



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH  
(*Piper betle* L) DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL  
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Yosepha Indira Putriani Mariadi**

**NIM: 052221005**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KESEHATAN  
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO  
2024**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH  
(*Piperis betle* L) DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL  
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*  
SKRIPSI**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana

**Oleh:**

**Yosepha Indira Putriani Mariadi**

**NIM: 052221005**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KESEHATAN  
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO  
2024**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH  
(*Piper betle* L) DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL  
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Disusun oleh:

**Yosepha Indira Putriani Mariadi**

**NIM: 052221005**

PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KESEHATAN  
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO

Telah diperiksa dan disetujui oleh pembimbing serta telah diperkenankan untuk diujikan.

Ungaran, 20 Agustus 2024

**Pembimbing**

apt. Melati Aprilliana Ramadhani, S.Farm., M.Farm.  
NIDN. 0624049001

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH  
(*Piper betle* L) DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL  
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Disusun Oleh :

**Yosepha Indira Putriani Mariadi**

**NIM: 052221005**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Program Studi Farmasi,  
Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo, pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 21 Agustus 2024

**Tim Penguji : Ketua / Pembimbing**

apt. Melati Aprilliana R., S.Farm., M.Farm.  
NIDN.0624049001

**Anggota/Penguji 1**

**Anggota/Penguji 2**

apt. Anita Kumala Hati., S.Farm., M.Si  
NIDN. 0604108601

apt. Abdul Roni., S.Farm., M.Farm  
NIDN. 0609059201

**Ketua Program Studi**

**Dekan Fakultas**

apt. Richa Yuswantina, S.Farm., M.Si  
NIDN. 0630038702

Ns. Eko Susilo, S.Kep., M.Kep  
NIDN. 0627097501

## PERNYATAAN ORISINILITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini saya,

Nama : Yosepha Indira Putriani Mariadi

NIM : 052221005

Program studi : Farmasi, Fakultas Kesehatan

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi berjudul “**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) Dengan Varian Konsentrasi Etanol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***” adalah karya ilmiah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapat gelar akademik apapun diperguruan tinggi manapun.
2. Skripsi ini merupakan ide dan hasil karya murni saya yang dibimbing dan dibantu oleh tim pembimbing dan narasumber.
3. Skripsi ini tidak memuat karya atau pendapat orang lain yang telah dipublikasikan kecuali secara tertulis dicantumkan dalam naskah sebagai acuan dengan menyebut nama pengarang dan judul aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran di dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah saya peroleh dan sanksi lain yang sesuai dengan norma yang berlaku di Universitas Ngudi Waluyo.

Ungaran, 28 Agustus 2024

Pembimbing

yang membuat pernyataan

apt. Melati Aprilliana R., S.Farm., M.Farm.  
NIDN.0624049001

Yosepha Indira Putriani Mariadi

## KESEDIAAN PUBLIKASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yosepha Indira Putriani Mariadi

NIM : 052221005

Program studi : Farmasi

Menyatakan memberikan kewenangan kepada Universitas Ngudi Waluyo untuk menyimpan, mengalih media/formatkan, merawat dan mempublikasikan skripsi saya yang berjudul “**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) Dengan Varian Konsentrasi Etanol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*”.**

Ungaran, 28 Agustus 2024

Yang membuat pernyataan

Yosepha Indira Putriani Mariadi  
052221005

## RIWAYAT HIDUP PENULIS



Nama : Yosepha Indira Putriani Mariadi  
Tempat Tanggal Lahir : Ruteng, 10 Maret 1999  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Agama : Katolik  
Alamat : Mukun, Desa Golo Meni, Kec.Kota Komba, Kab.  
Manggarai Timur, Provinsi NTT.

### Riwayat Pendidikan :

1. SDK Mukun II : 2006-2011
2. SMP Pancasila Mukun : 2011-2014
3. SMAK ST. Arnoldus Mukun : 2014-2017
4. Poltekkes Kupang :2017-2021

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan yang Maha Esa karna atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L) DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*”** Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo. Tentunya dalam menyusun skripsi ini penulis mendapat bimbingan, bantuan, masukan serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Subyantoro, M. Hum selaku Rektor Universitas Ngudi Waluyo
2. Eko Susilo, S. Kep., Ns., M. Kes. Selaku Dekan Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo
3. Apt. Richa Yuswantina, S. Farm., M. Farm selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
4. Apt.Niken Dyaharyesti, S.Farm., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik
5. Apt. Melati Aprilliana R., S. Farm., M. Farm., selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan, saran dan dukungan dalam menyusun skripsi ini.



6. Seluruh Dosen dan Staf Pengajar Universitas Ngudi Waluyo yang telah memberi ilmu bermanfaat dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Kedua orang tua saya, papa Adi Dura dan mama Ensi Marida serta kakak-adik dan keluarga besar yang selalu memberikan semangat, dukungan serta doa sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman terdekat saya yang selalu membantu (erlinda, reni, mbak zui, andra, dan redly) dan mahasiswa S1 Farmasi Transfer Angkatan Tahun 2022 yang telah membantu dan mendukung penulisan dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Kepada diri sendiri Yosepha Mariadi, terimakasih telah berjuang dan bertahan sampai titik ini walupun banyak rintangan dan tantangan yang dihadapi, banyak deraian air mata dan jatuh bangun dalam setiap langkah yang diambil tapi kamu tetap kuat dan bisa bertahan sampai sekarang, terimakasih banyak kepada Tuhan Yesus yang salauh menyertai langkah saya sampai di titik sekarang.

Semoga Tuhan Yesus senantiasa membalas kebaikan yang telah diberikan dan menjadi amal ibadah. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan menambah ilmu pengetahuan bagi kita semua.

Ungaran, 21 Agustus 2024

Penyusun

Universitas Ngudi Waluyo  
Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan  
Skripsi, Agustus 2024  
Yosepha Indira Putriani Mariadi  
052221005

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle L*)  
DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL TERHADAP BAKTERI  
*Staphylococcus aureus***

**ABSTRAK**

**Latar belakang :** Daun sirih (*Piper betle L*) salah satu tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Daun sirih mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri. Tujuan penelitian ini mengetahui pengaruh varian pelarut terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureu*.

**Metode :** Jenis penelitian ini adalah eksperimental diawali dengan ekstraksi metode maserasi dengan varian konsentrasi pelarut etanol 40%, etanol 70%, dan etanol 96%, dibuat konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Kontrol positif menggunakan disk kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Data diuji menggunakan SPSS dengan uji *kruskal wallis*.

**Hasil :** Rata-rata diameter zona hambat daun sirih konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% ekstrak etanol 40% secara berturut-turut 2,69 mm, 3,40 mm, 3,38 mm, 3,93 mm, dan 4,32 mm. ekstrak etanol 70% berturut-turut 4,53 mm, 5,01 mm, 5,45 mm, 6,34 mm, dan 6,8 mm. etanol 96% secara berturut-turut 3,73 mm, 4,01 mm, 5,32 mm, 5,75 mm, dan 6,29 mm. Hasil uji SPSS menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle L*) menggunakan variasi konsentrasi etanol.

**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan signifikan pada aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle L*) menggunakan variasi konsentrasi etanol dengan nilai signifikan P value 0,016 ( $P < 0,05$ ). Pelarut yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling baik pada ekstrak daun sirih yaitu etanol 70% dengan konsentrasi 10% yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar 5,01 mm sehingga termasuk kategori sedang.

**Kata kunci :** *Piper betle L*, pelarut, antibakteri, *Staphylococcus aureus*

Universitas Ngudi Waluyo  
Bachelor of Pharmacy Study Program, Faculty of Health  
Thesis, August 2024  
Yosepha Indira Putriani Mariadi  
052221005

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF BETEL LEAF EXTRACT (*Piper betle* L) WITH VARIATIONS IN ETHANOL CONCENTRATION AGAINST *Staphylococcus aureus* BACTERIA**

**ABSTRACT**

**Background:** Betel leaf (*Piper betle* L) is one of the herbal plants that can be used for medicine. Betel leaves contain secondary metabolite compounds that have antibacterial activity. The purpose of this study is to determine the effect of solvent variants on the antibacterial activity of betel leaf extract on *Staphylococcus aureu* bacteria.

**Method:** this type of research is experimental starting with the maceration method with solvent concentration variants of 40% ethanol, 70% ethanol, and 96% ethanol, made concentrations of 5%, 10%, 15%, 20%, and 25%. Positive control uses chloramphenicol discs and DMSO negative controls. The antibacterial activity test uses the disc diffusion method. The data were tested using SPSS with *the crucial wallis* test.

**Results :** The average diameter of the inhibition zone of betel leaf concentrations of 5%, 10%, 15%, 20%, and 25% ethanol extract was 2.69 mm, 3.40 mm, 3.38 mm, 3.93 mm, and 4.32 mm, respectively. 70% ethanol extract was 4.53 mm, 5.01 mm, 5.45 mm, 6.34 mm, and 6.8 mm, respectively. 96% ethanol was 3.73 mm, 4.01 mm, 5.32 mm, 5.75 mm, and 6.29 mm. The results of the SPSS test showed that there was a significant difference in the antibacterial activity of betel leaf extract (*Piperis betle* L) using variations in ethanol concentration.

**Conclusion:** There was a significant difference in the antibacterial activity of betel leaf extract (*Piperis betle* L) using a variation in ethanol concentration with a significant P value of 0.016 ( $P < 0.05$ ). The solvent that has the best antibacterial activity in betel leaf extract is 70% ethanol with a concentration of 10% which has an average inhibition zone of 5.01 mm so it belongs to the medium category.

**Keywords :** *Piper betle* L, solvent, antibacterial, *Staphylococcus aureu*

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP PENULIS .....	v
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
A. Tinjauan Teori .....	6
B. Kerangka Teori.....	29
C. Kerangka Konsep.....	30
D. Hipotesis.....	30
BAB III METODE PENELITIAN.....	31
A. Desain Penelitian.....	31
B. Lokasi Penelitian.....	31
C. Subjek Penelitian.....	32
D. Defenisi oprasional.....	32
E. Variable penelitian.....	33
F. Pengumpulan Data .....	33
G. Prosedur Penelitian.....	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43

A. Hasil dan Pembahasan.....	43
B. Keterbatasan penelitian .....	65
BAB V PENUTUP .....	66
A. Simpulan .....	66
B. Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA .....	68

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Daun sirih ( <i>Piper betle</i> L) .....	6
Gambar 2. 2 struktur senyawa flavonoid .....	17
Gambar 2. 3 struktur senyawa saponin .....	18
Gambar 2. 4 Struktur senyawa fenolik.....	19
Gambar 2. 5 Struktur senyawa alkaloid .....	20
Gambar 2. 6 Struktur senyawa tanin .....	22
Gambar 2. 7 Struktur Kimia Kloramfenikol .....	26
Gambar 2. 8 Kerangka Teori .....	29
Gambar 2. 9 Kerangka Konsep .....	30
Gambar 4. 1 Hasil Mikroskop Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	57

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Standar kekeruhan larutan Mc.farland .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 2. 2 Kriteria Zona Hambat Kekutan Daya Antibakteri . .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 4. 1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia dan Ekstrak .....	46
Tabel 4. 2 Hasil Uji Kadar Abu Simplisia.....	46
Tabel 4. 3 Rendemen Ekstrak Daun Sirih .....	49
Tabel 4. 4 Hasil Pengamatan organoleptis ekstrak.....	50
Tabel 4. 5 Hasil Uji Bebas Etanol .....	51
Tabel 4. 6 Hasil Uji Bebas Etanol .....	52
Tabel 4. 7 Hasil Uji Identifikasi Bakteri .....	57
Tabel 4. 8 Zona Hambat Ekstrak Etanol 40% Terhadap <i>Staphylococcus Aureus</i> .	60
Tabel 4. 9 Zona Hambat Ekstrak Etanol 70% Terhadap <i>Staphylococcus Aureus</i> .	60
Tabel 4. 10 Zona Hambat Ekstrak Etanol 96% Terhadap <i>Staphylococcus Aureus</i>	60
Tabel 4. 11 Hasil Uji Normalitas Daun Sirih Dengan Varain Pelarut .....	63
Tabel 4. 12 Hasil Uji Kruskal <i>Wallis Test Ektrak</i> Daun Sirih Varian Pelarut.....	63

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Determinasi.....	76
Lampiran 2 Etichal Clearance.....	79
Lampiran 3 Proses Pengeringan, Uji Kadar Air Dan Kadar Abu Daun Sirih Hijau .....	80
Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air Simplisia, Kadar Air Ekstrak, Kadar Abu Dan Randemen.....	82
Lampiran 5 Proses Ekstraksi Daun Sirih Hijau.....	85
Lampiran 6 Perhitungan varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 95%.....	86
Lampiran 7 Identifikasi bakteri.....	90
Lampiran 8 Perhitungan varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 95%.....	91
Lampiran 9 Membuat Larutan Induk.....	92
Lampiran 10 Perhitungan Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%.....	93
Lampiran 11 Uji Aktivitas Antibakteri.....	95
Lampiran 12 Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri.....	97
Lampiran 13 Hasil Olah Data.....	99



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit infeksi adalah salah satu jenis penyakit yang paling umum diderita oleh penduduk Indonesia. Salah satu penyebab utama penyakit infeksi ini yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*. Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang belum parah umumnya hanya menyebabkan infeksi ringan. Namun, pada kondisi yang lebih serius dapat menyebabkan meningitis (Suyasa *et al.*, 2022).

Pengobatan yang biasa digunakan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan menggunakan antibiotik seperti amoksisilin, metisilin, doksisisilin, klindamisin, eritromisin, tetrasiklin, dan azitromisin. Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang memiliki efek samping seperti reaksi alergi, gangguan pencernaan, hingga efek yang paling parah menyebabkan resistensi bakteri. Adanya efek samping tersebut, maka penggunaan antibiotik perlu dipertimbangkan kembali. Salah satu upaya untuk mengatasi efek samping tersebut dapat menggunakan obat herbal (Ninsih *et al.*, 2022).

Obat herbal merupakan ramuan pengobatan yang menggunakan tanaman dengan kandungan alamiah dari tanaman itu sendiri. Indonesia memiliki kekayaan berbagai jenis tumbuhan yang bermanfaat sebagai tanaman obat. Tanaman obat herbal ini digunakan secara turun-temurun berdasarkan resep nenek moyang, adat istiadat, kepercayaan atau kebiasaan setempat (Fallo *et al.*, 2022). Salah satu tanaman herbal yang memiliki aktivitas sebagai

antibakteri yaitu daun sirih. Pemilihan daun sirih pada penelitian ini dikarenakan pemanfaat daun sirih dikabupaten Semarang belum dimanfaatkan dengan baik dimana daun sirih masih dianggap sebagai tumbuhan liar oleh masyarakat setempat.

Daun sirih memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, dan tannin (Lister, 2020). Berdasarkan penelitian Alydrus & Khofifah (2022), ekstrak daun sirih dengan menggunakan pelarut etanol 96% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode sumuran dengan melihat zona bening yang terbentuk pada masing-masing konsentras 20%, 40%, 60%, dan 80%. Hasil diameter zona hambat yang terbentuk berturut-turut adalah 18 mm, 20 mm, 22 mm, dan 23 mm.

Dalam menarik metabolit sekunder dari daun sirih, maka salah satu caranya dapat dilakukan dengan metode ekstraksi. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan dalam menarik metabolit sekunder yaitu pelarut (Sayuti, 2017). Jenis pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap senyawa metabolit yang ikut terekstraksi (Hidayah *et al.*, 2021). Senyawa yang bersifat non-polar akan larut dalam pelarut non-polar, senyawa semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, serta senyawa yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Sayuti, 2017). Pada penelitian ini, peneliti ingin menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih dengan menggunakan tiga konsentrasi etanol yaitu 40%, 70% dan 96%. Pemilihan

varian konsentrasi pelarut etanol karena etanol bersifat non-toksik dan pelarut dengan polaritas tinggi, sehingga kepolaran yang tinggi dapat mudah larut didalam air dan hampir semua pelarut organik (Dianda & Suharti, 2023).

Berdasarkan penelitian Azizah *et al.*, (2020) ekstrak teh hijau menggunakan pelarut etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Metode yang digunakan difusi cakram, ekstrak etanol 60%, 70%, 80% dan 90% teh hijau memiliki rata-rata diameter zona hambat berturut-turut 18,45 mm, 19,86 mm, 16,68 mm, dan 13,58 mm. Konsentrasi ekstrak etanol teh hijau yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal yaitu ekstrak etanol 70% dengan diameter zona hambat sebesar 19,86 mm.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian tentang “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) Dengan Variasi Konsentrasi Etanol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*”.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) menggunakan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat?
2. Apakah terdapat perbedaan signifikan aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) menggunakan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat?

3. Manakah varian konsentrasi etanol yang paling pontensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat?

### **C. Tujuan Penelitian**

#### **1. Tujuan umum**

Untuk menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat.

#### **2. Tujuan khusus**

- a. Menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) menggunakan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat?
- b. Menganalisis perbedaan signifikan aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) menggunakan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat?
- c. Menganalisis varian konsentrasi etanol yang paling pontensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat

### **D. Manfaat penelitian**

#### **1. Bagi Peneliti**

Hasil penelitian diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan, Xwawasan, dan data ilmiah. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui manfaat daun sirih (*Piper betle* L) yang dapat digunakan sebagai antibakteri yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **2. Bagi ilmu pengetahuan**

Sebagai bahan referensi bagi peneliti selanjutnya dan menambah pustaka di perpustakaan untuk mengetahui bahwa tanaman tradisional daun sirih (*Piper betle* L) merupakan antibakteri *Staphylococcus aureus*.

## **3. Bagi masyarakat**

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat manfaat daun sirih (*Piper betle* L) yang dapat digunakan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Teori

##### 1. Daun sirih (*Piper betle* L)

###### a. Tanaman sirih (*Piper betle* L)

Sirih memiliki nama latin *Piper betle* L yaitu salah satu spesies dalam genus *Piper* yang paling dikenal masyarakat, karena tidak hanya dimanfaatkan sebagai herbal namun juga memiliki nilai penting dalam budaya masyarakat (Rahmawati *et al.*, 2020). Sirih merupakan jenis tanaman merambat dan mempunyai bau aromatik khas, bersifat pedas, dan hangat yang telah lama diketahui dan digunakan secara turun temurun untuk pengobatan seperti obat batuk, sakit gigi, jerawat, penyegar mulut, keputihan, bisul, gusi bengkak, mimisan dan lain sebagainya (Sagita, 2017). Daun sirih terdapat pada gambar 2.1



**Gambar 2. 1 Daun sirih (*Piper betle* L)  
Sumber : (Dokumentasi pribadi, 2024)**

b. Klasifikasi tanaman sirih (*Piper betle* L)

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyte
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Geneus	: Piper
Spesies	: <i>Piper betle</i> (Lister, 2020)

c. Morfologi tanaman sirih (*Piper betle* L)

Tumbuhan sirih adalah tumbuhan yang tumbuh merambat, merayap dengan Panjang 1-3 meter. Batang berbentuk silindris, beruas-ruas, Panjang antra ruas 7-20 cm, pada bagian pangkal berkayu, berwarna hijau atau hijau kekuningan. Jenis daun Tunggal dengan bentuk bulat telur hingga lonjong, untuk tepi daun meruncing, ujung daun membulat, pangkal daun menyirip yang bentuknya halus dan licin. Bunga mejemuk, bentuk bulir, putih. Akar rambat serta berwarna putih (Wahyuningtyas *et al.*, 2023).

d. Kandungan kimia tanaman sirih (*Piper betle* L)

Daun sirih mengandung minyak atsiri 0,8-1,8% yang terdiri atas kavibetol (betel fenol), alilpirokatekol (hidroksikavikol), dan kavikol. Kandungan senyawa lain adalah karvakrol, eugenol metil eter, alilpirokatekol mono dan diasetat, p-simen, kariofilen, sineol, seskuiterpen, terpen, fenilpropan, tanin, saponin, flavonoid, kadinen,

estragol, karoten, tiamin, nikotionat, vitamin c, gula, pati, riboflavin, asam dan asam amino. Kavikol menyebabkan sirih berbau khas dan memiliki khasiat antibakteri lima kali lebih kuat daripada fenol serta imunomodulator (Widiyastuti *et al.*, 2016).

e. Khasiat tanaman sirih (*Piper betle* L)

Daun sirih (*Piper betle* L) yang berkhasiat untuk mengobati bau mulut, sakit mata, keputihan, radang saluran pernapasan, batuk, sariawan, mimisan, antiradang, antiseptik, dan antibakteri (Lister, 2020).

## 2. Pembuatan simplisia

a. Simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional yang belum diolah dengan berbagai macam cara, kecuali berupa bahan yang melalui proses pengeringan (Lutfiah, 2022). Simplisia dapat dibagi menjadi 3 jenis yaitu:

1) Simplisia nabati

Berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, eksudat tumbuhan atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tumbuhan sendiri merupakan isi sel dari tanaman yang keluar secara spontan atau dengan satu cara sengaja dilepaskan dari sel. Simplisia nabati bisa dikenal masyarakat awam dengan tanaman obat. Tanaman obat sendiri adalah tanaman yang memiliki khasiat menyembuhkan maupaun pencegahan penyakit.



## 2) Simplisia hewani

Simplisia hewani merupakan hewan utuh atau zat bermanfaat yang diproduksinya dan masih berupa bahan kimia campuran.

## 3) Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral merupakan bahan mineral atau plikat yang belum mengalami proses pengolahan atau yang telah mengalami proses pengolahan sederhana dan masih berupa bahan kimia campuran

### b. Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia harus melewati beberapa proses, menurut (Rivai *et al.*, 2014) proses dari pembuatan simplisia adalah sebagai berikut:

#### 1) Pengumpulan Bahan Baku

Jumlah bahan aktif bervariasi tergantung pada:

- a) Bagian tanaman yang dimanfaatkan.
- b) Umur tanaman yang digunakan.
- c) Waktu panen
- d) Lingkungan tempat untuk bertumbuh.

#### 2) Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau benda asing lainnya dari tumbuhan sebelum pencucian dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum

pengeringan, sehingga didapatkan herbal yang diayak untuk digunakan. Cara ini dapat dilakukan secara manual.

### 3) Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang menempel pada tumbuhan. Pencucian dilakukan dengan air mengalir dan bersih, seperti mata air, air sumur, atau air keran. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari tumbuhan tersebut.

### 4) Perajangan

Simplisia perlu melewati proses pemotongan agar mempermudah proses pengeringan. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau atau mesin pemotong khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan sesuai ukuran yang diinginkan. Semakin tipis bahan yang dirajang maka semakin cepat proses pengeringan.

### 5) Pengeringan

Tujuan dilakukan pengeringan agar mendapatkan mutu yang bagus yaitu simplisia tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik, kualitas, kehancuran atau kerusakan dapat dihindari. Terdapat dua metode proses pengeringan sebagai berikut:

a) Pengeringan Alami

Pengeringan alami dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari secara langsung maupun tidak langsung. Pengeringan tanpa menggunakan panas matahari juga dapat dilakukan dengan metode kering angin.

b) Pengeringan Buatan

Pengeringan bahan simplisia yang menggunakan bantuan teknologi seperti oven.

6) Sortasi kering

Dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan secara manual.

7) Penyimpanan

Penyimpanan bertujuan untuk menjaga mutu dan stabilitas simplisia. Wadah yang digunakan untuk menyimpan simplisia harus mampu melindungi simplisia dari cemaran mikroba, cahaya, oksigen dan penguapan bahan aktif seperti minyak atsiri.

### **3. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstrak merupakan sediaan atau sampel yang berbentuk cair, kental ataupun kering. Sediaan tersebut didapatkan

melalui ekstraksi senyawa aktif dari simplisia hewani dan simplisia nabati dengan menggunakan tambahan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2016).

Jenis-jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan yaitu sebagai berikut :

a. Ekstraksi dingin

Ekstraksi dingin tidak memerlukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Beberapa jenis metode ekstraksi dingin sebagai berikut:

1) Maserasi

Metode ini merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan apabila telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani, 2016).

2) Perkolasi

Metode perkolasi yang dilakukan yaitu serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam wadah silinder yang dilengkapi dengan kran di bagian bawahnya. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah (Mukhriani, 2016).

b. Ekstraksi panas

Ekstraksi panas melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya agar mempercepat proses ekstraksi (Hujjatusnaini *et al.*, 2021). Beberapa jenis metode ekstraksi panas sebagai berikut:

1) Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang baru, biasanya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

2) Reflux dan Destilasi Uap

Metode reflux dilakukan dengan sampel dimasukan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu.

Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Selama pemanasan uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung pada wadah yang terhubung dengan kondensor (Mukhriani, 2016).

### 3) Infusa

Infusa merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 15 menit (Hujjatusnaini *et al.*, 2021).

### 4) Dekotasi

Dekotasi adalah ekstraksi dengan cara perebusan dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90-95°C selama 30 menit (Hujjatusnaini *et al.*, 2021)

Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi perlu untuk diperhatikan antara lain (Maslukhah *et al.*, 2016):

#### a. Ukuran Bahan

Bahan yang akan diekstrak sebaiknya memiliki luas permukaan yang besar untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut sehingga menghasilkan hasil ekstraksi yang optimal. Semakin kecil ukuran partikel, semakin besar luas bidang kontak antara padatan dan solven, serta semakin pendek jalur difusinya, yang menjadikan laju transfer massa semakin tinggi.

#### b. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu ekstraksi yaitu waktu kontak antara pelarut dan bahan, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar maka hasil ekstraksi juga bertambah sampai titik jenuh larutan.

c. Suhu ekstraksi

Ekstraksi juga akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam bahan akan mengalami kerusakan. Suhu tinggi pelarut dapat meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena panas dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, meningkatkan kelarutan dan difusi dari senyawa yang diekstraksi dan mengurangi viskositas pelarut, namun suhu tinggi juga dapat mendegradasi senyawa polifenol.

d. Jenis dan jumlah pelarut

Jenis pelarut merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi senyawa yang mendapat perlakuan selama proses ekstraksi berlangsung. Keberhasilan penyarian ekstrak dengan jumlah kandungan total senyawa dalam proses ekstraksi merupakan proses yang sangat berpengaruh berdasarkan jenis pelarut yang dipilih. Ada dua pertimbangan utama dalam pemilihan jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut yang tidak berbahaya atau beracun. Pelarut yang bersifat polar maupun semi polar telah umum digunakan untuk mengekstrak senyawa polifenol dari tanaman seperti buah-buahan dan sayuran. Pelarut yang sering digunakan yaitu aquades, etanol, methanol, aseton, dan etil asetat.

e. Konsentrasi pelarut

Perbedaan konsentrasi mengakibatkan perubahan polaritas pelarut sehingga mempengaruhi kelarutan senyawa biaktif.

#### 4. Pelarut etanol

Etanol merupakan suatu cairan transparan, mudah terbakar, tidak berwarna, mudah menguap, dengan rumus kimia  $C_2H_5OH$  (etil alkohol), dapat bercampur dengan air, eter, kloroform, yang diperoleh melalui fermentasi karbohidrat dari ragi yang disebut juga dengan etil alkohol. Etanol termasuk gugus hidroksil yang memberikan polaritas pada molekul dan mengakibatkan meningkatnya ikatan hidrogen intermolekuler. Etanol mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol memiliki massa jenis 0.7893 g/mL, titik didih etanol pada tekanan atmosfer  $78.32^{\circ}C$ , indeks bias dan viskositas pada temperatur  $20^{\circ}C$  adalah 1.36143 dan 1.17 cP. Etanol merupakan pelarut *volatile* bersifat semi polar karena dapat melarutkan baik senyawa polar maupun nonpolar. Gugus  $-OH$  polar dan  $-CH_2CH_3$  bersifat nonpolar (Arsa *et al.*, 2020).

#### 5. Metabolit sekunder

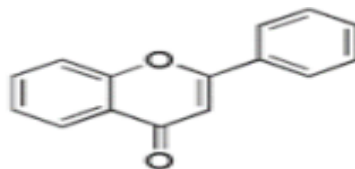
##### a. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok dengan berat molekul rendah berbasis inti 2-fenil-kromon yang merupakan biosintesis dari turunan asam asetat atau fenilalanin dengan menggunakan jalur asam shikimat. Secara tradisional, flavonoid diklasifikasikan dengan tingkat oksidasi, annularitas cincin C, dan sambungan posisi cincin B. Flavonoid adalah senyawa polar, akan larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan pelarut lainnya. Karena



flavonoid terikat dalam bentuk glikosida maka campuran pelarut tersebut diatas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk flavonoid glikosida (Arifin & Ibrahim, 2018).

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin & Ibrahim, 2018). Struktur senyawa flavonoid terdapat pada gambar 2.2.



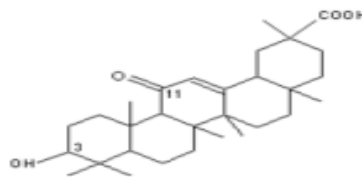
**Gambar 2. 2 struktur senyawa flavonoid**  
**Sumber : (Arifin & Ibrahim, 2018)**

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri karena dapat mengganggu fungsi dinding sel bakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler dan menghambat motilitas bakteri. Rusaknya dinding sel bakteri yang terdiri dari lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid sehingga menimbulkan perembesan senyawa tersebut ke dalam inti sel bakteri. Kemudian DNA yang terdapat di dalam inti sel bakteri akan bereaksi dengan senyawa flavonoid melalui perbedaan kepolaran antara gugus alkohol dan lipid penyusun DNA sehingga menyebabkan inti sel bakteri lisis (Sadiah *et al.*, 2022).

b. Saponin

Saponin adalah senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tumbuhan, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin adalah glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat. Rasa saponin sangat ekstrim, dari sangat pahit hingga sangat manis. Saponin biasa dikenal sebagai senyawa nonvolatilen dan sangat larut dalam air (dingin maupun panas) dan alkohol, namun membentuk busa koloidal dalam air dan memiliki sifat detergen yang baik ( Putri *et al.*, 2023).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendanaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu yang menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel (Putri *et al.*, 2023). Struktur senyawa saponin terdapat pada gambar 2.3.

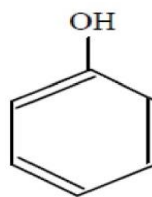


**Gambar 2. 3 struktur senyawa saponin**  
**Sumber : (Illing *et al.*, 2017)**

c. Fenol

Fenol adalah suatu senyawa yang mempunyai beberapa gugus hidroksil (-OH) pada cincin aromatiknya. Fenol adalah kelompok senyawa fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tanin dan flavonoid. Senyawa fenolik dalam tumbuhan merupakan aglikon mengandung 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier terdiri dari 3 atom C<sub>6</sub> dan 3 atom karbon sehingga mempunyai struktur dasar C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Setiap atom karbon C<sub>6</sub> yang merupakan cincin benzene yang dihubungkan dengan tiga karbon rantai alifatis yang dapat pula membentuk cincin ketiga (Illing *et al.*, 2017).

Mekanisme kerja Fenol sebagai zat antibakteri adalah dengan cara merusak dan menembus dinding sel (Dewi & Utami, 2012). Struktur senyawa fenolik terdapat pada gambar 2.4.



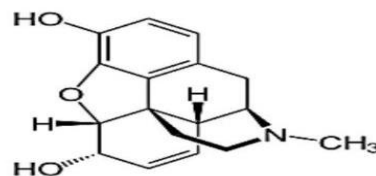
**Gambar 2. 4 Struktur senyawa fenolik**  
Sumber : (Illing *et al.*, 2017)

d. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik siklik yang mengandung nitrogen dengan bilangan oksidasi negatif dan distribusinya terbatas pada makhluk hidup. Secara umum alkaloid mempunyai aktivitas fisiologis yang signifikan sehingga sering digunakan untuk tujuan

pengobatan. Alkaloid digolongkan berdasarkan sistem cincinnya misalnya piridin, piperidin, indol, isokunolin, dan tropana. Mescaline dan efedrin adalah sekelompok alkaloid nitrogen yang ditemukan dalam struktur alifatik. Alkaloid menunjukkan pita serapan di wilayah spektrum UV ( $\lambda_{\text{maks}}$  250-303 nm). Senyawa ini umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai garam dari berbagai senyawa organik dan sering diolah di laboratorium sebagai garam dengan asam klorida dan asam sulfat. Alkaloid bersifat tidak larut dalam heksana, larut dalam etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang terdapat kandungan bilangan oksidatif negatif. Alkaloid bersifat basa dengan adanya gugus-NH (Illing *et al.*, 2017).

Mekanisme kerja dari senyawa alkaloid yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Lapisan peptidoglikan digunakan sebagai keberlangsungan hidup bakteri pada lingkungan hipotonis. Jika lapisan tersebut mengalami kerusakan maka terjadi kekakuan pada dinding sel bakteri yang menyebabkan kematian sel tersebut (Sadiah *et al.*, 2022). Struktur senyawa alkaloid terdapat pada gambar 2.5.

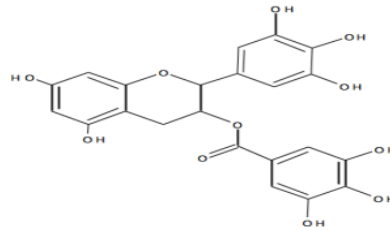


**Gambar 2. 5 Struktur senyawa alkaloid**  
Sumber : (Illing *et al.*, 2017)

e. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat. Tanin mampu mengendapkan protein dengan sejumlah gugus fungsional yang dapat membentuk ikatan kompleks yang sangat kuat dengan molekul protein. Ikatan antara grup fenol tanin dengan keto protein yang merupakan ikatan hidrolisis antara cincin aromatik struktur protein dan tanin. Ikatan kompleks tanin protein ini stabil pada pH sekitar 4-7 kemudian akan terpecah di abomasum karena pHnya 2,5-3,5 yang selanjutnya masuk ke usus halus sehingga protein tersebut dapat dicerna dan diserap (Hidayah, 2016).

Mekanisme kerja Tanin sebagai antibakteri dengan menghambat enzim ekstraseluler bakteri dan mengambil alih substrat yang dibutuhkan dalam pertumbuhan bakteri. Tanin dapat menyerang polipeptida dinding sel yang akhirnya menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri (Sadiah *et al.*, 2022). Struktur senyawa tanin terdapat pada gambar 2.6.



**Gambar 2. 6 Struktur senyawa tanin**  
**Sumber : (Wahyuni & Ab, 2014)**

## 6. *Staphylococcus aureus*

### a. Bakteri *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang berbentuk bulat (kokus) dengan diameter 0,8-1,0  $\mu\text{m}$  dan terus bergerombol tidak beraturan, kadang-kadang seperti muntaian buah anggur (Rollando, 2019). *Staphylococcus aureus* memiliki ketebalan dinding sel 20-80 nm, lapisan penyusun dinding sel bakteri ini terdiri dari lapisan makromolekul peptidoglikan yang tebal dan membran sel selapis yang tersusun oleh protein, lipid, dan asam *teichoic*. Asam *teichoic* berfungsi untuk mengatur elastisitas, porositas, kekutan tarik dan sifat elektrostatis dinding sel (Sihombing & Mantiri, 2022).

### b. Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Domain	: Bacteria
Kingdom	: eubacteria
Phylum	: firmicutes
Class	: bacilli
Ordo	: bacillales

Famili : *Staphylococcaceae*  
Geneus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Rollando, 2019).

c. Morfologi

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus. Bakteri ini juga tergolong bakteri aerob sampai anerob fakultatif. *Staphylococcus aureus* dapat bertahan pada kondisi kering, panas pada suhu 50 °C selama 30 menit dan dalam larutan NaCl 0,9%. Koloni berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mm, warna putih hingga kuning keemasan, melengkung dan kenaikan permukaan, tepi utuh dan tekstur halus (Rollando, 2019).

**7. Fase pertumbuhan bakteri**

a. Fase lag

Pada bakteri ini pertama kali beradaptasi dengan medium pertumbuhan yang memerlukan beberapa waktu dan bergantung pada umur dan kesehatan sel pada inoculum. Pada fase ini terjadi proses metabolisme yaitu sintesis enzim, penambahan ukuran, dan peningkatan jumlah ATP (Prayitno & Hidayati, 2017).

b. Fase log/logaritmik

Bakteri mampu beradaptasi dengan medium sehingga pertumbuhannya meningkat dan populasinya berlipat ganda. Waktu untuk perbanyak keturunan memerlukan waktu 20 menit sampai 20 jam (Prayitno & Hidayati, 2017).

c. Fase stasionar

Fase ini ditandai dengan pembelahan sel yang menurun dimana jumlah sel baru yang dihasilkan sama dengan jumlah sel tua yang mati. Pada fase ini kondisi nutrient pada medium menjadi sedikit dan jumlah zat sisa metabolic yang berisi racun bertambah (Prayitno & Hidayati, 2017).

d. Fase kematian

Fase ini ditandai dengan sel yang hidup menurun dimana medium tidak bisa mendukung pembelahan sel sehingga banyak sel yang mati (Prayitno & Hidayati, 2017).

## 8. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses atau kegiatan membebaskan suatu bahan atau benda dari semua bentuk kehidupan. Sterilisasi merupakan aturan standar untuk melaksanakan pratikum serta dapat dilakukan tergantung dari bahan atau alat yang akan disteril (Widodo, 2016).

Jenis-jenis metode sterilisasi yang dapat digunakan yaitu sebagai berikut:

a. Sterilisasi basah

Sterilisasi basah adalah metode sterilisasi menggunakan suhu diatas  $100^{\circ}\text{C}$  dilakukan dengan tekanan uap. Sterilisasi ini menggunakan alat berupa autoklaf manual maupun autoklaf elektrik, proses sterilisasi basah ini umumnya dapat digunakan untuk menghilangkan mikroorganisme dari peralatan, media, ataupun bahan-



bahan yang akan di gunakan serta tidak akan mengalami kerusakan jika dipanaskan pada kisaran suhu 115 °C hingga 121°C dalam waktu 15-60 menit (Zainal *et al.*, 2022).

b. Sterilisasi kering

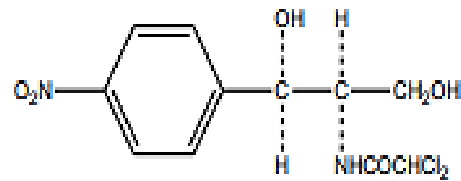
Sterilisasi kering adalah metode sterilisasi menggunakan udara panas dengan menggunakan alat berupa oven. Sterilisasi ini membutuhkan suhu yang lebih tinggi dan waktu yang lebih lama dibandingkan sterilisasi basah. Suhu oven pada proses sterilisasi ini kisaran 140 °C hingga 180 °C dalam kurun waktu kurang lebih 1-2 jam (Zainal *et al.*, 2022).

c. Pembakaran

Cara sterilisasi yang paling sederhana dan mudah dilakukan, tetapi hanya alat-alat terbatas dan tahan terhadap api. Contoh, sterilisasi jarum ose (alat yang digunakan untuk penanaman bakteri). Jarum ose harus di bakar di atas lampu busen agar tidak terkontaminasi saat pengambilan dan penanaman bakteri (Zainal *et al.*, 2022).

## 9. Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik yang banyak mengalami resistensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Antibiotik ini bersifat bakteristatik dengan spektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif, mampu menghambat perlekatan asam amino dari bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Mastra, 2018). Struktur kimia kloramfenikol terdapat pada gambar 2.7.



**Gambar 2. 7 Struktur Kimia Kloramfenikol**  
**Sumber : (Kemenkes RI, 2020)**

Kloramfenikol sukar laut dalam air mudah larut dalam etanol, dalam propilenglikol, dalam aseton dan dalam etil asetat. Pemberian hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan, larutan praktis netral terhadap lakmus *P*, stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam (Kemenkes RI, 2020).

#### 10. Uji aktivitas antibakteri

Metode yang biasa dilakukan dalam uji aktivitas antibakteri untuk zona hambat bakteri pada suatu sediaan (Fitriana *et al.*, 2020) antara lain :

##### a. Metode dilusi

Metode dilusi ini di bagi menjadi 2 bagian yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Dilusi cair digunakan untuk mengukur kadar hambat minimum (KHM), cara yang dilakukan pada metode ini adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Sementara dilusi padat digunakan untuk menentukan kadar bakterisidal minimum (KBM), dilakukan dengan cara menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan metode dilusi ini yaitu suatu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

b. Metode difusi

Metode ini digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji terhadap agen antimikroba. Metode difusi ini dilakukan dengan cara menggunakan kertas cakram. Masukkan media agar dan suspensi bakteri kedalam cawan petri, diamkan hingga setengah padat. Selanjutnya dimasukan kertas cakram yang telah direndam dengan senyawa uji. Kelebihan metode ini mudah dilakukan karena tidak memiliki alat khusus dan mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa.

Metode difusi merupakan metode yang sering digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri (Nurhayati *et al.*, 2020), ada 3 cara yang dapat dilakukan dalam metode ini yaitu:

1) Metode sumuran

Pada metode ini dilakukan dengan membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang sesuaikan dengan jumlah konsentrasi yang akan diteliti kemudian lubang akan diisi dengan sampel yang akan di uji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri akan diamati ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang. Metode ini memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrien agar tetapi juga sampai kebawah.

## 2) Metode difusi cakram

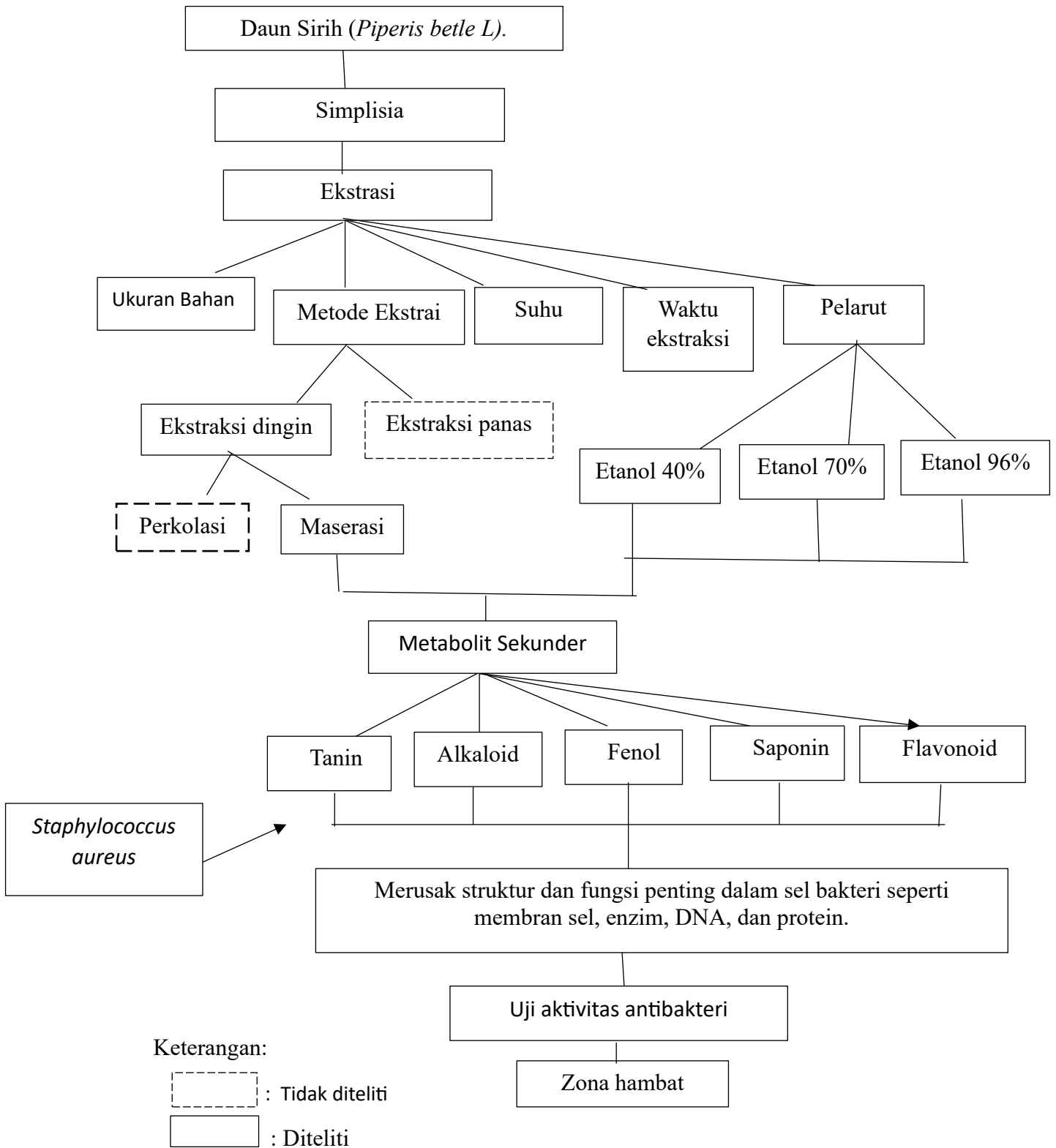
Metode ini dilakukan dengan cara kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba dijenuhkan kedalam bahan uji. Setelah itu kertas cakram diletakan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, kemudian diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 35°C. Zona bening di sekitar kertas cakram diamati untuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Kelebihan dari metode ini adalah dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram.

Beberapa kriteria kekuatan zona hambat antibakteri terdapat pada tabel 2.1.

<b>Tabel 2. 1 Kriteria Zona Hambat Kekutan Daya Antibakteri</b>	
Diameter zona hambat	Katagori respon hambat pertumbuhan
< 5 mm	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
>20	Sangat kuat

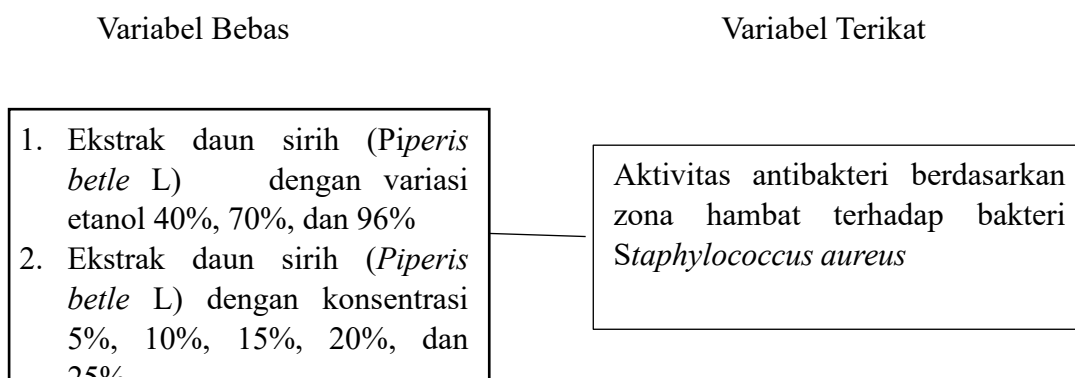
**Sumber : (Faujiah *et al.*, 2023)**

**B. Kerangka Teori**



**Gambar 2. 8 Kerangka Teori**

### C. Kerangka Konsep



**Gambar 2. 9 Kerangka Konsep**

### D. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah

1. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% akan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat.
2. Terdapat perbedaan signifikan dalam aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat.
3. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan konsentrasi etanol 96% akan menghasilkan zona hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga merupakan konsentrasi yang paling potensial

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental, dengan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram kertas yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### **B. Lokasi Penelitian**

##### 1. Lokasi penelitian

- a. Determinasi daun sirih dilakukan di Laboratorium Ekologi Dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains Dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.
- b. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Universitas Ngudi Waluyo Semarang. Laboratorium yang digunakan yaitu laboratorium bahan alam (penelitian ekstrak) dan laboratorium mikrobiologi (uji aktivitas antibakteri) S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Semarang.

##### 2. Waktu penelitian

Waktu penelitian akan dilaksanakan pada bulan Juni sampai bulan Agustus 2024.

### C. Subjek Penelitian

#### 1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle* L) yang berasal dari Ungaran, Kabupaten Semarang.

#### 2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle* L) sebanyak 5 kg yang berasal dari Ungaran, Kabupaten Semarang.

### D. Defenisi oprasional

#### 1. Ekstraksi

Metode ekstraksi maserasi yaitu dengan mencampurkan serbuk simplisia yang direndamkan dengan pelarut varian konsentrasi etanol (40%,70%, dan 96%) didalam toples tertutup rapat pada suhu ruangan selama 5 hari.

#### 2. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L)

Ekstrak daun sirih adalah ekstrak yang didapatkan dari proses maserasi dengan pelarut varian konsentrasi etanol (40%, 70%, dan 96%), kemudian dilanjutkan pada proses penguapan menggunakan *evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak pekat.

#### 3. Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan uji yang akan dilakukan terhadap sampel ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan variasi pelarut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram dan hasilnya berupa zona hambat.



#### 4. Zona hambat

Zona hamabat merupakan daerah bening di sekeliling cakram dari media pertumbuhan bakteri uji yang tidak ditumbuhi bakteri.

### E. Variabel penelitian

#### 1. Variabel bebas

- a. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) menggunakan etanol dengan konsentrasi 40%, 70%, dan 96%.
- b. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%.

#### 2. Variabel tergantung

Potensi antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona hambat.

#### 3. Variabel terkendali

Simplisia daun sirih (*Piper betle* L), cara pembuatan ekstrak, pelarut yang digunakan, media pertumbuhan, suhu inkubasi, lama inkubasi, metode pengujian antibakteri.

### F. Pengumpulan Data

#### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf (Hiramaya), oven (Memmert UN-30), inkubator (Memmert), *laminar air flow* (Airtech), timbangan analitik (Ohaus), silet, pengaduk kaca, kertas saring, kertas perkamen, cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, *beaker*

*glass* (pyrex/Iwaki), pinset, mikro pipet, tabung reaksi (pyrex), jangka sorong, kertas label, *sentrifuge*, penggarais, spidol, cawan porselin, bunsen, jarum ose, plat tetes, kertas cakram, lemari pendingin, kamera digital, kasa, tisu, *moisture analyzer*, kapas, benang dan blender (Philips).

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle* L) yang segar, media NA (*Nutrient Agar*), etanol 70%, aquades steril, etanol 96%, NaCl 0,9%, aquades, bakteri *staphylococcus aureus*, asam klorida, FeCl<sub>3</sub>, dan larutan Mc.farland standar 0,5 (perkiraan bakteri suspensi/ml  $1,5 \times 10^8$ ).

## G. Prosedur Penelitian

### 1. Determinasi tanaman

Determinasi daun sirih dilakukan di Laboratorium Ekologi Dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains Dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.

### 2. Pembuatan simplisia

Diambil daun sirih yang masi segar sebanyak 3 kg, dilakukan sortasi basah (pemisahan dari kotoran-kotoran) pada daun sirih, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan bersih, kemudian ditiriskan. Daun sirih diiris lalu dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari tidak langsung dan ditutupi menggunakan kain hitam. Setelah simplisia kering dilakukan sortasi kering, kemudian daun sirih dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk serta diayak dengan pengayak

ukuran 40 mesh. Simpan serbuk di dalam toples dan serbuk siap untuk di ekstrak.

### 3. Uji kadar air simplisia

Pengukuran kadar air dilakukan dengan cara cawan porselin dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang bobotnya. Simplisia ditimbang menggunakan neraca analitik 2 g, dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Kemudian sampel didinginkan di dalam desikator selama 20 menit dan ditimbang bobotnya (Syafriada *et al.*, 2018)

Rumus % Kadar air sebagai berikut:

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = bobot sampel sebelum pemanasan (gram)

b = bobot sampel setelah pemanasan (gram)

### 4. Uji kadar abu simplisia

Sejumlah serbuk simplisia dimasukan kedalam krus porselen terlebih dahulu lalu ditimbang sebanyak 2 g. Cawan yang sudah berisi serbuk simplisia dimasukan kedalam *furnace*, perlahan-lahan dipanaskan mulai dari suhu kamar sampai 600°C selama 3 jam. Kemudian didinginkan dalam desikator sampai beratnya konstan, kemudian ditimbang bobotnya (Mayasari & Laoli, 2018).

Kadar abu total dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{kadar abu (\%)} = \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100\%$$

#### 5. Pembuatan ekstrak daun sirih

Simplisia daun sirih ditimbang 100 gram direndam di dalam botol gelap menggunakan varian pelarut etanol 40%, 70%, dan 96% sebanyak 800 ml selama 3 x 24 jam setiap hari diaduk menggunakan batang pengaduk. Ekstrak yang diperoleh kemudian di saring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Residu yang ada kemudian direndam lagi (remaserasi) dengan varian pelarut etanol 40%, 70%, 96% sebanyak 480 ml selama 2x24 jam, dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak semi kental, kemudian dilakukan pemanasan dengan menggunakan *water bath* dengan suhu 50°C sehingga mendapatkan ekstrak kental (Arina *et al.*, 2023). Hasil ekstrak kental kemudian dihitung persen rendemen menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat simplisia awal}} \times 100\%$$

#### 6. Uji kadar air ekstrak

Pengukuran kadar air ekstrak dilakukan dengan cara cawan porselin dikeringkan menggunakan oven, pada suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang bobotnya. Sampel ditimbang menggunakan neraca analitik 2 g, dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Kemudian sampel didinginkan di dalam desikator selama 20 menit dan ditimbang bobotnya (Syafrida *et al.*, 2018).

Rumus % Kadar air sebagai berikut:

$$\text{kadar air ekstrak (\%)} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = bobot sampel sebelum pemanasan (gram)

b = bobot sampel setelah pemanasan (gram)

7. Uji bebas etanol

Ekstrak daun alpukat diambil sebanyak 1 gram lalu ditambahkan 1 mL kalium dikromat dan 2 tetes  $H_2SO_4$  pekat. Hasil positif etanol ditandai dengan perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan (Scottish Water, 2020)

8. Uji fitokimia

a. Flavanoid

Ekstrak daun sirih ditimbang sebanyak 10 mg masing-masing ekstrak lalu tambahkan serbuk magnesium sebanyak 2 mg dan beri 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya perubahan warna merah, kuning atau jingga menandakan reaksi positif terhadap flavonoid (Ramadhani *et al.*, 2020).

b. Saponin

Ekstrak daun sirih masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 20 ml air panas. Selanjutnya di kocok kuat selama 10 detik, akan terbentuk buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama 30 menit, dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Ramadhani *et al.*, 2020).

c. Fenolik

Timbang 10 mg ekstrak daun sirih, tambahkan 20 ml air panas dan tambahkan 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif jika terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Ramadhani *et al.*, 2020).

d. Alkaloid

Ditimbang 0,5 g ekstrak, ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji dengan pereaksi mayer (positif endapan bening), dragendroff (positif endapan merah bata), dan bouchardat (positif endapan coklat). Bila 2 dari 3 uji tersebut positif, maka sampel dinyatakan positif mengandung alkaloid (Badaring *et al.*, 2020).

e. Tanin

Timbang 0,5 g dimasukkan kedalam cawan lalu ditimbang dengan 20 ml air panas dan larutan NaCl 10% sebanyak 3 tetes, kemudian ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$ , bila terbentuk warna biru hitam menunjukkan adanya tanin (Handayani *et al.*, 2020).

9. Identifikasi bakteri

Langkah pertama mengambil NaCl kemudian ditetaskan ke dalam objek gelas dan dikeringkan, ose disterilkan dengan bunsen dan mengambil satu ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, letakkan bakteri pada objek gelas. Langkah kedua, tetaskan pewarnaan gram kristal violet kedalam objek glass tunggu selama 2 menit setelah itu warna

dilunturkan menggunakan aquadest mengalir. Langkah ketiga, teteskan lugol selama 1 menit dilunturkan menggunakan aquadest, ditetes pemucat warna yaitu alkohol 95% selama 1 menit dilunturkan menggunakan aquadest mengalir. Langkah keempat, teteskan safranin selama 2 menit. Kemudian preparat dicuci menggunakan aquades mengalir dan dikeringkan dan diamati morfologi serta warna selnya di bawah mikroskop. Bakteri dikelompokkan menjadi gram positif jika selnya berwarna ungu dan gram negatif jika selnya berwarna merah (Amalia, 2013).

#### 10. Larutan uji kontrol positif dan negatif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol disk. Kontrol negatif menggunakan DMSO (dimetil sulfoksida).

#### 11. Pembuatan konsentrasi ekstrak daun sirih

Pembuatan konsentrasi ekstrak daun sirih dibuat dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Dipipet berturut-turut sebanyak 0,25 ml, 0,5 ml, 0,75 ml, 1 ml, dan 1,25 ml dan dicukupkan dengan larutan DMSO sampe tanda batas menggunakan labu ukur 5 ml.

#### 12. Sterilisasi alat dan media

Semua alat-alat dan media yang akan digunakan pada penelitian ini terlebih dahulu disterilkan. Alat-alat non gelas dapat disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan alat-alat gelas disterilkan menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 1

jam. Alat dan bahan yang disterilkan adalah alat dan bahan yang tahan dan tidak mengalami kerusakan pada suhu tinggi. Meja dan lemari aseptis disterilkan dengan cara dibersihkan terlebih dahulu dan disemprot dengan etanol 70% serta pinset dan jarum ose dipijar diatas lampu bunsen.

#### 13. Pembuatan media *Nutrien Agar* ( NA)

Media NA di timbang sebanyak 4,5 g, kemudian dilarutkan kedalam aquades 250 ml. Medium NA dipanaskan diatas bunsen, sambil dipanaskan media di aduk hingga homogen dan di tunggu hingga mendidih. Media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

#### 14. Peremajaan bakteri uji

Timbang NA masukan kedalam *beaker glass*, tambahkan aquades. Pindahkan kedalam tabung reaksi yang telah di kalibrasi 10 ml, tutup tabung reaksi dengan kapas yang telah dilapisi kasa, kemudian disterilkan di dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit.

Setelah di sterilisasi miringkan letak tabung reaksi didalam lemari aseptis yang telah disemprot dengan etanol 70% tunggu sampai agar padat, lalu oleskan bakteri *staphylococcus aureus* di atas agar menggunakan jarum ose yang sudah di sterilkan. Inkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C.

#### 15. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *staphylococcus aureus* di peroleh dari peremajaan pada medium NA di dalam tabung reaksi. Bakteri *staphylococcus aureus* yang



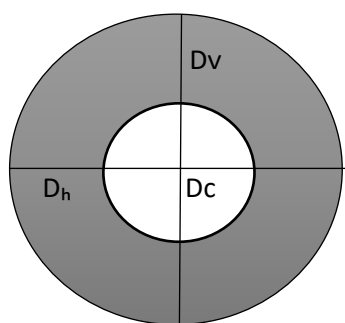
digunakan dalam bentuk suspensi. Suspensi dibuat dengan mengambil masing-masing 1-2 ose isolat, biakan bakteri *staphylococcus aureus* dibiakan kedalam tabung reaksi steril yang telah diisi larutan NaCl 0,9%. Campuran dihomogenkan dengan vortex, kekeruhan campuran dibandingkan dengan kekeruhan Mc.farland standar 0,5 (perkiraan bakteri suspensi/ml  $1,5 \times 10^8$ ) yang ada dilaboratorium.

#### 16. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas bakteri dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram. Suspensi bakteri *staphylococcus aureus* yang telah disamakan dengan standar Mc.farland diambil 1 ml (1000  $\mu$ l) pada cawan petri, kemudian tambahkan media NA lalu homogenkan, tunggu sampai media setengah padat, Kemudian cawan petri dibagi menjadi 5 bagian, masing-masing diberi label, kemudian kertas cakram dicelupkan kedalam masing-masing konsentrasi ekstrak daun sirih. Kertas cakram yang telah dicelupkan kedalam konsentrasi ekstrak daun sirih, selanjutnya dikeringkan dengan angin dan diletakkan diatas medium NA yang telah ada bakteri uji dan dibiarkan padat. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol disk dan DMSO (dimetil sulfoksida) sebagai kontrol negatif. Kemudian diinkubasi selama 1 kali 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona hambat yang dibentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Rumus pengukuran zona hambat (Magvirah *et al.*, 2019)

$$\text{zona hambat} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$



Keterangan :

Dv : diameter vertikal

Dh : diameter horisontal

Dc : diameter cakram

## H. Analisa data

Data diperoleh dengan cara mengukur diameter zona bening yang terbentuk dari ekstrak daun sirih. Data yang diperoleh dari uji aktivitas ekstrak daun sirih pada masing-masing pelarut dianalisis menggunakan SPSS for windows SPSS versi 22 untuk melihat data yang didapatkan memiliki perbedaan signifikan atau tidak. Dianalisa normalitas terlebih dahulu jika nilai  $P >$  dari 0,05 yang berarti data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji oneway anova, jika nilai  $P <$  dari 0,05 yang berarti data tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik (Purnamasari *et al.*, 2018).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juli 2024 di Laboratorium Mikrobiologi prodi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L) dengan variasi konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu dengan melakukan determinasi tanaman daun sirih, pembuatan simplisia daun sirih, pembuatan ekstrak daun sirih dengan variasi konsentrasi pelarut etanol, uji kadar air, uji bebas etanol, skrining fitokimia secara kualitatif (uji warna), uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

##### 1. Hasil Determinasi

Determinasi tanaman daun sirih ini dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Departemen Biologi FSM Universitas Diponegoro Semarang. Determinasi mempunyai tujuan untuk memperoleh keaslian dari tanaman sampel yang digunakan untuk penelitian ini. Hasil dari determinasi tanaman sirih adalah sebagai berikut:

Klasifikasi:

Kingdom : Plantae

Sunkingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Subkelas : Magnoliidae

Ordo : Piperales

Famili : Piperaceae

Genus : *Piper*

Species : *Piper betle* L.

Nama daerah : Sirih

Kunci Determinasi:

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-  
25b-27b-799b-800b-801b802b-803b-804b-805b-805b-807b-808c-809b-  
810b-811b-812b-815b-816b-818a-819b (Famili 23 Piperaceae) Genus:  
Piper- Species: *Piper betle* (Backer & Backhuizen, 1968).

## 2. Pembuatan simplisia daun sirih

Pada tahap pertama penelitian ini akan melakukan pemanenan daun sirih yang masi segar dan tidak terserang hama. Tahap kedua melakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran seperti tanah, daun, batang, rumput, krikil, dan akar (Parfati *et al.*, 2018). Tahap ketiga dilakukan pencucian menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran tanah dan kotoran lain yang masih melekat pada daun sirih, namun pencucian ini tidak akan menghilangkan zat berkhasiat dari daun sirih. Tahap keempat melakukan perajangan untuk memperkecil

ukuran dan memperluas permukaan simplisia agar proses ekstraksi lebih mudah dilakukan (Rivai *et al.*, 2014). Pengeringan simplisia dilakukan dengan sinar matahari tidak langsung (ditutup dengan kain hitam) bertujuan untuk menghalangi sinar matahari langsung mengenai daun sehingga meminimalkan kerusakan zat aktif pada daun karena cahaya matahari. Tahap kelima melakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Wijaya & Noviana, 2022). Tahap keenam menghaluskan simplisia yang sudah melewati tahap satu sampai lima, penghalusan simplisia dengan cara menggunakan blender dengan tujuan untuk menghasilkan simplisia yang lebih halus sehingga pelarut lebih mudah untuk menyerap dan berdifusi dalam simplisia dengan baik dan pelarut komponen pada simplisia dapat lebih merata (Syabania *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini simplisia yang telah di blender halus akan dilanjutkan dengan proses pengayakan menggunakan ayakan no.40 mesh. Tujuannya untuk mendapatkan serbuk simplisia dengan ukuran yang seragam dengan derajat kehalusan sedang agar memudahkan penarikan senyawa saat proses ekstraksi (Pujiastuti & El'Zeba, 2021).

### 3. Pengujian kadar air simplisia dan ekstrak

Pengujian kadar air pada simplisia dan ekstrak bertujuan untuk mengetahui kandungan air pada simplisia dan ekstrak. Semakin kecil kadar air pada ekstrak kemungkinan terjadinya pertumbuhan mikroba yang

terdapat pada ekstrak tersebut semakin kecil (Arina *et al.*, 2023). Hasil kadar air simplisia dan ekstrak daun sirih pada tabel 4.1.

**Tabel 4. 1 Hasil Uji Kadar Air Simplisia dan Ekstrak**

<b>sampel</b>	<b>Bobot awal (g)</b>	<b>Bobot akhir (g)</b>	<b>Kadar air (%)</b>
simplisia	2	1,81	9,5
Ekstrak 40%	2	1,87	6,5
Ekstrak 70%	2	1,86	7
Ekstrak 96%	2	1,83	8,5

Berdasarkan tabel 4.1 hasil pemeriksaan uji kadar air yang diperoleh pada simplisia, ekstrak 40%, ekstrak 70%, dan ekstrak 96% didapatkan hasil bahwa telah memenuhi persyaratan. Secara umum persyaratan kadar air simplisia dan ekstrak kurang dari 10% (Arina *et al.*, 2023)

#### 4. Uji kadar abu

Pada simplisia bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang bersal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Utami *et al.*, 2017). Zat-zat ini dapat berasal dari senyawa-senyawa oksida anorganik. Kadar abu total yang tinggi menunjukkan adanya zat anorganik logam-logam (Ca, Mg, Fe, Cd, dan Pb) yang sebgaiian mungkin bersal dari pengotor (Anggraeni, 2020). Hasil kadar abu simplisia daun sirih pada tabel 4.2.

**Tabel 4. 2 Hasil Uji Kadar Abu Simplisia**

<b>Bobot awal (g)</b>	<b>Bobot abu (g)</b>	<b>Hasil (%)</b>
2	0.14	7

Berdasarkan tabel 4.2 hasil pemeriksaan uji kadar abu yang diperoleh pada simplisia didapatkan hasil bahwa telah memenuhi

persyaratan. Secara umum kadar abu total yang baik tidak lebih dari 8% (Evifania *et al.*, 2020).

#### 5. Pembuatan ekstrak daun sirih

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa atau zat aktif oleh larutan penyari dari dalam bahan simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Lady, 2020). Tujuan ekstraksi atau penyarian adalah untuk memisahkan senyawa pada simplisia. Cairan akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif ikut larut dalam cairan penyari (Vifta & Advistasari, 2018).

Proses pembuatan ekstrak daun sirih dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang dilakukan secara dingin atau dalam suhu ruang tanpa ada pemanasan atau peningkatan suhu (Lady, 2020). Pada metode maserasi ini menggunakan serbuk simplisia daun sirih memakai pelarut varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 96%. Metode maserasi dipilih karena metode ini dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa termolabil dan menjaga senyawa metabolit sekunder dalam sampel agar tidak rusak akibat kenaikan maupun penurunan suhu, karena tidak semua senyawa aktif pada daun sirih stabil terhadap pemanasan tinggi (Asworo & Widwiastuti, 2023).

Pemilihan pelarut berdasarkan polaritas dan kelarutan memudahkan pemisahan komponen senyawa aktif dalam sampel. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol dengan varian konsentrasi yaitu

40%, 70%, dan 96%. Etanol adalah pelarut yang bersifat semipolar sehingga memiliki kemampuan menyari atau mengekstraksi dengan rentang polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar hingga nonpolar (Lady, 2020).

Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan ditutup menggunakan aluminium foil supaya terlindungi dari cahaya. Tujuan agar dapat menarik komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk (Asworo & Widwastuti, 2023). Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin, agar senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia dapat larut dengan baik, setelah itu disaring untuk memisahkan fitrat dan residunya (Ramadhani *et al.*, 2017).

Selanjutnya dilakukan remaserasi selama 2x24 jam, tujuannya untuk menyari senyawa-senyawa yang masih tertinggal atau belum tersari (Pujiastuti & El'Zeba, 2021). Setelah proses remaserasi selesai, dilakukan penyaringan menggunakan kain flanel agar fitrat dan ampasnya pisah. Fitrat yang telah diperoleh kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan menggunakan suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak semi kental (Suyasa *et al.*, 2022). Tujuan menggunakan suhu 50°C agar senyawa yang akan diambil tidak rusak atau hilang. Keuntungan menggunakan *rotary evaporator* adalah suhu pada proses penguapan dapat dikontrol sehingga dapat menghindari kerusakan zat aktif karena pemanasan (Salamah & Widyasari, 2015). Kemudian dilakukan pemanasan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 50°C sehingga



mendapatkan ekstrak kental, tujuannya untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut yang masih tercampur dengan ekstrak semi kental (Ariani & Niah, 2019). Setelah diperolehnya ekstrak kental daun sirih, kemudian ditimbang dan dihitung nilai persen rendemennya.

#### 6. Rendemen ekstrak daun sirih

Rendemen merupakan perbandingan ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Arina *et al.*, 2023). Hasil rendemen ekstrak daun sirih terdapat pada tabel 4.3

**Tabel 4. 3 Rendemen Ekstrak Daun Sirih**

<b>Pelarut</b>	<b>Bobot simplisia (g)</b>	<b>Bobot ekstrak (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
etanol 40%	160	29,03	18,143
etanol 70%	160	28,38	17,737
etanol 96%	160	17,98	11,237

Berdasarkan tabel 4.3 hasil rendemen ekstrak daun sirih menunjukkan bahwa konsentrasi etanol 40% menghasilkan rendemen lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi etanol 70% dan 96%. Perbedaan hasil rendemen dari ke 3 ekstrak daun sirih dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang dikandung memiliki tingkat kepolaran terhadap pelarut yang berbeda-beda, sehingga rendemen ekstrak etanol 40% lebih besar dari pada ekstrak etanol 70% dan 96%, karena pada etanol 40% mengandung gugus OH lebih banyak sehingga lebih polar (Pujiastuti & El'Zeba, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia dalam daun sirih relatif mudah larut dalam etanol yang memiliki konsentrasi paling kecil. Rendemen yang dihasilkan adalah jumlah

senyawa yang terekstrak oleh berbagai macam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda (Syamsul *et al.*, 2020).

#### 7. Uji organoleptis ekstrak

Uji organoleptik merupakan pengamatan diperoleh dari indera pengelihat, penciuman, pengecap, dan perabahan terhadap suatu produk atau bahan. Penentuan parameter organoleptik tujuannya untuk pengenalan awal secara sederhana untuk mendeskripsikan bentuk, warna, dan bau ekstrak daun sirih pada setiap varian konsentrasi pelarut (Sogandi & Gunarto, 2020). Hasil dari pengamatan organoleptis ekstrak daun sirih terdapat pada tabel 4.3

**Tabel 4. 4 Hasil Pengamatan organoleptis ekstrak**

<b>Organoleptis</b>	<b>Ekstrak etanol 40%</b>	<b>Ekstrak etanol 70%</b>	<b>Ekstrak etanol 96%</b>
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Coklat gelap	Hijau gelap	Hijau gelap
Bau	Bau khas sirih	Bau khas sirih	Bau khas sirih

Berdasarkan hasil pengamatan dari organoleptis daun sirih dari tabel 4.4 terdapat perbedaan warna, dimana ekstrak etanol 40% berwarna coklat gelap, sedangkan ekstrak etanol 70% dan 96% berwarna hijau gelap. Perbedaan hasil warna dari ke 3 ekstrak daun sirih dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang dikandung memiliki tingkat kepolaran terhadap pelarut yang berbeda-beda (Pujiastuti & El'Zeba, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa jenis varian konsentrasi pelarut berpengaruh terhadap rendemen warna ekstrak (Hidayah *et al.*, 2016).

## 8. Uji bebas etanol ekstrak

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui masih ada atau tidaknya etanol yang terkandung dalam ekstrak karena ekstrak yang akan digunakan dalam uji selanjutnya adalah ekstrak yang sudah terbebas dari etanol (Tivani *et al.*, 2021). Pelarut etanol mempunyai sifat sebagai antifungi dan antibakteri sehingga pengujian bebas etanol dimaksudkan agar tidak menimbulkan positif palsu pada perlakuan pengujian (Kurniawati, 2015). Hasil dari pengamatan uji bebas etanol daun sirih terdapat pada tabel 4.5

**Tabel 4.5 Hasil Uji Bebas Etanol**

Jenis ekstrak	Reagen	Hasil penelitian	keterangan
Ekstrak etanol 40%	Ekstrak daun sirih hijau + 1 ml kalium dikromat + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Warna coklat	+
Ekstrak etanol 70%	Ekstrak daun sirih hijau 1 ml kalium dikromat + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Warna hijau	+
Ekstrak etanol 96%	Ekstrak daun sirih hijau + 1 ml kalium dikromat + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Warna hijau	+

Keterangan :

(+) : Positif bebas etanol

(-) : Negatif tidak bebas etanol

Berdasarkan tabel 4.5 uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih dari varian pelarut etanol dengan konsentrasi 40%, 70%, dan 96% yang diperoleh tidak adanya kandungan etanol. Hasil dikatakan positif etanol ditandai dengan perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan, hasil dari tabel diatas dapat dikatakan bahwa ekstrak daun sirih sudah bebas etanol.

## 9. Uji skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sirih dengan varian konsentrasi pelarut etanol. Hasil skrining fitokimia pada daun sirih terdapat pada tabel 4.5

Tabel 4. 6 Hasil Uji Skrining Fitokimia

Kandungan kimia	reagen	Hasil positif pada literatur	Hasil uji pada ekstrak		
			Ekstrak etanol 40%	Ekstrak etanol 70%	Ekstrak etanol 96%
Alkaloid	a. Mayer	a. endapan putih	-	-	-
	b. Bouchardat	b. endapan coklat sampe hitam	(tidak ada endapan)	(tidak ada endapan)	(tidak ada endapan)
	c. dragendrof	c. endapan coklat atau merah bata	(tidak ada endapan)	(tidak ada endapan)	(tidak ada endapan)
			(tidak ada endapan)	(tidak ada endapan)	(tidak ada endapan)
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Biru kehitaman, hijau kehitaman	- (coklat kehitaman)	+ (hijau kehitaman)	+ (hijau kehitaman)
Saponin	Aquadest dan dipanaskan	Terdapat busa	+ (terdapat busa)	+ (terdapat busa)	+ (terdapat busa)
flavonoid	Bubuk magnesium +HCl pekat	Kuning, kemerahan sampe jingga	+ (jingga)	+ (kuning)	+ (kuning)
fenolik	NaCl+ FeCl <sub>3</sub> dipanaskan	Biru kehitaman, hijau kehitaman	- (coklat kehitaman)	+ (hijau kehitaman)	+ (hijau kehitaman)

Keterangan :

(+) : Positif mengandung metabolit sekunder

(-) : Negatif mengandung metabolit sekunder

Hasil skrining fitokimia yang terdapat dalam daun sirih yaitu tanin, saponin, flavonoid, dan fenolik. Ekstrak daun sirih mengandung senyawa alkaloid bila terjadi perubahan warna menggunakan tiga pereaksi yaitu mayer, bouchardat dan dragendrof. Reaksi positif yang terjadi pada uji alkaloid terjadi karena adanya reaksi pergantian ligan, sehingga alkaloid

yang memiliki atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi tersebut (Padmasari *et al.*, 2013). Hasil menggunakan pereaksi mayer menunjukkan tidak terdapat endapan putih, sedangkan dari pereaksi bouchardat juga tidak terdapat endapan coklat sampai hitam, dan pada pereaksi dragendrof juga tidak terdapat endapan coklat. Pada reaksi ini terjadi pergantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan konvalen koordinat dengan ion  $K^+$  dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium alkaloid yang mengendap (Haryati *et al.*, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa pada daun sirih tidak mengandung alkaloid.

Hasil uji ekstrak daun sirih etanol 70% dan 96% positif mengandung tanin, sedangkan pada ekstrak etanol 40% negatif. Uji positif tanin jika terbentuk warna hijau kehitaman setelah diberi preaksi  $FeCl_3$ , terbentuknya warna tersebut, disebabkan oleh tanin yang akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $Fe^{3+}$ . Karena ion  $Fe^{3+}$  hadir sebagai atom pusat, maka terbentuk kompleks antara tanin dan  $FeCl_3$ , serta tanin mempunyai atom O dengan PEB (pasangan elektron bebas) yang dapat berkordinasi dengan atom pusat sebagai ligan (Djumidar *et al.*, 2022).

Ekstrak daun sirih mengandung senyawa saponin bila adanya busa setinggi 1-10 cm selama dari 30 menit dan tidak hilang setelah di tambahkan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Ramadhani *et al.*,

2020). Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofobik dan hidrofilik. Gugus hidrofobik berikatan dengan udara, dan gugus hidrofilik berikatan dengan air sehingga membentuk buih ketika di kocok. Penambahan HCl 2N bertujuan agar tingkat kepolaran bertambah, sehingga gugus hidrofilik memiliki ikatan yang lebih kuat dan busa yang terbentuk stabil. Gugus polar menghadap keluar dan nonpolar menghadap ke dalam pada struktur misel dan keadaan ini yang membentuk busa (Dewi *et al.*, 2021).

Hasil uji ekstrak daun sirih positif mengandung flavonoid apabila terdapat warna kuning, kemerahan sampai jingga setelah pemberian Mg dan pereaksi HCl pekat digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mempunyai inti benzopyron yang menandakan terbentuknya garam flavilium pada larutan uji dengan pereaksi (Hama & Umur, 2018).

Hasil uji ekstrak daun sirih etanol 70% dan 96% positif mengandung fenolik, sedangkan pada ekstrak etanol 40% negatif. Ekstrak daun sirih mengandung senyawa fenolik bila terjadi perubahan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman. Hal ini dikarenakan fenolik akan membentuk senyawa kompleks antra logam Fe. Senyawa polifenol memiliki ciri khas yaitu cincin aromatik yang mengandung gugus satu atau dua hidroksil, pada atom oksigen pada polifenol mampu mendorong pasangan elektron bebas ke  $Fe^{3+}$  yang memiliki orbital "d" kosong membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga terbentuk senyawa kompleks (Petrina *et al.*, 2017)

Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak daun sirih yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 40% mengandung saponin dan flavonoid, didapatkan hasil negatif pada pengujian senyawa alkaloid, tanin, dan fenolik. Pada ekstrak daun sirih dengan pelarut etanol 70% dan 96% positif mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan fenolik, tetapi negatif pada alkaloid. Pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa semua ekstrak daun sirih dengan varian konsentrasi etanol tersebut terkandung senyawa saponin dan flavonoid.

#### 10. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi merupakan suatu cara untuk membebaskan suatu benda dari semua mikroorganisme baik bentuk vegetatif maupun bentuk spora (Hanifah *et al.*, 2021). Pada proses sterilisasi yang digunakan pada penelitian ini ada 2 cara yaitu sterilisasi basah (autoklaf) dan sterilisasi kering (oven). Sebelum dilakukan sterilisasi, alat-alat yang akan digunakan dicuci bersih menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Sterilisasi menggunakan oven berfungsi untuk mensterilkan alat-alat gelas yang tahan terhadap panas (Misika, 2019). Alat seperti cawan petri dan wadah bermulut lubangnya ditutup menggunakan kapas yang telah dibalut kasa dan dibungkus kertas serta diikat menggunakan benang. Kemudian disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 1 jam (Jumardin & Masnawati, 2015).

Nutrient agar (NA) sebagai media pertumbuhan bakteri. Media NA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media NA

yang tidak disterilkan dapat mengandung mikroorganisme asing yang dapat tumbuh bersama dengan mikroorganisme yang diinginkan sehingga sterilisasi nutrien agar harus dilakukan untuk membantu menghilangkan semua mikroorganisme yang tidak diinginkan dan hasil pengujian antibakteri lebih akurat. Penggunaan suhu 121°C merupakan kondisi yang sangat efektif untuk membunuh bakteri dan spora jamur (Wulandari *et al.*, 2022).

#### 11. Uji identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan cara pewarnaan gram dan diamati menggunakan mikroskop. Pewarnaan garam bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri *Staphylococcus aureus* dan kemurnian sel bakteri. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui pengelompokan bakteri gram positif dan gram negatif (Amalia, 2013).

Tahap pertama yang dilakukan, penyiapan bakteri uji yang telah diinkubasi selama 1x24 jam, membersihkan kaca *objek glass* yang di bersikan menggunakan alkohol dan di keringkan menggunakan tisu. Ambil bakteri menggunakan kawat ose yang telah disterilkan dengan cara dibakar menggunakan api bunsen terlebih dahulu, bakteri yang telah diambil diletakan pada kaca preparat dan difiksasi diatas api bunsen (Hamidah *et al.*, 2019). Pada pewarnaan gram ini, gram A digunakan sebagai larutan pemberi warna primer kristal violet pada bakteri. Kemudian pemberian gram B (larutan lugol iodin) bertujuan untuk memperkuat afinitas pengikatan zat warna pada bakteri sehingga zat warna



lebih kuat. Pemberian gram C alkohol 96% sebagai penghilangan kepekatan warna. Pemberian gram D sebagai larutan safranin yang akan memberikan warna merah pada bakteri gram negatif dan tidak akan menyebabkan terjadinya perubahan warna pada bakteri gram positif karena adanya iodium dan senyawa kompleks kristal violet yang akan tetap terikat pada dinding sel bakteri (Marzuki *et al.*, 2014). Hasil pengamatan uji identifikasih dapat dilihat ditabel 4.7.

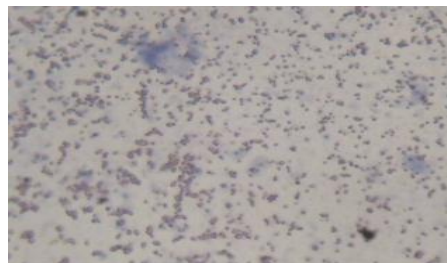
**Tabel 4. 7 Hasil Uji Identifikasi Bakteri**

No	Bakteri	Pengecatan	Morfologi Bakteri	Hasil
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Pengecatan Gram A,B,C,D	Warna : ungu Bentuk : bulat Susunan : bergerombol	Gram positif (+)

Keterangan :

(+) : Hasil positif literatur

(-) : Hasil negatif tidak sesuai literatur



**Gambar 4. 1 Hasil Mikroskop Bakteri Staphylococcus aureus Perbesaran 40x**

Hasil yang didapatkan dari identifikasi pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu berwarna ungu dan berbentuk kokus, bergrombol seperti buah anggur. Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna kristal violet. Perbedaan sifat gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, dimana bakteri gram positif memiliki

kandungan peptidoglikan lebih tebal dibandingkan dengan gram negatif (Amalia, 2013).

## 12. Uji aktivitas bakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih dengan perbandingan varian konsentrasi pelarut yaitu etanol 40%, etanol 70%, dan etanol 96%. Dilakukan dengan metode difusi kertas cakram dengan 3 macam ekstrak yang diuji menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih dengan varian konsentrasi etanol menggunakan metode difusi cakram yang bertujuan untuk mengetahui berapa besar zona hambat yang dihasilkan ekstrak daun sirih dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* disekitar kertas cakram. Penggunaan metode difusi kertas cakram karena memiliki kelebihan prosedurnya yang sederhana untuk dilakukan dan metode ini serbaguna bagi semua bakteri patogen yang tumbuh cepat dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibiotik (Kabakoran *et al.*, 2022).

Media NA yang sudah dibuat dalam erlenmeyer disterilkan di autoklaf, kemudian dituang kedalam cawan petri steril suspensi bakteri sebanyak 1 ml dan NA sebanyak 10 ml, ditunggu hingga memadat. Kertas cakram steril (*blank disk*) yang akan digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri direndam selama 15 menit pada setiap konsentrasi ekstrak yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% dengan tujuan agar ekstrak menyerap secara sempurna kedalam kertas cakram (Intan *et al.*, 2021).

Ekstrak yang akan digunakan pada masing-masing konsentrasi diencerkan menggunakan DMSO. Pemilihan DMSO untuk pengenceran konsentrasi karena DMSO dapat melarutkan senyawa polar maupun senyawa nonpolar (Kurniawati, 2015). Kertas cakram yang telah direndam pada masing-masing konsentrasi kemudian diletakan diatas media padat yang telah diberikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan pinset steril dan diletakan kertas cakram sesuai dengan posisi yang di inginkan. Satu cawan petri 3 konsentrasi dari ekstrak etanol 40%, ekstrak etanol 70%, ekstrak etanol 96% daun sirih, kontrol positif dan kontrol negatif dengan jarak yang disesuaikan, setiap konsentrasi dilakukan pengulangan 3 kali. Kontrol positif yaitu menggunakan antibiotik kloramfenikol disk dan kontrol negatif DMSO. Kontrol positif kloramfenikol digunakan karena merupakan antibakteri yang berspektrum luas, sehingga mampu membunuh bakteri gram positif dan gram negatif (Utomo *et al.*, 2018). Kontrol negatif DMSO sebagai pembanding bahwa pelarut yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri dari senyawa yang akan diuji (Utomo *et al.*, 2018).

Setelah semua kertas cakram diletakan pada cawan petri, selanjutnya cawan petri ditutup dan panaskan sisi cawan petri diatas api bunsen dengan cara memutar agar cawan petri lebih steril. Selanjutnya diberi label pada setiap nama ekstrak dan konsentrasi agar saat melakukan pengamatan tidak tertukar. Cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam dengan posisi tutup cawan petri terbalik. Hal

ini dilakukan agar tidak ada tetesan air yang jatuh mengenai media. Jika ada air yang jatuh akan merusak pembacaan zona hambat (Dewi *et al.*, 2022). Zona bening yang terbentuk dari masing-masing media yang menggunakan kertas cakram yang diukur menggunakan jangka sorong (Magvirah *et al.*, 2019). Hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri varian konsentrasi etanol dapat dilihat di tabel 4.8, 4.9, 4.10

**Tabel 4. 8 Zona Hambat Ekstrak Etanol 40% Terhadap *Staphylococcus Aureus***

<b>Zona hambat ekstrak etanol 40% (mm)</b>							
<b>Replikasi</b>	<b>(+)</b>	<b>(-)</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>	<b>15%</b>	<b>20%</b>	<b>25%</b>
I	11,57	0,00	3,72	3,62	3,72	5,82	4,35
II	13,25	0,00	1,72	2,77	3,72	3,82	4,87
III	13,67	0,00	2,65	3,82	2,72	2,17	3,75
Rata-rata	12,83	0,00	2,69	3,40	3,38	3,93	4,32
±SD	111,12	0	100,08	55,75	57,73	182,77	56,04
Ket	K	L	L	L	L	L	L

**Tabel 4. 9 Zona Hambat Ekstrak Etanol 70% Terhadap *Staphylococcus Aureus***

<b>Zona hambat ekstrak etanol 70% (mm)</b>							
<b>Replikasi</b>	<b>(+)</b>	<b>(-)</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>	<b>15%</b>	<b>20%</b>	<b>25%</b>
I	11,57	0,00	3,22	5,17	6,72	6,70	6,60
II	13,25	0,00	6,20	5,17	5,82	5,67	5,85
III	13,67	0,00	4,17	4,70	3,82	6,65	6,70
Rata-rata	12,83	0,00	4,53	5,01	5,45	6,34	6,38
±SD	111,12	0	183,78	271,35	148,43	320,73	299,35
Ket	K	L	L	S	S	S	S

**Tabel 4. 10 Zona Hambat Ekstrak Etanol 96% Terhadap *Staphylococcus Aureus***

<b>Zona hambat ekstrak etanol 96% (mm)</b>							
<b>Replikasi</b>	<b>(+)</b>	<b>(-)</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>	<b>15%</b>	<b>20%</b>	<b>25%</b>
I	11,57	0,00	5,12	4,60	4,87	4,72	4,25
II	13,25	0,00	3,30	4,60	7,70	4,62	5,87
III	13,67	0,00	2,85	2,85	3,40	7,87	8,77
Rata-rata	12,83	0,00	3,75	4,01	5,32	5,73	6,29
±SD	111,12	0	239,60	137,98	250,05	184,82	229,00
Ket	K	L	L	L	S	S	S

keterangan

- (+) : Kontrol positif (Kloramfenikol)
- (-) : Kontrol negatif (DMSO)
- 5% : Konsentrasi 5% Ekstrak Daun sirih
- 10% : Konsentrasi 10% Ekstrak Daun sirih
- 15% : Konsentrasi 15% Ekstrak Daun sirih
- 20% : Konsentrasi 20% Ekstrak Daun sirih
- 25% : Konsentrasi 25% Ekstrak Daun sirih
- L : Kategori Zona Hambat Lemah (0 – 5 mm)
- S : Kategori Zona Hambat Sedang (5 – 10 mm)
- K : Kategori Zona Hambat Kuat (10 – 20 mm)
- SK : Kategori Zona Hambat Sangat Kuat ( diatas 20 mm)

Kloramfenikol adalah salah satu antibiotik yang efektif baik terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Mekanisme kloramfenikol yaitu menghambat sintesis protein pada bakteri. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang mempunyai aktivitas bakteriostatik. Aktifitasnya menghambat sintesis protein dengan cara mengikat ribosom yang merupakan langkah penting dalam pembentukan ikatan peptida (Dwicahyani *et al.*, 2018).

Hasil zona hambat dari kontrol positif antibiotik kloramfenikol pada bakteri *Staphylococcus aureus* rata-rata 12,83 mm dan kontrol negatif menggunakan DMSO rata-rata 0,00 mm. Hasil rata-rata dari 3 replikasi pada zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol 40% daun sirih dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut 2,69 mm, 3,40 mm, 3,38 mm, 3,93 mm, dan 4,32 mm. Hasil rata-rata dari 3 replikasi pada zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol 70% daun sirih dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut 4,53 mm, 5,01 mm, 5,45 mm, 6,34 mm, dan 6,38 mm. Hasil

rata-rata dari 3 replikasi pada zona hambat yang terbentuk pada ekstrak etanol 96% daun sirih dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut 3,75 mm, 4,01 mm, 5,32 mm, 5,73 mm, dan 6,29 mm. Perbedaan hasil zona hambat pada ekstrak etanol 70% daun sirih memiliki zona hambat lebih besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan katagori lemah sampai sedang, dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 40% dan ekstrak 96%.

Ekstrak etanol 70% memiliki potensi zona hambat paling baik karena pada konsentrasi 10% sudah menunjukkan zona hambat yang mencapai kategori sedang, sementara pada etanol 40% dan etanol 96% pada konsentrasi 10% hanya menghasilkan zona hambat dengan kategori lemah. Konsentrasi etanol 70% sebagai konsentrasi yang optimal untuk menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus*.

### 13. Analisa data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 40%, etanol 70%, dan etanol 96% daun sirih kemudian di analisa dengan menggunakan SPSS dan didapatkan hasil sebagai berikut :

- a. Hasil uji normalitas ekstrak daun sirih varian konsentrasi etanol (40%,70%, dan 96%) pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil tes uji normalitas ekstrak etanol 40%, etanol 70%, dan etanol 96% pada bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan tidak

semua hasil perlakuan signifikan. Sehingga kelompok perlakuan memiliki nilai signifikan yang  $>0,05$  dan  $<0,05$ , sehingga  $H_0$  tidak diterima yaitu data perlakuan tidak terdistribusi normal. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 4.11.

**Tabel 4. 11 Hasil Uji Normalitas Daun Sirih Dengan Varain Pelarut**

<b>Kelompok perlakuan</b>	<b>Sign</b>	<b>Keterangan</b>
Kontrol positif etanol 40%	0,363	Terdistribusi normalitas
Etanol 5%	0,923	Terdistribusi normalitas
Etanol 10%	0,344	Terdistribusi normalitas
Etanol 15%	0,000	Tidak terdistribusi normalitas
Etanol 20%	0,894	Terdistribusi normalitas
Etanol 25%	0,921	Terdistribusi normalitas
Kontrol positif etanol 70%	0,363	Terdistribusi normalitas
Etanol 5%	0,499	Terdistribusi normalitas
Etanol 10%	0,000	Tidak terdistribusi normalitas
Etanol 15%	0,588	Terdistribusi normalitas
Etanol 20%	0,293	Terdistribusi normalitas
Etanol 25%	0,003	Tidak terdistribusi normalitas
Kontrol positif etanol 96%	0,363	Terdistribusi normalitas
Etanol 5%	0,942	Terdistribusi normalitas
Etanol 10%	0,000	Tidak terdistribusi normalitas
Etanol 15%	0,164	Terdistribusi normalitas
Etanol 20%	0,052	Terdistribusi normalitas
Etanol 25%	0,690	Terdistribusi normalitas

Keterangan :  $< 0,05$  data tidak terdistribusi normal  
 $> 0,05$  data terdistribusi normal

- b. Hasil uji *kruskal wallis test* ekstrak daun sirih varian konsentrasi etanol (40%,70%, dan 96%) pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil tes menggunakan uji *kruskal wallis* ekstrak etanol daun sirih dapat dilihat pada tabel 4.12.

**Tabel 4. 12 Hasil Uji Kruskal Wallis Test Ekstrak Daun Sirih Varian Pelarut**

<b>Diameter daya hambat</b>	
Chi-square	30.337
df	16
Asymp. Sig.	.016

- a. Kruskal wallis test

b. Grouping variable : konsentrasi  
 etanol dan konsentrasi ekstrak

Keterangan :

H0 ditolak : Ha diterima  $< 0,05$

H0 diterima : Ha ditolak  $> 0,05$

Uji *kruskal wallis* didapatkan hasil signifikan sebesar 0,016 ( $P < 0,05$ ) sehingga dapat dikatakan bahwa H0 (hipotesis nol) diterima, bahwa adanya pengaruh terhadap masing-masing perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

c. Hasil analisa data dengan uji *mann whitney*

Hasil tes menggunakan uji *mann whitney* ekstrak etanol daun sirih dapat dilihat pada tabel 4.13.

**Tabel 4. 13 Hasil Uji *Mann whitney* Daun Sirih**

<b>Kelompok perlakuan</b>	<b>Sign</b>	<b>Keterangan</b>
Kontrol positif dan negatif	0,037	Signifikan
Etanol 5% (etanol 40% dan 70%)	0,827	Tidak signifikan
Etanol 5% (etanol 40% dan 96%)	0,827	Tidak signifikan
Etanol 10% (etanol 40% dan 70%)	0,507	Tidak signifikan
Etanol 10% (etanol 40% dan 96%)	0,121	Tidak signifikan
Etanol 10% (etanol 70% dan 96%)	0,166	Tidak signifikan
Etanol 15% (etanol 40% dan 70%)	0,046	Signifikan
Etanol 15% (etanol 40% dan 96%)	0,507	Tidak signifikan
Etanol 15% (etanol 70% dan 96%)	0,127	Tidak signifikan
Etanol 20% (etanol 40% dan 70%)	0,827	Tidak signifikan
Etanol 20% (etanol 40% dan 96%)	0,275	Tidak signifikan
Etanol 20% (etanol 70% dan 96%)	0,827	Tidak signifikan
Etanol 25% (etanol 40% dan 70%)	0,513	Tidak signifikan
Etanol 25% (etanol 40% dan 96%)	0,275	Tidak signifikan
Etanol 25% (etanol 70% dan 96%)	0,127	Tidak signifikan

Uji *mann whitney* didapatkan hasil signifikan pada konsentrasi etanol 15% (etanol 40% dan 70%) sebesar 0,046 ( $P < 0,05$ ) sehingga dapat dikatakan bahwa H0 (hipotesis nol) diterima, bahwa adanya pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.



**B. Keterbatasan penelitian**

1. Pada saat melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih dengan varian konsentrasi etanol ini dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali, dikarenakan hasil inkubasi bakteri tidak dapat bertumbuh secara merata pada media NA sehingga berpengaruh terhadap sampel, kontrol positif dan kontrol negatif.
2. Penggunaan kontrol positif harus menggunakan yang selektif sedangkan kloramfenikol dapat menghambat dalam gram positif dan gram negatif.
3. Kepadatan bakteri pada setiap cawan tidak sama sehingga pertumbuhannya tidak homogen sehingga dapat mempengaruhi daya hambat bakteri atau zona hambat.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Simpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Rata-rata diameter zona hambat daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% ekstrak etanol 40% secara berturut-turut 2,69 mm, 3,40 mm, 3,38 mm, 3,93 mm, dan 4,32 mm. ekstrak etanol 70% berturut-turut 4,53 mm, 5,01 mm, 5,45 mm, 6,34 mm, dan 6,8 mm. etanol 96% secara berturut-turut 3,73 mm, 4,01 mm, 5,32 mm, 5,75 mm, dan 6,29 mm sehingga diklasifikasikan kedalam kategori sedang sampai lemah.
2. Terdapat perbedaan signifikan pada aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piperis betle* L) menggunakan variasi konsentrasi etanol dengan nilai signifikan P value 0,016 ( $P < 0,05$ ).
3. Ekstrak daun sirih (*Piperis betle* L) yang menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan zona hambat yang paling optimal untuk menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus*.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri daun sirih dengan menggunakan metode yang berbeda.
2. Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri lebih lanjut dalam bentuk formulasi (krim dan gel).

3. Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengecekan berkala terhadap hasil inokulasi bakteri yang akan dipakai supaya diperoleh hasil yang baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alydrus, N. L., & Khofifah, N. (2022). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Inhealth : Indonesian Health Journal*, 1(1), 56–61. <https://doi.org/10.56314/inhealth.v1i1.23>
- Amalia, K. D. (2013). Comparative incidence of influenza A-prime in 1953 in completely vaccinated and unvaccinated military groups. *American Journal of Public Health*, 45(9), 1138–1146. <https://doi.org/10.2105/ajph.45.9.1138>
- Anggraeni Putri, P., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Characteristics of Saponin Secondary Metabolite Compounds in Plants Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, 8(2), 251–258.
- Anggraeni, R. (2020). UJI KARAKTERISTIK SIMPLISIA BUAH ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium DC.*). *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 3(2), 32–38. <https://doi.org/10.52943/jifarmasi.v3i2.210>
- Ariani, N., & Niah, R. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*) Mentah Secara In Vitro. 5(2), 161–166.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Arina, Y., Pratiwi, G., & Alta, U. (2023). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) Dan Daun Mint (*Mentha piperita*) Pada Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 8(2), 26–41.
- Arsa, A. K., Achmad, Z., & Kimia, J. T. (2020). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa Roxb*) Dengan Pelarut Etanol Dan N-Heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 13(1), 83–94.
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 256–263. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Azizah, A. N., Ichwanuddin, I., & Marfu'ah, N. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 4(2), 15. <https://doi.org/10.21111/pharmasipha.v4i2.4158>
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., & Lembang, S. A. R.

- (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* INDONESIAN JOURNAL OF FUNDAMENTAL SCIENCES (IJFS). *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16–26.
- Dewi, C., & Utami, R. (2012). *Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Ekstrak Melinjo (Gnetum gnemon L.)*. V(2), 74–81.
- Dewi, I. S., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Phytochemical Screening of Tamarillo Peel and Seeds Ethanol Extracts (*Solanum Betaceum* Cav.). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 1210–1218.
- Dewi, M. N., Wigayanti, W., Fatmawati, P., Visca, R., Suriawati, J., & Rahmawati, S. R. (2022). Analisa Cemaran Bakteri Jamu Beras Kencur Sediaan Cair dengan Metode Angka Lempeng Total. *Jurnal Serambi Engineering*, 7(4), 4059–4064. <https://doi.org/10.32672/jse.v7i4.4921>
- Dianda, T. P., & Suharti, P. H. (2023). Pengaruh Waktu Dan Kadar Etanol Pada Maserasi Lidah Buaya Terhadap Antiseptik Hand Sanitizer Gel. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 8(4), 1000–1008. <https://doi.org/10.33795/distilat.v8i4.512>
- Djumidar, Razak, A. R., Ridhay, A., Sumarni, N. K., Syamsuddin, Jusman, Nurhaeni, & Rahim, E. A. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Johar (*Senna siamea* Lam) pada Berbagai Polaritas Pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 8(2), 184–195. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2022.v8.i2.15970>
- Dwicahyani, T., Sumardianto., & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- Evifania, R. D., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2020). Uji parameter spesifik dan nonspesifik simplisia daun senggani ( *Melastoma malabathricum* L . ) Specific and nonspecific parameter test of simplicia of senggani ( *Melastoma malabathricum* L . ) leaves. *Jurnal Cerebellum*, 6(1), 17–20.
- Fallo, G., Pardosi, L., & Da Cruz, A. M. (2022). Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Sirih Timor (*Piper betle* L.) Penghasil Antibakteri. *Jurnal Biologi Papua*, 14(2), 102–108. <https://doi.org/10.31957/jbp.2366>
- Faujiah, P., Hijriani, B. I., & Kurniawan, E. (2023). The Inhibition Activity Of Endophytic Bacteria Of Papaya Leaves (*Carica papaya* L.) Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Natural Sciences*, 1(4), 101–106.

- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108. <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Hama, S., & Umur, T. (2018). Uji Fitokimia Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*) Bahan Alam Sebagai Pestisida Nabati Berpotensi Menekan Serangan Serangga Hama Tanaman Umur Pendek. 1(9), 465–469.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* DAN *S. aureus*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11–21. <https://doi.org/10.14710/jitpi.2019.6742>
- Handayani, T. W., Yusuf, Y., & Tandil, J. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 230–238. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15324>
- Hanifah, N., Heriyanto, Y., Anggrawati K, H., & Fatikhah, N. (2021). Gambaran Pemahaman Tentang Sterilisasi Alat Kesehatan Gigi Pada Mahasiswa Tingkat Ii Jurusan Keperawatan Gigi. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 2(1), 362–368. <https://doi.org/10.34011/jks.v2i1.693>
- Haryati, N. A., Saleh, C., & Erwin. (2015). Uji Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Terhadap Bakteri. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1), 35–40.
- Hidayah. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. 11(2), 89–98.
- Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., & Mustikaningtyas, D. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Student*, 1(2). <https://doi.org/10.15294/jcs.v1i2.7794>
- Hidayah, N., Nurbani, S. Z., Kusuma, J., & Siregar, A. N. (2021). Identifikasi Senyawa Fitokimia Ekstrak Waru Laut (*Thespesia Populnea*) Dari Pesisir Pantai Semarus Kabupaten Natuna. *Jurnal Bluefin Fisheries*, 2(2), 8. <https://doi.org/10.15578/jbf.v2i2.57>
- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afritri, E., Widyastuti, R., & Ardiansyah. (2021). *buku referensi ekstraksi*.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.

- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, 8(2), 121–127. <https://doi.org/10.33653/jkp.v8i2.679>
- Jumardin, W., & Masnawati, M. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera colifloria* (Ten.) Steenis) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 7(2), 219–228. <https://doi.org/10.33096/jifa.v7i2.14>
- Kabakoran, J. F., Niwele, A., & Yuyun, M. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Cakram. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(2), 138.
- Kemkes RI. (2020). Farmakope Indonesia Edisi VI. In *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kurniawati, E. (2015). *Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. *Evi Kurniawati*. 83–90.
- Lady, D. Y. H. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41.
- Lister, . I Nyoman Ehrich. (2020). *Daun Sirih Merah*. Unpri Press Universitas Prima Indonesia.
- Lutfiah, L. (2022). Aplikasi Kamus Simplisia Dan Resep Obat Tradisional (Sidota) Berbasis Android. *Jurnal Sains Dan Informatika*, 8(1), 61–69. <https://doi.org/10.34128/jsi.v8i1.369>
- Magvirah, T., Marwati, & Ardhani, F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41–50.
- Marzuki, I., Ilmiah, J., Aloei, " Dr, Alfian Noor, ;, Nafie, N. La, & Djide, M. N. (2014). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Shimbion Spons Penghasil Enzim Amilase*. 1(2), 11–18.
- Maslukhah, Y. L., Widyaningsih, T. D., Waziroh, E., Wijayanti, N., & Sriherfyna, F. H. (2016). Influence Factor of Black Cincau (*Mesona palustris* BL) Extraction in Pilot Plant Scale: A Review. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 4(1), 245–252.
- Mastra, N. (2018). Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

- Secara In Vitro. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 5(2), 92–100. <https://doi.org/10.33992/m.v5i2.138>
- Mayasari, U., & Laoli, M. T. (2018). Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Daun Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 2(1), 7. <https://doi.org/10.30821/kfl:jibt.v2i1.1802>
- Misika. (2019). Uji Angka Lempeng Total (Alt) Bakteri Pada Selai Buah Kemasan Plastik Yang Dijual Di Wilayah Sumber Kabupaten Cirebon. *Jurnal An Nasher*, 1(1), 5–16.
- Mukhriani. (2016). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Agripet*, 16(2), 76–82. <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>
- Ninsih, U. A., Lambogo, A. T. B., Ernawati, E., Imaniar, M., & Hasrawati, A. (2022). Formulasi Gel Ekstrak Etanol Daun Sirih Cina Serta Aktivitasnya Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acne* Dan *Staphylococcus aureus*. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 14(1), 1–10. <https://doi.org/10.56711/jifa.v14i1.784>
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Padmasari, P. D., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (z. *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 1–7. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jfu/article/view/7395/5645>
- Parfati, N. D., Rani, K. C., & Jayani, N. I. E. (2018). Penyiapan Simplisia Kelor. *Fakultas Farmasi Universitas Surabaya*, 1–24.
- pengantar mikrobiologi. (2017). In *Вестник Росздравнадзора* (Vol. 4, Issue 1).
- Petrina, R., Alimuddin, A. H., & Harlia. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Kulit Biji Pinang Sirih (*Areca catechu* L.). *Jkk Issn : 2303-1077*, 6(2), 70–77.
- Prayitno, T. A., & Hidayati, N. (2017). *pengantar mikrobiologi*. Media Nusa Creative (MNC Publishing).
- Pujiastuti, E., & El'Zeba, D. (2021). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Dan 96% Kulit Buah Naga Merah *Hylocereus polyrhizus*) Dengan Spektrofotometri. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(1), 28–43. <https://doi.org/10.31596/cjp.v5i1.131>



- Purnamasari, D., Vifta, R. L., & Susilo, J. (2018). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1), 1–6. <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i1.2126>
- Rahmawati, N., Mujahid, R., & Widiyastuti, Y. (2020). Budidaya dan Manfaat Sirih untuk Kesehatan. *Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI*, 1–122. [https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/4300/1/Budidaya dan Manfaat Sirih untuk Kesehatan.pdf](https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/4300/1/Budidaya%20dan%20Manfaat%20Sirih%20untuk%20Kesehatan.pdf)
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1), 8–18. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v3i1.481>
- Ramadhani, N., Ramadhani, N., Samudra, A. G., & Armando, J. (2017). *Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Daun Mimba (Azadirachta indica A. Juss) Sebagai Antibakteri Secara Klt-Bioautografi Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli*. 2(1), 74–81.
- Rivai, H., Febrikesari, G., & Fadhilah, H. (2014). Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* nees.). *Jurnal Farmasi Higea*, 6(1), 19–28.
- Rivai, H., Nanda, P. E., & Fadhilah, H. (2014). Pembuatan Dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L), *S. Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 133–144.
- Rollando. (2019). *Senyawa Antibakteri Dari Fungi Endofit*.
- Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128. <https://doi.org/10.22146/jsv.58745>
- Sagita, D.-. (2017). Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia Coli* DAN *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ipteks Terapan*, 11(1), 65. <https://doi.org/10.22216/jit.2017.v11i1.459>
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (Euphoria longan (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal Antioxidant Activity Of Methanolic Extract Of Longan (Euphoria longan (L) Steud.) LEAVES USING 2, 2 'DIPHEN YL-1-PICRYLHYDRAZYL . L*, 25–34.
- Sayuti, M. (2017). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian Dan Jenis

- Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktifitas Antioksidan Bambu Laut (Isis Hippuris). *Technology Science and Engineering Journal*, 1(3), 2549–1601.
- Scottish Water. (2020). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Dan Ekstrak Etanol 96% Buah Strawberry (Fragaria x ananassa.) TERHADAP BAKTERI Propionibacterium acnes*. 21(1), 1–9.
- Sihombing, M., & Mantiri, F. (2022). Staphylococcus aureus. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., 1(november).
- Sogandi, S., & Gunarto, F. (2020). Efek Larvasida Fraksi Etil Asetat Daun Bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *ASPIRATOR - Journal of Vector-Borne Disease Studies*, 12(1), 27–36. <https://doi.org/10.22435/asp.v12i1.1288>
- Suyasa, I. B. O., Bekti, H. S., Rinawati, L. P., Laksmi, L. P., Wahyuni, P. D., Agustini, D. G. D., & Rakhmawati, A. (2022). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 5(1), 29. <https://doi.org/10.30651/jmlt.v5i1.11015>
- Syabania, M., Pambudi, D. B., Wirasti, W., & Rahmatullah, S. (2021). *Karakteristik dan Evaluasi Granul Ekstrak Daun Kersen (Muntingia calabura L.) dengan Metode Granulasi Basa*. 2013, 1732–1736.
- Syafrida, M., Darmanti, S., & Izzati, M. (2018). Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Kadar Air, Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus L.*). *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 20(1), 44. <https://doi.org/10.14710/bioma.20.1.44-50>
- Syamsul et al. (2020). Penetapan Rendemen Ekstrak Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos L . Alston* ). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 147–157. <https://jurnalfarmasi.or.id/index.php/jrki/article/view/98/75>
- Tivani, I., Amananti, W., & Rima Putri, A. (2021). Uji AKTivitas Antibakteri Handwash Ekstak Daun Turi (*Sesbania grandiflora L*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manutung*, 7(1), 86–91.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Antibacterial Activity Test of the C-4-methoxyphenyl calixresorcinarene Compound Modified by Hexadecyl trimethy lammonium-Bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v3i3.22742>

- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus, 1*, 8–14.
- Wahyuni, T., & Ab, S. (2014). Pemanfaatan Tanin Ekstrak Daun Jambu Biji terhadap Laju Korosi Besi dalam Larutan NaCl 3% (w/v). *Jurnal Konversi, 3*(1), 46.
- Wahyuningtyas, E. S., Ratna, H., & Estrin. (2023). *Efektifitas Spray Gel Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijauh (Piper Betle L.) Dan Madu Manuka Sebagai Penyembu Luka Akut*.
- Widiyastuti, Y., Haryanti, S., & Subositi, D. (2016). Karakterisasi Morfologi dan Kandungan Minyak Atsiri Beberapa Jenis Sirih (*Piper* sp.). *3*(April), 474–481. <https://doi.org/10.25026/mpc.v3i2.148>
- Widodo, L. U. (2016). Dasar-dasar Praktikum Mikrobiologi. *Dasar-Dasar Praktikum Mikrobiologi*, 1–61. <http://repository.ut.ac.id/id/eprint/4486>
- Wijaya, A., & Noviana. (2022). Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum*). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia, 4*(2), 185–195.
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova), 4*(2), 16. <https://doi.org/10.22146/a.77010>
- Zainal, E., Selviyanti, D., & Herlinda. (2022). *modul mikrobiologi dan parasitologi*.

## Lampiran 1 Surat Keterangan Determinasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN KEBUDAYAAN  
RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA  
**LAB. EKOLOGI & BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BOLOGI**  
Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang, Semarang. 024 7474754, 024 76480923

### SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

Nama : Yosepha Indira Putriana Mariadi  
NIM : 052221005  
Fakultas : Kesehatan Masyarakat  
Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS NGUDI WALUYO  
Judul Penelitian : Aktivitas Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Variasi Lpnsentrasi Etanol Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Telah melakukan determinasi/identifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Departemen Biologi FSM UNDIP. Hasil determinasi/identifikasi terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, 10 Juni 2024  
Laboratorium Ekologi & Biosistematik  
Kepala,

Rully Rahadian, S.Si, M.Si, PhD  
NIP 197207022000031001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN KEBUDAYAAN  
 RISET DAN TEKNOLOGI  
 UNIVERSITAS DIPONEGORO  
 FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA  
**LAB. EKOLOGI & BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BOLOGI**  
 Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang, Semarang. 024 7474754, 024 76480923

#### HASIL DETERMINASI

##### Klasifikasi:

Kingdom	: Plantae
Sunkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Species	: <i>Piper betle</i> L.
Nama daerah	: Sirih

##### Kunci Determinasi:

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-27b-799b-800b-801b-802b-803b-804b-805b-805b-807b-808c-809b-810b-811b-812b-815b-816b-818a-819b  
 (Famili 23 Piperaceae) Genus: *Piper*- Species: *Piper betle*  
 (Backer & Backuizen, 1968)

##### Deskripsi:

Sirih merupakan tanaman semak merambat atau memanjat, panjang bisa mencapai 8 meter. Akar tunggang, bentuk bulat memanjang, bewarna coklat kekuningan, memiliki banyak tunas baru yang tumbuh pada bagian akar. Batang berbentuk bulat memanjang menjalar ke tanaman lain, ruas, sulur, berbuku dengan jarak antar ruas sekitar 5-10 cm dan sebagai letak tumbuhnya pertunas baru, warna dari batang kecoklatan hingga kehijauan. Daun: tunggal tersebar, berbentuk bulat oval atau bulat telur sepeprti jantung, warna daun hijau muda hingga hijau tua, lebar 2-10 cm dan panjang 5 – 15 cm, permukaan bawah terdapat bulu halus bewarna putih. Bunga: bunga majemuk bulir, aksiler dan terminal, bulir bunga jantan memiliki ciri-ciri dengan panjang gagang sekitar 1,5 – 3 cm sedangkan ukuran benang sarinya pendek, bulir bunga betina mempunyai ukuran gagang sedikit lebih panjang dibanding bulir bunga jantan yaitu sekitar 2,5 – 6 cm serta panjang kepala putik dengan ukuran sekitar 3 -5 cm. Buah: berbentuk menyerupai bentuk telur dengan ukuran kecil – kecil, dengan ujung yang gundul, serta bewarna abu-abu hingga kehitaman dan berbulu. Selain itu, terdapat biji yang bulat, pipih, bewarna kehitaman pada bagian dalam buah dengan jumlah sekitar 10-20 biji banyaknya dalam satu buah.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN KEBUDAYAAN  
RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA  
**LAB. EKOLOGI & BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BOLOGI**  
Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang, Semarang. 024 7474754, 024 76480923



Gambar 1. Tanaman dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle*)

Pustaka:

1. Backer, C.A & Backhuizen van den Brink. 1968. Flora of Java. Vol. 1& Vol.II. Noordhof N.V. Gronigen. The Netherland
2. STEENIS, CGGJ VAN. 1981. *Flora, untuk sekolah di Indonesia*. PT Pradnya Paramita, Jakarta.
3. USDA Plant Database, 2022. Piper betle  
<https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=PIBE4> (15 Januari 2022)
4. <https://plantamor.com/species/profile/piper/betle#gsc.tab=0> (9 Juni 2024)
5. [https://powo.science.kew.org/results?f=accepted\\_names&q=Piper%20betle](https://powo.science.kew.org/results?f=accepted_names&q=Piper%20betle) (9 Juni 2024)

## Lampiran 2 Etichal Clearance



### UNIVERSITAS NGUDI WALUYO KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Diponegoro no 186 Gedanganak - Ungaran Timur, Kab. Semarang Jawa Tengah  
Email : kep@unw.ac.id | Website: kep.unw.ac.id

#### ETHICAL CLEARANCE

Nomor : 383/KEP/EC/UNW/2024

Komisi Etik Penelitian Universitas Ngudi Waluyo, setelah membaca dan menelaah usulan penelitian dengan judul :

#### **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (Piper betle L) DENGAN VARIASI KONSENTRASI ETANOL TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus**

Nama Peneliti Utama : Yosepha Indira Putriani Mariadi  
 Nama Pembimbing : Apt. Melati Aprilliana Ramadhani, S.Farm., M.Farm.  
 Alamat Institusi : Jl. Diponegoro no 186 Gedanganak, Kec. Ungaran Timur, Kab. Semarang Jawa Tengah  
 Program Studi : S1 Farmasi Transfer  
 Status : Mahasiswa  
 Lokasi Penelitian : Laboratorium Universitas Ngudi Waluyo  
 Tanggal Persetujuan : 12 Juni 2024  
 (Berlaku 1 (satu) tahun setelah tanggal persetujuan)

Menyatakan bahwa penelitian di atas telah memenuhi prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Standards and Operational Guidance for Ethics Review of Health-Related Reseach with Human Participants dari WHO 2011 dan Intenational Ethical Guidance for Health-Related Reseach Involving Humans dari CIOMS dan WHO 2016. Oleh karena itu, penelitian di atas dapat dilaksanakan dengan selalu memperhatikan prinsip-prinsip tersebut.

Komisi Etik Penelitian Universitas Ngudi Waluyo berhak untuk memantau kegiatan penelitian tersebut.

Peneliti harus melampirkan informed consent yang telah disetujui dan ditandatangani oleh peserta penelitian dan saksi pada laporan penelitian.

Ungaran, 12 Juni 2024

Ketua



Yulia Nur Khayati, S.Si. T., MPH.



**Lampiran 3 Proses Pengeringan Daun Sirih Hijau**

 <p>Proses pemanenan</p>	 <p>Pencucian</p>	 <p>Proses perajangan</p>	 <p>Proses pengeringan sinar matahari tidak langsung</p>
 <p>Proses penghalusan simplisia</p>	 <p>Proses pengayakan (ayakan 40 mesh)</p>	 <p>Proses penimbangan</p>	



**Lampiran 4 Uji Kadar Air Daun Sirih Hijau**

Penimbangan cawan kosong uji kadar air di oven



Penimbangan uji kadar air sesudah di oven



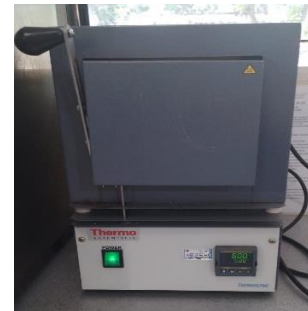
Alat oven

**Lampiran 5. Kadar Abu Daun Sirih Hijau**

Penimbangan serbuk simplisia untuk uji kadar abu



Hasil uji kadar abu



Alat mufle furnance

## Lampiran 5 Perhitungan Kadar Air Simplisia, Kadar Air Ekstrak, Kadar Abu Dan Randemen

### 1. Kadar air simplisia

*kadar air (%)*

$$= \frac{\text{Bobot sebelum di oven} - \text{Bobot setelah di oven}}{\text{bobot sebelum di oven}}$$

$$\times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{2 \text{ gram} - 1,81 \text{ gram}}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{0,19}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = 9,5\%$$

### 2. Kadar air ekstrak

a. Kadar air ekstrak etanol 40%

*kadar air (%)*

$$= \frac{\text{Bobot sebelum di oven} - \text{Bobot setelah di oven}}{\text{bobot sebelum di oven}}$$

$$\times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{2 \text{ gram} - 1,87 \text{ gram}}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{0,13}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = 6,5\%$$

b. Kadar air ekstrak etanol 70%

*kadar air (%)*

$$= \frac{\text{Bobot sebelum di oven} - \text{Bobot setelah di oven}}{\text{bobot sebelum di oven}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{2 \text{ gram} - 1,86 \text{ gram}}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{0,14}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = 7\%$$

c. Kadar air ekstrak etanol 96%

*kadar air (%)*

$$= \frac{\text{Bobot sebelum di oven} - \text{Bobot setelah di oven}}{\text{bobot sebelum di oven}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{2 \text{ gram} - 1,83 \text{ gram}}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = \frac{0,17}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar air (\%)} = 8,5\%$$

### 3. Kadar abu simplisia

$$\text{kadar abu (\%)} = \frac{\text{berat simplisia abu setelah pemanasan}}{\text{berat serbuk simplisia sebelum pemanasan}} \times 100\%$$

$$\text{kadar abu (\%)} = \frac{0,14 \text{ gram}}{2 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{kadar abu (\%)} = 7\%$$

### 4. Perhitungan randemen

a. Rendemen ekstrak etanol 40% daun sirih hijau

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{29,03 \text{ gram}}{160 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 18,143\%$$

b. Rendemen ekstrak etanol 70% daun sirih hijau

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{28,38 \text{ gram}}{160 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 17,737\%$$

c. Rendemen ekstrak etanol 96% daun sirih hijau

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$


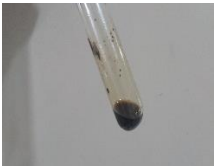

$$\text{Rendemen} = \frac{17,98}{160 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 11,237\%$$

### Lampiran 6 Proses Ekstraksi Daun Sirih Hijau






 <p>pelarut</p>	 <p>Penimbangan serbuk etanol 40%</p>	 <p>Penimbangan serbuk etanol 70%</p>	 <p>Penimbangan serbuk etanol 96%</p>
 <p>Perendaman serbuk</p>	 <p>Ditutup dengan aluminium foil</p>	 <p>Maserasi hari ke 5</p>	 <p>Penyaringan filtrat</p>
 <p>Hasil maserasi</p>	 <p>Rotary evaporator ekstrak</p>	 <p>Cawan kosong Water bath ekstrak etanol 96%</p>	 <p>Cawan kosong Water bath ekstrak etanol 70%</p>
 <p>Cawan kosong Water bath ekstrak etanol 40%</p>	 <p>Ekstrak etanol 96%</p>	 <p>Ekstrak etanol 70%</p>	 <p>Ekstrak etanol 40%</p>

**Lampiran 7 Perhitungan varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 95%**

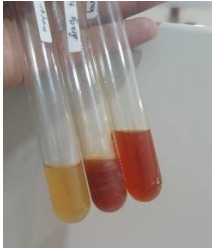




No	Parameter	reagen	Syarat warna literatur	Uji tabung	Hasil
1	Etanol 40%	Ekstrak daun sirih hijau + 1 ml kalium dikromat + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Positif jika dari jingga menjadi hijau kebiruan		- (Warna coklat)
2.	Etanol 70%	Ekstrak daun sirih hijau 1 ml kalium dikromat +2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Positif jika dari jingga menjadi hijau kebiruan		- (Warna hijau)
3.	Etanol 96%	Ekstrak daun sirih hijau + 1 ml kalium dikromat + 2 tetes H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Positif jika dari jingga menjadi hijau kebiruan		- (Warna hijau)

### Lampiran 8 Perhitungan varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 95%

#### 1. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 40% Daun sirih hijau




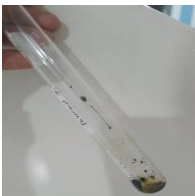

No	Kadungan kimia	reagen	Syarat warna literatur	Uji tabung	Hasil
1	Alkaloid	a. Mayer b. Bouchardat c. dragendrof	a. endapan putih b. endapan coklat sampe hitam c. endapan coklat atau merah bata		Negatif tidak ada endapan
2	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Biru kehitaman, hijau kehitaman		Negatif biru kehitaman, hijau kehitaman
3	Saponin	Aquadest dan dipanaskan	Terdapat busa		Positif terdapat busa
4	flavonoid	Bubuk magnesium + HCl pekat	Kuning, kemerahan sampe jingga		Positif jingga
5	fenol	NaCl+ FeCl <sub>3</sub> dipanaskan	Biru kehitaman, hijau kehitaman		Negatif Biru kehitaman, hijau kehitaman

## 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun sirih hijau

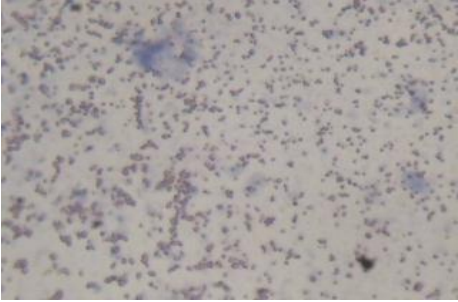
<b>No</b>	<b>Parameter</b>	<b>reagen</b>	<b>Syarat warna literatur</b>	<b>Uji tabung</b>	<b>Hasil</b>
1	Alkaloid	a. Mayer b. Bouchardat c. dragendrof	a. endapan putih b. endapan coklat sampe hitam c. endapan coklat atau merah bata		Negatif tidak ada endapan
2	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Biru kehitaman, hijau kehitaman		Positif hijau kehitaman
3	Saponin	Aquadest dan dipanaskan	Terdapat busa		Positif terdapat busa
4	flavonoid	Bubuk magnesium+ HCl pekat	Kuning, kemerahan sampe jingga		Positif kuning
5	fenol	NaCl+ FeCl <sub>3</sub> dipanaskan	Biru kehitaman, hijau kehitaman		Positif hijau kehitaman



## 3. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun sirih hijau

<b>No</b>	<b>Parameter</b>	<b>reagen</b>	<b>Syarat warna literatur</b>	<b>Uji tabung</b>	<b>Hasil</b>
1	Alkaloid	a. Mayer b. Bouchard at c. dragendro f	a. endapan putih b. endapan coklat sampe hitam c. endapan coklat atau merah bata		Negatif tidak ada endapan
2	Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Biru kehitaman, hijau kehitaman		Positif hijau kehitama n
3	Saponin	Aquadest dan dipanaskan	Terdapat busa		Positif terdapat busa
4	flavonoid	Bubuk magnesium+ HCl pekat	Kuning, kemeraha n sampe jingga		Positif kuning
5	fenol	NaCl+ FeCl <sub>3</sub> dipanaskan	Biru kehitaman, hijau kehitaman		Positif hijau kehitama n

**Lampiran 9 Identifikasi bakteri**

<b>No</b>	<b>Pembesaran</b>	<b>Staphylococcus aureus</b>	<b>Hasil</b>
1	40 X		(+) warna ungu, berbentuk coccus (bulat) bergerombol

**Lampiran 10 Perhitungan varian konsentrasi etanol 40%, 70%, dan 95%**

## Pengenceran

1. Etanol 40% → yang ingin dibuat 1000 ml Tersedia etanol 70%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 70\% = 1000 \text{ ml} \times 40\%$$

$$V_1 \times 70\% = 40000 \text{ ml}$$

$$V_1 = 571,428 \text{ ml etanol 70\% di ad kan dengan aquades ad 1000 ml}$$

2. Etanol 70% → sudah ada
3. Etanol 96% → sudah ada

**Lampiran 11 Membuat Larutan Induk**

Konsentrasi larutan induk 100% =  $\frac{100 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = = \frac{10 \text{ gram}}{10 \text{ ml}}$  (10 gram ad 10 ml

DMSO)

## Lampiran 12 Perhitungan Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%

### 1. Pengenceran konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dengan varian etanol

40%, 70%, dan 96%

#### a. Konsentrasi 5%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 5 \text{ ml} \times 5\%$$

$$V_1 \times 100\% = 25 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ g ad 5 ml DMSO}$$

#### b. Konsentrasi 10%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 5 \text{ ml} \times 10\%$$

$$V_1 \times 100\% = 50 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ g ad 5 ml DMSO}$$

#### c. Konsentrasi 15%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 5 \text{ ml} \times 15\%$$

$$V_1 \times 100\% = 75 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,75 \text{ g ad 5 ml DMSO}$$

#### d. Konsentrasi 20%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 5 \text{ ml} \times 20\%$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ g ad 5 ml DMSO}$$

e. Konsentrasi 25%
















$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 5 \text{ ml} \times 25\%$$

$$V_1 \times 100\% = 125 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1,25 \text{ g ad 5 ml DMSO}$$

### Lampiran 13 Uji Aktivitas Antibakteri

 <p>Sterilisasi alat</p>	 <p>Nutrien agar</p>	 <p>Media agar</p>	 <p>Pelarut konsentrasi</p>
 <p>Larutan induk (larutan stok ekstrak)</p>	 <p>Pengenceran konsentrasi etanol 40%</p>	 <p>Pengenceran konsentrasi etanol 70%</p>	 <p>Pengenceran konsentrasi etanol 96%</p>
 <p>Kontrol negatif (-) DMSO</p>	<p>Kontrol positif (+) disk kloramfenikol</p>	 <p>LAF, persiapan alat dan bahan</p>	 <p>Na agar miring</p>
 <p>Standar Mc.Farland</p>	 <p>Inkubator</p>	 <p>Inkubasi cawan petri</p>	 <p>autoclave</p>



Vortex homogen



Disk cakram steril



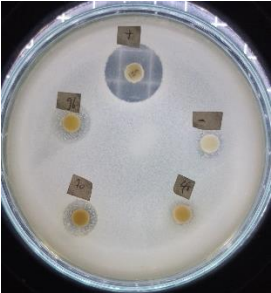
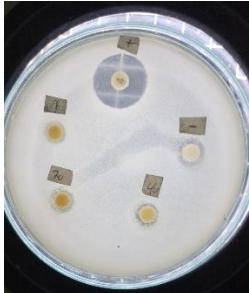
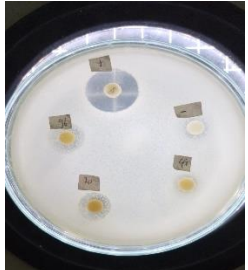
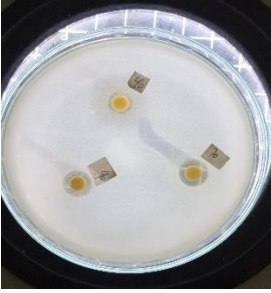
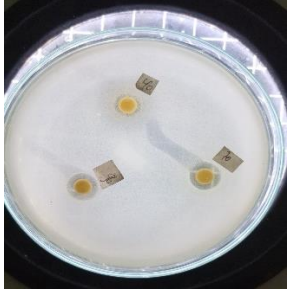
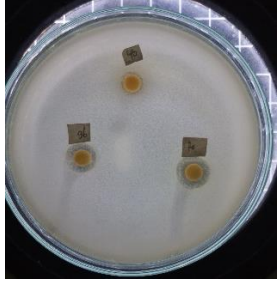
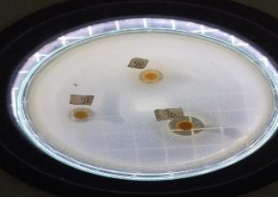
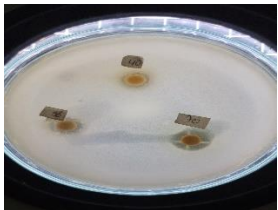
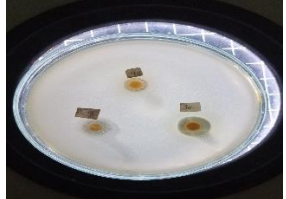
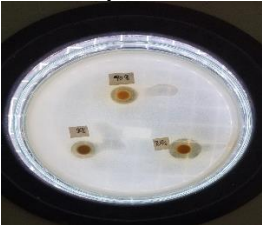
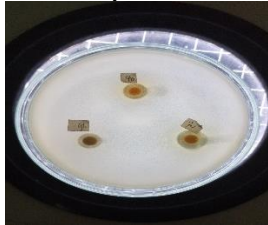
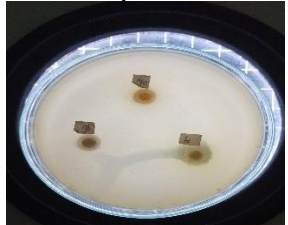
Colony counter

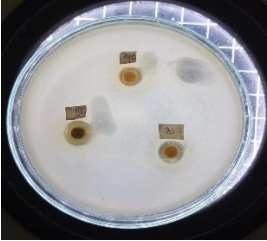
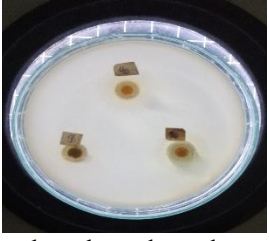




Suspensi bakteri  
*Staphylococcus aureus*



### Lampiran 14 Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri

<p>Repikal 1</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 5%</p>	<p>Repikal 2</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 5%</p>	<p>Repikal 3</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 5%</p>
<p>Repikal 1</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 10%</p>	<p>Repikal 2</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 10%</p>	<p>Repikal 3</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 10%</p>
<p>Repikal 1</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 15%</p>	<p>Repikal 2</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 15%</p>	<p>Repikal 3</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 15%</p>
<p>Repikal 1</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 20%</p>	<p>Repikal 2</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 20%</p>	<p>Repikal 3</p>  <p>Zona hambat ekstrak etanol daun sirih</p>

Repikal 1	Repikal 2	Repikal 3
 <p data-bbox="225 616 655 689">Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 25%</p>	 <p data-bbox="708 616 1069 689">Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 25%</p>	 <p data-bbox="1145 604 1422 705">Zona hambat ekstrak etanol daun sirih konsentrasi 25%</p>
 <p data-bbox="344 1010 536 1046">Kontrol media</p>		

## Lampiran 15 Hasil Olah Data SPSS

### Explore

Notes		
Output Created		17-AUG-2024 10:30:42
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	51
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values for dependent variables are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on cases with no missing values for any dependent variable or factor used.
Syntax		EXAMINE VARIABLES=diameter BY kelompok /PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPLOT /COMPARE GROUPS /STATISTICS DESCRIPTIVES /INTERVAL 95 /MISSING LISTWISE /NOTOTAL.
Resources	Processor Time	00:00:04.31
	Elapsed Time	00:00:06.62

### Warnings

diameter daya hambat is constant when konsentras etanol dan ekstrak = DMSO. It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

## konsentras etanol dan ekstrak

### Case Processing Summary

	konsentras etanol dan ekstrak	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
	40%,5%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	40%,10%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	40%,15%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	40%,20%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	40%,25%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	70%,5%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	70%,10%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	70%,15%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
diameter daya hambat	70%,20%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	70%,25%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	96%,5%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	96%,10%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	96%,15%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	96%,20%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	96%,25%	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	kloramfenikol disk	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	DMSO	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%

### Descriptives<sup>a</sup>

		konsentras etanol dan ekstrak		Statistic	Std. Error
diameter daya hambat	40%,5%	Mean		269.67	57.782
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	21.05	
			Upper Bound	518.28	
		5% Trimmed Mean		.	
		Median		265.00	
		Variance		10016.333	
		Std. Deviation		100.082	
		Minimum		172	

	Maximum		372	
	Range		200	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.209	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		340.33	32.189
	95% Confidence	Lower Bound	201.84	
	Interval for Mean	Upper Bound	478.83	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		362.00	
	Variance		3108.333	
40%,10%	Std. Deviation		55.752	
	Minimum		277	
	Maximum		382	
	Range		105	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.485	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		338.67	33.333
	95% Confidence	Lower Bound	195.24	
	Interval for Mean	Upper Bound	482.09	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		372.00	
	Variance		3333.333	
40%,15%	Std. Deviation		57.735	
	Minimum		272	
	Maximum		372	
	Range		100	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.732	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		393.67	105.528
	95% Confidence	Lower Bound	-60.38	
40%,20%	Interval for Mean	Upper Bound	847.72	
	5% Trimmed Mean		.	

	Median		382.00	
	Variance		33408.333	
	Std. Deviation		182.779	
	Minimum		217	
	Maximum		582	
	Range		365	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.286	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		432.33	32.359
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	293.10	
		Upper Bound	571.56	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		435.00	
	Variance		3141.333	
40%,25%	Std. Deviation		56.048	
	Minimum		375	
	Maximum		487	
	Range		112	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-.214	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		267.00	106.105
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-189.53	
		Upper Bound	723.53	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		322.00	
	Variance		33775.000	
70%,5%	Std. Deviation		183.780	
	Minimum		62	
	Maximum		417	
	Range		355	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.226	1.225
	Kurtosis		.	.

	Mean		360.33	156.667
	95% Confidence	Lower Bound	-313.75	
	Interval for Mean	Upper Bound	1034.42	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		517.00	
	Variance		73633.333	
70%,10%	Std. Deviation		271.355	
	Minimum		47	
	Maximum		517	
	Range		470	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.732	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		545.33	85.700
	95% Confidence	Lower Bound	176.60	
	Interval for Mean	Upper Bound	914.07	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		582.00	
	Variance		22033.333	
70%,15%	Std. Deviation		148.436	
	Minimum		382	
	Maximum		672	
	Range		290	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.044	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		433.00	185.174
	95% Confidence	Lower Bound	-363.74	
	Interval for Mean	Upper Bound	1229.74	
	5% Trimmed Mean		.	
70%,20%	Median		567.00	
	Variance		102868.000	
	Std. Deviation		320.730	
	Minimum		67	
	Maximum		665	

		Range	598	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	-1.552	1.225
		Kurtosis	.	.
		Mean	239.33	172.834
		95% Confidence Lower Bound	-504.31	
		Interval for Mean Upper Bound	982.98	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	67.00	
		Variance	89614.333	
	70%,25%	Std. Deviation	299.357	
		Minimum	66	
		Maximum	585	
		Range	519	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.732	1.225
		Kurtosis	.	.
		Mean	276.67	138.338
		95% Confidence Lower Bound	-318.55	
		Interval for Mean Upper Bound	871.89	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	285.00	
		Variance	57412.333	
	96%,5%	Std. Deviation	239.609	
		Minimum	33	
		Maximum	512	
		Range	479	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	-.156	1.225
		Kurtosis	.	.
		Mean	125.67	79.667
		95% Confidence Lower Bound	-217.11	
	96%,10%	Interval for Mean Upper Bound	468.44	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	46.00	



		Variance	19040.333	
		Std. Deviation	137.987	
		Minimum	46	
		Maximum	285	
		Range	239	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.732	1.225
		Kurtosis	.	.
		Mean	199.33	144.368
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	-421.83	
		Upper Bound	820.50	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	77.00	
		Variance	62526.333	
	96%,15%	Std. Deviation	250.053	
		Minimum	34	
		Maximum	487	
		Range	453	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.675	1.225
		Kurtosis	.	.
		Mean	573.67	106.706
		95% Confidence Interval for Mean		
		Lower Bound	114.55	
		Upper Bound	1032.78	
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	472.00	
		Variance	34158.333	
	96%,20%	Std. Deviation	184.820	
		Minimum	462	
		Maximum	787	
		Range	325	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.726	1.225
		Kurtosis	.	.
	96%,25%	Mean	629.67	132.214

	95% Confidence	Lower Bound	60.80	
	Interval for Mean	Upper Bound	1198.54	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		587.00	
	Variance		52441.333	
	Std. Deviation		229.001	
	Minimum		425	
	Maximum		877	
	Range		452	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.809	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		1283.00	64.156
	95% Confidence	Lower Bound	1006.96	
	Interval for Mean	Upper Bound	1559.04	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		1325.00	
	Variance		12348.000	
kloramfenikol disk	Std. Deviation		111.122	
	Minimum		1157	
	Maximum		1367	
	Range		210	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.458	1.225
	Kurtosis		.	.

a. diameter daya hambat is constant when konsentras etanol dan ekstrak = DMSO. It has been omitted.

**Tests of Normality<sup>b</sup>**

	konsentras etanol dan ekstrak	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter daya hambat	40%,5%	.185	3	.	.998	3	.923
	40%,10%	.318	3	.	.887	3	.344
	40%,15%	.385	3	.	.750	3	.000
	40%,20%	.192	3	.	.997	3	.894
	40%,25%	.186	3	.	.998	3	.921
	70%,5%	.284	3	.	.933	3	.499
	70%,10%	.385	3	.	.750	3	.000
	70%,15%	.264	3	.	.954	3	.588
	70%,20%	.329	3	.	.869	3	.293
	70%,25%	.384	3	.	.751	3	.003
	96%,5%	.181	3	.	.999	3	.942
	96%,10%	.385	3	.	.750	3	.000
	96%,15%	.354	3	.	.820	3	.164
	96%,20%	.376	3	.	.773	3	.052
	96%,25%	.241	3	.	.974	3	.690
		kloramfenikol disk	.314	3	.	.893	3

a. Lilliefors Significance Correction

b. diameter daya hambat is constant when konsentras etanol dan ekstrak = DMSO. It has been omitted.

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter daya hambat	51	394.57	315.032	0	1367
konsentras etanol dan ekstrak	51	9.00	4.948	1	17

## Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	konsentras etanol dan ekstrak	N	Mean Rank
diameter daya hambat	40%,5%	3	18.00
	40%,10%	3	22.67
	40%,15%	3	21.67
	40%,20%	3	28.17
	40%,25%	3	31.17
	70%,5%	3	20.00
	70%,10%	3	28.33
	70%,15%	3	38.50
	70%,20%	3	32.17
	70%,25%	3	21.50
	96%,5%	3	20.17
	96%,10%	3	10.83
	96%,15%	3	17.83
	96%,20%	3	38.00
	96%,25%	3	41.00
	kloramfenikol disk	3	50.00
	DMSO	3	2.00
Total	51		

### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	diameter daya hambat
Chi-Square	30.337
df	16
Asymp. Sig.	.016

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

konsentras etanol dan ekstrak

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.664
Asymp. Sig. (2-tailed)	.507
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.550
Asymp. Sig. (2-tailed)	.121
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.573
Asymp. Sig. (2-tailed)	.116
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.664
Asymp. Sig. (2-tailed)	.507
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.



	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	diameter daya hambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: konsentras etanol dan ekstrak

b. Not corrected for ties.

