bunga Hortensia mempunyai kapasitas antioksidan $IC_{50} = 261.45 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan antioksidan sangat lemah (Elizabeth, Yulianti dan Ferdinal, 2021).

Mueller Hinton Agar (MHA) digunakan sebagai media yang direkomendasikan dalam metode difusi cakram. Tekstur *Mueller Hinton Agar* mampu berdifusi senyawa antibakteri secara merata sehingga dapat menghasilkan adanya zona hambat. Penambahan darah ke dalam MHA biasanya dilakukan untuk mendukung pertumbuhan bakteri fastidious seperti *Streptococcus pyogenes*. Darah menyediakan faktor pertumbuhan tambahan yang diperlukan oleh bakteri. Beberapa laboratorium terutama di negara berkembang, darah manusia digunakan sebagai alternatif karena ketersediaan memadai, biaya dan menyederhanakan proses. Konsentrasi darah yang ditambahkan umumnya sekitar 5%. Darah manusia pada media memberikan reaksi hampir identik dengan media standar menggunakan darah hewan. Darah manusia tetap memungkinkan adanya pengamatan pola hemolisis (Niederstebruch *et al.*, 2017).

Penggunaan media Mueller-Hinton Agar dengan penambahan darah manusia menyebabkan zona hambat yang dihasilkan tidak tampak dengan jelas, sehingga pembacaan diameter dilakukan berdasarkan batas pertumbuhan terakhir koloni

bakteri. Pembacaan zona hambat dilakukan dengan menggunakan media *Mueller-Hinton Agar* yang ditambahkan darah (MHBA), sesuai dengan metode EUCAST. Media menjadi lebih keruh, pembacaan dilakukan dari bagian depan cawan dengan tutup dilepas dan menggunakan cahaya pantul agar batas zona hambat dapat terlihat dengan jelas. Metode pembacaan ini bertujuan untuk memperoleh hasil yang akurat dalam mengukur sensitivitas antibakteri terhadap mikroorganisme uji. *Streptococcus pyogenes* termasuk bakteri fastidious yang memerlukan media kaya nutrisi untuk pertumbuhan optimal serta pembentukan zona hambat yang dapat diukur secara akurat.