

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik daun sirih (*Piper betle L.*)

Objek dalam penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle L.*). Daun sirih yang digunakan memiliki kriteria yaitu berwarna hijau tua, tidak layu, tidak rusak akibat hama, dan merupakan daun muda yang dipetik mulai dari daun ke-3 setelah pucuk sampai ke-5. Daun sirih (*Piper betle L.*) yang lebih muda mengandung minyak atsiri, *diastase* dan gula yang jauh lebih banyak dibandingkan daun yang lebih tua, sedangkan kandungan tanin pada daun muda sama dengan daun tua (Inayatullah, 2012).

Berat basah dari daun sirih yang digunakan dalam proses rebusan adalah 250g. Sedangkan berat basah dari daun sirih yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah satu kilogram, setelah dikeringkan dengan diangin-anginkan kemudian dihaluskan didapatkan 200g. Hasil pengukuran kadar air pada daun sirih sebesar 10% yang menunjukkan simplisia kering daun sirih telah memenuhi syarat. Selanjutnya dilakukan proses maserasi selama tiga hari dengan melarutkan 200g simplisia kering daun sirih dengan 3000mL etanol 96%, selanjutnya hasil maserasi disaring dan kemudian dilakukan proses remaserasi selama tiga hari dengan melarutkan kembali simplisia daun sirih dari proses maserasi dengan 3000mL etanol 96%. Tujuan dilakukannya proses remaserasi adalah untuk memaksimalkan proses maserasi, dengan menambahkan pelarut etanol 96% yang baru sehingga jumlah zat aktif yang didapatkan lebih besar. Setelah itu hasil remaserasi disaring

dan dilakukan proses evaporasi dengan suhu 50°C, sehingga dapatkan ekstrak pekat seberat 13g.

2. Aktivitas antibakteri dari kontrol positif (antibiotik *amoxicillin*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Berikut adalah hasil uji antibakteri dari antibiotik *amoxicillin* sebagai kontrol positif dalam metode ekstraksi dan rebusan:

Tabel 3
Hasil Uji Antibakteri Dari Antibiotik *Amoxicillin* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Perlakuan	Jumlah koloni bakteri pada setiap replikasi (koloni)			Aktivitas antibakteri
		I	II	III	
1.	Kontrol positif (antibiotik <i>amoxicillin</i>)	0	0	0	Ada

3. Aktivitas antibakteri dari kontrol negatif (aquades dan etanol 96%) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Berikut adalah hasil uji antibakteri dari aquades sebagai kontrol negatif dari metode rebusan dan etanol 96% sebagai kontrol negatif dari metode ekstraksi:

Tabel 4
Hasil Uji Antibakteri Dari Aquades dan Etanol 96% Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Perlakuan	Jumlah koloni bakteri pada setiap replikasi (koloni)			Aktivitas antibakteri
		I	II	III	
1.	Aquades	272	276	285	Tidak ada
2.	Etanol 96%	281	274	283	Tidak ada

4. Aktivitas antibakteri dari rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Berikut adalah hasil uji antibakteri dari rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) dengan variasi konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%:

Tabel 5
Hasil Uji Antibakteri Dari Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Konsentrasi rebusan daun sirih (%)	Jumlah koloni bakteri pada setiap replikasi (koloni)			Aktivitas antibakteri
		I	II	III	
1.	20	4	1	1	Ada
2.	25	1	1	1	Ada
3.	35	1	0	0	Ada
4.	50	0	0	0	Ada

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 5, dapat diketahui bahwa terdapat penurunan koloni bakteri yang tumbuh antara air rebusan daun sirih dengan kontrol negatif akuades. Pada konsentrasi 50% tidak ditemukan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh. Sehingga diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari rebusan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berturut-turut adalah 20% dan 50%

5. Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 6
Hasil Uji Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Konsentrasi ekstrak etanol daun sirih (%)	Jumlah koloni bakteri pada setiap replikasi (koloni)			Aktivitas antibakteri
		I	II	III	
1.	20	0	0	0	Ada
2.	25	0	0	0	Ada
3.	35	0	0	0	Ada
4.	50	0	0	0	Ada

Berdasarkan hasil uji antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih yang disajikan pada Tabel 6, diketahui bahwa terdapat penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan dengan kontrol positif etanol. Akan tetapi Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* belum bisa ditentukan.

3. Analisis perbedaan aktivitas antibakteri pada perlakuan (variasi konsentrasi) dari rebusan dan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.)

Analisis data dilakukan dengan menggunakan data jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada masing-masing metode dengan variasi konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%.

a. Uji normalitas

Berdasarkan *output* “*Test of Normality*” diketahui bahwa nilai Sig dari rebusan dengan konsentrasi 20 dan 35% sebesar $0,000 < 0,05$ sehingga dapat dikatakan data tidak berdistribusi normal. Sedangkan untuk data dari rebusan 25 dan 50% serta

ekstrak 20, 25, 35, dan 50% memiliki nilai yang konstan sehingga, hasil uji normalitas yang ada dihilangkan secara otomatis.

b. Uji homogenitas

Berdasarkan *output* “*Test of Homogeneity of Variances*” dari uji statistik *Based on Mean* didapatkan nilai Sig. sebesar $0,000 < 0,05$, sehingga dapat dikatakan data yang diperoleh tidak homogen.

c. Uji Kruskal Wallis

Tabel 7
Hasil Uji Kruskal Wallis Dari Ekstrak Etanol dan Rebusan Daun Sirih
(*Piper betle L.*)

No.	Perlakuan	Nilai Asymp. Sig.
1.	Rebusan	0,040
2.	Ekstrak tenaol	1,000

Berdasarkan *output* “*Test Statistic*” diketahui bahwa nilai Asymp. Sig. dari rebusan daun sirih kurang dari 0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang signifikan dari jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%. Sedangkan pada perlakuan ekstrak etanol daun sirih didapatkan nilai lebih dari 0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dari jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari ekstrak etanol daun sirih pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%.

B. Pembahasan

1. Aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Kemampuan antibakteri antibiotik *amoxicillin* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Antibiotik *amoxicillin* digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol positif. Dimana kontrol positif berguna untuk menunjukkan kualitas isolat bakteri, ada atau tidaknya kontaminasi dari mikroorganisme lain seperti jamur dan ketepatan konsentrasi suspensi bakteri. Pada penelitian ini, ketiga *plate* kontrol positif menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini menunjukkan kualitas isolat bakteri yang digunakan cukup baik, tidak ada kontaminasi, dan konsentrasi suspensi bakteri sudah tepat.

Antibiotik *amoxicillin* termasuk dalam kelas antimikroba *beta-lactam*. *Beta-lactam* bekerja dengan mengikat protein pengikat penisilin yang menghambat proses yang disebut transpeptidasi (proses ikatan silang dalam sintesis dinding sel), yang mengarah ke aktivasi enzim autolitik di dinding sel bakteri. Proses ini menyebabkan lisis pada dinding sel, sehingga merusak sel bakteri (Akhavan, Khanna dan Vjihani, 2020).

b. Kemampuan antibakteri aquades terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Aquades digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol negatif dalam metode rebusan, hal ini berguna untuk memastikan pelarut dalam proses pembuatan rebusan tidak mempengaruhi hasil dari daya hambat rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan sebagai pembanding

untuk daya hambat dari rebusan daun sirih (*Piper betle* L.). Pada penelitian ini, ketiga *plate* kontrol negatif (aquades) menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada sebagian besar media pada *plate*, hal ini menunjukkan bahwa aquades tidak mempengaruhi kemampuan daya hambat dari rebusan daun sirih.

Pada hasil uji antibakteri yang telah dilakukan diketahui ada perbedaan jumlah koloni yang cukup besar dari replikasi pertama, kedua dan ketiga. Hal ini disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh sangat baik pada media MHA, sehingga ada beberapa koloni yang melekat satu sama lain sehingga terhitung menjadi satu koloni.

c. Kemampuan antibakteri etanol 96% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Etanol 96% digunakan dalam penelitian ini sebagai kontrol negatif dalam metode ekstraksi, hal ini berguna untuk memastikan pelarut dalam proses pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) tidak mempengaruhi hasil dari daya hambat ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan sebagai pembanding untuk daya hambat dari ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) sirih (*Piper betle* L.). Pada penelitian ini, ketiga *plate* kontrol negatif (etanol 96%) menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada sebagian besar media pada *plate*, hal ini menunjukkan bahwa etanol 96% tidak mempengaruhi kemampuan daya hambat dari ekstrak etanol daun sirih.

Sama seperti kontrol aquades, pada kontrol etanol 96% terdapat perbedaan jumlah koloni yang cukup besar dari replikasi pertama, kedua dan ketiga. Hal ini

juga dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh sangat baik pada media MHA, yang menyebabkan ada beberapa koloni yang melekat satu sama lain sehingga terhitung menjadi satu koloni, sehingga terlihat ada variasi jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari masing-masing replikasi.

d. Kemampuan antibakteri rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%

Berdasarkan uji antibakteri dengan metode dilusi agar diketahui bahwa rebusan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri. Kemampuan daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi menunjukkan hasil kemampuan daya hambat yang berbeda-beda, dimana terjadi peningkatan aktivitas daya hambat yang berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi rebusan daun sirih (*Piper betle* L.).

Pada konsentrasi 20% didapatkan hasil yaitu empat koloni di *plate* pertama dan satu koloni di *plate* kedua dan ketiga. Hal ini menunjukkan penurunan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang cukup signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif (aquades), sehingga konsentrasi rebusan 20% dari daun sirih (*Piper betle* L.) dapat dinyatakan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Akan tetapi pada konsentrasi 20% ada selisih pertumbuhan koloni yang cukup besar pada replikasi pertama dan replikasi lainnya, hal ini mungkin dikarenakan saat pencampuran suspensi bakteri 0,5 McFarland dengan rebusan daun sirih 20% yang kurang sempurna, sehingga bakteri dapat tumbuh lebih baik jika dibandingkan dengan replikasi kedua dan ketiga.

Pada konsentrasi 25% terjadi penurunan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan dengan konsentrasi 20%, dimana terdapat satu koloni pada setiap *plate*. Begitu juga dengan pada konsentrasi 35%, dimana terjadi penurunan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan pada konsentrasi 25%, dimana didapatkan hasil yaitu terdapat satu koloni pada *plate* pertama dan tidak ada sama sekali pada *plate* kedua dan ketiga. Sedangkan pada konsentrasi 50% didapatkan hasil yaitu tidak ada sama sekali koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada *plate* pertama, kedua, dan ketiga. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi 50% rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) telah mampu membunuh sebagian besar sel bakteri sehingga tidak dapat menumbuhkan koloni baru, sehingga konsentrasi 50% dari rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) dapat dinyatakan sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM).

Air rebusan daun sirih memiliki antibakteri terhadap bakteri aerob maupun anaerob, hal ini dikarenakan kandungan fenol yang bersifat antibakteri pada daun sirih (Nuniek, Nurachmah dan Gayatri, 2012). Mekanisme kerja fenol sebagai agen antibakteri adalah sebagai toksin dalam protoplasma, dimana fenol akan merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik memiliki molekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah (Syahrinastiti, Djamel dan Irawati, 2015).

Dalam metode rebusan digunakan pelarut aquades. Pelarut aquades adalah pelarut universal yang juga sering digunakan dalam pengobatan tradisional, akan tetapi kemampuan aquades dalam mengekstrak senyawa antimikroba cukup rendah sehingga daya hambat yang dihasilkan juga lemah (Hardani dkk., 2020). Selain itu,

pelarut aquades merupakan jenis pelarut yang mudah didapatkan, bersifat netral, namun memiliki titik didih yang cukup tinggi sehingga memudahkan senyawa kimia pada tanaman yang diekstraksi mengalami kerusakan (Safitri, Susilorini dan Surjowardojo, 2017). Hal ini adalah salah satu faktor yang menyebabkan jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirih, rebusan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kecil.

Uji aktivitas antibakteri dari rebusan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi agar merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang menggunakan uji aktivitas antibakteri dari rebusan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram. Salah satunya adalah penelitian dari Purwantiningsih, Haumein dan Presson (2020) mengenai air rebusan daun sirih sebagai antibakteri alami untuk mencegah mastitis, dimana didapatkan hasil uji daya hambat dengan metode difusi cakram rebusan daun sirih pada konsentrasi 12,5, 20, dan 50% dengan lama perebusan 45 menit didapatkan rata-rata besar zona hambat 0, 0, dan 2,81mm.

Penelitian Haryyanti (2015) mengenai pengaruh rebusan akar rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*, dengan variasi konsentrasi 100, 70, 65, 60, 55 dan 0%, didapatkan hasil yaitu KHM pada konsentrasi 60%. Jika dibandingkan dengan rebusan daun sirih (*Piper betle* L.), rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) lebih baik daripada rebusan akar rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena memiliki KHM pada konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya perbedaan senyawa aktif dari daun sirih dan rumput teki, dimana daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung minyak atsiri dengan kandungan utamanya yaitu

kavikol. Kavikol adalah turunan senyawa fenol yang mempunyai daya antibakteri lima kali lipat dari fenol biasa (Pangesti, Cahyono dan Kusumo, 2017).

- e. Kemampuan antibakteri ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%

Berdasarkan hasil uji antibakteri dengan metode dilusi agar diketahui ekstrak etanol daun sirih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemampuan daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dengan berbagai konsentrasi menunjukkan hasil kemampuan daya hambat yang tidak jauh beda. Dimana pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50% didapatkan hasil yaitu tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menyebabkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun sirih belum bisa ditentukan, karena ada kemungkinan bahwa konsentrasi yang lebih kecil dari 20% sudah cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun sirih.

Ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena mengandung senyawa aktif seperti fenol dan derivatnya terutama saponin, tanin dan flavonoid (Carolia dan Noventi, 2016). Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, saponin akan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Hal ini dikarenakan saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga

terjadi hemolisis pada sel. Pada kesimpulannya apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri akan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri (Madduluri, Babu Rao dan Sitaram, 2013). Selain itu, tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri, dimana tanin menyebabkan pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Selain itu, tanin juga memiliki kemampuan untuk menonaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel (Ngajow, Abidjulu dan Kamu, 2013). Sedangkan flavonoid mempunyai kemampuan untuk berinteraksi dengan DNA pada bakteri, yang menyebabkan penghambatan fungsi membran sitoplasma bakteri dengan cara mengurangi fluiditas dari membran luar dan dalam sel bakteri. Akhirnya pada dinding sel bakteri terjadi kerusakan permeabilitas, sehingga membran sel tidak berfungsi dengan baik, termasuk untuk melakukan pelekatan dengan substrat. Selain itu juga rusaknya membran sitoplasma akan menyebabkan bocornya metabolit penting, sehingga menonaktifkan system enzim pada sel bakteri (Liantari, 2014; Sudirman, 2014).

Ekstrak etanol daun sirih memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dari pada rebusan daun sirih, hal ini mungkin terjadi karena pada rebusan ada beberapa senyawa aktif teroksidasi seperti flavonoid, tanin, fenol dan saponin sebab tidak tahan panas sehingga kemampuan daya hambat bakteri dari rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) menurun (Dewi, 2011; Ibrahim, Yuniarta dan Sriherfyna, 2014; Yuliantari, Widarta dan Permana, 2017; Puspitasari dan Desrita, 2019). Di sisi lain, pelarut dalam proses ekstraksi sangat berpengaruh pada kemampuan daya hambat, hal ini disebabkan penggunaan jenis pelarut yang berbeda dalam mengekstrak komponen aktif dari daun sirih (*Piper betle* L.), dapat memberikan hasil aktivitas

antibakteri yang berbeda pula (Lutviandhitarani, Harjanti dan Wahyono, 2015). Metode maserasi membuat kemampuan daya hambat bakteri ekstrak etanol lebih baik, karena pelarut etanol merupakan salah satu pelarut yang paling baik jika dibandingkan dengan pelarut lain seperti aquades, aseton dan metanol, karena mampu mengikat total flavonoid lebih baik (Verdiana, Widarta dan Permana, 2018).

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi agar merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang menggunakan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram. Salah satunya adalah hasil penelitian dari Effa dan Puetri (2015) mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dimana ekstrak daun sirih (*Piper Betle L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dengan rata-rata besar zona hambat pada konsentrasi 25% sebesar 29,4mm, 50% sebesar 31,0mm, dan 75% sebesar 33,0mm.

Hasil penelitian Magdalena dan Kusnadi (2014) menunjukkan ekstrak kasar daun gambir memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai KHM pada konsentrasi 90%. Selain itu, penelitian Roni, Maesaroh dan Marliani (2019) menjelaskan ekstrak biji, kulit dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) berturut-turut 20, 30 dan 20%. Sehingga jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*), daya hambat ekstrak etanol daun sirih memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus yang lebih baik dari ekstrak kasar daun gambir dan ekstrak biji, kulit dan daun pepaya (*Carica papaya* L.). Hal ini mungkin disebabkan perbedaan senyawa aktif yang terkandung dari masing-masing bahan uji, dimana ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengandung minyak atsiri dengan komposisi 30% fenol dan beberapa derivatnya yang sebagian besar terdiri dari *Chavicol paraallyphenol* turunan dari *Chavica betel*, isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methil euganol* dan *Caryophyllen*, kavikol, kavibekol, estragol, terpinen. Senyawa-senyawa tersebut merupakan turunan dari senyawa fenol yang memiliki sifat antibakteri lima kali lipat lebih besar daripada senyawa fenol biasa (Syahrinastiti, Djamal dan Irawati, 2015).

Dalam pembuatan variasi konsentrasi ada kelemahan pada alat yang digunakan dimana pembuatan variasi konsentrasi dilakukan menggunakan tabung vial yang volumenya belum terstandar, hal ini disebabkan karena kurangnya ekstrak kental daun sirih untuk memenuhi alat yang telah terstandar seperti labu ukur. Sehingga ada kelemahan pada keakuratan dari konsentrasi yang telah dibuat. Sehingga diharapkan untuk penelitian lanjutan dalam penentuan KHM dan KBM dari ekstrak etanol daun sirih menggunakan alat ukur yang telah terstandar.

2. Analisis perbedaan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) pada variasi konsentrasi 20, 25, 35, dan 50% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan uji Kruskal Wallis diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan dari jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh dari rebusan daun sirih pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%. Perbedaan ini disebabkan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang berbanding terbalik

dengan peningkatan konsentrasi rebusan daun sirih. Hasil ini sesuai dengan penelitian Rastina, Sudarwanto dan Wientarsih (2015) yang menyatakan peningkatan konsentrasi ekstrak menghasilkan aktivitas antibakteri yang semakin baik. Sebab dengan meningkatkan konsentrasi dari rebusan daun sirih maka konsentrasi senyawa aktif yang kontak dengan bakteri juga meningkat, sehingga menimbulkan aktivitas antibakteri yang lebih besar.

Pada ekstrak etanol daun sirih tidak ada perbedaan yang signifikan dari jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari ekstrak etanol daun sirih pada konsentrasi 20, 25, 35, dan 50%. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi yang paling kecil (20%) telah mampu membuat tidak ada sama sekali koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh, sehingga hasil yang akan didapatkan akan sama (tidak ada penurunan jumlah koloni bakteri) walaupun konsentrasi yang diberikan ditingkatkan.