

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN
SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

KARYA TULIS ILMIAH



Oleh :

**Loisa Ratna Yuvita Olla
PO. 530333316075**

**PROGRAM STUDI ANALIS KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN
SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

KARYA TULIS ILMIAH

Karya Tulis Ilmiah ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program pendidikan Ahli Madya Analis Kesehatan



Oleh :

**Loisa Ratna Yuvita Olla
PO. 530333316075**

**PROGRAM STUDI ANALIS KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG
2019**

LEMBAR PERSETUJUAN

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN
SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Oleh :

**Loisa Ratna Yuvita Olla
PO. 530333316075**

Telah disetujui untuk diseminarkan

Pembimbing

**Agustina W.Djuma, S.Pd.,M.Sc
NIP. 197308011993032001**

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN
SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Oleh :

**Loisa Ratna Yuvita Olla
PO. 530333316075**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal, 27 Mei 2019

Susunan Tim Penguji

1. **Norma Tiku Kambuno, S.si., Apt.,M.Kes**
2. **Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc**

Karya Tulis Ilmiah ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan untuk
memperoleh gelar Ahli Madya Analis Kesehatan

Kupang, 28 Mei 2019

Ketua Program Studi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang

**Agustina W.Djuma, S.Pd.,M.Sc
NIP. 197308011993032001**

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Loisa Ratna Yuvita Olla

NIM : PO.530333316075

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh keserjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Kupang, Mei 2019
Yang menyatakan

Loisa Ratna Yuvita Olla

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena hanya atas kasih dan penyertaan-Nyalah sehingga penulis diberikan hikmat untuk menyusun dan menyelesaikan karya tulis Ilmiah ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*”**.

Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dibuat atas inisiatif penulis sebagai wahana aplikasi dari ilmu yang diperoleh pada perkuliahan. Disamping itu untuk memenuhi tuntutan akademis bahwa sebagai mahasiswa Program Studi Analis Kesehatan tingkat terakhir (III) diwajibkan menyusun Karya Tulis Ilmiah.

Karya Tulis Ilmiah ini bisa diselesaikan dari bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak baik langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu R.H. Kristina, SKM.,M.Kes selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
2. Ibu Agustina W. Djuma, S.Pd.,M.Sc selaku Ketua Program Studi Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang sekaligus pembimbing yang dengan sepenuh hati telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Ibu Norma Tiku Kambuno, S.Si.,Apt.,M.Kes selaku penguji yang dengan penuh kesabaran telah mengoreksi penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Ni Made Susilawati, S.Si.,M.Si sebagai pembimbing akademik selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi Analis Kesehatan.
5. Ibu Yoan Novicadlitha, S.Si sebagai pembimbing laboratorium yang telah dengan setia membimbing penulis dalam pelaksanaan penelitian di laboratorium.
6. Bapak dan ibu dosen yang telah mendidik dan memberikan ilmunya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan di kampus ini dengan baik.

7. Bapa dan Mama serta kedua adik tercinta yang selalu mendukung dan mendoakan penulis.
8. Teman-teman angkatan 08 Analis Kesehatan khususnya FEHLING yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Partner Geding yang selalu mendukung, memotivasi dan mendoakan penulis.
10. Sahabat terbaik Maya, Yoan, Nainsy, Fenny, Nona, Yayang, Bernat, Vita, bunda Geno, Ret, Evan dan Clarita yang selalu mendoakan dan mendukung penulis.
11. KTB Spektro dan Zivana yang selalu mendoakan dan mendukung penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan untuk itu kritik dan saran demi penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini sangat penulis harapkan.

Kupang, Mei 2019

Penulis

INTISARI

Daun sirih hijau telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional. Ekstrak daun sirih hijau mengandung daya antibakteri yang terdiri dari fenol dan senyawa turunannya yang mampu menghambat berbagai macam pertumbuhan bakteri. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada tubuh manusia, namun dapat menjadi patogen apabila dipengaruhi oleh faktor predisposisi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* Uji aktivitas antimikroba ekstrak daun sirih hijau dengan variasi konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50% dan 75% dengan etanol 96% pelarut. Jenis penelitian ini yaitu *True Eksperimental* dengan 5 kali replikasi untuk setiap kelompok perlakuan. Uji efektivitas antibakteri pada media *Muller Hinton Agar* yang telah ditanami bakteri dengan metode *disc diffusion*. Zona bening yang dihasilkan digunakan sebagai indikasi adanya hambatan oleh ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm) selanjutnya data dianalisis dengan uji statistik Non Parametrik *Kruskal-wallis* dilanjutkan *Post Hoc Test* menggunakan uji *Mann-Whitney*. Berdasarkan klasifikasi LCSII, daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 5%, 15%, 25% tergolong resisten (lemah) sedangkan daya hambat ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 50% tergolong intermediate (sedang) dan daya hambat ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 75% tergolong sensitif (kuat) dengan konsentrasi yang paling optimal adalah konsentrasi 75% dengan zona hambat sebesar 20,3 mm.

Kata kunci : Ekstrak daun sirih hijau, *Staphylococcus aureus*, zona bening

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KTI	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Daun Sirih Hijau	6
B. <i>Staphylococcus aureus</i>	13
C. Antibiotik	16
D. Uji Efektivitas Antimikroba	17
E. Kerangka Konsep	19
F. Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Jenis Penelitian	20
B. Tempat dan Waktu Penelitian	20
C. Variabel Penelitian	20
D. Sampel	20
E. Definisi Operasional	21
F. Prosedur Penelitian	22
G. Analisis Data	27
BAB IV HASIL PEMBAHASAN	28
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	35
A. Kesimpulan	35
B. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36

LAMPIRAN	39
----------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Presentase Kandungan Kimia Daun pada Daun Sirih Hijau	10
Tabel 2.2 Komposisi Kimia Daun Sirih Hijau dalam 100 gr Bahan Segar	11
Tabel 4.1 Klasifikasi Respon Hambatan Berdasarkan <i>Clinical and Laboratory</i> <i>Standart CLSI</i>) untuk Metode Difusi Disk	38
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Zona Hambat (mm)	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Sirih Hijau	7
Gambar 2. Struktur senyawa kimia yang terkandung dalam sirih	11
Gambar 3. <i>Staphylococcus aureus</i>	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Ekstraksi Daun Sirih Hijau	40
Lampiran 2. Skema Kerja Uji Efektivitas Antibakteri	41
Lampiran 3. Klasifikasi Respon Hambatan berdasarkan CLSI	42
Lampiran 4. Hasil Uji Non Parametrik Kruskal Wallis	43
Lampiran 5. Uji Non Parametrik Mann-Whitney antara kelompok konsentrasi ekstrak daun sirih hijau	43
Lampiran 6. Surat Izin Penelitian	44
Lampiran 7. Surat Hasil Penelitian	45
Lampiran 8. Surat selesai pembuatan ekstrak	46
Lampiran 9. Dokumentasi	47

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz, *et al.*, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan salah satu flora normal pada kulit dan selaput mukosa, tetapi jika dipengaruhi oleh faktor predisposisi dapat menjadi patogen (Afifurrahman, *et al.*, 2014). *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan mannitol. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan dan sindroma syok toksik. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, phlebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomilitis dan endokarditis. Infeksi *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses (Rika, 2014).

Staphylococcus aureus telah banyak resisten terhadap beberapa antibiotik antara lain golongan lactamase, metisilin, nafsilin, oksasilin dan vankomisin (Jawetz, *et al.*, 2013). Resistensi merupakan masalah yang sering timbul dalam pengobatan penyakit infeksi. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik memberikan peluang besar untuk mendapatkan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia (Rika, 2014).

Alternatif pengobatan dengan penggunaan bahan alam kini kembali dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, bahkan beberapa bahan alam telah diproduksi secara fabrikasi dalam skala besar. Pada survey terkini yang dilakukan oleh Badan Kesehatan Dunia secara global, sekitar 20.000 tumbuhan obat digunakan dalam jumlah yang sangat besar di industri farmasi ataupun dalam obat tradisional (Anonim, 2013). Pemanfaatan tanaman obat secara tepat tentunya tidak menimbulkan efek samping dibandingkan dengan obat-obatan yang berbahan sintesis. Di samping itu pemanfaatan tanaman obat untuk menjaga kesehatan dan mencegah penyakit tergolong murah dan mudah dilakukan oleh setiap orang (Ninin, 2016).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah sirih hijau (*Piper betle* L.). Daun sirih secara tradisional sudah digunakan dan diketahui khasiatnya sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat dalam kebutuhan sehari-hari. Sirih merupakan tumbuhan herbal yang mudah ditemukan di rumah-rumah masyarakat karena mudah

dikembangbiakkan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, daun sirih berfungsi untuk mengobati sariawan dan keputihan, bahkan sering digunakan untuk obat kumur (Adi, *et al.*, 2015), atau antiseptik pada luka bakar dan juga sebagai zat antimikroba atau penghambat mikroba (Mona, 2010).

Daun sirih dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung 4,2% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *betephenol* yang merupakan isomer *Eugenol* 26,8-42,5%, *Caryophyllen* 6,2-11,9%, *kavikol* 5,1-8,2%, *kavibekol* 0,0-1,2%, *estragol* dan *terpinen* (Zenda, 2010). Minyak atsiri dari daun sirih mengandung 30% fenol dan beberapa derivatnya. Senyawa fenol yang terkandung dalam daun sirih hijau ini mampu mendenaturasi protein bakteri dan meningkatkan permeabilitas mikroorganisme (Mita, 2011). Kandungan kavikol dan kavibetol pada daun sirih hijau yang merupakan turunan dari fenol mempunyai daya antibakteri lima kali lipat lebih kuat dari fenol biasa (Anang, 2007). Selain itu didalam daun sirih juga terdapat flavonoid yang berfungsi sebagai bakteriostatik dan juga berfungsi sebagai anti inflamasi serta mengandung saponin dan tannin yang bersifat sebagai antiseptik pada luka permukaan dan bekerja sebagai bakteriostatik yang biasanya digunakan untuk infeksi pada kulit, mukosa dan melawan infeksi pada luka (Seila, 2012).

Tanaman Daun sirih hijau banyak dijumpai di salah satu Kota di Kabupaten Timor Tengah Selatan yaitu Kota Soe. Sebagian besar

masyarakat memiliki tanaman sirih hijau yang ditanam pada halaman rumah. Berdasarkan adat dan kebiasaan masyarakat setempat sering mengkonsumsi daun sirih hijau dengan pinang dan kapur hal ini diperkuat dengan alasan masyarakat bahwa mengkonsumsi daun sirih hijau, pinang dan kapur dapat mencegah bau mulut, kerusakan gigi dan juga membuat gigi menjadi lebih kuat. Disamping itu daun sirih hijau sering digunakan oleh masyarakat Kota Soe untuk mengobati bisul, mengatasi keputihan dan juga menghentikan mimisan.

Pengujian aktivitas antimikroba daun sirih hijau dengan pelarut DMSO 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro menggunakan metode cakram kertas dengan terbentuknya zona bening (*clear zona*) pada media uji pada konsentrasi 2,5%, 5%, 10% menunjukkan diameter daya hambat masing-masing sebesar 21,14 mm, 28,28 mm, dan 29,28 mm (Anang, 2007). Hasil penelitian Seila (2012) menunjukkan bahwa pengujian aktivitas antimikroba daun sirih dengan konsentrasi 10^6 ppm, $5 \cdot 10^6$ ppm, 10^7 ppm menghasilkan diameter daya hambat masing-masing sebesar 21,3 mm, 25,3 mm dan 27,3 mm.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul **“Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*”**

B. Rumusan Masalah

Bagaimana kemampuan daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Menganalisis tingkat efektivitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengkaji kemampuan daya hambat ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, 75% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Mengkaji konsentrasi optimal ekstrak daun sirih hijau yang mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat

Sebagai bahan informasi mengenai manfaat daun sirih hijau terhadap infeksi bakteri.

2. Bagi Institusi

Sebagai acuan dan informasi bagi peneliti selanjutnya serta sebagai tambahan sumber kepustakaan bagi mahasiswa di Program Studi Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang.

3. Bagi Peneliti

Sebagai bentuk aplikatif ilmu yang telah didapat selama menempuh pendidikan di Program Studi Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Sirih Hijau

1. Morfologi Daun Sirih Hijau

Sirih merupakan tanaman di Indonesia yang tumbuh secara merambat pada batang pohon lain, seperti rambutan, nangka atau tumbuhan besar lainnya. Tanaman merambat ini bisa mencapai tinggi 5-15 m. Batang sirih berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, beruas dan merupakan tempat keluarnya akar. Daunnya berwarna hijau yang berbentuk jantung, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai dan mengeluarkan bau aromatik yang khas bila diremas, panjangnya sekitar 5-18 cm dan lebar 3-12 cm (Elshabarina, 2018).

2. Klasifikasi Daun Sirih Hijau

Menurut Tjitrosoepomo (1993) dalam Seila (2012), klasifikasi ilmiah tanaman daun sirih hijau adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Class : Dicotyledoneae

Ordo : Piperales
Familia : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies : *Piper betle* L.



Gambar 1. Daun Sirih Hijau (Seila, 2012)

3. Budidaya Tanaman Sirih Hijau

Tanaman sirih dapat tumbuh baik di daerah dengan iklim sedang sampai basah. Sirih dapat ditemukan pada daerah dataran rendah sampai daerah dataran tinggi dengan ketinggian 1000m di atas permukaan laut. Tanaman sirih dapat tumbuh subur pada berbagai jenis tanah yang berhumus, kaya akan hara dan gembur. Penanaman sirih hijau sebaiknya dilakukan pada awal musim hujan agar sirih dapat tumbuh subur dengan mendapatkan unsur hara yang baik (Rosita, 2012).

Perbanyakan tanaman sirih salah satunya dapat menggunakan sulur. Turus diambil dari sulur dibagian ujung atas sepanjang 30-50 cm. Untuk pertumbuhannya, sirih memerlukan sandaran pohon hidup, seperti kapok atau gamal. Pohon sandaran ditanam pada musim hujan

sebelum menanam sirih dengan jarak 1,5 m. Tiap dua baris dibuat selokan untuk mengalirkan air karena sirih tidak tahan terhadap tanah yang terlalu basah. Pemeliharaan yang baik menyebabkan sirih akan bertahan selama bertahun-tahun dengan tetap memberikan hasil yang baik dari ketiak daun akan tumbuh cabang dan ranting yang menggantung bagian itulah yang akan dipanen (Elvina, 2015).

Tanaman yang telah terkena cahaya matahari akan memberikan perubahan pada warna daun menjadi kuning kehijauan dan bila dikunyah terasa lebih pedas. Sirih yang tumbuh ditempat teduh, daunnya berbentuk panjang, berwarna hijau segar dan tidak begitu pedas. Disamping cahaya matahari, penggunaan pupuk juga mempengaruhi warna dan rasa daun sebaiknya digunakan pupuk kandang (Elvina, 2015).

4. Simplisia Daun Sirih Hijau

Endang dan Iswarin (2018) menerangkan bahwa simplisia merupakan bagian atau keseluruhan dari tumbuhan, hewan maupun mineral yang belum mengalami pengolahan ataupun diolah secara sederhana. Bagian tersebut terkadang hanya dikecilkan atau dikeringkan. Pembuatan simplisia melalui beberapa tahap diantaranya pemanenan, pengumpulan, pengeringan, pengemasan dan penyimpanan. Sirih merupakan salah satu jenis simplisia nabati yang memiliki kadar senyawa aktif tertentu.

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman yang digunakan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat adalah pada saat tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal di dalam bagian tanaman pada umur tertentu. Contohnya, simplisia yang mengandung minyak atsiri lebih baik dipanen pada pagi hari ketika daun masih segar, sehingga untuk menentukan waktu panen perlu dipertimbangkan stabilitas kimiawi dan fisik senyawa aktif di dalam simplisia terhadap panas sinar matahari (Endang & Iswarin, 2016).

Daun sirih hijau yang berasal dari tanaman budidaya diambil bagian daun yang tidak terlalu tua atau terlalu muda yang berwarna hijau segar hal ini bertujuan agar memperoleh kadar zat aktif yang tinggi. Daun sirih hijau yang siap panen berumur 4 bulan karena pada usia 4 bulan daun sirih sudah selektif dan lebat. Pada saat itu sirih terdiri atas 16-20 daun. Daun yang subur berukuran 10 cm dan 5 cm, bila dipegang tebal dan kaku (tidak lemas). Hindari memetik daun yang terkena cipratan tanah, terutama pada waktu musim hujan. Pemetikan dimulai dari bagian tanaman bagian bawah menuju atas. Daun dipetik 60 cm dari permukaan tanah untuk meminimalisir bila ada kotoran atau debu yang menempel (Elvina, 2015).

Daun sirih kemudian disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing dari simplisia lalu dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang melekat pada daun sirih. Kemudian dilakukan proses perajangan untuk mempermudah proses pengeringan dan kemudian dilakukan pengeringan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dan diovenkan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan dapat bertahan dalam waktu lama dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik yang akan mencegah penurunan mutu dan kerusakan simplisia. Selanjutnya simplisia daun sirih yang telah jadi dikemas dalam wadah plastik dan disimpan pada tempat yang sejuk untuk menjaga mutu simplisia daun sirih untuk selanjutnya dilakukan pada percobaan lain (Elvina, 2015).

5. Kandungan Senyawa Kimia dan Pemanfaatan Daun Sirih Hijau

Hamid (2013) menyebutkan bahwa senyawa kimia yang terkandung pada daun sirih hijau, diantaranya *eugenol*, *metil eugenol*, *karvakral*, *kavikol*, *kavibetol*, *sineol*, *estragol*, *karoten*, *tiamin*, *riboflavin*, *asam nikotinat*, Vitamin C, *Tanin*, Gula, Pati dan Asam amino.

Tabel 2.1 Presentase Kandungan Kimia Daun pada Daun Sirih Hijau

Kandungan Kimia	Presentase	Kandungan Kimia	Presentase
Minyak atsiri	1%-4,2%	<i>Caryophyllene</i>	3,0-9,8%
<i>Hidro kavikol</i>		<i>Cineole</i>	2,4-4,8%
<i>Kavikol</i>	7,2-16-7%	<i>Estragol</i>	2,4-15,8%
<i>kavibetol</i>	2,7-6,2%	<i>terpenen.</i>	0,8-1,8%
		<i>seskuiiterpen,</i>	

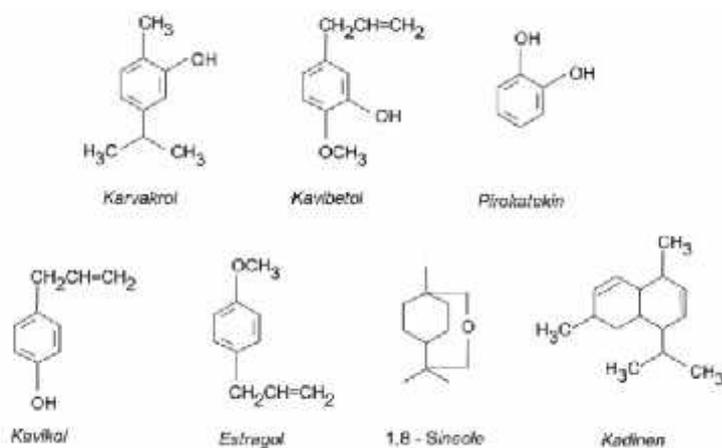
		<i>tripternoid, fenil propane, terpinil asetat, kadinen</i>	
<i>allypyrokatekol</i>	0-9,6%	<i>Tannin</i>	1-13%
<i>karvakrol</i>	2,2-5,6%	<i>Diastase</i>	0,8-1,8%
<i>eugenol</i>	26,8-42,5%	<i>methyl eugenol</i>	4,2-15,8 %
<i>allyprocathechine</i>			
<i>eugenol methyl ether</i>	4,2-15,8%	<i>Pirokatekin</i>	
<i>p-cymene</i>	1,2-2,5%	Gula, pati	

Sumber: Rosita, 2012

Tabel 2.2 Komposisi Kimia Daun Sirih Hijau dalam 100 gr Bahan Segar

Komponen Kimia	Jumlah	Komponen Kimia	Jumlah
Kadar air	85,14%	Karoten (Vit.A)	960000 IU
Protein	3,1%	Tiamin	70 mg
Lemak	0,8%	Riboflavin	30 mg
Karbohidrat	6,1%	Asam nikotiat	0,7 mg
Serat	2,3%	Vit.C	5 mg
Bahan mineral	2,3%	Yodium	3,4 mg
Kalsium	230 mg	Kalium nitrit	0,26-0,42%
Fosfor	40 mg	Kanji	1-1,2%
Besi	7 mg	Glukosa non reduksi	0,6-2,5%
Besi ion	3,5 mg	Glukosa reduksi	1,4-3,2%

Sumber: Rosman, R dan S. Suhirman, 2006.



Gambar 2. Struktur kimia senyawa yang terkandung dalam sirih (Rosita,2012)

Beragam zat yang terkandung dalam daun sirih tersebut sering dimanfaatkan sebagai obat herbal untuk mengatasi berbagai jenis penyakit. Di China, sirih digunakan untuk meluruhkan kentut, menghentikan batuk, mengurangi peradangan. Sementara di India, daun sirih dikenal aromatik dan menghangatkan serta bersifat antiseptik. Sirih sudah lama dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Sirih di Indonesia sudah dikenal sejak tahun 600 SM (Fitria, 2018).

Dalam tradisi Jawa kuno, mengunyah daun sirih hijau hukumnya adalah wajib yang dikenal dengan tradisi *nginang*, yaitu mengunyah daun sirih hijau ditambahkan racikan gambir, kapur putih, buah pinang muda dalam porsi sedikit. Setelah itu dikunyah hingga lumat dan berwarna merah, tidak ditelan tapi diludahkan lalu mengunyah lagi hingga seterusnya. Dalam tradisi ini, orang Jawa zaman dulu jarang sekali sakit gigi karena daun sirih hijau mengandung banyak zat yang membuat gusi sehat dan gigi terlindungi dari plak gigi, kuman dan penggerusan gigi. Disamping itu rebusan daun sirih hijau juga dipercaya dapat mengobati keputihan, sariawan, bahkan menghilangkan bau mulut yang tidak sedap (Elshabrina, 2018).

6. Ekstraksi Daun Sirih Hijau Metode Maserasi

Ekstraksi daun sirih dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali

pengocokan dan pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini terus berulang hingga terjadi keseimbangan antara larutan di dalam dan di luar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, methanol atau pelarut lainnya. Cara ini digunakan terutama untuk mengekstraksi antioksidan. Pada cara ini ekstraksi antioksidan dilakukan dengan etanol karena etanol merupakan pelarut organik yang bersifat polar, universal dan mudah didapat sehingga diharapkan komponen antioksidan fenolik terekstrak sebanyak mungkin (Putri, 2014).

Proses maserasi dilakukan dengan satu bagian serbuk kering daun sirih dimasukkan ke dalam maserator, ditambah etanol 96%, direndam sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam. Maserat dipisahkan dan proses diulangi 2 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama, proses ini disebut remaserasi yaitu penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Rosita, 2012).

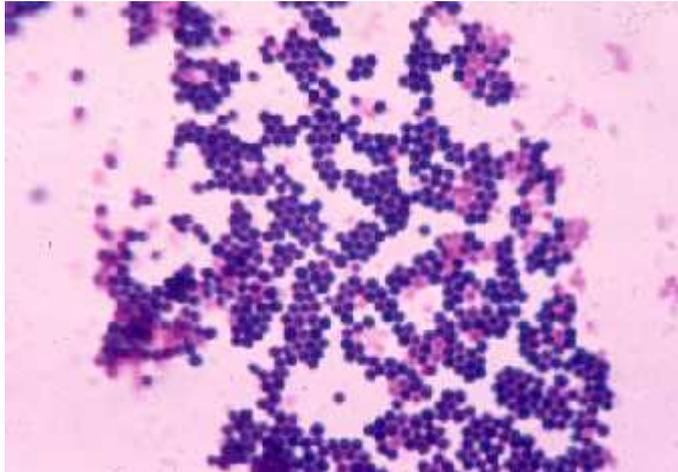
B. *Staphylococcus aureus*

1. Morfologi dan Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus berasal dari kata Yunani “*staphyle*” yang berarti bentuk menyerupai anggur dan “*coccus*” yang berarti bulat (Sulistiyaningsih, 2010). Bakteri *Staphylococcus* termasuk dalam family Micrococcaceae. Bakteri ini berbentuk bulat. Koloni mikroskopik cenderung berbentuk menyerupai buah anggur. Salah satu spesies menghasilkan pigmen berwarna kuning sehingga dinamakan *aureus* (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram-positif berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak dan tidak berspora (Radji, 2010).

Adapun klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Syahrurahman *et al.*, 2010).



Gambar 3. *Staphylococcus aureus* (Sabila, 2015)

2. Pertumbuhan dan Daya Tahan Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Todar, 2008). *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri yang memiliki daya tahan paling kuat. Pada agar miring, *Staphylococcus aureus* dapat tetap hidup berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun suhu kamar. Dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah, bakteri ini dapat tetap hidup selama 6-14 minggu (Radji, 2010).

3. Patogenisitas Bakteri

Staphylococcus aureus merupakan salah satu kuman patogen yang berbahaya. Sebagian bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan (Dewi, 2013). Keberadaan *Staphylococcus aureus* jarang menyebabkan

penyakit. Infeksi serius akan terjadi ketika kondisi inang melemah karena adanya perubahan hormon, adanya penyakit atau perlakuan tertentu (Ibrahim, 2017). *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkulosis. Infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia, mastitis, flebitis, dan meningitis dan juga infeksi pada saluran urin. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga menyebabkan infeksi kronis, seperti osteomilitis dan endokarditis serta merupakan penyebab utama infeksi nosokomial dan keracunan makanan (Radji, 2010).

C. Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu yang memiliki kemampuan (dalam konsentrasi rendah) untuk menghambat atau membunuh secara selektif, mikroorganisme lain (Anonim, 2013). Sylvia (2009) menyebutkan bahwa dalam penemuan dan perkembangan antibiotik selanjutnya, dibedakan antara antibiotik terhadap sel prokariotik (bakteri) dan antibiotik terhadap sel eukoariotik (fungi, protozoa, cacing).

Antibiotik dapat diklasifikasikan berdasarkan spektrum atau kisaran kerja, mekanisme aksi, strain penghasil, cara biosintesis maupun berdasarkan struktur biokimianya. Berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya antibiotik dapat dibedakan menjadi antibiotik berspektrum sempit

(*narrow spectrum*) dan antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*). Antibiotik berspektrum sempit hanya mampu menghambat segolongan jenis bakteri saja contohnya hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri Gram negatif saja atau Gram positif saja. Sedangkan antibiotik berspektrum luas dapat menghambat atau membunuh bakteri dan golongan Gram positif maupun Gram negatif (Sylvia, 2009).

Berdasarkan daya hancurnya, antibiotik dibedakan menjadi antibiotik bersifat bakterostatik dan bakteriosidal. Antibiotik bersifat bakterostatik adalah antibiotik yang bekerja dalam menghambat atau menekan pertumbuhan dan perkembangan suatu bakteri sedangkan antibiotik yang bersifat bakteriosidal adalah antibiotik yang merusak suatu bakteri atau bersifat destruktif (Utami, 2012).

Antibiotik telah terbukti bermanfaat bagi kehidupan manusia sejak awal ditemukan hingga saat ini. Namun, penggunaannya yang terus menerus meningkat dapat menimbulkan masalah dengan timbulnya galur bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik yang mengakibatkan pengobatan penyakit tidak lagi efisien (Utami, 2012). *Staphylococcus aureus* telah banyak resisten terhadap beberapa antibiotik antara lain golongan lactamase, metisilin, nafsilin, oksasilin dan vankomisin (Jawetz, *et al.*, 2013).

D. Uji Efektivitas Antimikroba

Pada uji ini diukur respons pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Adapun beberapa jenis metode uji efektivitas antimikroba diantaranya :

1. Metode Difusi

Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media. Metode *disc diffusion* dapat dilakukan dengan menggunakan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas Agar (Sylvia, 2009).

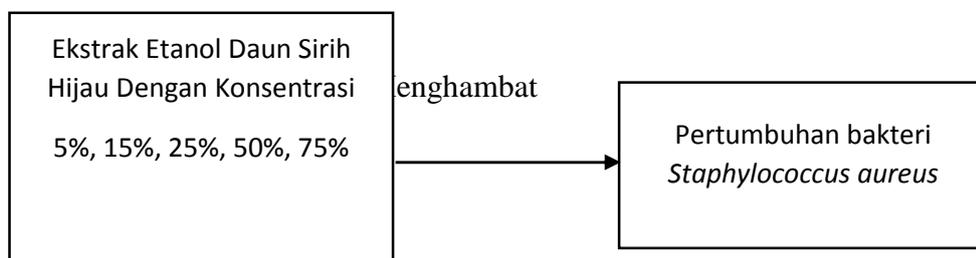
Pada metode silinder dilakukan dengan meletakkan beberapa silinder diatas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dan diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling silinder. Metode lubang dilakukan dengan membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian kemudian lubang diisi dengan bakteri yang akan diuji, lalu diinkubasi dan pertumbuhan bakteri diamati dengan melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. Metode cakram kertas dilakukan dengan meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas

media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram (Kusmiyanti & Agustini, 2007).

2. Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan atas metode dilusi cair dan metode dilusi padat. Pada metode dilusi cair dilakukan pengukuran MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau kadar hambat minimum (KHM) yang dilakukan dengan melakukan seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji, Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Sedangkan pada metode dilusi padat serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan dari metode dilusi padat adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Sylvia, 2009).

E. Kerangka Konsep



F. Hipotesis

Ekstrak daun sirih hijau dengan variasi konsentrasi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode penelitian True Eksperimental *Posttest-only Control group design*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Analisis Kesehatan dan Laboratorium Riset Terpadu Universitas Nusa Cendana pada bulan Februari-Maret 2019.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, 75%.

2. Variabel Terikat

Diameter zona hambatan yang terbentuk.

D. Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sirih hijau yang diperoleh dari Kota Soe Kabupaten Timor Tengah Selatan. Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus umum :

$$(t-1)(r-1) > 15$$

Dimana :

t = banyaknya perlakuan

r = jumlah replikasi/pengulangan

Karena ada 5 perlakuan, maka jumlah pengulangan/replikasi untuk tiap perlakuan dapat dihitung sebagai berikut :

$$(5-1)(r-1) > 15$$

$$(r-1) > 15/4$$

$$r > 3,75 + 1$$

$$r > 4,75$$

Jadi, jumlah pengulangan/replikasi untuk tiap kali perlakuan minimal 5 kali.

E. Definisi Operasional

Variabel	Defenisi Operasional	Skala	Hasil Pengukuran
----------	----------------------	-------	------------------

Zona hambatan	Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram pada media <i>Muller Hinton Agar</i>	Ratio	Diukur dalam satuan millimeter
Konsentrasi ekstrak daun sirih hijau	Ekstrak daun sirih yang dibuat dengan etanol 96% sebagai pelarut, dengan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, 75%. Dimana untuk konsentrasi 5% didapatkan dengan 50mg/ml atau 0,5 gr ekstrak dalam 10 ml etanol 96 %.	Ordinal	Jumlah ekstrak yang sesuai dengan berbagai konsentrasi (%)

F. Prosedur Penelitian

1. Penyiapan Bahan Baku dan Pembuatan Simplisia Daun Sirih

Bahan baku berupa daun sirih hijau yang telah dipilih sesuai kriteria sampel, dipetik langsung menggunakan tangan dan dilakukan pada pagi hari kemudian disimpan ditempat yang kering dan tertutup. Kemudian dilakukan sortasi basah dimana daun sirih dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih tersisa setelah sortasi awal. Selanjutnya daun sirih dikeringkan dengan oven suhu 40°C dan

dilakukan sortasi kering untuk membersihkan simplisia dari bahan yang rusak selama proses pengeringan.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau

a. Alat

Oven, toples kaca, *rotary evaporator*, *erlenmeyer*, spatula, kain flannel, batang pengaduk, gelas ukur, *waterbath*, corong kaca.

b. Bahan

Daun sirih, tisu, aquadest, etanol 96%, *aluminium foil*, kertas saring.

c. Langkah Kerja

Proses ekstraksi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dilakukan dengan metode maserasi. Pada metode maserasi ini menggunakan pelarut etanol 96%. Daun sirih hijau yang telah dilakukan sortasi basah kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C hingga kering, kemudian diremas dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk daun sirih kemudian diayak dengan ayakan 45 mesh. Serbuk daun sirih kemudian ditimbang sebanyak 500 gram direndam dalam 3,5 liter pelarut etanol 96% selama 5x24 jam dan hasil filtratnya dengan penyaringan. Maserasi dilakukan dengan pengadukan sebanyak 12 kali selama 15 menit. Setelah 5 hari ekstrak disaring kemudian diperas dengan kain flannel atau dengan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas, hasil penyaringan ditampung dalam wadah baru dan ditutup rapat. Sisa ampas kemudian diremaserasi dengan etanol selama 2

hari, sesekali diaduk. Setelah 2 hari, ekstrak disaring, hasil penyaringan dicampur dengan filtrate sebelumnya kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 55°C dan dipekatkan diatas *waterbath* dengan suhu 55°C , sehingga didapatkan ekstrak kental yang bebas dari pelarut untuk digunakan dalam pembuatan ekstrak daun sirih dengan variasi konsentrasi.

d. Pembuatan Stok Variasi Konsentrasi

Stok konsentrasi ekstrak daun sirih hijau divariasikan dengan menggunakan pelarut etanol 96% yaitu 5%, 15%, 25%, 50%, 75%. Kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 96% dan kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Amoksilin. Dimana, untuk konsentrasi 5% didapatkan dengan 50mg/ml atau 0,5 gr ekstrak dalam 10 ml etanol 96 %, konsentrasi 15% didapatkan dengan 150mg/ml atau 1,5 gr ekstrak dalam 10 ml etanol 96%, konsentrasi 25% didapatkan dengan 250mg/ml atau 2,5 gr dalam 10 ml etanol 96%, konsentrasi 50% didapatkan dengan 500mg/ml atau 5 gr etanol dalam 10 ml etanol 96%, dan konsentrasi 75% didapatkan dengan 750mg/mk atau 7,5 gr dalam 10 ml etanol 96%. Setelah itu masing-masing stok konsentrasi divortex.

3. Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini dicuci bersih terlebih dahulu, kemudian dikeringkan dan dibungkus dengan kertas

coklat lalu disterilisasi di dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Setelah disterilkan dengan *autoclave*, alat-alat tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 100°C selama 15 menit.

4. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

a. Alat

Erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, neraca analitik, batang pengaduk, bunsen, spuit 5 ml, hot plate, autoclave,

b. Bahan

Media NA, aquadest, kapas, *aluminium foil*.

c. Langkah Kerja

Serbuk NA ditimbang sebanyak 0,5 gram, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah aquadest sebanyak 25 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan batang pengaduk sampai homogen. Medium agar yang telah siap dimasukkan ke dalam 5 tabung reaksi masing-masing 5 ml, kemudian mulut tabung ditutup dengan kapas dan dimasukkan ke dalam plastik, kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1,5 atm. Media diletakkan dalam posisi miring hingga dingin dan media siap digunakan.

5. Pembuatan media *Muller Hinton Agar* (MHA)

a. Alat

Erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, neraca analitik, batang pengaduk, bunsen, spuit 5 ml, hot plate, autoclave.

b. Bahan

Media MHA, aquadest, kapas, *aluminium foil*.

c. Langkah Kerja

Serbuk MHA ditimbang sebanyak 11,4 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquadest sampai dengan 300 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen, dibungkus dengan kertas coklat dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1,5 atm. Media dituangkan ke cawan petri steril masing-masing 20 ml sebanyak 15 cawan petri lalu diamkan di suhu ruangan hingga dingin dan media siap dipakai.

6. Peremajaan Bakteri

a. Alat

Ose, tabung reaksi, rak tabung, bunsen, korek api, incubator.

b. Bahan

Media *Nutrient Agar* (NA) dan kapas.

c. Langkah Kerja

Biakan murni bakteri diremajakan pada media NA yang diletakkan dalam posisi miring dengan cara menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri dari biakan murni secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung didepan nyala api saat

menggoreskan jarum ose. Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

7. Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose kultur bakteri dari biakan murni bakteri uji tersebut disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% pada tabung reaksi steril. Kemudian suspensi bakteri dikocok hingga homogen sampai diperoleh kekeruhan standar 0,5 *Mc Farland*.

8. Uji efektivitas daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* :

- a. Cakram kosong steril dimasukkan ke ekstrak daun sirih hijau 5%, 15%, 25%, 50%, 75% dibiarkan 30 menit agar ekstrak daun sirih hijau terserap ke cakram.
- b. Ke dalam media MHA dioleskan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan *swab steril*, dan dibiarkan hingga 15 menit pada suhu ruangan.
- c. Cakram yang sudah dimasukkan ke dalam ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50%, 75% tersebut kemudian dipindahkan ke dalam media MHA yang telah dioles bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan pinset steril (setiap perlakuan yang menggunakan pinset selalu dipanaskan terlebih dahulu di atas api bunsen), dan diinkubasi selama 16-18 jam pada suhu 35°C.

- d. Setelah diinkubasi, diamati dan diukur diameter zona hambat menggunakan penggaris atau jangka sorong dalam satuan millimeter lalu dibandingkan dengan zona hambat pada kontrol.

G. Analisis Hasil

Analisis data dilakukan dengan :

1. Mengacu pada standar klasifikasi respon hambatan *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI) untuk Metode Difusi Disk.
2. Melihat konsentrasi yang paling bermakna dengan uji Non Parametrik *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan analisa *Mann Whitney*.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sifat antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan variasi konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50% dan 75% dengan etanol 96% sebagai pelarut, dimana cakram kosong direndam pada larutan ekstrak selama 30 menit, kemudian dilakukan uji daya hambat pada

media *Muller Hinton Agar* yang diinkubasi selama 15-18 jam pada suhu 35°C. Zona bening yang dihasilkan digunakan sebagai indikasi adanya hambatan oleh ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm).

Hasil pengukuran diameter zona bening kemudian disesuaikan dengan standar *Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI)* mengenai klasifikasi respon hambatan untuk metode difusi disk dan dianalisa dengan Uji Statistik Parametrik *One Way Anova* jika data terdistribusi secara normal.

Tabel 4.1 Klasifikasi Respon Hambatan Berdasarkan *Clinical and Laboratory Standart Institute (CLSI)* untuk Metode Difusi Dsk

No	Kode	Keterangan	Diameter Zona Hambat (mm)
1	+++	Sensitif	≥20
2	++	Intermediate	15-19
3	+	Resisten	≤14

Sumber: Paramita, *et al.*, (2016)

Menurut Dhiya dan Monika (2016), sensitivitas adalah suatu keadaan dimana mikroba sangat peka terhadap antibiotik/antimikroba atau kepekaan suatu antimikroba/antibiotik yang masih baik untuk memberikan daya hambat terhadap mikroba. Sementara intermediet adalah suatu keadaan dimana terjadi pergeseran dari keadaan sensitif ke keadaan yang resisten tetapi tidak resisten secara sepenuhnya sedangkan resisten adalah suatu keadaan dimana mikroorganisme sudah memiliki ketahanan terhadap suatu antimikroba atau antibiotik tertentu.

Penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol, metode maserasi dipilih karena dengan metode ini dapat mengekstraksi senyawa aktif dengan baik melalui perendaman tanpa pemanasan sehingga dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang labil dan tidak tahan panas.

Adanya sistem perendaman ini maka pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif yang terdapat dalam sel akan larut dalam pelarut (Nikmatul, *et al.*, 2016).

Penelitian ini menggunakan zona bening sebagai indikasi adanya hambatan pada koloni bakteri dimana semakin luas zona hambat/zona bening yang terbentuk mengindikasikan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih hijau semakin tinggi. Hasil pengukuran terhadap zona hambat yang terbentuk untuk setiap variasi konsentrasi dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Zona Hambat (mm)

Variasi Konsentrasi	Pengulangan					Rata-rata (mm)	Keterangan
	I	II	III	IV	V		
5%	0	0	0	0	0		Resisten
15%	10,1	10,2	10,1	10,3	10,2	10,1	Resisten
25%	12,7	12,2	12,5	12,3	12,8	12,5	Resisten
50%	15,3	15,1	15,4	15,6	15,5	15,3	Intermediate
75%	20,3	20,2	20,4	20,1	20,5	20,3	Sensitif
Kontrol Negatif	0	-	-	-	-		Resisten
Kontrol Positif	15,5	-	-	-	-		Intermediate

Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan bahwa kontrol negatif dan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau 5% tidak menunjukkan efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Zona bening/hambat mulai terbentuk dan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak pada konsentrasi 15%, 25%, 50%, 75% dan kontrol positif Amoksilin yang menunjukkan kemampuan antimikroba oleh ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran zona

hambat ini dihubungkan dengan klasifikasi zona hambat berdasarkan tabel 4.1 *CLSI* maka ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 75% dengan zona hambat sebesar 20,3 mm ini bersifat sensitif, konsentrasi 50% dan kontrol positif Amoksilin dengan zona hambat sebesar 15,3 mm dan 15,5 mm bersifat intermediate, sedangkan konsentrasi 5%, 15%, 25% dan kontrol negatif bersifat resisten.

Berdasarkan uji normalitas *Saphiro-wilk* yang dilakukan didapatkan distribusi data tidak normal dengan nilai $p < 0,05$ sehingga tidak dapat dilakukan pengujian dengan uji statistik Parametrik *One Way Anova*, sehingga digunakan Uji Non Parametrik *Kruskal Wallis*. Pada uji ini didapatkan nilai p (Asymp. Sig) = 0.000. Oleh karena nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak daun sirih hijau dengan variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan perbedaan bermakna daya antibakteri antara kelima kelompok perlakuan.

Setelah dilakukan pengujian dengan Uji Non Parametrik *Kruskal Wallis* selanjutnya dilakukan pengujian untuk melihat kebermaknaan antar setiap konsentrasi dengan analisa *Post Hoc* menggunakan uji *Mann Whitney*. Pada uji ini dilakukan perbandingan antara kelompok konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) 5%, 15%, 25%, 50% dan 75% . Hasil uji yang menunjukkan perbedaan bermakna yaitu pada perbandingan antara konsentrasi 5%, 15%, 25%, 50% terhadap konsentrasi 75% dengan nilai signifikan yaitu 0,009 atau $p < 0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi 75% memiliki perbedaan yang paling bermakna antar setiap konsentrasi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, yang ditandai dengan semakin meningkatnya konsentrasi zona hambat yang terbentuk pun semakin besar, hal ini bersesuaian dengan penelitian yang dilakukan oleh Anang (2007) yang membuktikan bahwa pengaruh konsentrasi ekstrak dimetilsulfoksida (DMSO) 10% dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10% menunjukkan diameter daya hambat masing-masing sebesar 21,14 mm, 28,28 mm, dan 29,28 mm memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan efektifitas kuat. Seila (2012) ekstrak etanol daun sirih hijau 10^6 ppm, $5 \cdot 10^6$ ppm, 10^7 ppm menghasilkan diameter daya hambat masing-masing sebesar 21,3 mm, 25,3 mm dan 27,3 mm memiliki pengaruh dengan efektifitas kuat juga terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perbedaan pelarut yang digunakan pun berpengaruh terhadap hasil zona hambat yang terbentuk, dengan pelarut Dimetilsulfoksida (DMSO) yang merupakan senyawa organosulfur, yang mampu melarutkan senyawa polar maupun non polar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air mampu menghasilkan zona hambat yang besar walau dalam konsentrasi rendah (Pratiwi, 2008). Pada penelitian ini dipilih etanol 96% sebagai pelarut dikarenakan etanol merupakan pelarut polar universal yang murah dan mudah didapatkan serta memiliki titik didih yang rendah yaitu 79°C sehingga membutuhkan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan.

Pelarut lainnya yang umumnya dapat digunakan seperti air yang memiliki konstanta dielektrik paling besar (paling polar) namun penggunaannya sebagai

pelarut pengekstrak jarang digunakan karena memiliki kelemahan seperti menyebabkan reaksi fermentatif atau mengakibatkan perusakan bahan aktif lebih cepat, pembengkakan sel dan larutannya mudah terkontaminasi (Hardiningtyas, 2009). Disamping penggunaan pelarut, tanah tempat daun sirih hijau bertumbuh juga mempengaruhi kualitas varietas daun sirih yang dihasilkan. Tanah gembur yang tidak terlalu lembab dengan air yang mencukupi yang akan menghasilkan daun sirih hijau dengan komponen kimiawi yang kompleks yang sangat membantu dalam aktivitas sebagai antimikroba (Endang dan Iswarin, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian ini, bakteri *Staphylococcus aureus* mampu dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang merupakan tanaman obat yang mengandung 4,2% minyak atsiri yang beberapa derivatnya terdiri dari *kavikol*, *kavibekol*, *eugenol*, *caryphyllen*, *estragol* dan *terpinen*. Senyawa tersebut merupakan turunan dari fenol yang memiliki sifat antibakteri lima kali lipat dari senyawa fenol biasa.

Kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak daun sirih hijau memiliki peranan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Seperti, *kavikol* bersifat sebagai desinfektan dan antijamur sehingga bisa digunakan sebagai antiseptik, *euganol* dan *methyl euganol* dapat digunakan untuk mengurangi sakit gigi. Serta kandungan seperti flavonoid yang merusak dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa dapat masuk ke dalam inti sel bakteri, saponin yang merupakan glikosida yang larut dalam air dan etanol yang bekerja dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan bakteri menjadi lisis

sedangkan tannin yang dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup dan pertumbuhannya menjadi terhambat (Sabir, 2005).

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) juga mengandung 30% fenol. Kehadiran fenol yang merupakan senyawa toksik berperan dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel, sehingga semua aktivitas metabolisme sel dikatalis oleh enzim yang merupakan suatu protein (Pelczar dan Chan, 1981 dalam Anang, 2007). Fenol juga merusak struktur tiga dimensi protein sehingga menyebabkan rantai polipeptida tidak dapat mempertahankan bentuk asalnya sehingga menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Dimana, bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif hanya terdiri dari beberapa lapisan peptidoglikan tanpa adanya tiga polimer pembungkus yang terletak diluar lapisan peptidoglikan yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida seperti yang dimiliki oleh bakteri *Eschericia coli* sehingga sel dari bakteri *Staphylococcus aureus* mudah terdenaturasi oleh *bethe phenol* yang terkandung dalam ekstrak daun sirih. Deret asam amino protein tersebut tetap utuh setelah denaturasi, namun aktivitas biologisnya menjadi rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya. Aquadest steril sebagai kontrol negatif tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan Amoksilin sebagai antibiotika berspektrum luas digunakan sebagai kontrol positif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan memperlambat sintesis dinding sel bakteri.

Penelitian ini dengan jelas membuktikan bahwa daun sirih hijau yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Kota Soe untuk mengobati infeksi akibat bakteri *Staphylococcus aureus* seperti bisul, mengatasi keputihan dan menghentikan mimisan memiliki kandungan kimia fenol dan beberapa derivatnya yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) juga memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa bakteri lainnya. Nidya, *et al.*, (2017) menyatakan uji efektifitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan menurut Mahfuzul (2011) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau memiliki efektifitas sebagai antimikroba terhadap bakteri *Vibrio cholera* dan *Shigella dysentriae* serta Zenda (2010) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau juga memiliki efektifitas antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan variasi konsentrasi 5%, 15% dan 25% tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat sebesar 0 mm, 10,1 mm dan 12,5 mm yang dikategorikan resisten sedangkan konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 15,3 mm yang dikategorikan intermediate dan konsentrasi 75% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 20,3 mm yang dikategorikan sensitif.
2. Konsentrasi optimal ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 75% dengan zona hambat yang terbentuk sebesar 20,3 mm.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan penggunaan pelarut Dimetilsulfoksida atau methanol sehingga didapatkan hasil yang lebih optimal dengan konsentrasi yang lebih rendah.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode silinder serta menggunakan jenis bakteri lain maupun varietas daun sirih lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, G., Eriawati, dan Zuraidah., 2015, Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper sp.*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*, Volume 1, ISBN 978-602-18962-5-9.
- Afifurahman., Samadin, K.H, dan Aziz, S., (2014). Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, (4), 266-270.
- Anang, H., 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Hijau (*piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan Metode Difusi Disk, Jurnal Biologi Sumatera (Sumatran Journal of Biology) Volume 3, ISSN 1907-5537.
- Anonim, 2013, *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, Diterjemahkan oleh July, Manurung., Syarief Riviani Winny., Simanjuntak, Jojor., 2nd, Volume 1, EGC, Jakarta.
- Dewi, A.K., 2013, Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas staphylococcus aureus terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Sain Veteriner*, 31(2), 138-150.
- Dhiya, L., dan Monika A., 2016, Uji Sentitivitas Antibiotik, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Malang, 2(1), 192-195.
- Endang, K.A.M, dan Iswarin, S.J., 2016, *Botani Farmasi*. 1st Ed,4-8 , Kanisius, Yogyakarta.
- Elshabarina., 2018. *33 Daun Dahsyat Tumpas Berbagai Macam Penyakit*. 2nd Ed, 65-70, C-Klik Media. Yogyakarta.
- Elvina., 2015, *Pembuatan Simplisia Daun Sirih*, <http://id.scribd.com/simplisia-daun-sirih/-syc-203451>, (17 Januari 2018).
- Fitri, G., 2018, *Tanaman Ajaib*, 32-34, Pustaka Makmur, Jakarta.
- Hamid P.S., 2013, *Kitab Ramuan Tradisional dan Herbal Nusantara*. 3rd Ed, 148-152 , Laksana, Jakarta.
- Hardiningtyas, S.D., 2009, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcaphyton sp* yang Difragmentasi dan tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, *Skripsi*. FMIPA, Institut Pertanian Bogor.

- Jawetz., Melnick, dan Adelberg., 2013, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 25, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Ibrahim, J., 2017. (2017), Tingkat cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam yang dijual di pasar tradisional makassar, *Skripsi*, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Kusmiyanti dan Agustini, N, S., 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga. *Biodiversitas*, 8 (1), 48-53.
- Mahziful, H., Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau Terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogen *Vibrio cholera* dan *Shigella dysenteriae* di Makanan, *Jurnal Kesehatan*. Vol. 28, 2(11), 58-63.
- Mita, S dan Afrilla, P., 2011, Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Secara In Vitro, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Mona, N.T., 2010, Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Topikal terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel Luka Bakar Derajat II A Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar, *Jurnal Kesehatan*, Vol. 23, Universitas Brawijaya, Bogor.
- Nidya, J.P., Woodford, B.S, dan Rahayu H.A., 2017. Efektivitas Daun Sirih Hijau Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli*, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Nikmatul, H., Aisyah, K.H, Ahmad, S, dan Dewi, S., 2016, Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*, *Journal of Creativity Student*, Universitas Negeri Semarang, ISSN 2502-1958.
- Ninin, H., 2016, Uji Aktivitas Metanol Klika Anak Dara (*Croton oblongus burn* F.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Jakarta.
- Paramita, N.L.P.V., Yadnya, A.G, Yustiantara, S, dan Wirasuta, M.A.G., 2016, *Detection of antibacterial Compound Of Piper Betle L Purified Extract Against Propionibacterium Acnes By Bioautography*, Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali.
- Pelczar, Michael, J, dan Chan, E.C.S., 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II*, UI Press, Jakarta.

- Putri, D.A., 2014, *Pengaruh Metode Ekstraksi dan Konsentrasi Terhadap Aktivitas Jahe Merah Sebagai Antibakteri Eschericia coli*. Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Bengkulu, Bengkulu.
- Pratiwi., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta.
- Radji, M., 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*, EGC, Jakarta.
- Rika, P, R., 2014, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Mangga (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Rosita, H., 2012, Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Sirih Hijau, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Rosman, R dan S. Suhirman., 2006, *Sirih Tanama Obat Yang Perlu Mendapat Sentuhan Teknologi Budaya*. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri.
- Sabila, A.P., (2015). Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Kejadian Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Pada Bayi Baru Lahir, 8-19.
- Sabir, A., 2005, Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigono* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro), *Majalah Kedokteran Gigi*, 38 (3), 135.
- Seila, I., 2012, Efek Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter , Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Sulistyaningsih, 2010, Uji Kepekaan beberapa sediaan antiseptik Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* resistensi metisilin (MRSA), *Tesis*, Universitas Padjajaran, Bandung.
- Syarurachman, A., Chatim, A. dan Kurniawati A., 2010, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Sylvia, T.P., 2009, *Mikrobiologi Farmasi*, 1st Ed, 173-180. Erlangga, Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G., 1994. *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

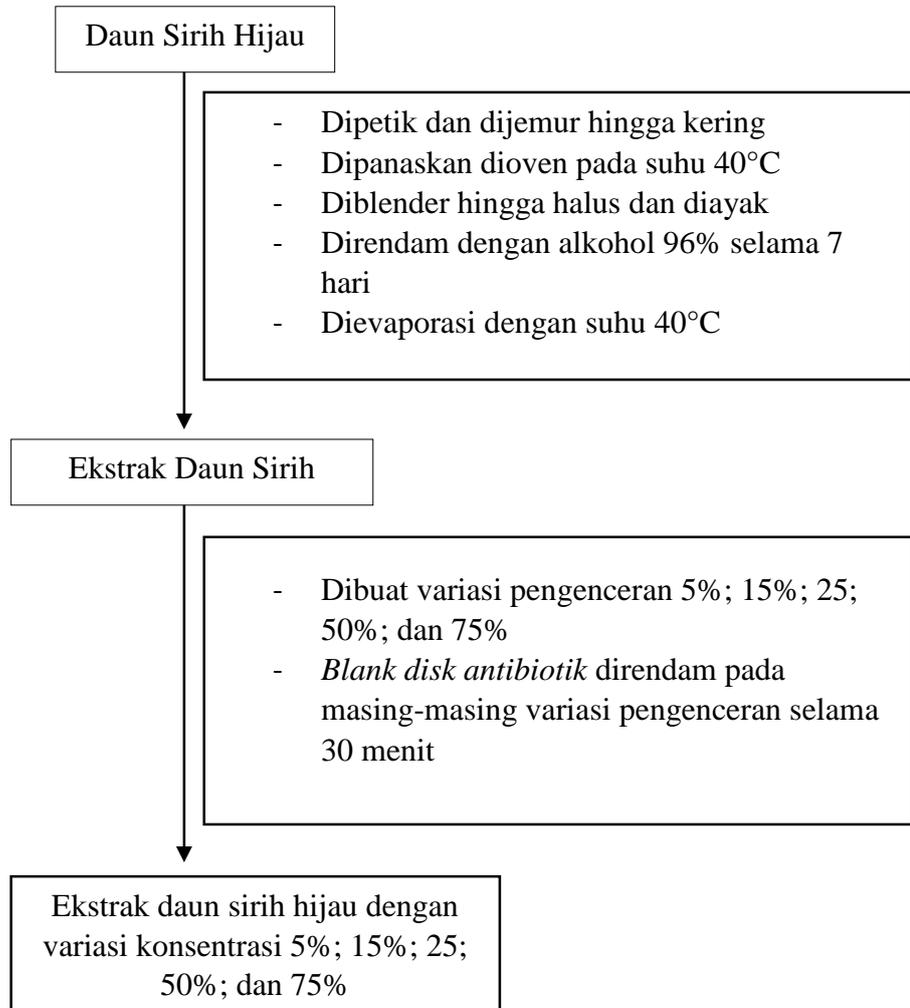
Todar, S (2008). *Staphylococcus aureus* yang dilihat dari Mikroskop Elektron. Sumber Todar, 2008.

Utami, P., 2012, *Antibiotik Alami untuk Mengatasi Aneka Penyakit*, AgroMedia Pustaka, Jakarta.

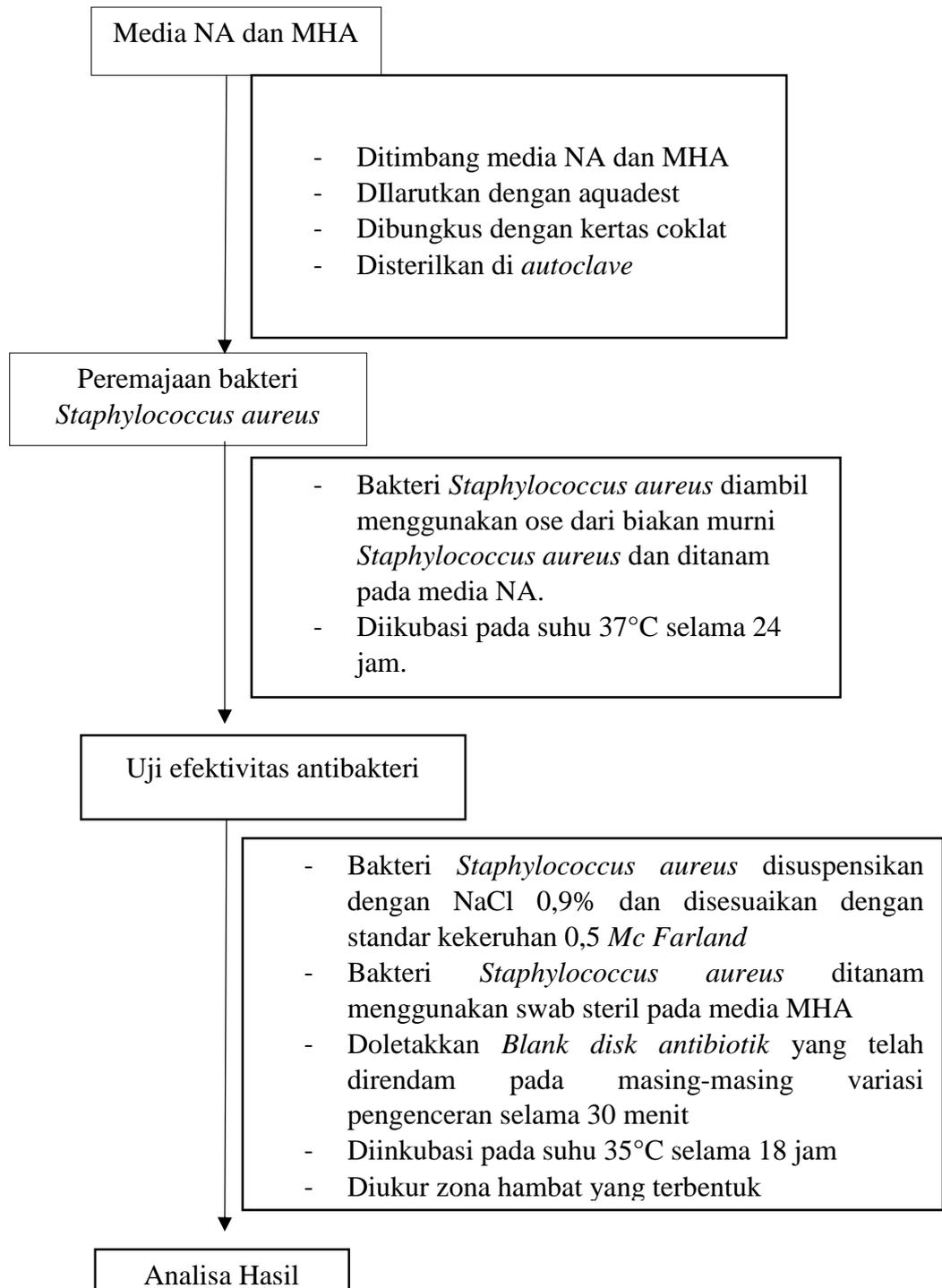
Zenda, F. P., 2010, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Ekstraksi Daun Sirih Hijau



Lampiran 2. Skema Kerja Uji Efektivitas Antibakteri



Lampiran 3. Klasifikasi Respon Hambatan berdasarkan CLSI

Example:

Interpretive Category	Breakpoints ^a	
	MIC (µg/ml.)	Zone Diameter (mm)
Susceptible	≤4	≥20
Susceptible-Dose Dependent	8-16	15-19
Intermediate	8-16	15-19
Resistant	≥32	≤14
Non-susceptible	>4	<20

^a Formerly "interpretive criteria."

Susceptible, susceptible-dose dependent, intermediate, resistant, or non-susceptible interpretations are reported and defined as follows:

- **Susceptible (S)** – a category defined by a breakpoint that implies that isolates with an MIC at or below or zone diameters at or above the susceptible breakpoint are inhibited by the usually achievable concentrations of antimicrobial agent when the dosage recommended to treat the site of infection is used, resulting in likely clinical efficacy.
- **Susceptible-Dose Dependent (SDD)** – a category defined by a breakpoint that implies that susceptibility of an isolate is dependent on the dosing regimen that is used in the patient. In order to achieve levels that are likely to be clinically effective against isolates for which the susceptibility testing results (either minimal inhibitory concentrations [MICs] or zone diameters) are in the SDD category, it is necessary to use a dosing regimen (i.e., higher doses, more frequent doses, or both) that results in higher drug exposure than the dose that was used to establish the susceptible breakpoint. Consideration should be given to the maximum approved dosage regimen, because higher exposure gives the highest probability of adequate coverage of an SDD isolate. The drug label should be consulted for recommended doses and adjustment for organ function. NOTE: The concept of SDD has been included within the intermediate category definition for antimicrobial agents. However, this is often overlooked or not understood by clinicians and microbiologists when an intermediate result is reported. The SDD category may be assigned when doses well above those used to calculate the susceptible breakpoint are approved and used clinically, and where sufficient data to justify the designation exist and have been reviewed. When the intermediate category is used, its definition remains unchanged. See Appendix F for additional information.
- **Intermediate (I)** – a category defined by a breakpoint that includes isolates with MICs or zone diameters within the intermediate range, that approach usually attainable blood and tissue levels and for which response rates may be lower than for susceptible isolates; NOTE: The intermediate category implies clinical efficacy in body sites where the drugs are physiologically concentrated

or when a higher than normal dosage of a drug can be used. This category also includes a buffer zone, which should prevent small, uncontrolled, technical factors from causing major discrepancies in interpretations, especially for drugs with narrow pharmacotoxicity margins.

- **Resistant (R)** – a category defined by a breakpoint that implies that isolates with an MIC at or above or zone diameters at or below the resistant breakpoint are not inhibited by the usually achievable concentrations of the agent with normal dosage schedules and/or that demonstrate MICs that fall in the range in which specific microbial resistance mechanisms are likely, and clinical efficacy of the agent against the isolate has not been reliably shown in treatment studies.
- **Non-susceptible (NS)** – a category used for isolates for which only a susceptible breakpoint is designated because of the absence or rare occurrence of resistant strains. Isolates for which the antimicrobial agent MICs are above or zone diameters below the value indicated for the susceptible breakpoint should be reported as non-susceptible; NOTE 1: An isolate that is interpreted as non-susceptible does not necessarily mean that the isolate has a resistance mechanism. It is possible that isolates with MICs above the susceptible breakpoint that lack resistance mechanisms may be encountered within the wild-type distribution subsequent to the time the susceptible-only breakpoint was set; NOTE 2: The term "non-susceptible" should not be used when describing an organism/drug category with intermediate and resistant interpretive categories. Isolates that are in the categories of "intermediate" or "resistant" could be called "not susceptible" rather than "non-susceptible."

Example of Breakpoints and Interpretive Categories As Used in Table 2.

Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Category and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)			Interpretive Category and MIC Breakpoints (µg/ml.)		
		S	I ^a	R	S	I ^a	R
X	30 µg	≥20	15-19	≤14	≤4	8-16	≥32
Y	-	-	-	-	≤1	2	≥4
Z	10 µg	≥16	-	-	≤1	-	-

^a or SDD, if appropriate

	Hasil
Chi-Square	33.177
df	6
Asymp. Sig.	.000

Lampiran 4. Hasil Uji Non Parametrik Kruskal Wallis

Lampiran 5. Uji Non Parametrik Mann-Whitney antara kelompok konsentrasi ekstrak daun sirih hijau

No	Kelompok Konsentrasi	P (Asymp.Sig)
1	5% - 15%	0.005
	25%	0.005
	50%	0.005
	75%	0.009
2	15%-25%	0.009
	50%	0.009
	75%	0.009
3	25% - 50%	0.009
	75%	0.009
4	50% - 75 %	0.009

Lampiran 6. Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KUPANG

Direktorat: Jln. Piet A. Tallo Liliba - Kupang, Telp.: (0380) 8800256;
Fax (0380) 8800256; Email: poltekkeskupang@yahoo.com



SURAT KETERANGAN MELAKUKAN PENELITIAN

NOMOR : UM 01-05/12/107/2019

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Agustina W.Djuma, S.Pd.,M.Sc.
NIP : 197308011993032001
Pangkat/Gol : Penata Tk.I/III d
Jabatan : Ketua Program Studi Analis Kesehatan

Dengan ini menyatakan bahwa :

Nama : Loisa Ratna Yuvita Olla
NIM : PO. 530333316075
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)
Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Akan melaksanakan penelitian (Pemeriksaan Sampel) di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang.

Demikian Surat Keterangan ini kami buat, untuk dipergunakan sebagaimana mesitinya.

Kupang, April 2019
Ketua Prodi Analis Kesehatan

Agustina W.Djuma, S.Pd.,M.Sc
NIP. 197308011993032001



**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KUPANG**

Direktorat: Jln. Piet A. Tallo Liliba - Kupang, Telp.: (0380) 8800256;
Fax (0380) 8800256; Email: poltekkeskupang@yahoo.com



SURAT KETERANGAN

NOMOR : 400.01/05/107/2019

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Kuntum Ekawati Nurdin, S.ST
NIP : 19860910214022002
Pangkat/Gol : Penata Muda Tk. I/IIIb
Jabatan : Penanggung Jawab Laboratorium Prodi Analisis Kesehatan

Dengan ini menyatakan bahwa :

Nama : Loisa Ratna Yuvita Olla
NIM : PO. 530333316075
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Telah melaksanakan penelitian pemeriksaan sampel dan diperoleh hasil pemeriksaan yang terlampir dalam surat ini.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Ketua Prodi Analisis Kesehatan

Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc
NIP. 197308011993032001

Kupang, 06 Mei 2019
Penanggung Jawab Laboratorium

Kuntum Ekawati Nurdin, S.ST
NIP. 198609102014022002

Lampiran Surat Keterangan

Nama : Loisa Ratna Yuvita Olla

NIM : PO. 530333316075

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap
Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Variasi Konsentrasi	Pengulangan					Keterangan
	I	II	III	IV	V	
5%	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0mm	Resisten
10,1 15%	10,1 mm	10,2mm	10,1mm	10,3mm	10,2mm	Resisten
25%	12,7mm	12,2mm	12,5mm	12,3mm	12,8mm	Resisten
50%	15,3mm	15,1mm	15,4mm	15,6mm	15,5mm	Intermediate
75%	20,3mm	20,2mm	20,4mm	20,1mm	20,5mm	Sensitif
Kontrol Negatif	0 mm	-	-	-	-	Resisten
Kontrol Positif	15,5 mm	-	-	-	-	Intermediate

Kupang, 06 Mei 2019

Penanggung Jawab Laboratorium



Kuntum Ekawati Nurdin, S.ST
NIP.198609102014022002

Lampiran 8. Surat selesai pembuatan ekstrak



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
UPT LABORATORIUM RISET TERPADU
Jl. Adisucipto Penfui, Kupang – NTT 85001, NTT Telp. 0380 881580, Fax
0380 881674 Website: <http://www.Undana.ac.id>

Kupang 13 Maret 2019

Nomor : 08 /UN.15 L1/TU/2019
Lampiran : -
Hal : Surat Selesai Pembuatan Ekstrak

Melalui Surat ini, Saya selaku Kepala UPT Laboratorium Riset Terpadu menerangkan bahwa ,

Nama : Loisa Ratna Yuvita Olla

Nim : PO.530333316.075

Universitas/ Jurusan : Politeknik Kesehatan / Analis kesehatan

Judul penelitian : Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*)
Terhadap Pertumbuhan Bakteri *staphylococcus aureus*

Telah Selesai Melakukan Pembuatan Ekstrak Pada Tanggal 11 Maret 2019 – 13 Maret 2019
Pada Divisi lab material. Demikian Surat keterangan ini di buat untuk di pergunakan
sebagaimana mestinya.

Kupang, 13 Maret 2019
Kepala UPT Laboratorium Riset Terpadu

Prof. Herlanus J. D. Lalel, M.Si., Ph.D
NIP. 19640620 198901 1 001

Lampiran 9. Dokumentasi



Gambar 1. Pengolahan awal Daun Sirih Hijau



Gambar 2. Proses Maserasi Daun Sirih Hijau dengan Etanol 96%



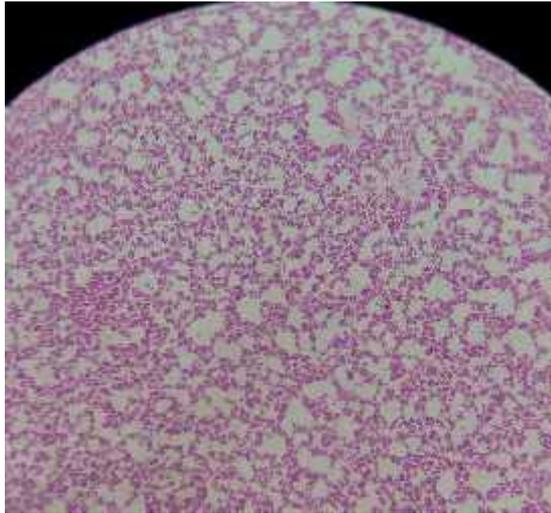
Gambar 3. Evaporasi dan Ekstrak Kental Daun Sirih Hijau



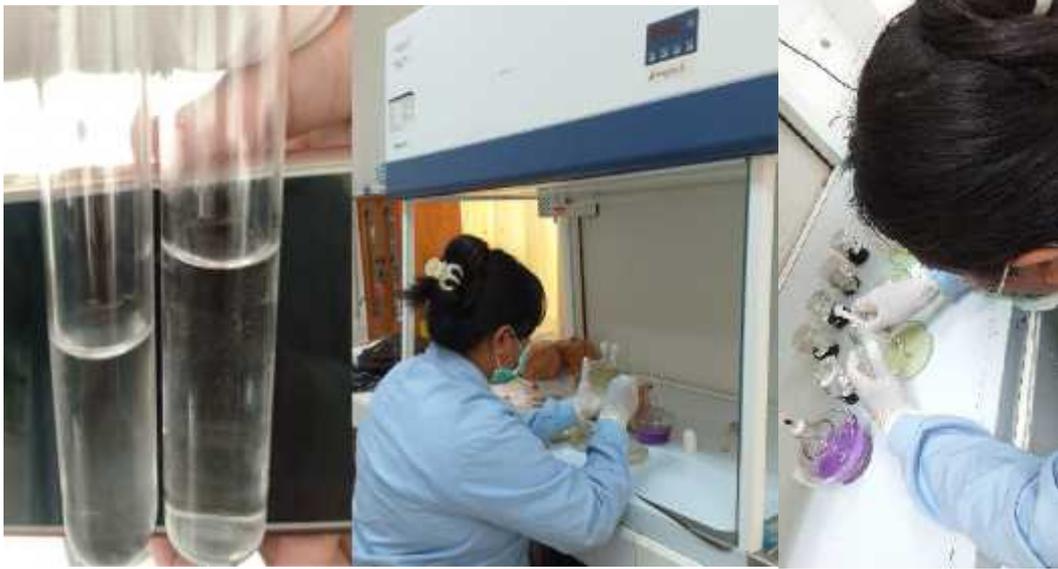
Gambar 4. Pengenceran Larutan Ekstrak dengan Variasi Konsentrasi



Gambar 5. Pembuatan Media Agar



Gambar 6. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

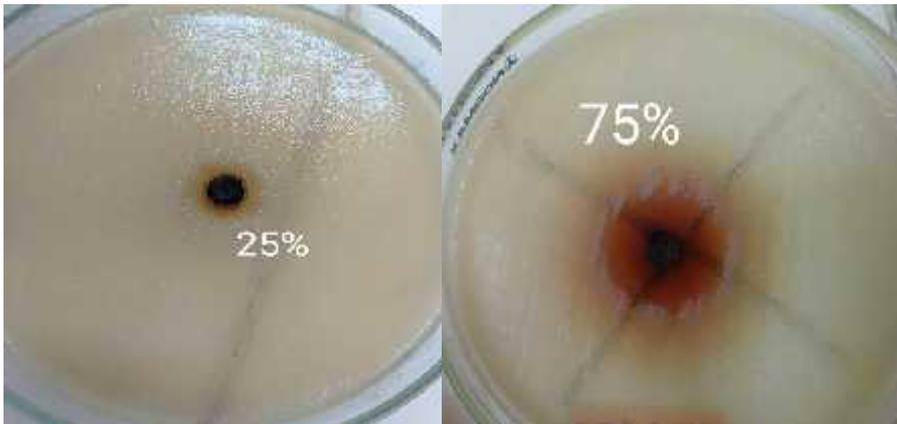


Gambar 7. Uji Daya Hambat

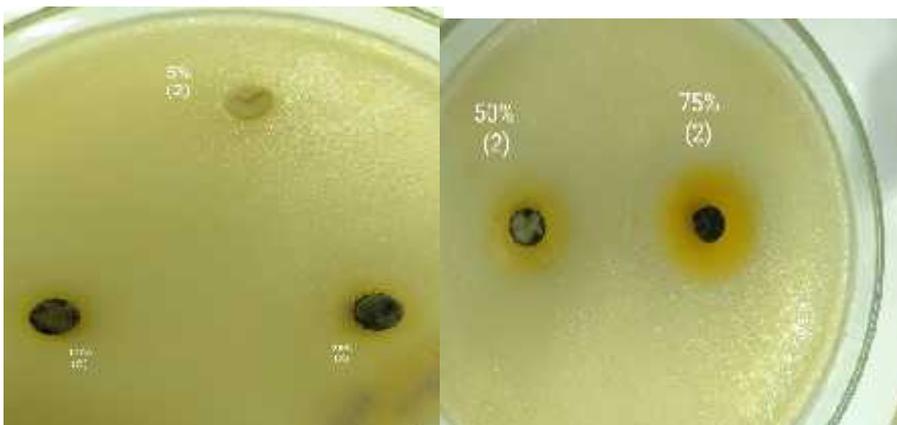


Gambar 8. Hasil Uji Daya Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

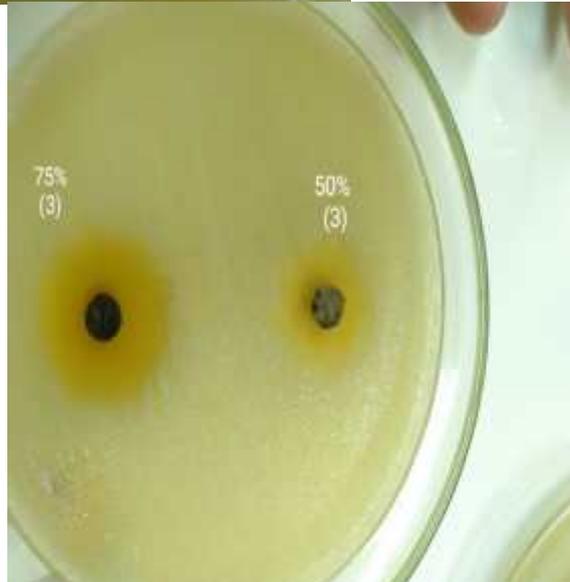
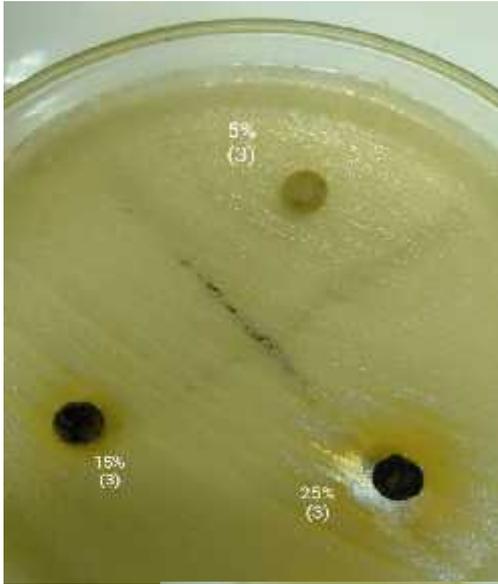




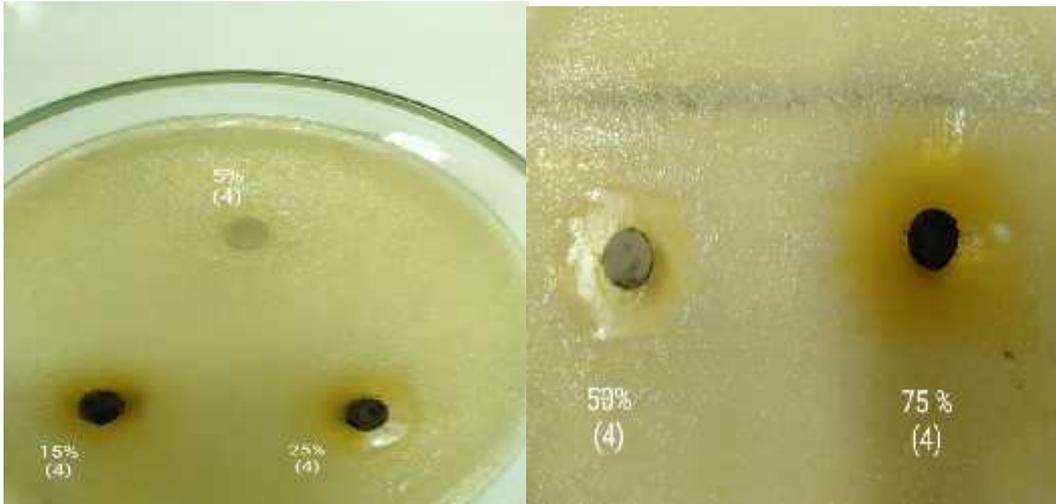
Gambar 9. Hasil Zona Hambat yang terbentuk oleh setiap konsentrasi pada pengulangan I



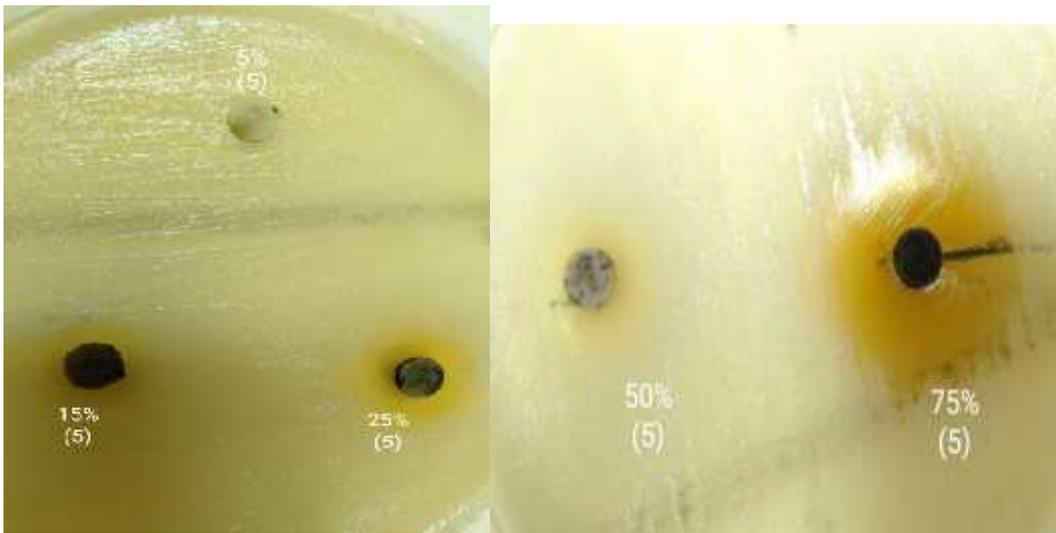
Gambar 10. Hasil Zona Hambat yang terbentuk oleh setiap konsentrasi pada pengulangan II



Gambar 11. Hasil Zona Hambat yang terbentuk oleh setiap konsentrasi pada pengulangan III



Gambar 12. Hasil Zona Hambat yang terbentuk oleh setiap konsentrasi pada pengulangan IV



Gambar 13. Hasil Zona Hambat yang terbentuk oleh setiap konsentrasi pada pengulangan V



Gambar 14. Pengukuran Zona Hambat yang terbentuk pada media uji dengan jangka sorong