

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1) Hasil objek penelitian

Sampel tanaman daun sawo manila dan daun alpukat didapatkan di daerah Gianyar, Kecamatan Tampaksiring. Bagian yang diolah menjadi ekstrak yaitu pada bagian daun yang memiliki kriteria diantaranya berbentuk pipih, tidak menggulung dan dipetik daun ke 5 dari pucuk pada siang hari pukul 11.00 WITA. Jumlah sampel yang diperoleh masing masing 2 kg. Sampel disortasi dan dicuci bersih. Tahap berikutnya sampel dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 2 hari selanjutnya sampel kering dihaluskan untuk mendapatkan simplisia berupa bubuk halus. Simplisia yang dihasilkan pada tahap ini yakni 293 gram pada daun sawo manila dan 255 gram pada daun alpukat. Simplisia yang telah diperoleh kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi selama tiga hari, dengan mencampurkan 250 gram simplisia daun sawo dan 250 gram simplisia daun alpukat ke dalam pelarut etanol 96%, menggunakan perbandingan sampel dan pelarut 1:5. Hasil maserasi tersebut kemudian melalui proses evaporasi untuk memperoleh ekstrak kental dengan berat akhir ekstrak pekat sebesar 33,4 gram.



Gambar 7. Hasil Ekstrak Pekat

Sumber : Dokumentasi Pribadi

2) Skrining fitokimia

Penelitian ini mencakup uji skrining fitokimia terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, steroid, terpenoid, dan saponin. Berdasarkan hasil pengujian, kombinasi ekstrak daun sawo manila dan daun alpukat diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berupa tanin, fenol, dan saponin. Data hasil skrining fitokimia tersebut ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4
Hasil Uji Skrining Fitokimia

No.	Parameter Uji	Hasil Uji	Keterangan
1.	Alkaloid (Wagner)	-/Negatif	Tidak terdapat endapan coklat kemerahan
2.	Alkaloid (Dragendroff)	-/Negatif	Tidak terdapat endapan merah
3.	Flavonid	-/Negatif	Tidak terjadi perubahan warna jingga
4.	Tanin	+ /Positif	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
5.	Fenol	+ /Positif	Terjadi perubahan warna biru kehitaman
6.	Steroid	-/Negatif	Tidak terjadi perubahan warna ungu, biru, kehijauan
7.	Terpenoid	-/Negatif	Tidak terjadi perubahan warna coklat kemerahan
8.	Saponin	+ /Positif	Terdapat busa

3) Diameter zona hambat

Berdasarkan pengujian yang telah dilaksanakan, didapatkan data hasil uji daya hambat antibakteri kombinasi ekstrak daun sawo dan daun alpukat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan seri konsentrasi 15%, 30%, 45%, dan 60%. Data hasil pengukuran daya hambat kombinasi ekstrak daun sawo dan daun alpukat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* disajikan pada tabel 5.

Tabel 5
Diameter Zona Hambat Tiap Konsentrasi Ekstrak

Pengulangan	Kontrol negatif (mm)	Kontrol positif (mm)	Diameter zona hambat tiap konsentrasi ekstrak (mm)			
			15%	30%	45%	60%
I	0,00	21,97	7,14	9,20	10,13	10,75
II	0,00	22,86	7,34	9,38	8,91	10,83
III	0,00	22,13	7,72	9,06	9,89	10,62
IV	0,00	22,23	7,55	9,50	9,55	11,92
V	0,00	23,64	8,15	9,17	10,32	11,93
Rata-rata	0,00	22,57	7,58	9,26	9,76	11,21

Tabel 6
Klasifikasi Hasil Diameter Zona Hambat

Konsentrasi	Diameter zona hambat	Klasifikasi
15%	7,58	Sedang
30%	9,26	Sedang
45%	9,76	Sedang
60%	11,21	Kuat

a. Diameter zona hambat antibiotik *Gentamicin*

Uji daya hambat antibakteri ini menggunakan cakram disk antibiotik *Gentamicin* 10 µg sebagai kontrol positif. Uji sensitivitas antibiotik dilakukan lima kali pengulangan. Dari hasil pengukuran yang dilakukan, diperoleh diameter zona hambat dengan rata rata 22,57 mm.

b. Diameter zona hambat etanol 96%

Penelitian ini menggunakan pelarut berupa etanol 96% untuk proses ekstraksi. Etanol 96% juga digunakan sebagai kelompok kontrol negatif. Pengulangan kelompok ini dilakukan lima kali. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat, didapatkan hasil rata-rata sebesar 0,00.

- c. Diameter zona hambat konsentrasi ekstrak 15%, 30%, 45%, dan 60%

Dalam penelitian ini, variasi konsentrasi ekstrak 15%, 30%, 45%, dan 60% digunakan sebagai kelompok eksperimen yang akan diuji aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengulangan pada kelompok ini sebanyak lima kali. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat yang telah dilakukan, didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 15% (7,58 mm), pada konsentrasi 30% (9,26 mm), pada konsentrasi 45% (9,76 mm), dan konsentrasi 60% (11,21 mm).

4) Analisis statistik diameter zona hambat pada konsentrasi 15%, 30%, 45% dan 60%

- a. Uji Normalitas

Tabel 7
Uji Normalitas

	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
Konsentrasi Perlakuan	0,863	20	0,009

Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan sig pada konsentrasi perlakuan adalah 0,009 yang artinya 0,009 lebih kecil dari 0,05 hal ini menyatakan data tidak berdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

b. Uji *Kruskal Wallis*

Tabel 8
Uji *Kruskal Wallis*

	Diameter zona hambat
<i>Kruskal-Wallis H</i>	16.714
<i>df</i>	3
<i>Asymp. Sig.</i>	0,001

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0,001 yang artinya 0,001 lebih kecil dari 0,05. Hal ini menyatakan terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata diameter zona hambat. Analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc Kruskal Wallis Multiple Comparisons*

c. Uji *Post Hoc Kruskal Wallis Multiple Comparisons*

Tabel 9
Uji *Pos Hoc Kruskal Wallis Multiple Comparisons*

Variabel	Perlakuan	<i>Sig</i>	Hasil
Konsentrasi 15%	Konsentrasi 30%	0,109	Tidak Berbeda
	Konsentrasi 45%	0,016	Berbeda
	Konsentrasi 60%	0,000	Berbeda
Konsentrasi 30%	Konsentrasi 45%	0,423	Tidak Berbeda
	Konsentrasi 60%	0,000	Berbeda
Konsentrasi 45%	Konsentrasi 60%	0,016	Berbeda

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Kruskal Wallis*, diperoleh nilai signifikansi kurang dari 0,05, yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada rerata diameter zona hambat. Perbedaan ini diperkuat melalui uji *Post-Hoc Kruskal Wallis Multiple Comparisons*, yang menunjukkan bahwa nilai antibakteri perlakuan 15% berbeda nyata dengan nilai antibakteri perlakuan 45%, dan 60% namun tidak berbeda nyata pada perlakuan 30%, pada perlakuan 30%

berbeda nyata dengan perlakuan 60% namun tidak berbeda nyata pada perlakuan 45%, pada perlakuan 45% berbeda nyata pada perlakuan 60%.

B. Pembahasan

1. Skrining fitokimia

Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai mekanisme perlindungan terhadap ancaman dari organisme lain maupun tekanan lingkungan. Metabolit sekunder pada tanaman memiliki beberapa fungsi diantaranya sebagai pertahanan terhadap jamur, virus, bakteri, tanaman pesaing, herbivora, perlindungan terhadap sinar ultraviolet dan penyimpanan nutrisi (Hersila dkk., 2023). Senyawa metabolit sekunder terdiri atas beberapa golongan, antara lain alkaloid, flavonoid, senyawa fenolik, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid. Skrining fitokimia adalah prosedur yang diaplikasikan untuk menentukan keberadaan senyawa-senyawa tersebut dalam tumbuhan, yang dilakukan berdasarkan prinsip reaksi warna menggunakan pereaksi spesifik (Jonathan, Hairani & Ruga, 2024).

Dalam penelitian ini, skrining fitokimia dilakukan pada kombinasi ekstrak daun sawo manila dan daun alpukat yang meliputi pengujian terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, terpenoid dan steroid. Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak ini positif mengandung senyawa tanin, fenol dan saponin. Pengujian pada tanin ditunjukkan oleh transformasi warna menjadi hijau kehitaman mengindikasikan kehadiran senyawa, sementara fenol dikarakterisasi oleh perubahan warna menjadi biru kehitaman, dan adanya busa menunjukkan keberadaan saponin. Senyawa fitokimia yang terkandung dapat berperan sebagai antibakteri (Febriyanti & Leliqia, 2023)

Tanin berfungsi untuk melindungi tanaman ketika dalam waktu pertumbuhan. Dalam bidang kesehatan tanin memiliki beberapa khasiat seperti sebagai antidiare, astringen, antioksidan, dan antibakteri (Sunani & Hendriani, 2023). Mekanisme tanin dalam antibakteri dapat menyebabkan lisis sel karena tanin menargetkan dinding polipeptida pada dinding sel bakteri, mengakibatkan dinding sel tidak sempurna dengan baik, sehingga akhirnya mengakibatkan matinya sel bakteri. Tanin juga mampu mematikan enzim bakteri dan mengganggu proses protein di dalam sel (Nurhasanah & Gultom, 2020).

Cara kerja fenol sebagai antibakteri adalah dengan merusak struktur protein sel melalui proses denaturasi. Fenol membentuk ikatan hidrogen dengan protein, yang mengakibatkan perubahan pada struktur aslinya. Proses ini berdampak pada daya tembus dinding sel dan membran sitoplasma, karena keduanya mengandung protein, ketika permeabilitas terganggu, terjadi ketidak seimbangan makromolekul dan ion di dalam sel, yang akhirnya menyebabkan sel mengalami lisis (Rahmadeni, Febria & Bakhtiar, 2019).

Saponin berfungsi sebagai antijamur, antiinflamasi hingga antibakteri. Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein, disebabkan oleh sifat permukaannya yang mirip dengan deterjen. Senyawa ini mampu mereduksi tegangan permukaan dinding sel bakteri sekaligus mendisrupsi kemampuan membran sel untuk ditembus. Kerusakan membran tersebut berdampak pada kelangsungan hidup bakteri. Saponin juga dapat menembus membran sitoplasma, mengganggu stabilitasnya, sehingga menyebabkan kebocoran sitoplasma dan keluarnya komponen sel, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Putri dkk., 2023).

Pada penelitian sebelumnya, daun sawo manila (*Manilkara Zapota L*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri (Furqon dkk., 2021). Menurut (Khafipah, Saula & Kasasiah, 2022), daun alpukat (*Persea americana Mill.*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin serta saponin. Terjadi perbedaan senyawa bioaktif setelah dikombinasikan. Fenomena ini dapat dipicu oleh faktor lingkungan berbeda dari penelitian sebelumnya (Fajrina, Ramadhani & Syafen, 2023). Hal tersebut dibuktikan pada penelitian (Alum, 2024), yang menjelaskan bahwa faktor seperti suhu, cahaya, status air, dan jenis tanah memengaruhi produksi senyawa bioaktif. Perubahan iklim dapat meningkatkan beberapa faktor lingkungan, meningkatkan konsentrasi serta meningkatkan atau menurunkan profil senyawa bioaktif pada tanaman yang digunakan. Beberapa tekanan iklim yang terkait dengan perubahan iklim, seperti radiasi ultraviolet atau kekurangan air, dapat menyebabkan produksi fitokimia sebagai mekanisme pertahanan tanaman. Hal ini juga dapat mengurangi konsentrasi salah satu atau lebih senyawa bioaktif atau bahkan mengubah karakteristik kimianya sehingga tanaman menjadi kurang efektif atau sama sekali tidak aktif. Terdapat faktor-faktor di luar aspek lingkungan yang berpotensi mempengaruhi senyawa bioaktif pada penelitian ini yaitu kemungkinan kriteria sampel yang berbeda dari penelitian sebelumnya.

2. Aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri merupakan kapabilitas suatu senyawa dalam mengihibis pertumbuhan bakteri uji dapat divisualisasikan dari terbentuknya zona bening di sekeliling disk, Zona bening ini menunjukkan area di mana pertumbuhan bakteri terhambat. Luasnya diameter zona hambat berkorelasi positif dengan tingkat sensitivitas bakteri yang meningkat terhadap senyawa uji, serta semakin baik kemampuan senyawa tersebut berdifusi melalui media agar. Dengan demikian, ukuran zona hambat menjadi indikator penting untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri dari ekstrak yang diuji. uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan teknik difusi cakram pada media MHA terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

a. Aktivitas antibakteri Gentamicin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada penelitian ini, Gentamicin 10 µg digunakan sebagai kontrol kerja. Kontrol kerja diperlukan dalam proses pengujian sebagai langkah untuk memastikan kualitas serta validitas hasil uji yang diperoleh. Aspek yang dikendalikan mencakup mutu isolat bakteri yang digunakan, kemampuan difusi senyawa uji, serta kualitas suspensi bakteri. Kontrol kerja juga berfungsi untuk memvalidasi zona hambat yang terbentuk sebagai indikator efektivitas zat uji, kualitas media *Mueller Hinton Agar* (MHA), dengan memperhatikan ketepatan dan kesesuaian ukuran zona hambat yang terbentuk selama pengujian.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa cakram antibiotik Gentamicin menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 22,57 mm, jika mengacu pada klasifikasi yang dikemukakan oleh Davis dan Stout (1971) (dalam Masykuroh & Heny, 2022), maka daya hambat yang ditunjukkan oleh antibiotik Gentamicin tergolong sangat kuat yaitu >20 mm. Sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012) tingkat sensitivitas antibiotik diklasifikasikan ke dalam tiga kategori, yaitu *susceptible*, *intermediate*, dan *resistant*. Gentamicin dapat dikategorikan sebagai *susceptible* apabila zona hambat yang terbentuk berada dalam rentang 22–30 mm, yang mengindikasikan bahwa antibiotik tersebut kapabel dalam menekan pertumbuhan bakteri uji. Hal ini mengindikasi bahwa senyawa antibakteri berpotensi untuk difusi yang baik ke dalam media agar dan memberikan efek antibakteri yang optimal.

b. Aktivitas antibakteri etanol 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Dalam penelitian ini, etanol 96% digunakan sebagai pelarut sekaligus kontrol negatif. Pemilihan etanol 96% didasarkan pada sifatnya yang selektif, tidak toksik, serta memiliki kemampuan ekstraksi yang tinggi. Etanol ini dapat melarutkan senyawa dengan spektrum polaritas yang luas, mulai dari non-polar hingga polar. Etanol 96% mampu menunjukkan penetrasi yang lebih baik terhadap dinding sel sampel daripada etanol dengan lebih kecil, berimplikasi pada perolehan ekstrak yang lebih pekat dan mengandung senyawa aktif dalam konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan pelarut berbasis air (Wendersteyt, Wewengkang & Abdullah, 2021).

Dalam penelitian ini etanol 96% diaplikasikan sebagai kontrol negatif guna menyesuaikan dengan jenis pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi, serta untuk memastikan bahwa pelarut tersebut tidak memberikan efek antibakteri yang dapat memengaruhi keakuratan hasil pengujian (Prayoga dkk., 2022). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, etanol 96% menghasilkan zona hambat dengan rata-rata 0,00 mm. Hasil ini mengindikasikan etanol 96% tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri uji.

- c. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sawo dan daun alpukat konsentrasi 15, 30, 45, 60% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri mengindikasikan bahwa kombinasi ekstrak daun sawo manila dan daun alpukat mampu menghambat pertumbuhan bakteri, keberhasilan diindikasikan oleh terbentuknya zona bening di sekeliling cakram, dari pengukuran diameter zona hambat menunjukkan variasi antar empat konsentrasi ekstrak, dengan peningkatan ukuran zona bening seiring bertambahnya konsentrasi. Berdasarkan uji statistik normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk didapatkan nilai sig adalah 0,009 sehingga data dinyatakan tidak berdistribusi normal dilanjutkan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Dari hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai sig 0,001 lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat dinyatakan terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata diameter zona hambat. Analisis dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Kruskal Wallis Multiple Comparisons*. Pada hasil uji *Post Hoc* menunjukkan nilai antibakteri perlakuan 15% berbeda nyata dengan nilai antibakteri perlakuan 45%, dan 60% namun tidak berbeda nyata pada perlakuan 30%, pada perlakuan 30% berbeda nyata dengan perlakuan 60% namun tidak berbeda nyata pada perlakuan 45%, pada perlakuan 45% berbeda nyata pada perlakuan 60%.

Aktivitas antibakteri dari setiap konsentrasi ekstrak dievaluasi berdasarkan hasil pengujian dengan membandingkan ukuran diameter zona hambat yang terbentuk terhadap klasifikasi yang telah ditentukan. Mengacu pada kategori yang dikemukakan oleh Davis dan Stout (1971) (dalam Masykuroh & Heny, 2022), aktivitas antibakteri diklasifikasikan menjadi empat tingkat, yaitu aktivitas lemah jika diameter zona hambat kurang dari 5 mm, sedang untuk ukuran 5–10 mm, kuat

pada rentang 10–20 mm, dan sangat kuat apabila melebihi 20 mm. Berdasarkan klasifikasi tersebut pada pengujian daya hambat kombinasi ekstrak daun sawo dan daun alpukat pada konsentrasi 15% dihasilkan sebesar 7,58 mm, pada konsentrasi 30% dihasilkan sebesar 9,26 mm, pada konsentrasi 45% dihasilkan sebesar 9,76 mm termasuk kategori sedang, sedangkan pada konsentrasi 60% dihasilkan sebesar 11,21 mm yang termasuk kategori kuat.

Ukuran diameter zona hambat yang terbentuk merupakan indikator tingkat efektivitas antibakteri dari suatu senyawa. Zona hambat yang lebih besar menunjukkan kemampuan senyawa yang lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa luasnya zona hambat sebanding dengan potensi senyawa sebagai agen antibakteri (Fajrina, Ramadhani & Syafen, 2023). Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan didapatkan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada konsentrasi 60% karena memiliki zona hambat yang paling besar.

Pada penelitian sebelumnya, hasil penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak etanol daun sawo manila (*Manilkara Zapota L*) memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 45%, 50%, 55%, dan 60%, dengan diameter zona hambat 9,4 mm, 12,2 mm, 14,8 mm, dan 16,3 mm (Furqon dkk., 2021). Hasil penelitian pada ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat yaitu 10,2 mm, 12,9 mm, 15,9 mm dan 19,2 mm (Khafipah, Saula & Kasasiah, 2022). Hal tersebut menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak daun sawo manila dan daun alpukat yang ditunjukkan salah satunya pada

konsentrasi 45% dimana pada daun sawo manila menunjukkan hasil dengan kategori yang sama yaitu sedang.