

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil**

##### **1. Gambaran umum lokasi penelitian**

Sampel daun sirih hijau (*Piper betle linn*) diperoleh dari tanaman yang tumbuh di daerah dataran tinggi, tepatnya di desa Pucaksari, kecamatan Busungbiu, kabupaten Buleleng. Desa ini terletak dikawasan dataran tinggi perbukitan hingga pegunungan dengan ketinggian berkisar antara 600 hingga 800 meter di atas permukaan laut (mdpl). Tumbuhan daun sirih hijau (*Piper betle linn*) tumbuh liar di area perkebunan dengan kondisi iklim di wilayah Busungbiu menunjukkan suhu rata-rata tahunan sekitar 26°C dengan kelembapan udara rata-rata sekitar 75% serta curah hujan yang tinggi. Tanaman sirih hijau termasuk tanaman tropis yang tumbuh optimal pada lingkungan lembap dengan suhu sekitar 20–30°C. Kondisi tersebut membantu menjaga ketersediaan air di dalam tanah dan mengurangi penguapan berlebihan sehingga daun dapat tumbuh lebih lebar, hijau, dan segar.

Proses pembuatan simplisia dan ekstraksi dilaksanakan di P4TO (Pusat Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat) Cabang Karangasem. P4TO adalah unit produksi obat tradisional di bawah Dinas Kesehatan Provinsi Bali, berlokasi di Jl. Raya Besakih, Desa Rendang, Kec. Rendang, Kab. Karangasem. Lokasi ini difokuskan pada pengolahan pasca panen tanaman obat, produksi simplisia (rajan/serbuk), serta pengembangan produk herbal standar CPOTB (Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik).

Pelaksanaan penelitian uji skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Terapan Poltekkes Kemenkes Denpasar dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di

Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar yang berlokasi di Jl. Pulau Moyo No.33 A, Denpasar. Laboratorium ini telah menerapkan sistem manajemen mutu sesuai standar internasional ISO 17025 yang menjamin kompetensi pengujian dan kalibrasi, sehingga setiap prosedur menghasilkan data yang akurat dan dapat dipertanggungjawabkan. Laboratorium ini juga telah terakreditasi oleh Komite Akreditasi Nasional (KAN), yang menunjukkan bahwa sistem mutu dan kompetensi teknisnya telah memenuhi standar nasional maupun internasional.

## **2. Karakteristik objek penelitian**

Daun sirih hijau (*Piper betle linn*) yang diuji memiliki beberapa karakteristik yaitu diantaranya daun sirih hijau (*Piper betle linn*) yang berwarna hijau tua, memiliki permukaan daun yang halus dan licin serta daun terlihat segar, utuh dan tidak sobek atau tidak berlubang.



**Gambar 6. Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*)**

(Sumber: Dokumentasi Pribadi., 2026)

## **3. Ekstrak kental daun sirih hijau**

Sampel daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dikumpulkan dan dilakukan proses penyortiran sebanyak 3 kg. Selanjutnya, sampel dikeringkan hingga diperoleh

serbuk simplisia sebanyak 300 gram. Simplisia yang telah diperoleh kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 3.000 mL selama  $3 \times 24$  jam. Setelah proses maserasi selesai, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan ampas, kemudian filtrat yang diperoleh dievaporasi hingga menghasilkan ekstrak pekat sebanyak 50,8 gram.



**Gambar 7. Ekstrak Kental Daun Sirih Hijau (*Piper betle linn*)**

(Sumber: Dokumentasi Pribadi., 2026)

#### **4. Hasil perhitungan presentase rendemen**

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100 \% \\ &= \frac{50}{300} \times 100 \% \\ &= 16,6 \%\end{aligned}$$

Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh persentase rendemen sebesar 16,6 %. Menurut Ramadhani M., dkk. (2024), rendemen yang tergolong baik adalah rendemen yang memiliki nilai  $>10\%$ . Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan, maka semakin besar pula jumlah ekstrak yang diperoleh dari proses

ekstraksi. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui jumlah simplisia yang dibutuhkan dalam menghasilkan ekstrak dengan kuantitas tertentu. Nilai rendemen dapat dijadikan acuan dalam menentukan kebutuhan bahan baku untuk memperoleh ekstrak kental dalam jumlah yang diinginkan. Rendemen memberikan gambaran mengenai banyaknya senyawa metabolit sekunder yang berhasil terekstraksi oleh pelarut yang digunakan.

## 5. Hasil uji skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Hasil uji skrining fitokimia disajikan pada tabel berikut.

**Tabel 4**  
**Hasil Uji Skrining Fitokimia**

| No | Uji Fitokimia | Interpretasi                                                                          | Hasil       |
|----|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1  | Flavonoid     | Perubahan warna menjadi orange                                                        | Negatif (-) |
| 2  | Saponin       | Terbentuk busa konsisten setinggi 1-2 cm setelah dikocok dan bertahan selama 10 menit | Positif (+) |
| 3  | Tanin         | Terjadinya perubahan warna menjadi biru kehijauan.                                    | Positif (+) |
| 4  | Terpenoid     | Terjadinya perubahan warna menjadi keabu-abuan                                        | Positif (+) |

(Sumber: Data Primer., 2026)

Keterangan :

Negatif (-) : Tidak ada reaksi yang menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder pada sampel.

Positif (+) : Terdapat reaksi yang menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder pada sampel.

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) memiliki kandungan senyawa saponin, tanin, dan terpenoid.

#### 6. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*)

Hasil pengukuran zona hambat disajikan pada tabel berikut.

**Tabel 5**  
**Hasil Uji Aktivitas Antibakteri**

| Pengulangan  | K (+)<br>(mm) | K (-)<br>(mm) | Diameter Zona Hambat<br>(mm) |      |      |      |
|--------------|---------------|---------------|------------------------------|------|------|------|
|              |               |               | 20%                          | 40%  | 60%  | 80%  |
| I            | 25            | 0             | 17,7                         | 17,2 | 18,2 | 19,6 |
| II           | 25,3          | 0             | 17,4                         | 16,7 | 18,2 | 19,8 |
| III          | 25,1          | 0             | 17,7                         | 18,2 | 18,3 | 19,9 |
| IV           | 25,1          | 0             | 17,6                         | 19,2 | 18,4 | 19,7 |
| Rata-rata    | 25,1          | 0             | 17,6                         | 17,8 | 18,2 | 19,7 |
| Interpretasi | Sangat Kuat   | Lemah         | Kuat                         | Kuat | Kuat | Kuat |

(Sumber: Data Primer., 2026)

Berdasarkan hasil uji antibakteri yang dilakukan pada variasi konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% terbentuk zona hambat kategori kuat, pada kontrol positif terbentuk zona hambat dengan kategori sangat kuat, dan pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat atau masuk dalam kategori lemah.

#### 6. Hasil analisis data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat dari penelitian ini selanjutnya dianalisis menggunakan uji statistik. Langkah awal yang dilakukan yaitu melakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk*.

a. Uji normalitas *Shapiro Wilk*

Diameter zona hambat dilanjutkan dengan aplikasi *software* statistik. Pengujian pada tahap awal menggunakan uji normalitas data dengan metode *Shapiro-Wilk* sebagai berikut.

**Tabel 6**  
**Uji Normalitas *Shapiro-Wilk***

| Kelompok Perlakuan | <i>Statistic</i> | <i>Df</i> | <i>Sig</i> |
|--------------------|------------------|-----------|------------|
| K (+)              | .895             | 4         | .406       |
| 20%                | .827             | 4         | .161       |
| 40%                | .963             | 4         | .798       |
| 60%                | .863             | 4         | .272       |
| 80%                | .993             | 4         | .972       |

(Sumber: Data Primer., 2026)

Hasil uji normalitas pada tabel di atas menunjukkan nilai signifikansi (*Sig.*)  $\geq 0.05$ , sehingga data diameter zona hambat berdistribusi normal. Terpenuhinya syarat normalitas maka analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas.

b. Uji homogenitas *Levene's Test*

Penelitian ini menggunakan uji homogenitas *Levene's Test* dengan hasil sebagai berikut.

**Tabel 7**  
**Uji homogenitas *Levene's Test***

| No | Diameter Zona Hambat   | <i>Levene Statistic</i> | <i>df1</i> | <i>df2</i> | <i>Sig.</i> |
|----|------------------------|-------------------------|------------|------------|-------------|
| 1  | <i>Based on Mean</i>   | 11.566                  | 5          | 18         | <.000       |
| 2  | <i>Based on Median</i> | 10.326                  | 5          | 18         | <.000       |

|   |                                             |        |   |       |       |
|---|---------------------------------------------|--------|---|-------|-------|
| 3 | <i>Based on Median and with adjusted df</i> | 10.326 | 5 | 3.676 | .026  |
| 4 | <i>Based on trimmed mean</i>                | 11.540 | 5 | 18    | <.000 |

(Sumber: Data Primer., 2026)

Berdasarkan tabel di atas hasil uji *levene statistic* didapatkan hasil nilai sig. 0,000  $p \leq 0,05$ . Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa data seluruh kelompok perlakuan tidak homogen. Hasil data tidak homogen akan dilanjutkan uji *One Way ANOVA (Welch)*.

c. Uji *One Way Anova (Welch)*

Penelitian ini menggunakan uji *One Way ANOVA (Welch)* untuk mengetahui perbedaan rata-rata diameter zona hambat antar kelompok perlakuan, karena data berdistribusi normal namun tidak homogen.

**Tabel 8**  
**Uji *One Way ANOVA***

| <b>Variabel</b> | <b><i>Df</i></b> | <b><i>Sig</i></b> |
|-----------------|------------------|-------------------|
| Perlakuan       | 7.329            | <0.01             |

(Sumber: Data Primer., 2026)

Berdasarkan hasil uji *one way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi sebesar <0.01 ( $p \leq 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan uji lanjut yaitu uji *Post Hoc Games-Howell*.

d. Uji *Post Hoc Games-Howell*

Hasil uji *one way ANOVA (Welch)* menunjukkan perbedaan yang signifikan, sehingga uji dilanjutkan dengan menggunakan metode *Games-Howell*. Adapun hasil ditunjukkan pada tabel sebagai berikut.

**Tabel 9**  
**Uji *Post Hoc Games-Howell***

| Perlakuan 1     | Perlakuan 2     | Sig.  | Keterangan |
|-----------------|-----------------|-------|------------|
| Kontrol Positif | Konsentrasi 20% | <.001 | $P < 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 40% | .003  | $P < 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 60% | <.001 | $P < 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 80% | <.001 | $P < 0,05$ |
| Konsentrasi 20% | Konsentrasi 40% | .992  | $P > 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 60% | .002  | $P < 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 80% | <.001 | $P < 0,05$ |
| Konsentrasi 40% | Konsentrasi 20% | .992  | $P > 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 60% | .913  | $P > 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 80% | .144  | $P > 0,05$ |
| Konsentrasi 60% | Konsentrasi 20% | .002  | $P < 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 40% | .913  | $P > 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 80% | <.001 | $P < 0,05$ |
| Konsentrasi 80% | Konsentrasi 20% | <.001 | $P < 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 40% | .144  | $P > 0,05$ |
|                 | Konsentrasi 60% | <.001 | $P < 0,05$ |

(Sumber: Data Primer., 2026)

Berdasarkan tabel hasil uji *Post Hoc Games-Howell*, dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi pada sebagian besar perbandingan antar kelompok menunjukkan nilai  $p < 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik. Hasil

ini mengindikasikan bahwa perlakuan yang diberikan memiliki pengaruh terhadap variabel yang diamati.

Kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan seluruh kelompok perlakuan, baik terhadap kontrol positif maupun pada semua variasi konsentrasi (20%, 40%, 60%, dan 80%). Hal ini menandakan bahwa tanpa perlakuan tidak memberikan efek yang sama dibandingkan dengan kelompok yang diberi perlakuan.

Kontrol positif juga menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap semua kelompok perlakuan, termasuk kontrol negatif dan seluruh konsentrasi yang diuji. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki efek yang berbeda secara nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Pada kelompok variasi konsentrasi, tidak semua perbandingan menunjukkan perbedaan yang signifikan. Perbandingan antara konsentrasi 20% dengan 40% menunjukkan nilai  $p > 0,05$ , yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Selain itu, konsentrasi 40% juga tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 60% dan 80% ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa pada rentang konsentrasi tersebut, peningkatan konsentrasi tidak memberikan perubahan efek secara statistik.

Perbandingan antara konsentrasi 20% dengan 60% dan 80%, serta antara konsentrasi 60% dengan 80%, menunjukkan nilai  $p < 0,05$ , yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi pada titik tertentu dapat meningkatkan efek perlakuan.

Berdasarkan data uji yang dihasilkan dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi perlakuan cenderung meningkatkan efek yang dihasilkan, namun tidak

semua kenaikan konsentrasi memberikan perbedaan yang signifikan secara statistik.

## **B. Pembahasan**

### **1. Ekstraksi daun sirih hijau (*Piper betle linn*)**

Proses ekstraksi daun sirih hijau (*Piper betle linn*) pada penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam. Metode maserasi dipilih karena metode ini sederhana, efektif, dan mampu untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang bersifat termolabil tanpa melibatkan suhu tinggi sehingga tidak merusak struktur kandungan kimianya (Ningsih dkk., 2022).

Pelarut etanol 96% digunakan karena memiliki sifat semi-polar yang mampu melarutkan berbagai senyawa aktif seperti tanin, saponin, dan terpenoid. Etanol bersifat aman, mudah menguap, dan tidak bersifat toksik dibandingkan pelarut jenis lainnya, sehingga tidak merusak senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia. Penggunaan etanol 96% dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi dan kualitas ekstrak yang dihasilkan (Utami dkk., 2023).

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh ekstrak kental sebanyak 50,8 gram dari 300 gram simplisia kering dengan nilai rendemen sebesar 16,6%. Nilai rendemen >10 % tergolong baik yang menunjukkan proses ekstrak berlangsung secara optimal dan mampu mengekstraksi senyawa bioaktif dalam jumlah yang cukup (Ramadhani *et al.*, 2024). Tingginya rendemen juga menunjukkan efisiensi pelarut dalam melarutkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirih hijau (*Piper betle linn*).

Faktor yang memengaruhi nilai rendemen meliputi ukuran partikel simplisia, lama waktu ekstraksi, serta jenis pelarut yang digunakan. Ukuran partikel yang lebih kecil akan meningkatkan luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut, sehingga memperbesar difusi senyawa aktif ke dalam pelarut dan meningkatkan jumlah ekstrak yang dihasilkan. Waktu ekstraksi yang lebih lama memungkinkan proses penarikan senyawa berlangsung lebih optimal, sedangkan jenis pelarut menentukan kemampuan dalam melarutkan senyawa berdasarkan polaritasnya (Putri dkk., 2022).

## **2. Uji skrining fitokimia**

Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) mengandung senyawa saponin, tanin, dan terpenoid, sedangkan senyawa flavonoid tidak terdeteksi.

Keberadaan senyawa saponin ditandai dengan adanya busa stabil setinggi 1-2 cm dan bertahan selama 5-10 menit setelah dikocok. Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri karena kemampuannya merusak membran sel mikroorganisme. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri berkaitan dengan sifatnya sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan dan berinteraksi dengan lipid pada membran sel bakteri, sehingga menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan kebocoran komponen intraseluler. Kerusakan membran ini mengakibatkan terganggunya fungsi sel hingga akhirnya menyebabkan kematian bakteri. Saponin diketahui memiliki potensi luas sebagai agen antibakteri alami karena termasuk senyawa pertahanan tanaman terhadap mikroorganisme patogen (Balqis *et al.*, 2022). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mahyuni dan Sofihidayati

(2020) serta Wasiaturrahman dkk. (2023), diperoleh hasil bahwa senyawa saponin mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yang ditunjukkan melalui terbentuknya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri.

Tanin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru kehijauan. Tanin bekerja dengan cara mengikat dan mengendapkan protein pada dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan kerusakan struktur membran dan mengganggu permeabilitas sel. Tanin dapat mengaktivasi enzim penting yang dibutuhkan bakteri untuk metabolisme, sehingga menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian sel bakteri. Tanin dikenal sebagai senyawa astringen yang dapat menyebabkan denaturasi protein bakteri, sehingga memperkuat efek antibakterinya (Sunani dan Hendriani, 2023). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ruwandha dkk. (2021) dan Wiartini (2024), diperoleh hasil bahwa senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Streptococcus mutans* yang ditunjukkan melalui terbentuknya zona hambat pada uji difusi.

Terpenoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna keabu-abuan. Terpenoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri yang kuat karena sifatnya yang lipofilik, sehingga mampu berinteraksi dengan membran sel bakteri. Mekanisme kerja terpenoid sebagai antibakteri umumnya melalui kerusakan struktur membran sel, peningkatan permeabilitas, serta gangguan fungsi protein dan enzim penting dalam sel bakteri. Terjadinya kebocoran komponen intraseluler dan terganggunya metabolisme sel, berujung pada kematian bakteri. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Guimaraes dkk.

(2019), Sumayya dkk. (2020), dan Huang dkk. (2021), diperoleh hasil bahwa senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme menghambat sintesis DNA, protein, serta komponen dinding sel bakteri sehingga memperkuat efek bakterisidalnya. Aktivitas tersebut terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dalam berbagai uji antibakteri.

Tidak terdeteksinya kandungan flavonoid pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) dapat disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya jenis pelarut, metode ekstraksi, serta kondisi proses ekstraksi. Flavonoid merupakan senyawa yang sangat dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut, sehingga perbedaan jenis pelarut dapat menyebabkan variasi kadar flavonoid yang terekstraksi. Pelarut dengan kepolaran yang tidak sesuai dapat menyebabkan flavonoid tidak larut secara optimal, sehingga tidak terdeteksi pada uji fitokimia (Saffana, 2024). Metode ekstraksi juga berpengaruh terhadap kandungan flavonoid, di mana metode tertentu seperti maserasi dapat menghasilkan kadar flavonoid yang lebih rendah dibandingkan metode lain seperti refluks karena keterbatasan difusi senyawa (Hanifah et al., 2023). Faktor lain yang memengaruhi adalah kemungkinan degradasi senyawa flavonoid akibat paparan sinar matahari, oksigen, maupun lama waktu ekstraksi, sehingga kadar flavonoid menjadi sangat kecil atau tidak terdeteksi (Kurniawan et al., 2021). Tidak ada ditemukannya flavonoid pada ekstrak bukan berarti senyawa tersebut tidak ada, melainkan dapat disebabkan oleh kondisi ekstraksi yang kurang optimal.

### 3. Diameter zona hambat

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan mengukur diameter zona hambat sebagai indikator efektivitas antibakteri.

#### a. Diameter *levofloxacin hemihydrate*

Pada penelitian ini menggunakan antibiotik cair *levofloxacin hemihydrate* yang menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 25,1 mm dengan kategori sangat kuat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fukuda dkk., (2026), diperoleh hasil bahwa *levofloxacin* sebagai antibiotik golongan *fluorokuinolon* bekerja dengan menghambat enzim DNA *gyrase (topoisomerase II)* dan *topoisomerase IV* pada bakteri. Enzim tersebut berperan dalam proses replikasi, transkripsi, dan perbaikan DNA, sehingga penghambatan aktivitasnya akan menyebabkan terganggunya sintesis DNA dan berujung pada terhambatnya pertumbuhan serta kematian sel bakteri. Besarnya zona hambat menunjukkan efektivitas tinggi dari antibiotik tersebut sebagai pembanding dalam penelitian.

#### b. Diameter kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 96% yang menunjukkan tidak adanya zona hambat (0 mm) dengan kategori sangat lemah. Hal ini berarti pelarut yang digunakan tidak memiliki aktivitas antibakteri, dan memastikan bahwa efek antibakteri yang diamati berasal dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*), bukan dari pelarut yang digunakan.

#### c. Diameter zona hambat konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%

Hasil pengujian dengan variasi konsentrasi menghasilkan zona hambat dengan kategori kuat, dengan rata-rata sebagai berikut:

- 1) 20% : 17,6 mm

- 2) 40%: 17,8 mm
- 3) 60%: 18,2 mm
- 4) 80%: 19,7 mm

Berdasarkan hasil zona hambat yang diamati terlihat adanya peningkatan diameter zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri (pratama dkk, 2023). Pernyataan ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Sellin dkk. (2025) serta Mulia dkk. (2023), yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berkorelasi dengan peningkatan aktivitas antibakteri yang ditunjukkan melalui diameter zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi, maka semakin banyak senyawa bioaktif yang berinteraksi dengan sel bakteri sehingga daya hambat yang dihasilkan menjadi lebih besar.

#### **4. Perbedaan zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* linn)**

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan data berdistribusi normal namun tidak homogen, ketidakhomogenan data dapat disebabkan oleh variasi biologis bakteri, ketidaksamaan difusi ekstrak dalam media, serta faktor teknis selama pengujian seperti ketebalan media dan ukuran sumuran (Yuliana et al., 2021). Hasil data yang tidak homogen kemudian dianalisis menggunakan uji *One Way* ANOVA (*Welch*) dan diperoleh nilai signifikansi  $p = 0,00$  ( $p < 0,05$ ), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Hasil uji lanjut pada *post hoc games-howell* menunjukkan bahwa:

- a. Kontrol negatif berbeda signifikan dengan semua perlakuan.
- b. Kontrol positif berbeda signifikan dengan semua kelompok.

- c. Konsentrasi 20% tidak berbeda signifikan dengan 40%.
- d. Konsentrasi 40% tidak berbeda signifikan dengan 60% dan 80%.
- e. Konsentrasi 60% dan 80% menunjukkan perbedaan signifikan dengan beberapa kelompok lainnya.

Berdasarkan hasil uji lanjut *Post Hoc Games-Howell* menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri antar kelompok perlakuan. Pada kontrol negatif terdapat perbedaan signifikan terhadap semua perlakuan, hal ini berarti tidak adanya zat aktif pada kontrol negatif sehingga tidak terbentuk zona hambat. Aktivitas antibakteri yang diamati pada kelompok perlakuan sepenuhnya berasal dari ekstrak yang digunakan. Hasil ini sejalan dengan penelitian Hasanah dkk. (2023) yang menyebutkan bahwa kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat, sedangkan ekstrak etanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan.

Pada kontrol positif juga berbeda signifikan dengan semua kelompok yang menunjukkan bahwa antibiotik pembanding memiliki efektivitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan ekstrak, sehingga menghasilkan zona hambat yang lebih besar dan konsisten. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Wiryadana dkk. (2019) yang menunjukkan bahwa antibiotik golongan *fluoroquinolone* memiliki daya hambat yang tinggi terhadap *Escherichia coli*, ditandai dengan diameter zona hambat yang besar, sehingga efektivitasnya lebih tinggi dibandingkan bahan alami.

Pada konsentrasi 20% dan 40% menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi pada rentang tersebut belum memberikan peningkatan aktivitas antibakteri yang bermakna. Hal ini dapat disebabkan oleh jumlah senyawa aktif yang belum cukup tinggi untuk menghasilkan efek yang berbeda secara statistik. Pada konsentrasi

40% dengan 60% dan 80% mengindikasikan adanya kecenderungan *plateau* atau efek jenuh, di mana peningkatan konsentrasi tidak lagi diikuti dengan peningkatan daya hambat yang signifikan (Handayani et al., 2022). Pada konsentrasi 60% dan 80% menunjukkan perbedaan signifikan dengan beberapa kelompok lain, hal ini dapat diartikan bahwa pada rentang konsentrasi ini aktivitas antibakteri telah mencapai tingkat yang lebih optimal.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle linn*) memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, dengan konsentrasi optimal berada pada kisaran 60%–80%. Hal ini sejalan dengan penelitian Zahra dan Maryati (2024) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Penelitian Kutiom dkk. (2023) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle linn*) mampu menghasilkan zona hambat yang tergolong kuat dan meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi, sehingga menegaskan bahwa ekstrak ini memiliki potensi sebagai antibakteri alami yang efektif.