

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**NUNGKI ERVIA AGUSTINA JAYADI  
1813206022**

**PROGRAM PENDIDIKAN S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**NUNGKI ERVIA AGUSTINA JAYADI  
1813206022**

**PROGRAM PENDIDIKAN S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi  
(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi  
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

**NUNGKI ERVIA AGUSTINA JAYADI  
1813206022**

**PROGRAM PENDIDIKAN S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Yang diajukan Oleh :

**NUNGKI ERVIA AGUSTINA JAYADI**


1813206022

Tanggal : 02 November 2022

Telah Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

  
Apt. Choirul Huda, M.Fram

NIDN. 07 260385 02

  
Fatimah, M. Biotech

NIDN. 07 181290 02

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DAUN SIRIH  
MERAH (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

NUNGKI ERVIA AGUSTINA JAYADI

1813206022

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji  
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal: 02 November 2022

Ketua Penguji : apt. Choirul Huda, M.Farm

(.....)

Anggota penguji : 1. Fatimah, M.Biotech

(.....)

2. Afidatul Muadifah, S.Si.,M.Si

(.....)

3. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm

(.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

  
apt. Arif Santosa, M.Farm

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam penulisan skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan sebelumnya untuk memperoleh gelar sarjana di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis diacu dalam naskah ini dan dicantumkan di dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 02 November 2022

Penyusun,

Nungky Ervia Agustina Jayadi



## KATA PENGANTAR



Dengan kerendahan hati, penulis panjatkan puji serta syukur kehadirat Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul : “Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah ( *Piper Crocatum Ruiz & Pav* ) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara *In Vitro* ATCC 25923” tepat pada waktunya.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, motivasi dan doa sehingga skripsi penelitian ini dapat selesai. Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada:

1. Bapak Apt. Arif Santoso, M.Farm., selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung
2. Ibu Apt. Dara Pranindya Tilarso, M.Farm., selaku Kaprodi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa perkuliahan.
3. Bapak Apt. Choirul Huda, M.Farm., selaku pembimbing I yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan proposal ini.
4. Ibu Fatimah, M. Biotech selaku pembimbing II yang telah mendidik dan memberikan bimbingan selama masa penyusunan proposal ini.
5. Kepada (alm) Bapak dan Ibu tercinta yang telah membuat penulis hingga sampai dalam tahap ini, terimakasih atas doa, kasih sayang, kesabaran serta cinta kasih yang tulus membuat motivasi tersendiri, begitu juga baik dukungan moral maupun materi sehingga, penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian ini.
6. Kepada teman-teman dari grup ugi (Shella, Siti, Lulul, Nurisma dan Diana) yang selalu memberi dukungan dan membantu dalam memberikan semangat dukungan dan saran selama masa penyusunan proposal ini.

7. Kepada teman-teman departemen bahan alam yang sudah membantu dan memberikan dukungan dalam penyusunan skripsi ini. Serta teman-teman angkatan 2018 yang sudah berjuang bersama selama 4 tahun ini dan selalu memberikan dukungan satu sama lain.
8. Kepada pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan yang telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk perbaikan skripsi ini sangat diharapkan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi penulis dan pembaca.

Tulungagung, 02 November 2022

Penulis

Nungki Ervia Agustina Jayadi



**Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara *In Vitro***

**Nungky Ervia Agustina Jayadi**  
**Program Studi S1 Farmasi**

**INTISARI**

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Pengobatan untuk penyakit infeksi secara efektif dapat menggunakan antibiotik namun sekitar 40%-60% antibiotik digunakan secara tidak tepat. Pemakaian antibiotik tidak rasional menyebabkan resistensi antibiotik. Atas dasar hal tersebut maka perlu dikembangkan penggunaan bahan-bahan alam sebagai alternatif dalam mengobati penyakit infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah fraksi daun sirih merah memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan konsentrasi fraksi yang optimum dalam hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daun Sirih Merah diekstraksi dengan metode maserasi memakai etanol 70% berikutnya fraksinasi memakai pelarut Aquadest, diklorometana, dan n-Heksana. Skrining fitokimia ekstrak daun Sirih Merah terhadap kandungan flavonoid, alkaloid, dan saponin. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi paper disc dengan kontrol positif kloramfenikol serta dengan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil skrining fitokimia ekstrak positif ada senyawa flavonoid, Tanin, dan saponin. Fraksi *aquadestilata*, n-heksana, dan diklorometana daun sirih merah mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. jika dilihat dari zona hambat yang terbentuk, konsentrasi optimum yaitu pada fraksi N-heksan konsentrasi 45% dilihat dari hasil uji *post-hoc* aktivitas antibakteri N-heksan 45% adalah yang paling mendekati kontrol positif.

**Kata Kunci :** antibakteri, fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *in vitro*

**Antibacterial Activity Test of Red Betel Leaf Fraction (*Piper crocatum* Ruiz  
& Pav) Against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 In Vitro**

**Nungky Ervia Agustina Jayadi**  
**Program Studi S1 Farmasi**

**ABSTRACT**

Infectious diseases are one of the most important health problems in developing countries, including Indonesia. Treatment for infectious diseases can effectively use antibiotics. According to data from the Indonesian Minister of Health in 2011 around 40%-60% of antibiotics were used inappropriately. Irrational use of antibiotics causes antibiotic resistance. Based on this, it is necessary to develop the use of natural materials as an alternative to treating infectious diseases. This study aims to determine whether the red betel leaf fraction has an antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* bacteria and the optimum concentration of the fraction in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. Red betel leaf was extracted by maceration method using 70% ethanol followed by fractionation using Aqua dest solvent, dichloromethane, and n-Hexane. Phytochemical screening of Red Betel leaf extract for the content of flavonoids, alkaloids, and saponins. The antibacterial activity was tested using the paper disc diffusion method with positive control of chloramphenicol and negative control of 10% DMSO. The results of the phytochemical screening of the extract were positive for flavonoid compounds, tannins, and saponins. The aquadestilata, n-hexane, and dichloromethane fractions of red betel leaf have antibacterial activity against the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro. The optimum concentration in the Red Betel Leaf Fraction could not be determined because the results of statistical data analysis did not show significant results.

**Keywords :** antibacterial, red betel leaf fraction, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, in vitro

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
INTISARI.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Klasifikasi Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> ).....	4
2.2 Morfologi.....	5
2.3 Manfaat Daun Sirih Merah.....	5
2.4 Senyawa Dalam Daun Sirih Merah .....	6
2.4.1 Flavonoid .....	6
2.4.2 Saponin.....	6

2.4.3	Tanin .....	7
2.5	Simplisia.....	7
2.5.1	Simplisia Nabati .....	8
2.5.2	Simplisia Hewani .....	8
2.5.3	Simplisia Pelican (Mineral).....	9
2.5.4	Penyiapan Simplisia .....	9
2.6	Ekstraksi .....	11
2.6.1	Ekstraksi Cara Panas .....	11
2.6.2	Ekstraksi Cara Dingin .....	12
2.7	Fraksinasi.....	13
2.8	Pelarut.....	14
2.8.1	Aquadest.....	14
2.8.2	N-heksana.....	15
2.8.3	Diklorometana.....	15
2.8.4	Etanol .....	15
2.9	Bakteri .....	16
2.10	Bakteri Staphylococcus aureus .....	17
2.11	Antibakteri.....	18
2.12	Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	19
2.13	Obat Golongan Antibiotik / Kontrol Positif .....	21
2.14	Hipotesis.....	23
<b>BAB III METODELOGI PENELITIAN .....</b>		<b>24</b>
3.1	Bahan.....	24
3.2	Alat .....	24
3.3	Populasi Penelitian .....	24

3.4	Sampel Penelitian .....	24
3.5	Identifikasi Variabel .....	25
3.5.1	Variabel Bebas .....	25
3.5.2	Variabel Terikat .....	25
3.5.3	Variabel Kontrol.....	25
3.6	Determinasi Tanaman.....	25
3.7	Pembuatan Simplisia .....	25
3.8	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	26
3.8.1	Uji Kadar Air.....	26
3.8.2	Uji Susut Pengeringan.....	26
3.8.3	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah .....	26
3.8.4	Rendemen Ekstrak .....	27
3.8.5	Uji Bebas Etanol .....	27
3.8.6	Skrining Fitokimia .....	27
3.9	Fraksinasi.....	28
3.10	Uji Aktivitas Antibakteri .....	28
3.10.1	Sterilisasi Alat dan Bahan .....	28
3.10.2	Pembuatan Media.....	28
3.10.3	Pembuatan Larutan Uji .....	29
3.10.4	Peremajaan Bakteri .....	29
3.10.5	Identifikasi Bakteri <i>S.aureus</i> .....	30
3.10.6	Uji Pewarnaan Gram.....	30
3.10.7	Pembuatan Suspensi Bakteri .....	30
3.10.8	Uji Aktivitas Antibakteri.....	30
3.11	Analisis Data .....	31

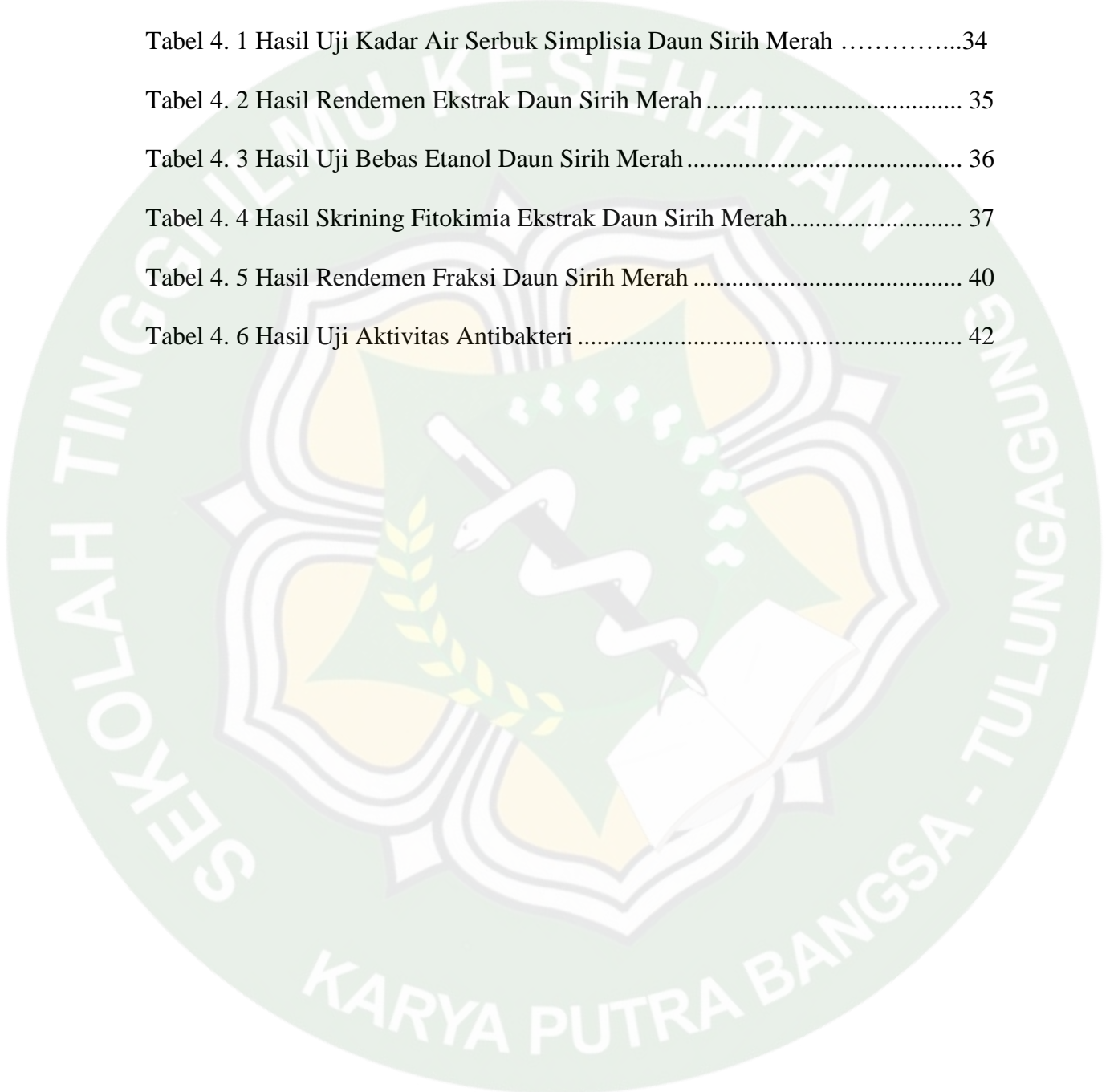
3.11.1	Uji Normalitas Data .....	31
3.11.2	Uji Homogenitas .....	31
3.11.3	Uji Kruskal-Wallis .....	31
3.11.4	Uji Mann-Withney .....	32
3.12	Rancangan Penelitian Penelitian .....	33
BAB IV PEMBAHASAN.....		34
4.1	Determinasi Tanaman.....	34
4.2	Ekstraksi Daun Sirih Merah .....	35
4.2	Uji Bebas Etanol.....	36
4.3	Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah.....	37
4.3.1	Uji Flavonoid .....	37
4.3.2	Uji Saponin .....	38
4.3.3	Uji Tanin .....	38
4.4	Fraksinasi Daun Sirih Merah.....	39
4.5	Uji Pewarnaan Gram .....	40
4.6	Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum Ruiz &amp; Pav</i> ) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	41
BAB V PENUTUP.....		47
5.1	Simpulan.....	47
5.2	Saran .....	47
DAFTAR PUSTAKA .....		47
LAMPIRAN.....		58

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Hal</b>
Gambar 2. 1 Sirih Merah .....	4
Gambar 2. 2 Staphylococcus aureus .....	17
Gambar 3. 1 Skema Penelitian .....	33
Gambar 4. 1 Uji Flavonoid Ekstrak Daun Sirih Merah .....	38
Gambar 4. 2 Uji Saponin Ekstrak Daun Sirih Merah .....	38
Gambar 4. 3 Uji Tanin Ekstrak Daun Sirih Merah .....	39
Gambar 4. 4 Hasil Uji Pewarnaan Gram.....	40
Gambar 4. 5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus ATCC 25923 .....	41
Gambar 4. 6 Gafik Uji Aktivitas Antibakteri.....	42

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Hal</b>
Tabel 2. 1 Klasifikasi Zona Hambat Bakteri.....	21
Tabel 4. 1 Hasil Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sirih Merah .....	34
Tabel 4. 2 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Sirih Merah.....	35
Tabel 4. 3 Hasil Uji Bebas Etanol Daun Sirih Merah.....	36
Tabel 4. 4 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah.....	37
Tabel 4. 5 Hasil Rendemen Fraksi Daun Sirih Merah .....	40
Tabel 4. 6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri .....	42





## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Hal</b>
Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman Sirih Merah .....	58
Lampiran 2 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri.....	59
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian .....	60
Lampiran 4 Perhitungan Bahan.....	63
Lampiran 5 Perhitungan Pembuatan Larutan Uji.....	64
Lampiran 6 Perhitungan Hasil .....	64
Lampiran 7 Hasil analisis data fraksi daun sirih merah terhadap bakteri Staphylococcus aureus .....	67

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia (Mutsaqof *et al.*, 2016). Mikroorganisme penyebab terjadinya penyakit infeksi antara lain adalah parasit, virus, dan bakteri. Bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) disebut sebagai penyebab tersering munculnya infeksi nosokomial, yaitu infeksi yang diperoleh pasien setelah masuk rumah sakit (Dewa *et al.*, 2019). *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan mastitis subklinis maupun mastitis kronis, sehingga kejadian mastitis sering dihubungkan dengan infeksi *Staphylococcus aureus* (Hayati *et al.*, 2019). Penyakit infeksi salah satunya yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diobati secara efektif dengan antibiotik. Efek utama antibiotik terbagi menjadi dua yaitu bakteristatik sebagai penghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisidal untuk membunuh bakteri (Purnamaningsih *et al.*, 2015).

Pemberian antibiotika merupakan pengobatan utama dalam penatalaksanaan penyakit infeksi. Namun sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat (Menkes RI, 2011). Pemakaian antibiotika tidak rasional menyebabkan resistensi antibiotika (Negara, 2014). Atas dasar hal tersebut maka perlu dikembangkan penggunaan bahan-bahan alam sebagai alternatif dalam mengobati penyakit infeksi. Tumbuhan diketahui memiliki efek samping kecil dan sangat potensial dalam mengobati penyakit infeksi (Siwi, 2016).

Pengobatan dengan memanfaatkan senyawa-senyawa pada suatu tanaman adalah salah satu alternatif dan juga merupakan warisan nenek moyang yang sudah ada sejak dulu yang dilakukan dengan cara yang sederhana. Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat (Puspa *et al.*, 2018). Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman obat potensial yang diketahui secara empiris memiliki efek antibakteri. Efek antibakteri daun sirih merah disebabkan adanya beberapa senyawa seperti fenol yang bekerja mengubah sifat protein sel bakteri sehingga permeabilitas

dinding sel bakteri meningkat dan bakteri menjadi lisis, flavonoid mengganggu integritas membrane sel bakteri, dan alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Ma'rifah, 2012).

Namun pengobatan berbasis bukti atau dikenal dengan evidence-based medicine (EBM) mengenai pemanfaatan sirih merah masih sedikit. Hal ini disebabkan sirih merah belum lama dikenal masyarakat luas sehingga informasi ilmiah mengenai tanaman ini terbatas (Candrasari *et al.*, 2011). Bagian dari tanaman sirih merah yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daunnya (Pasril & Aditya, 2014). Berdasarkan skrinning fitokimia yang dilakukan oleh Utomo *et al.* (2020) membuktikan bahwa daun sirih merah mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, minyak atsiri, alkaloid, tanin, dan triterpenoid. Penelitian terdahulu oleh Nabila *et al.* (2021) menunjukkan bahwa konsentrasi yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60%.

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan uji terkait aktivitas antibakteri dengan metode fraksinasi. Pelarut yang digunakan pada metode fraksinasi adalah pelarut etanol *aquadestilata* bertindak sebagai pelarut polar, diklorometana bertindak sebagai pelarut semi polar, dan N-heksana bertindak sebagai pelarut non polar dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*).

## **1.2 Rumusan Masalah**

- 1.2.1 Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum*) pada seri konsentrasi 30%, 45% dan 60% terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1 Mengetahui apakah fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi optimum fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### 1.4.1 Bagi Peneliti

Menerapkan dan memanfaatkan ilmu yang diperoleh selama masa Pendidikan sarjana, serta menambah ilmu pengetahuan tentang aktivitas antibakteri daun sirih merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

##### 1.4.2 Bagi Instansi

Diharapkan dengan adanya publikasi tentang penelitian ini dapat memajukan Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung, serta bisa menjadi acuan penelitian yang akan datang oleh mahasiswa Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

##### 1.4.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai tanaman sirih merah memiliki aktivitas antibakteri. Dan dapat dikembangkan sebagai antibacterial alami untuk infeksi di kulit, pernafasan dan tempat lain

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Klasifikasi Sirih Merah (*Piper crocatum*)**

Kedudukan tanaman sirih merah dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut (Juliantina *et al.*, 2017):

Kingdom : *Plantae*  
Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Order : *Piperales*  
Family : *Piperaceae*  
Genus : *Piper*  
Species : *Piper crocatum* Ruiz & Pav



**Gambar 2. 1** Sirih Merah (Dokumentasi pribadi)

## 2.2 Morfologi

Tumbuhan merambat atau menjalar, panjangnya dapat mencapai sekitar 5 - 10m, batang bulat, hijau merah keunguan, beruas dengan panjang ruas 3-8 cm, pada setiap buku tumbuh satu daun. Daun tunggal, kaku, duduk daun berseling, bentuk daun menjantung - membulat telur - melonjong, permukaan helaian daun bagian atas rata - agak cembung, mengkilat, permukaan helaian daun bagian bawah mencekung dengan pertulangan daun yang menonjol, panjang daun 6,1 - 14,6 cm, lebar daun 4 - 9,4 cm, warna dasar daun hijau pada kedua permukaannya, bagian atas hijau dengan garis-garis merah jambu kemerahan, permukaan bagian bawah hijau merah tua keunguan. Tangkai daun hijau merah keunguan, panjang 2,1 - 6,2 cm, pangkal tangkai daun pada helaian daun agak ketengah sekitar 0,7 - 1cm dari tepi daun bagian bawah (Widiyastuti *et al.*, 2013). Karakter morfologi daun sirih merah dengan nama ilmiah *P. crocatum* adalah mempunyai bentuk daun yang cukup bervariasi antara daun muda (fase muda) dan daun pada cabang yang akan menghasilkan alat reproduksi (fase dewasa). Saat muda umumnya mempunyai bentuk daun menjantung-membulat telur dan pada fase dewasa (siap menghasilkan alat reproduksi) terjadi perubahan bentuk daun dari membulat telur – melonjong (Parfati and Windono, 2017).

## 2.3 Manfaat Daun Sirih Merah

Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) adalah salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat alternatif (Puspa *et al.*, 2018). Oleh masyarakat, sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sering dimanfaatkan untuk mengobati diabetes melitus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, jantung koroner, kanker rahim, kanker payudara, ambeien, obat sakit gigi, sariawan, bau badan, penyakit kelamin, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi, memperhalus kulit, radang pada telinga, obat batuk, radang pada paru, radang pada tenggorok, radang pada gusi, radang pada payudara, hidung berdarah, dan batuk darah (Pratiwi and Suswati, 2012).

## **2.4 Senyawa Dalam Daun Sirih Merah**

### **2.4.1 Flavonoid**

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak didolasi dari tanaman karena manfaatnya sebagai antioksidan, antimikroba dan antikanker (S. R. Dewi et al., 2018). Sebagai antibakteri flavonoid membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Juliantina *et al.*, 2017). Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, di antaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri (Manik *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid sendiri mempunyai sifat kelarutan dua bentuk yaitu larut dalam pelarut polar dan pelarut non polar (Arifin and Ibrahim, 2018). Terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga dalam larutan amil alkohol pada pengujian fitokimia menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (Moerfiah and Supomo, 2011). Kadar flavonoid menurun pada suhu 80°C karena titik didih flavonoid mendekati suhu 80°C dan kemungkinan kecil ada flavonoid yang menguap (Wahyusi *et al.*, 2020).

### **2.4.2 Saponin**

Mekanisme dari saponin sebagai senyawa antibakteri dengan bekerja sebagai antimikroba karena senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri dan menimbulkan kematian sel bakteri (Ernawati and Sari, 2015). Saponin memberikan efek anti mikroba dengan membentuk kompleks polisakarida pada dinding sel. Interaksi saponin dengan dinding sel akan menyebabkan rusaknya dinding dan membran sel hingga akhirnya bakterilisis. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Madduluri *et al.*, 2013).

### 2.4.3 Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman (Hidayah, 2016). Tanin merupakan senyawa makromolekul dari golongan polifenol yang bersifat polar sehingga larut dalam pelarut polar (Romadanu *et al.*, 2014). 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 (Hidayah, 2016). Tanin dengan garam besi memberikan reaksi warna hijau dan biru kehitamanyang digunakan untuk menguji klasifikasi tanin. Uji ini kurang baik, karena selain tanin yang dapat memberikan reaksi warna, zat-zat lain juga dapat memberikan warna yang sama. Tanin akan terurai menjadi *pyrogallol*, *pyrocatechol* dan *phloroglucinol* bila dipanaskan sampai suhu 210° F - 215° F (98,89° C -101,67° C) (Mabruroh, 2015).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik. (Juliantina *et al.*, 2017).

### 2.5 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1995). Simplisia dibagi menjadi 3 golongan yaitu : simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican (mineral) (Rizqa, 2012).



### **2.5.1 Simplisia Nabati**

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya ataupun zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan, 2004) . Jenis-jenis simplisia nabati yang telah banyak diteliti, baik untuk dijadikan bahan baku obat modern dalam bentuk kapsul atau tablet dan untuk obat-obatan tradisional seperti jamu, dalam pemanfaatannya dibedakan menjadi lima katagori, yaitu (Utami *et al.* 2013):

#### **2.5.1.1 Simplisia rimpang atau empon-empon.**

Bagian yang dimanfaatkan sebagai obat adalah akar rimpang atau umbinya. Sebagai contoh adalah dari jenis jahe-jahean seperti : jahe, kencur, lengkuas, kunyit, lempuyang, temulawak, temu putih dan lain-lain.

#### **2.5.1.2 Simplisia akar**

Bagian yang dimanfaatkan sebagai obat adalah akarnya. Sebagai contoh akar alangalang, akar wangi, gandapura.

#### **2.5.1.3 Simplisia biji**

Bagian yang dimanfaatkan sebagai obat adalah bijinya. Sebagai contoh adalah biji kapulaga, jintan, mrica, kedawung, kecipir (botor), senggani dan lain-lain.

#### **2.5.1.4 Simplisia daun**

Bagian yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daunnya. Sebagai contoh adalah daun kumis kucing, daun tabat barito, daun kemuning, daun keji beling, daun alpokat dan lain-lain.

#### **2.5.1.5 Simplisia batang**

Bagian yang dimanfaatkan sebagai obat adalah batangnya. Sebagai contoh adalah cendana, pule, pasak bumi dan lain-lain.

### **2.5.2 Simplisia Hewani**

Simplisia hewani adalah simplisia yang bisa berupa hewan utuh atau zat-zat berguna dari hewan yang belum diubah menjadi bahan kimia murni misalnya, minyak ikan dan madu (Evifania *et al.* 2020).

### **2.5.3 Simplisia Pelican (Mineral)**

Simplisia pelican dan mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelican atau mineral yang diolah dengan sederhana yang belum berupa bahan kimia murni contohnya, serbuk seng dan serbuk tembaga (Evifania *et al.*, 2020).

### **2.5.4 Penyiapan Simplisia**

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan seperti berikut (Wahyuni *et al.*, 2014):

#### **2.5.4.1 Pengumpulan**

Daun yang dipilih yang telah membuka sempurna dan terletak di bagian cabang atau batang yang menerima sinar matahari sempurna. Menjaga tingkat kebersihan daun yang dipanen merupakan syarat mutlak yang harus dilakukan. Pemanenan sebaiknya dilakukan pada pagi atau sore hari. Penting untuk memastikan tidak ada embun pada daun sebelum panen, terutama di pagi hari, agar daun tidak cepat membusuk selama proses transportasi.

#### **2.5.4.2 Sortasi Basah**

Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari tumbuhan sebelum pencucian dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, sehingga didapatkan herba yang layak untuk digunakan. Dalam satu kali pencucian sayur mayur dapat menghilangkan lebih kurang 25% jumlah mikroba awal. Pencucian sebanyak tiga kali, mikroba tertinggal 47% dari jumlah awal (Parfati *et al.*, 2018).

#### **2.5.4.3 Pencucian**

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada tumbuhan. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari tumbuhan tersebut. Pencucian dilakukan sebanyak 3 kali.

#### **2.5.4.4 Perajangan**

Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum dirajang tumbuhan dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin

perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

#### **2.5.4.5 Pengeringan**

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan bahan. Suhu pengeringan bergantung pada simplisia dan cara pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan antara suhu 30° - 90° C (terbaik umumnya 60°). Jika simplisia mengandung bahan aktif tidak tahan panas atau mudah menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30° - 45° C atau dengan cara pengeringan vakum. Pengeringan daun kelor efektif dilakukan pada ruangan tertutup dengan suhu 30° - 35° C selama 3 hari hingga mencapai kadar air kurang dari 10%. Sementara itu bagian dalam biji kelor (kernel kelor) efektif dikeringkan dalam ruangan tertutup dengan suhu maksimal 40°C.

#### **2.5.4.6 Sortasi Kering**

Sortasi setelah pengeringan merupakan tahapan akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi adalah untuk memisahkan benda asing, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih ada atau tertinggal pada simplisia kering. Proses ini sebaiknya dilakukan sebelum pengemasan simplisia.

#### **2.5.4.7 Pengepakan dan Penyimpanan**

Selama penyimpanan ada kemungkinan terjadi kerusakan pada simplisia. Oleh karena itu, dipilih wadah yang bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan bahan yang dikemas. Hal ini bertujuan agar tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa, dan sebagainya pada simplisia. Simplisia disimpan di tempat-tempat yang memiliki suhu kamar (15° C- 30° C) tergantung pada sifat dan ketahanan simplisia. Simplisia yang tidak tahan panas dikemas dalam wadah yang melindungi simplisia terhadap cahaya. Bahan kemas yang dapat digunakan antara lain aluminium foil, plastik atau botol yang berwarna gelap, kaleng dan sebagainya.

## **2.6 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah metode pemisahan komponen dari suatu campuran menggunakan suatu pelarut yang bertujuan untuk menarik zat aktif dalam sampel. Pelarut yang digunakan didasarkan pada kemampuan melarutkan zat aktif dalam jumlah yang maksimum, sehingga terbentuklah ekstrak (hasil ekstraksi yang mengandung berbagai komponen kimia). Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara dingin. ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan maserasi (Susanty and Bachmid, 2016).

### **2.6.1 Ekstraksi Cara Panas**

#### **2.6.1.1 Refluks**

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Sholikin and Nurhidayatus, 2016).

#### **2.6.1.2 Soxhlet**

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Sholikin & Nurhidayatus, 2016).

#### **2.6.1.3 Infus**

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur 96-98°C selama waktu tertentu (Sholikin and Nurhidayatus, 2016).

#### **2.6.1.4 Digesti**

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Sholikin and Nurhidayatus, 2016).

#### **2.6.1.5 Dekok**

Dekok adalah infuse pada waktu yang lebih lama (23°C) dan temperature sampai titik didih air (Sholikin and Nurhidayatus, 2016).

#### **2.6.1.6 Destilasi Uap**

Destilasi uap merupakan suatu metode isolasi zat organik yang tidak larut dalam air dengan mengalirkan uap air dengan prinsip penurunan titik didih campuran. Destilasi uap digunakan untuk memisahkan campuran senyawa yang memiliki titik didih mencapai 200°C atau lebih (Asfiah and Supaya, 2020)

### **2.6.2 Ekstraksi Cara Dingin**

#### **2.6.2.1 Maserasi.**

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace* berarti mengairi dan melunakan (Utami *et al.*, 2013). Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam suatu wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar (Badaring *et al.*, 2020)

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan. ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh (Chairunnisa *et al.*, 2019). Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang (Lady and Handoyo, 2020). Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan. diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut Semakin besar

perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi. akan semakin banyak hasil yang diperoleh (M. Utami *et al.*, 2013).

Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu kamar (Puspitasari and Proyogo, 2017). Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memerlukan banyak waktu (Putra *et al.*, 2020). Selain itu pada metode maserasi ini memerlukan pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa dapat hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja akan sulit diekstraksi pada suhu kamar (Badaring *et al.*, 2020).

#### **2.6.2.2 Perkolasi**

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Sholikin and Nurhidayatus, 2016).

### **2.7 Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi ini menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula (Akhsanita, 2012). Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Hasanah, 2019).

Teknik pemisahan ekstrak cairan ini biasanya dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Kedua pelarut yang tidak saling bercampur tersebut

dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan Solut atau senyawa organik akan terdistribusi ke dalam fasanya masing masing bergantung kepada kelarutannya terhadap fase tersebut dan kemudian akan terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pips corang pisah (Dalimunthe *et al.*, 2016).

Pemakaian pelarut pada fraksinasi bertingkat diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar (Harnis, 2019). Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa yang sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Hardiningtyas *et al.*, 2020). Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (Mukhriani, 2014).

## **2.8 Pelarut**

Pelarut adalah zat yang digunakan untuk melarutkan zat lain sebagai media (Ramdani *et al.*, 2017). Kandungan senyawa yang terdapat di dalam tanaman dapat ditarik oleh suatu pelarut saat proses ekstraksi. roses ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol. butanol dan au Senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti eter, kloroform dan n-heksana (Putra *et al.*, 2020).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi., laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan dickstraksi, kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dan potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Hasanah, 2019).

### **2.8.1 Aquadest**

Aquadest adalah air hasil destilasi atau penyulingan yang sama dengan air murni atau  $H_2O$ , karena  $H_2O$  hampir tidak mengandung mineral (Bernad, 2019). Aquadest bersifat netral (pH=7) dalam keadaan murni. Aquadest tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau. Aquadest bersifat polar karena adanya perbedaan

muatan. Aquadest merupakan pelarut yang baik karena kepolarannya, konstanta dielektrik yang tinggi dan ukurannya yang kecil, terutama untuk senyawa ionik dan garam yang polar. Sifat aquadest yang bersifat polar dapat melarutkan senyawa tanin dan flavonoid (Wong, 2018).

### **2.8.2 N-heksana**

N-heksana adalah pelarut non-polar yang bersifat stabil dan mudah menguap, selektif melarutkan dan mengekstrak pewangi dalam jumlah besar (Dwi *et al.* 2018). N-heksana memiliki rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Komposisi dan fraksinya dipengaruhi oleh sumber minyak. Umumnya berkisar 50% dari berat rantai isomer dan mendidih pada 60-70°C. Seluruh isomer heksana dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang bersifat inert karena non-polarnya. Banyak dipakai untuk ekstraksi minyak dari biji, misalnya kacang-kacangan dan flax. Rentang kondisi distilasi yang sempit, maka tidak perlu panas dan energi tinggi untuk proses ekstraksi minyak (Kurniawan, 2021).

### **2.8.3 Diklorometana**

Diklorometana (DCM) atau metilena klorida adalah senyawa organik dengan rumus kimia  $CH_2Cl_2$ . Senyawa ini merupakan senyawa berbentuk cair, tak berwarna, beraroma manis dan memiliki titik didih pada suhu 40 °C yang banyak digunakan sebagai pelarut. Diklorometana tidak larut sempurna dengan air, tapi dapat larut dengan pelarut organik lainnya (Nafis, 2016).

### **2.8.4 Etanol**

Etanol merupakan alkohol rantai tunggal dengan rumus kimia ( $C_2H_5OH$ ). Etanol adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari (Bahri *et al.*, 2016). Etanol merupakan senyawa organik yang tersusun dari unsur-unsur karbon, hydrogen dan oksigen. Etanol memiliki titik didih yang lebih tinggi dibandingkan dengan methanol dan lebih rendah dibandingkan dengan alkohol-alkohol lainnya (Wardani and Pertiwi, 2013). Etanol yang bersifat semi polar dapat melarutkan senyawa-senyawa yang polar maupun non-polar seperti tanin, flavonoid, fenol dan minyak atsiri (Wong, 2018). Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena (Sa'adah and Nurhasnawati, 2017):



1. Lebih efektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas.
2. Tidak beracun, netral, absorpsinya baik
3. Etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan
4. Panas yang diperlakukan untuk pemekatan lebih sedikit
5. Etanol dapat melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, anraquinon, flavanoid, steroid, dammar dan klorofil. Lemak, malam tanin dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas.

Sedangkan kerugiannya adalah etanol mahal harganya (Sa'adah and Nurhasnawati, 2017).

## **2.9 Bakteri**

Bakteri merupakan salah satu golongan mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang hidup berkoloni dan tidak mempunyai selubung inti namun mampu hidup dimana saja (Holderman et al., 2017). Jika dikaji dari struktur selnya (kandungan dinding sel), maka bakteri dikelompokkan ke dalam tumbuhan. Jika dikaji dari kemampuan beberapa sel bakteri yang bergerak pindah tempat, maka bakteri dikelompokkan ke dalam hewan. (Boleng, 2017).

### **2.9.1 Penggolongan Bakteri**

Bakteri merupakan salah satu golongan mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang hidup berkoloni dan tidak mempunyai selubung inti namun mampu hidup dimana saja. Menurut klasifikasinya bakteri dibagi menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Boleng, 2017). Pada pewarnaan Gram, golongan bakteri gram positif akan memberikan warna ungu karena memiliki lapisan peptidoglikan setebal 20-80nm sedangkan Bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis yaitu 5-10 nm sehingga berwarna agak merah (Holderman *et al.*, 2017). Berdasarkan dari kebutuhan terhadap oksigen, bakteri dapat digolongkan menjadi (Holderman et al., 2017):

1. Bakteri aerob, yaitu bakteri yang dalam pertumbuhannya memerlukan adanya oksigen.

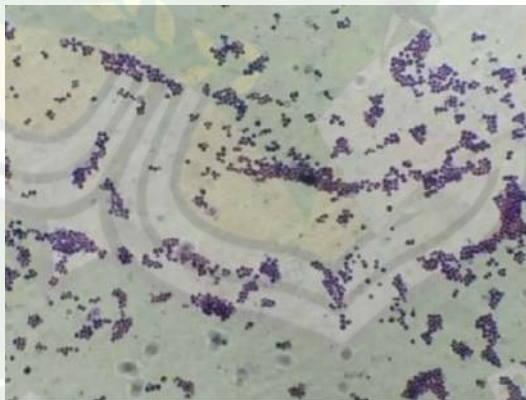
2. Bakteri anaerob fakultatif, yaitu bakteri yang dapat tumbuh, apabila terdapat oksigen maupun tanpa adanya oksigen.
3. Bakteri anaerob aerotoleran, yaitu bakteri yang tidak mati dengan adanya oksigen.
4. Bakteri anaerob mutlak, yaitu bakteri yang hidup bila tidak ada oksigen.
5. Bakteri mikroaerofilik, yaitu bakteri yang kebutuhan oksigennya rendah.

## 2.10 Bakteri *Staphylococcus aureus*

### 2.10.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Inayatullah, 2012) :

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: <i>Micrococceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



**Gambar 2. 2** *Staphylococcus aureus* (Hayati et al., 2019)

### 2.10.2 Morfologi

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mikron, bergerombol menyerupai untaian anggur, Gram positif, non motil, tidak membentuk spora, beberapa strain yang langsung diambil dari

penderita membentuk semacam kapsul, koloni berwarna kuning emas, hemolisis pada blood agar, dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi NaCl hingga 15% (pada media MSA berwarna kuning) (Hayati *et al.*, 2019). *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46°C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. *Staphylococcus aureus* pada media Mannitol Salt Agar (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning (Soleqah, 2016).

## **2.11 Antibakteri**

### **2.11.1 Pengertian Antibakteri**

Antibakteri adalah suatu senyawa yang digunakan untuk mengambat bakteri. Antibakteri biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder (Septiani *et al.*, 2017). Berdasarkan cara kerjanya terhadap bakteri, antibakteri dapat digolongkan menjadi dua, yaitu (Rachmawaty, 2016) :

#### **1. Bakterisidal**

Efek ini membunuh sel bakteri tetapi tidak menyebabkan sel lisis atau pecah. Hal ini ditunjukkan dengan ditambahkannya antimikrobia pada kultur mikrobial yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah sel total tetap, namun jumlah sel hidup berkurang 2 ayam

#### **2. Bakteriostalik**

Efek ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak membunuhnya, efek ini menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom Hal ini ditunjukkan dengan ditambahkannya antimikrobia pada kultur mikrobial yang masih berada pada fase logaritmik, didapatkan bahwa jumlah sel total maupun jumlah sel hidup masih tetap.

### **2.11.2 Mekanisme Kerja Antibakteri**

#### **1. Menghambat Sintesis Dinding Sel**

Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. Oleh karena itu, zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan

dinding sel sehingga dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel, yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut (Kurniawan *et al.*, 2019).

## 2. Merusak Membran Sel

Membran plasma bersifat semipermeable dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam dan keluar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang (barrier) osmosis dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membrane (Yasjudani, 2017).

## 3. Mengganggu Aktivitas Biosintesis Asam Nukleat

DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent dan RNA Polymerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri (Rachmawaty, 2016).

## 4. Menghambat Sintesis Protein

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yakni transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi (sintesis protein yang ARN dependent). Antibakteri yang dapat menghambat salah satu dari proses tersebut dapat menghambat sintesis protein. Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom (Rachmawaty, 2016).

### 2.12 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan suatu metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri (Utomo *et al.*, 2018). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu sebagai berikut (Prayoga, 2013):

### **2.12.1 Metode Difusi**

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan cara yaitu (Prayoga, 2013):

#### **1.12.1.1 Cara Cakram (Disc)**

Metode difusi cakram merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antibakteri terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (paper disk) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji (Ariyani *et al.*, 2018).

#### **1.12.1.2 Cara Parit (ditch)**

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Etikasari *et al.*, 2017).

#### **1.12.1.3 Cara Sumuran (hole/cup)**

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Prayoga, 2013).

Keefektifan aktivitas antibakteri dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk. Dalam penelitian (Mahmudah and Atun, 2017) dijelaskan bahwa klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri yang dilihat berdasarkan diameter zona bening terdiri atas 4 kelompok yaitu:

**Tabel 2. 1** Klasifikasi Zona Hambat Bakteri

Diameter Zona Terang	Respon Hambat Pertumbuhan
$\leq 5$ mm	Lemah
5 – 10 mm	sedang
10 – 20 mm	kuat
$\geq 20$ mm	Sangat kuat

### 2.12.2 Metode Dilusi

Metode dilusi adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui potensi suatu senyawa terhadap aktifitas mikroba dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Fatisa, 2013). Metode Dilusi Dibedakan Menjadi Dua Yaitu Dilusi Cair (Broth Dilution) Dan Dilusi Padat (Solid Dilution) (Hikmawati, 2018) :

#### 1.12.2.1 Dilusi Cair (Broth Dilution)

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan 19 diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

#### 1.12.2.2 Dilusi Padat (Solid Dilution)

Metode ini sama dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

### 2.13 Obat Golongan Antibiotik / Kontrol Positif

Antibiotik yang digunakan adalah Kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan penghambat kuat terhadap sintesis protein mikroba, termasuk antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme-organisme aerobik gram positif maupun gram negatif (Safitri, 2010). Mekanisme kerja kloramfenikol

yaitu dengan daya kerja mengubah proses denaturasi protein dan asam nukleat, melekat pada subunit 50S dari ribosom (Abdurrachman and Febrina, 2018).

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini karena kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun sirih merah yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, diantaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri (Nomer *et al.*, 2019).

Karakteristik kloramfenikol menurut Farmakope Indonesia edisi V (2014) adalah sebagai berikut :

Nama Umum	: Kloramfenikol
Nama Lain	: Chloramphenicolum
Nama Kimia	: D(-)treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol 26
BM	: 323,13 g/mol
Rumus Kimia	: C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Suhu Lebur	: 149oC – 153oC
Pemerian	: 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.
Kelarutan	: Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.
Persyaratan	: Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.
Indikasi	: Digunakan untuk mengobati diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Kloramfenikol juga digunakan sebagai obat tetes mata untuk mengobati konjungtivitis Dosis : Dewasa (sehari 4x 1-2 caps); Anak (sehari 50-100 mg/kgBB, dalam

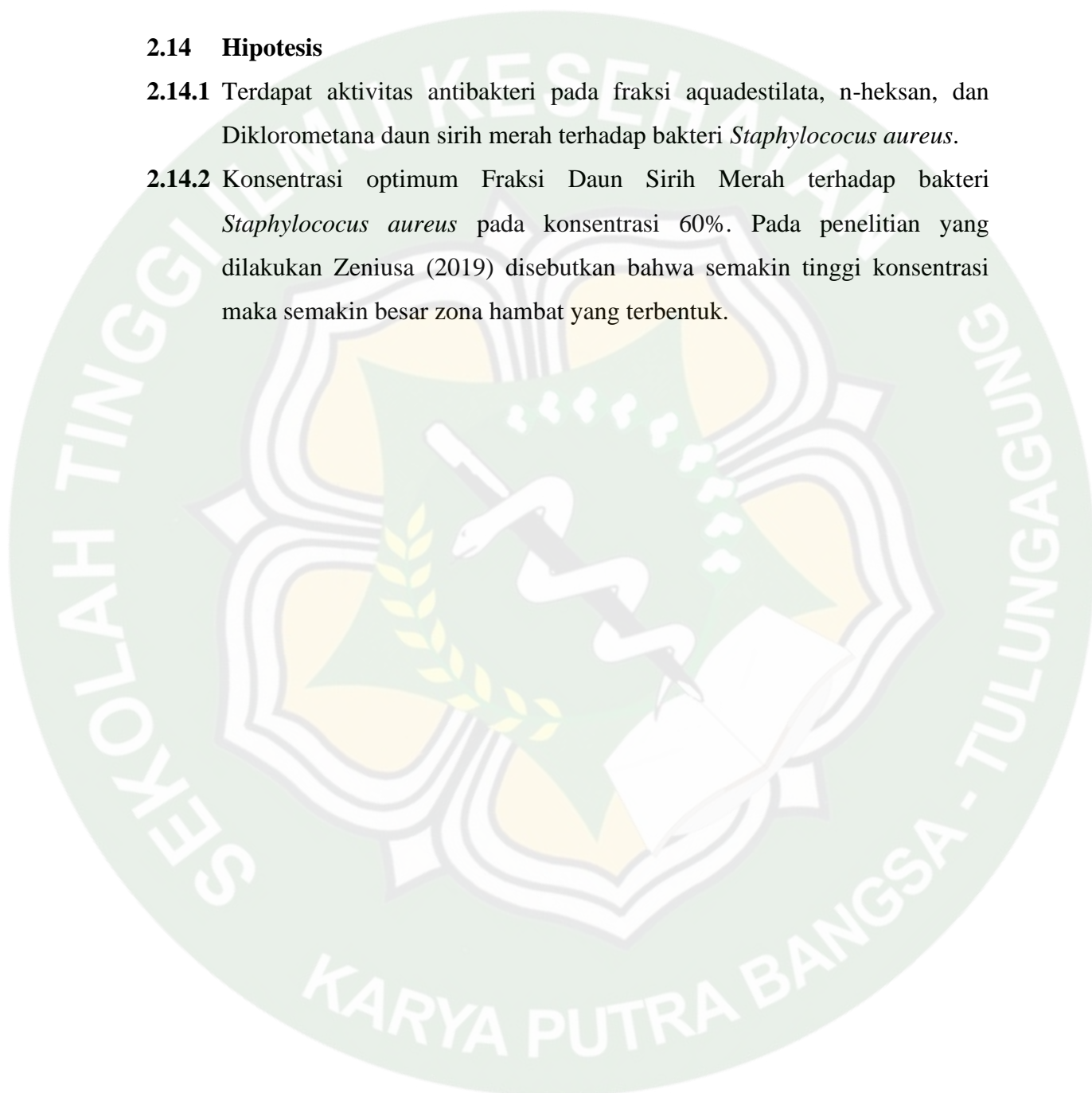
4 dosis terbagi, tiap 6 jam); Bayi (<1 bulan dan bayi prematur maksimal : sehari 25 mg/kgBB).

Penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat, terlindungi dari cahaya.

## **2.14 Hipotesis**

**2.14.1** Terdapat aktivitas antibakteri pada fraksi aquadestilata, n-heksan, dan Diklorometana daun sirih merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

**2.14.2** Konsentrasi optimum Fraksi Daun Sirih Merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 60%. Pada penelitian yang dilakukan Zeniusa (2019) disebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar zona hambat yang terbentuk.







## **BAB III**

### **METODELOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun sirih merah, biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, pelarut heksana, pelarut diklorometana, pelarut etanol 70%, Media Nutrient Agar (NA), Media Nutrient Broth (NB), Kapsul Antibiotik Chloramphenicol, Dimethylsulfoxide (DMSO), kertas saring Whatmann 40 dan aquadest.

#### **3.2 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan analitik (Kenko), seperangkat alat gelas (Pyrex), corong pisah (Pyrex), batang pengaduk, kain, botol maserasi, alumunium foil, rak tabung reaksi, ayakan mesh 80, magnetic stirrer with heater 79-1, autoclave (Gea model YX2808), mikropipet, lemari pendingin (Sharp), oven, kapas, tali, jangka sorong, lampu spiritus, cakram kosong steril, inkubator (model DNP Electro Thermal Incubator), cotton steril, cawan petri, statif dan klem.

#### **3.3 Populasi Penelitian**

Populasi adalah keseluruhan subjek penelitian (Christalisana, 2018). Populasi dalam penelitian ini adalah daun sirih merah yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

#### **3.4 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun sirih merah sebanyak 1 kg yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

### **3.5 Identifikasi Variabel**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas yaitu variabel yang menjadi sebab terjadinya atau terpengaruhnya variabel terikat (Christalisana, 2018). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 30%, 45%, dan 60%.

#### **3.5.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat adalah variabel terikat yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas (Christalisana, 2018). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media agar dengan berbagai diameter zona hambat yang terbentuk.

#### **3.5.3 Variabel Kontrol**

Variabel Kontrol adalah suatu variabel yang diduga sebagai variabel lain yang kemungkinan dapat menguji hubungan variabel independent dan dependent (Nasution, 2017). Penelitian ini menggunakan variabel kontrol metode maserasi dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

### **3.6 Determinasi Tanaman**

Tanaman sirih merah dicek identitas taksonominya melalui proses determinasi di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman.

### **3.7 Pembuatan Simplisia**

Tanaman uji yaitu sirih merah diambil dari Ds. Ngantru Kec. Ngantru Kab. Tulungagung. Bagian tanaman yang diambil untuk dijadikan ekstrak yaitu bagian daun yang permukaan bawah daunnya masih berwarna merah (Nabila *et al.*, 2021). Daun yang sudah cukup tua minimal berusia 1 bulan dari tanaman yang sudah berusia minimal 4 bulan. Warna daun akan terlihat hijau tua dengan warna merah hati yang cerah. Pada daun yang kurang dari 1 bulan warna daun tampak hijau muda. Pada daun yang sudah terlalu tua, warna merah hatinya memudar, daun yang diperoleh disortir, daun yang tidak memenuhi syarat dibuang (Juliantina

Rachmawaty *et al.*, 2018). Selanjutnya dilakukan proses pengeringan pada oven dengan suhu sehingga daun sirih merah menjadi sangat kering agar kadar air dalam daun tidak terlalu banyak. Setelah daun sirih merah tersebut dikeringkan kemudian dihancurkan menjadi serbuk menggunakan blender lalu diayak, ditimbang dan kemudian disimpan pada wadah tertutup yang tidak mudah mengalami kelembaban (Moha, 2018).

### **3.8 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia**

#### **3.8.1 Uji Kadar Air**

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan kurang lebih 10 g simplisia dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam. Kadar air pada simplisia adalah tidak lebih dari 10% (BPOM, 2014).

$$\text{Uji Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal}-\text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

#### **3.8.2 Uji Susut Pengeringan**

Susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan (Krisyanella *et al.*, 2013). Bahan dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Dihitung berat kadar susut pengeringan dalam g per g terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara menggunakan rumus berikut (Suryadini, 2019) :

$$\text{Susut pengeringan (g/g)} = \frac{\text{berat awal sampel}-\text{berat akhir sampel}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

#### **3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah**

Serbuk simplisia daun sirih merah sebanyak 300 gram dimasukan kedalam bejana maserasi, ditambahkan 1500 mL pelarut etanol 70%. Kemudian direndam selama 5 hari ditempat yang terlindung dari cahaya sambil sesekali digojok, setelah itu disaring dengan kertas saring kemudian dilakukan remaserasi. Setelah itu, dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator (Lamadjido *et al.*, 2019).

### 3.8.4 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat biomassa sel yang digunakan) dikalikan 100% (Dewatisari *et al.*, 2018).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (akhir)}}{\text{bobot simplisia (awal)}} \times 100\% \text{ (Lamadjido } et al., 2019)$$

### 3.8.5 Uji Bebas Etanol

Pemeriksaan bebas etanol dalam ekstrak daun sirih merah dilakukan dengan menggunakan prosedur sebagai berikut. Ekstrak daun sirih merah di uji bebas etanol dengan menggunakan uji kualitatif yaitu ekstrak ditambahkan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 1 ml larutan kalium dikromat, adanya kandungan etanol dalam ekstrak ditandai dengan terjadinya perubahan warna mula-mula dari jingga menjadi hijau kebiruan (Adiningsih *et al.*, 2020).

### 3.8.6 Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam tiap pelarut dari ekstrak. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji tannin, flavonoid, dan saponin (Dewatisari *et al.*, 2018).

#### 3.8.6.1 Flavonoid

Ekstrak sebanyak 1 g ditambahkan serbuk Mg, lalu ditambahkan HCl pekat. Apabila terbentuk warna orange, merah, atau kuning, berarti positif (Samudra, 2014).

#### 3.8.6.2 Saponin

Ekstrak daun sirih merah sebanyak 0,2 gram ekstrak ditambahkan 10 mL akuades panas, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk buih putih yang stabil (Noer *et al.*, 2018)

#### 3.8.6.3 Tanin

Ekstrak daun sirih merah sebanyak 1 gr ditambahkan 10 mL air dididihkan selama 15 menit. Filtratnya disaring dan direaksikan dengan FeCl<sub>3</sub> 1%. Tanin positif apabila terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan (Samudra, 2014).

### **3.9 Fraksinasi**

Ekstrak daun sirih merah sebanyak 5 gram ditimbang dan dilarutkan dilarutkan menggunakan 75 ml aquadestilata. Larutan sampel dimasukkan dalam corong pisah, ditambah dengan pelarut n-heksan 25 ml di ulang sebanyak 3 kali sebagai pelarut non-polar. Kemudian di gojog hingga tampak terjadi seperti pemisahan. Masing-masing ditampung di beaker glass. Fraksi air difraksinasi dengan diklorometana 25 ml di ulang sebanyak 3 kali sebagai pelarut semi polar. Fraksi yang diperoleh dipekatkan sampai didapat fraksi yang kental (Rachmadenawanti *et al.*, 2016)

### **3.10 Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **3.10.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dibungkus menggunakan kertas perkamen kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Handayani and Muhtadi, 2013).

#### **3.10.2 Pembuatan Media**

##### **3.10.2.1 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)**

Media NB digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri uji. Serbuk NB ditimbang sebanyak 0,08 g kemudian melarutkan dalam 10 ml aquadestilata, dan memanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NB terlarut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Kabense *et al.*, 2019).

##### **3.10.2.2 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)**

Medium NA digunakan untuk membiakkan bakteri uji. serbuk NA ditimbang sebanyak 0,3 g kemudian melarutkan dalam aquadestilata sebanyak 15 ml dan memanaskan sampai mendidih sehingga serbuk NA terlarut. Selanjutnya media NA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan media NA yang sudah siap kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri (Utomo *et al.*, 2018).

### **3.10.3 Pembuatan Larutan Uji**

#### **3.10.3.1 Pembuatan Larutan Uji Fraksi Daun Sirih Merah**

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan fraksi daun sirih merah dengan seri konsentrasi 30%, 45%, dan 60%. Fraksi daun sirih merah diencerkan menggunakan fraksi n-heksan, etil asetat, dan aquadestilata dengan volume masing-masing 1 ml. Konsentrasi 30% dibuat dengan menimbang fraksi sebanyak 0,3 gram dilarutkan dalam 1 ml pelarut, konsentrasi 45% dibuat dengan menimbang fraksi sebanyak 0,45 gram dilarutkan dalam 1 ml pelarut, dan konsentrasi 60% dibuat dengan menimbang fraksi sebanyak 0,6 gram dilarutkan dalam 1 ml pelarut.

#### **3.10.3.2 Pembuatan Larutan Kontrol Positif Kloramfenikol 1%**

Kontrol positif dibuat dari kapsul kloramfenikol 250 mg. Pembuatan dimulai dengan menimbang serbuk kloramfenikol sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam 10 ml etil asetat sehingga didapatkan hasil 100 mg/ml. Dari larutan 100 mg/ml diambil 1 ml kemudian ditambahkan etil asetat hingga didapatkan konsentrasi 10 mg/ml. Dari konsentrasi 10 mg/ml diambil 1 ml ditambahkan etil asetat hingga hingga 10 ml sehingga didapatkan larutan 1mg/ml (Tunikata and Aurata, 2015).

#### **3.10.3.3 Pembuatan Larutan Kontrol Negatif**

DMSO digunakan sebagai kontrol negatif karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metoda difusi agar (Wigunarti *et al.*, 2019). Kontrol negatif DMSO 10% dibuat dengan cara menambahkan 1 ml pelarut DMSO dengan akuades steril hingga diperoleh volume larutan sebesar 10 ml (Andriyawan *et al.*, 2015).

### **3.10.4 Peremajaan Bakteri**

Peremajaan bakteri dilakukan dengan tujuan agar bakteri awal yang merupakan biakan induk yang masih dalam keadaan dorman menjadi biakan segar sehingga ketika digunakan, bakteri dalam keadaan yang segar. Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan media agar miring NA, menanam bakteri *Staphylococcus aureus* pada media dengan cara menggoreskan

menggunakan ose jarum. Media yang telah ditanami bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37-38° C selama 24 jam (Yusriana *et al.*, 2014).

### **3.10.5 Identifikasi Bakteri *S.aureus***

#### **3.10.6 Uji Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram berfungsi untuk melihat sifat Gram dan morfologi bakteri. Buatlah sediaan ulas diatas object glass lalu difiksasi di atas Bunsen, kemudian ditetesi dengan crystal violet lalu didiamkan selama 1-2 menit. Sisa zat warna dibuang, kemudian dibilas dengan air mengalir. Seluruh preparat ditetesi dengan larutan lugol dan biarkan selama 30 detik. Buang larutan lugol dan bilas dengan air mengalir. Preparat dilunturkan dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur, dan segera cuci dengan air mengalir. Teteskan dengan zat warna safranin, biarkan selama 2 menit lalu bilas dengan air mengalir kemudian dibiarkan kering, amati di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x memakai emersi. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus bergerombol (Hayati *et al.*, 2019).

#### **3.10.7 Pembuatan Suspensi Bakteri**

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland (Mpila *et al.*, 2012). Larutan McFarland 0,5 digunakan sebagai pembanding kekeruhan biakan bakteri dalam medium cair dengan kepadatan antara  $1 \times 10^7$  sel/ml -  $1 \times 10^8$  sel/ml (Aviany and Pujiyanto, 2020)

#### **3.10.8 Uji Aktivitas Antibakteri**

##### **3.10.8.1 Metode Difusi Cakram**

Pada Cakram kertas digunakan suatu kertas cakram saring (paper disc) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring yang mengandung zat antimikroba tersebut diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Ariyani *et al.*, 2018).



### 3.10.8.2 Pengukuran Zona Hambat

Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Dilakukan pengukuran dengan pengulangan 2 kali dari daerah yang berbeda untuk menunjukkan hasil yang akurat (Surjowardojo *et al.*, 2015).

## 3.11 Analisis Data

### 3.11.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik (Suardi, 2020). Penelitian ini menggunakan uji Shapiro-Wilk sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H0 : Data berdistribusi normal

H1 : Data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan

- a. Jika  $p > 0,05$  ; maka H0 diterima
- b. Jika  $p < 0,05$  ; maka H1 diterima

### 3.11.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel – sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan levene statistic. Perumusan hipotesis :

H0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen.

H1 : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen.

Pengambilan keputusan:

- a. Jika  $p > 0,05$ ; maka H0 diterima
- b. Jika  $p \leq 0,05$ ; maka H1 diterima

### 3.11.3 Uji Kruskal-Wallis

Uji Kruskal-Wallis adalah salah satu uji statistik non parametrik yang dapat digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independen dengan variabel dependennya (Assegaf *et al.*, 2019).

Perumusan hipotesis :

H<sub>0</sub>: Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

H<sub>1</sub>: Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengambilan keputusan:

1. Jika  $p > 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> diterima
2. Jika  $p < 0,05$ ; maka H<sub>1</sub> diterima

#### **3.11.4 Uji Mann-Whitney**

Uji Mann-Whitney (U-test) digunakan untuk menguji beda dua kelompok atau menguji data dari dua sampel independen (two independent sample test). Uji ini sama dengan uji Independent Sample T Test hanya saja Uji Mann-Whitney digunakan ketika data yang akan diuji merupakan data non parametris atau data yang tidak berdistribusi normal (Quraisy and Madya, 2021).

Perumusan hipotesis:

H<sub>0</sub>: tidak ada perbedaan bermakna

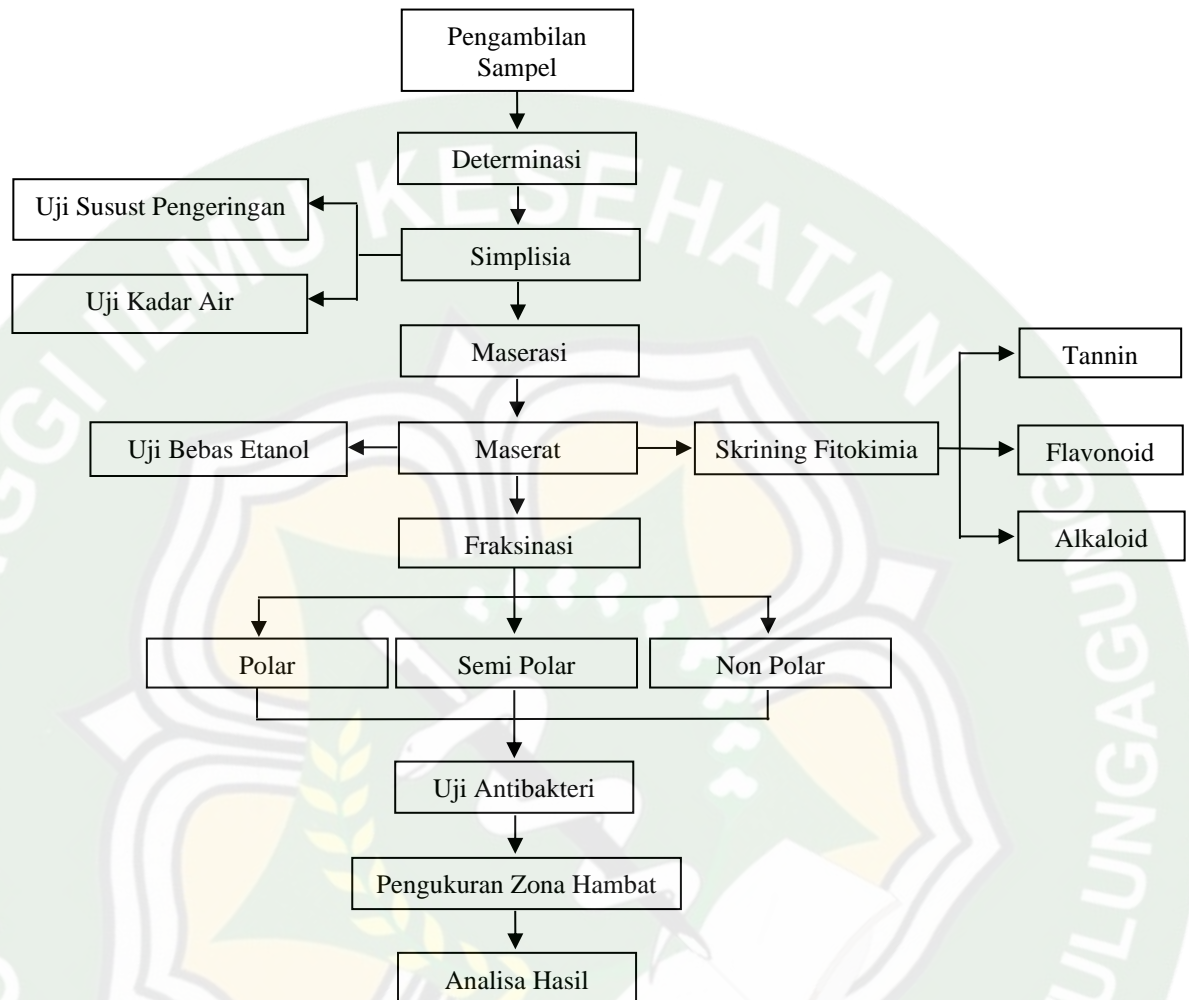
H<sub>1</sub>: ada perbedaan bermakna

Pengambilan keputusan:

Jika  $p > 0,05$ ; maka H<sub>0</sub> diterima.

Jika  $p < 0,05$ ; maka H<sub>1</sub> diterima.

### 3.12 Rancangan Penelitian Penelitian



**Gambar 3. 1 Skema Penelitian**

## BAB IV PEMBAHASAN

### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian (Saputri and Susiani, 2018). Determinasi tanaman dilakukan di UPT Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tanaman sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*), memiliki kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61-62b-63a-64a, dan kesamaan morfologi daun yang dipakai dengan hasil determinasi yaitu daun tunggal, ujung meruncing, bulat panjang, pangkal bentuk jantung, tepi rata panjang 5-8cm, lebar 2-5cm, bertangkai permukaan halus, warna bagian bawahnya merah mengkilap. Hasil ini menunjukkan bahwa daun yang dipakai benar daun sirih merah.

### 4.1 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Pengujian kadar air serbuk simplisia ialah suatu parameter untuk menentukan residu air setelah melalui proses pengeringan (Utami *et al.*, 2017). Suatu kadar air pada serbuk simplisia mempunyai persyaratan yaitu kurang dari 10% (Depkes RI, 2014).

**Tabel 4. 1** Hasil Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sirih Merah

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> <i>Ruiz &amp; Pav.</i> )	10	9,08	9,2%

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun sirih merah sebesar 9,2% yang berarti <10%. Hasil ini menunjukkan bahwa simplisia yang telah digunakan sudah memenuhi persyaratan uji kadar air yang ditetapkan. Jika kadar air dalam simplisia lebih dari 10% hal ini akan mempercepat pertumbuhan mikroorganisme sehingga terjadi pembusukan, dimana air merupakan salah satu media yang baik untuk

pertumbuhan mikroorganisme sehingga dapat mengakibatkan turunnya kualitas simplisia (Sugiarti and Setyawati, 2017).

#### 4.2 Ekstraksi Daun Sirih Merah

Proses ekstraksi bertujuan untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Badaring *et al.*, 2020). Ekstraksi daun sirih merah menggunakan metode maserasi dan dilanjutkan dengan remaserasi, Remaserasi dilakukan dengan tujuan untuk menarik kandungan senyawa yang masih tertinggal pada saat maserasi pertama (Anjaswati *et al.*, 2021).

Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut etanol 70%, Etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dari etanol 96% dan lebih non polar dari etanol sehingga senyawa flavonoid yang sifatnya polar akan cenderung terlarut lebih banyak dalam etanol 70% (Riwanti *et al.*, 2018). Pelarut etanol 70% dipilih karena berdasarkan penelitian yang dilakukan Riwanti (2018), kadar flavonoid total tertinggi ada pada pelarut dengan kepolaran sedang yaitu etanol 70%. Kemudian dilakukan proses pemekatan dan perhitungan persentase rendemen ekstrak. Perhitungan rendemen ekstrak dilakukan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dari suatu bahan terhadap awal berat bahan simplisia serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang terekstraksi (Utami *et al.*, 2020). Pengukuran rendemen ini dilakukan dengan membandingkan massa ekstrak (gr) dengan massa awal bahan sebelum proses ekstraksi (gr). Hasil persentase rendemen ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4. 2** Hasil Rendemen Ekstrak Daun Sirih Merah

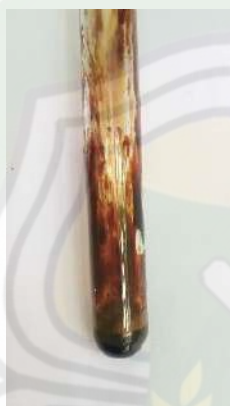
Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> <i>Ruiz &amp; Pav.</i> )	500 g	80,7 g	16.1%

Berdasarkan Tabel 4.2 nilai rendemen ekstrak daun sirih merah pada penelitian ini sebesar 16,1%. Sejalan dengan Senduk *et al.*, (2020) bahwa nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada

tumbuhan. semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku (Dewatisari *et al.*, 2018).

#### 4.2 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015).



(a)



(b)

**Keterangan :** (a) ekstrak + kalium dikromat  
(b) ekstrak+ kalium dikromat + asam sulfat

**Tabel 4. 3** Hasil Uji Bebas Etanol Daun Sirih Merah

Sampel	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.)	Asam sulfat + Kalium dikromat	Tidak terbentuk warna jingga, hijau kebiruan	+

Keterangan: (+) bebas etanol dan (-) tidak bebas etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan menambahkan asam sulfat pekat ke dalam ekstrak dengan tujuan membuat kondisi menjadi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, setelah bereaksi, larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi warna hijau kebiruan dikarenakan ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhan *et al.*, 2019). Dari hasil uji menunjukkan ekstrak berwarna hitam kecoklatan sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak daun sirih merah telah bebas dari etanol.

### 4.3 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yang ada dalam daun sampel, serta dapat menjadi perlakuan secara kualitatif (Indarto *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Beon & Batista, (2015) Kandungan fitokimia dalam ekstrak yang ditemukan adalah alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin. Terdapat tiga senyawa yang diidentifikasi pada penelitian ekstrak daun sirih merah ini yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 4.4.

**Tabel 4. 4** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Merah

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Mg + HCl pekat	Merah kecoklatan	+
Saponin	Ekstrak + <i>Aquadestilata</i>	Busa stabil	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Hitam kebiruan	+

Keterangan: (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

#### 4.3.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sirih merah. Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi *wilstater* yang dilakukan dengan menambahkan Mg dan HCl pekat pada sampel ekstrak daun sirih merah (Theodora *et al.*, 2019). Uji positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga (Dewi *et al.*, 2021). Perubahan warna ini karena senyawa flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl sehingga menghasilkan warna merah, kuning atau jingga (Sulistyarini *et al.*, 2019).



**Gambar 4. 1** Uji Flavonoid Ekstrak Daun Sirih Merah (adanya warna merah kecoklatan (+))

#### 4.3.2 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa saponin dalam ekstrak daun sirih merah. Uji fitokimia senyawa saponin dalam penelitian ini dilakukan dengan menambahkan ekstrak dengan air (1:1) kemudian dikocok selama 1 menit. Uji positif untuk saponin adalah dengan terbentuknya busa stabil selama 10 detik (Fajrin & Susila, 2019). Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (hidrofobik) (Sulistyarini *et al.*, 2019). Hasil uji dalam penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa saponin dari ekstrak daun sirih merah memiliki nilai positif dilihat dari adanya busa yang terbentuk, yang artinya dalam ekstrak daun sirih merah terkandung senyawa saponin.



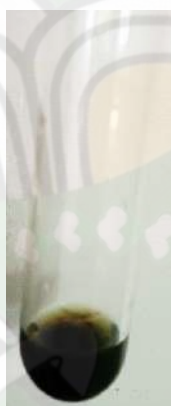
**Gambar 4. 2** Uji Saponin Ekstrak Daun Sirih Merah (adanya busa (+))

#### 4.3.3 Uji Tanin

Uji tanin bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa tanin dalam ekstrak daun sirih merah. Uji tanin pada penelitian ini menggunakan  $\text{FeCl}_3$



dimana ekstrak direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$ . Jika larutan mengandung senyawa tanin akan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua (Halimu *et al.*, 2017). Perubahan warna disebabkan reaksi penambahan  $\text{FeCl}_3$  dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan  $\text{FeCl}_3$  yang menyebabkan perubahan warna menunjukkan adanya tanin terkondensasi (Manongko *et al.*, 2020). Hasil uji dalam penelitian ini menunjukkan hasil positif dilihat dari ekstrak yang berwarna hijau kehitama, yang artinya dalam ekstrak daun sirih merah terkandung senyawa tanin.



**Gambar 4.3** Uji Tanin Ekstrak Daun Sirih Merah (adanya warna hijau kehitaman (+))

#### 4.4 Fraksinasi Daun Sirih Merah

Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa dengan sifat kepolaran yang berbeda pada ekstrak agar dapat tersari dengan pelarut yang sesuai dengan sifatnya. Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair yang menggunakan pelarut aquadestilata sebagai pelarut polar, diklorometana sebagai pelarut semi polar dan n-heksan sebagai pelarut nonpolar. Dari ekstrak daun sirih merah dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut aquadestilata dan pelarut n-heksan sehingga diperoleh fraksi n-heksan. Fraksi aquadestilata difraksinasi kembali dengan pelarut diklorometana sehingga diperoleh fraksi diklorometana. Fraksinasi dilakukan 3 kali secara berulang-ulang, kemudian hasil fraksi yang diperoleh dipekatkan menggunakan waterbath pada suhu  $60^\circ$  untuk fraksi aquadestilata dan n-heksan sedangkan fraksi diklorometana dipekatkan pada suhu  $45^\circ$ .

**Tabel 4. 5** Hasil Rendemen Fraksi Daun Sirih Merah

Sampel	Bobot ekstrak	Bobot fraksi	Hasil
Fraksi aquadestilata	5g	3,10 g	62%
Fraksi diklorometana	5g	0,58 g	11,6%
Fraksi n-heksan	5g	0,5 g	10%

Hasil rendemen pada Tabel 4.5 menunjukkan bahwa rendemen dari masing-masing fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang diperoleh mempunyai nilai yang berbeda, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan larutan penyari dari masing-masing pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi. Dari tabel diatas dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) lebih banyak mengandung senyawa polar sehingga senyawa tersebut terlarut dalam pelarut polar yaitu *aquadestilata* sebesar 62%, nilai rendemen fraksi diklorometana sebesar 10%, dan fraksi n-heksan daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) mempunyai nilai rendemen sebesar 11,6%. Hal ini diduga karena senyawa yang bersifat semi polar dan non polar jumlahnya lebih sedikit pada daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dibandingkan senyawa polar.

#### 4.5 Uji Pewarnaan Gram

Tujuan pewarnaan gram adalah untuk mengidentifikasi mikroba. Bakteri yang diwarnai dengan metode ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Hayati *et al.*, 2019).

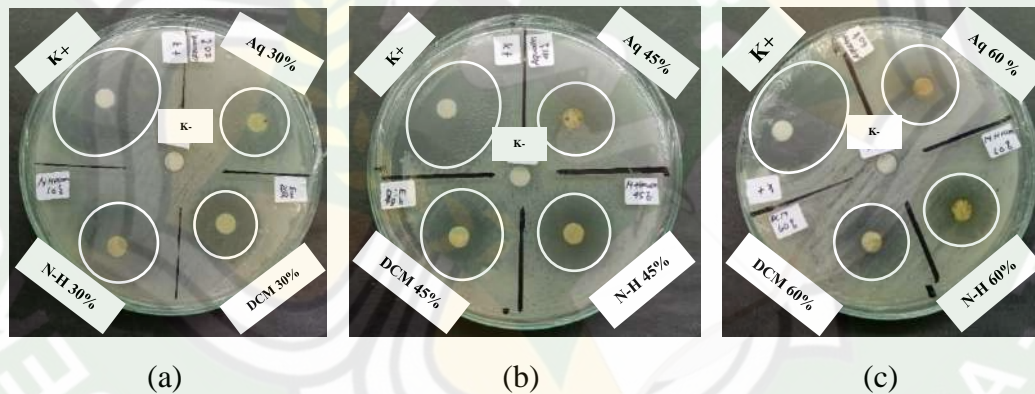
**Gambar 4. 4** Hasil Uji Pewarnaan Gram

Dapat dilihat pada gambar di atas bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat atau kokkus dan berwarna ungu yang mendakan bahwa bakteri *Staphylococcus*

*aureus* tergolong dalam bakteri gram positif. Warna ungu disebabkan karena bakteri mempertahankan warna pertama, yaitu Kristal violet. Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Wulandari and Purwaningsih, 2019).

#### 4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Uji aktivitas antibakteri daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan di Kampus Stikes Karya Putra Bangsa, Laboratorium Mikrobiologi, Tulungagung. Uji aktivitas antibakteri pada fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan konsentrasi 30%, 45% dan 60% dengan kloramfenikol 1% sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif.



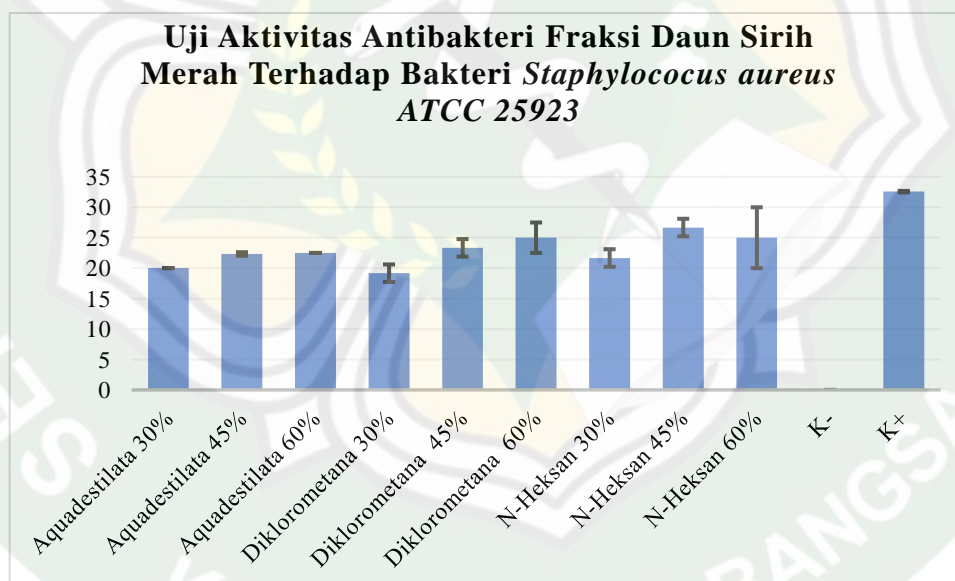
**Gambar 4.5** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25

**Keterangan:** a : fraksi konsentrasi 30%  
 b : fraksi konsentrasi 45%  
 c : fraksi konsentrasi 60%  
 Aq : Aquadestilata  
 N-H : N-Heksan  
 DCM : Diklorometana

**Tabel 4. 6** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Kelompok	Zona hambat (mm)			Rata-Rata $\pm$ SD
	R1	R2	R3	
A 30%	20	20	20	20,00 $\pm$ 0
A 45%	22,5	22	22,5	22,33 $\pm$ 0,28
A 60%	22,5	22,5	22,5	22,50 $\pm$ 0
B 30%	17,5	20	20	19,16 $\pm$ 1,44
B 45%	25	22,5	22,5	23,33 $\pm$ 1,44
B 60%	22,5	27,5	25	25,00 $\pm$ 2,5
C 30%	20	22,5	22,5	21,66 $\pm$ 1,44
C 45%	27,5	25	27,5	26,66 $\pm$ 1,44
C 60%	30	25	20	25,00 $\pm$ 5
K-	0	0	0	0 $\pm$ 0
K+	32,7	32,5	32,5	32,56 $\pm$ 0,11

Keterangan: A : Fraksi Aquadestilata  
 B : Fraksi Diklorometana  
 C : Fraksi N-heksan  
 K- : Kontrol negatif DMSO 10%  
 K+ : Kontrol positif kloramfenikol 1%



**Gambar 4. 6** Grafik Uji Aktivitas Antibakteri

**Tabel 4. 7** Tabel Uji Tukey Subset Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

		<b>Diameter Zona Hambat</b>				
Tukey HSD <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0,05				
Fraksi	N	1	2	3	4	5
K-	3	0,00				
diklorometana 30%	3		19,16			
aquadestilata 30%	3		20,00	20,00		
n-heksan 30%	3		21,66	21,66	21,66	
aquadestilata 45%	3		22,33	22,33	22,33	
aquadestilata 60%	3		22,50	22,50	22,50	
diklorometana 45%	3		23,33	23,33	23,33	
n-heksan 60%	3			25,00	25,00	
diklorometana 60%	3				26,66	
n-heksan 45%	3				26,66	
K+	3					32,50
Sig.		1,00	0,20	0,07	0,07	1,00

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih merah menggunakan kontrol positif kloramfenikol 1% karena kloramfenikol memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa yang terkandung dalam daun sirih merah yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, diantaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari bakteri (Nomer *et al.*, 2019). Kelompok kontrol positif menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 32,5 mm. Dibuktikan dengan analisis statistik menggunakan SPSS 26 kontrol positif menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol negatif maupun dengan kelompok fraksi konsentrasi 30%, 45% dan 60%. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik kloramfenikol memberikan respon hambat pertumbuhan bakteri terhadap dan menghasilkan zona hambat pada media pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerja kloramfenikol adalah dengan menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat secara terbalik ke subunit 50S ribosom sehingga menghambat pembentukan ikatan peptide (Jamilah, 2015). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ulfah (2020) yang mana dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa kontrol positif kloramfenikol dengan konsentrasi 1% berpotensi menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat sebesar 30 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat.

Pada penelitian ini DMSO digunakan sebagai kontrol negatif karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metoda difusi agar (Wigunarti *et al.*, 2019). Kelompok kontrol negatif DMSO 10% memiliki rata-rata sebesar 0 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini sesuai dengan penelitian Fauziah and Wulaisfan (2021) yang menyatakan DMSO pada konsentrasi 10% terbukti tidak menghambat pertumbuhan bakteri. Pada Analisa menggunakan SPSS kontrol negatif menunjukkan hasil berbeda bermakna dengan kontrol positif dikarenakan pada kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat.

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun Sirih Merah pada konsentrasi 30%, 45% dan 60% untuk mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa fraksi daun Sirih Merah mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan ditandai adanya zona bening di daerah cakram (Gambar 4.5). Pada konsentrasi 30% Fraksi n-heksana memiliki zona hambat yang lebih besar yaitu senilai 21,6 mm jika dibandingkan fraksi diklorometana dan fraksi *Aquadestilata* pada konsentrasi yang sama. Fraksi n-heksana memberikan hasil besar dalam konsentrasi minimum dikarenakan pada daun sirih merah mengandung senyawa tanin yang berfungsi sebagai antibakteri dan bersifat non polar yang selaras dengan sifat dari pelarut n-heksana sehingga dapat melarutkan beberapa senyawa yang berperan sebagai antibakteri di dalam daun sirih merah (Chairunisa *et al.*, 2022). Fraksi diklorometana menunjukkan hasil yang lebih kecil dibandingkan fraksi *Aquadestilata* karena hal tersebut diduga karena pada fraksi diklorometana senyawa metabolit sekunder yang tertarik pada senyawa semi polar hanya sedikit, sehingga zona hambat yang dihasilkan lebih kecil daripada fraksi polar (Qur'an *et al.*, 2021). Hasil uji fraksi daun sirih merah menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri masuk kedalam kategori kuat hingga sangat kuat. Pada setiap konsentrasi menunjukkan hasil zona hambat yang berbeda-beda, perbedaan diameter zona hambat ini dapat disebabkan adanya perbedaan kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada

ekstrak (Alfiah *et al.*, 2015). Korelasi antara diameter zona hambat dengan kenaikan konsentrasi tidak selalu berbanding lurus dikarenakan pada media agar kecepatan difusi senyawa antibakteri berbeda. Selain itu konsentrasi dan jenis dari senyawa juga berpengaruh besar terhadap pembentukan diameter zona hambat yang berbeda dan berpengaruh terhadap aktivitasnya (Yanti and Mitika, 2017)

Data hasil penelitian yang telah didapatkan selanjutnya di uji statistic menggunakan SPSS 26. Analisis hasil diawali dengan dilakukan uji normalitas data untuk memastikan data terdistribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa terdapat data dengan nilai *p-value* signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ), yang berarti data tidak terdistribusi normal. Data kemudian dilakukan uji homogenitas dan hasil uji homogenitas yaitu *p-value* signifikansi 0,008 ( $< 0,05$ ), yang berarti data tidak homogen. Data dari penelitian ini data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen. Maka data kemudian dilakukan uji nonparametric menggunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada lampiran. Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai  $p=0,002$  ( $p \leq 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada masing-masing pelarut fraksi terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

. Berdasarkan tabel subset (Tabel 4.6) menunjukkan bahwa. menunjukkan bahwa fraksi *aquadestilata*, fraksi n-heksan, dan fraksi diklorometana konsentrasi 30%, 45% dan 60% berada pada kolom yang berbeda dengan kontrol negatif maka dapat diartikan fraksi tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada tabel subset dapat dilihat fraksi N-Heksan 45% memiliki aktivitas antibakteri paling mendekati kontrol positif yang digunakan namun masih berbeda bermakna dengan kontrol positif. Pembentukan aktivitas antibakteri pada fraksi daun sirih merah dikarenakan terdapatnya aktivitas antibakteri yang terkandung di dalam fraksi daun sirih merah seperti senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan beberapa mekanisme aksi, di antaranya menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan menghambat metabolisme energi dari

bakteri (Manik *et al.*, 2014). Sebagai antibakteri flavonoid membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Juliantina *et al.*, 2017). Mekanisme dari saponin sebagai senyawa antibakteri dengan bekerja sebagai antimikroba karena senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri dan menimbulkan kematian sel bakteri (Ernawati and Sari, 2015). Mekanisme tanin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tanin bekerja pada sel target polipeptida dinding sel akibatnya pembentukan dinding sel dan permeabilitas terganggu akhirnya bakteri akan mati (Rahmawati, 2021).





## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan data hasil penelitian serta pembahasan dalam penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi *aquadestilata*, n-heksana, dan diklorometana daun sirih merah mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
2. jika dilihat dari zona hambat yang terbentuk, konsentrasi optimum yaitu pada fraksi N-heksan konsentrasi 45% dilihat dari hasil uji *post-hoc* aktivitas antibakteri N-heksan 45% adalah yang paling mendekati kontrol positif.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan skrining fitokimia pada bentuk sediaan fraksi.
2. Dalam pembuatan larutan uji masing-masing fraksi dilarutkan dengan pelarut DMSO 10%

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrachman, & Febrina, E. (2018). Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Anak Penderita Demam Tifoid Di Rumah Sakit Al Islam Bandung. *Jurnal Farmaka*, 16(2), 87–96.
- Adiningsih, W., Vifta, R. L., & Yuswantina, R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Dan Ekstrak Etanol 96% Buah Strawberry (*Fragaria X Ananassa*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. *Journal Of Research In Pharmacy*, 1(1), 1–9. [Http://Repository2.Unw.Ac.Id/Id/Eprint/722](http://Repository2.Unw.Ac.Id/Id/Eprint/722)
- Akhsanita, M. (2012). Uji Sitotoksik Ekstrak, Fraksi, Dan Sub-Fraksi Daun Jati ( *Tectonagrandislinn. F.* ) Dengan Metode Brineshrimp Lethality Bioassay. *Universitas Andalas*, 0, 1–52.
- Alfiah, R. R., Khotimah, S., & Turnip, M. (2015). Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania Micrantha Kunth* ) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans*. *Journal Protobiont*, 4(1), 52–57.
- Andriyawan, F., Khotimah, S., & Andriani. (2015). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkodok (Melastoma Malabathricum L.) Terhadap Escherichia Coli Secara In Vitro Fariza*. 8.
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi N- Heksana , Etil Asetat , Dan Air Daun Bit ( *Beta Vulgaris L.* ) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, 1(1), 1–6.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/Zarah.V6i1.313>
- Ariyani, H., Nazemi, M. H., & Kurniati, M. (2018). *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit ( Citrus Hystrix Dc ) Terhadap Beberapa Bakteri ( The Effectiveness Of Antibacterial The Citrus Lime Peel Extract ( Citrus Hystrix Dc ) Of Some Bacteria )*. 2(1), 136–141.
- Asfiyah, S., & Supaya. (2020). Modifikasi Deanstark Upaya Efisiensi Proses Distilasi Uap Minyak Biji Pala Dalam Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal Of Laboratory*, 2(1), 10. <https://doi.org/10.22146/Ijl.V2i1.54161>
- Assegaf, A., Mukid, M. A., & Hoyyi, A. (2019). Analisis Kesehatan Bank Menggunakan Local Mean K-Nearest Neighbor Dan Multi Local Means K-Harmonic Nearest Neighbor. *Jurnal Gaussian*, 8(3), 343–355. <https://doi.org/10.14710/J.Gauss.V8i3.26679>
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik Di Dalam Produk Kecantikan Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*, 3(2), 24–31.
- 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*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.26858/Ijfs.V6i1.13941>
- Bahri, S., Hartono, D., & Wusnah. (2016). Proses Pembuatan Bioetanol Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Acuminata B.C*) Secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 1, 57–65.
- Beon, A. S., & Batista, G. (2015). Identifikasi Komponen Fitokimia Dalam Ekstrak Daun Sirih Merah ( *Piper Crocatum* ) . *Jurnal Stikes Citra Husada Mandiri*, 1–

6.

- Bernad, L. F. (2019). Analisis Mesin Penghasil Aquades Menggunakan Mesin Siklus Kompresi Uap Dengan Pengaruh Putaran Kipas Sebelum Evaporator. *Skripsi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta*, 6.
- Boleng, D. T. (2017). *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar (Xiv)*. Umm Press.
- Candrasari, A., Romas, M. A., & Astuti, O. R. (2011). Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Atcc 6538, *Escherichia Coli* Atcc 11229 Dan *Candida Albicans* Atcc 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, 5(1), 9–16. <https://doi.org/10.23917/Biomedika.V4i1.258>
- Chairunisa, F., Safithri, M., & Bintang, M. (2022). Antibacterial Activity Of Ethanol Extract Of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum*) And Its Fractions Against *Escherichia Coli* Pbr322. *Current Biochemistry*, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.29244/Cb.9.1.1>
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana L.*) Sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/Jrma.2019.V07.I04.P07>
- Christalisana, C. (2018). Pengaruh Pengalaman Dan Karakter Sumber Daya Manusia Konsultan Manajemen Konstruksi Terhadap Kualitas Pekerjaan Pada Proyek Di Kabupaten Pandeglang. *Jurnal Fondasi*, 7(1), 87–98. <https://doi.org/10.36055/Jft.V7i1.3305>
- Dalimunthe, C. I., Sembiring, Y. R. V., Andriyanto, M., Hs Siregar, T., Darwis, H. S., & Barus, D. A. (2016). Identifikasih Dan Uji Metabolit Sekunder Bangun-Bangun(*Coleus Ambonicus*) Terhadap Penyakit Jamuyr Akar Putih (*Rigidoporus Microporus*)Dillaboratorium. *Jurnal Penelitian Karet*, 34 (2), 189–200.
- Dewa, I., Rayna, A., Wikananda, N., Agus Hendrayana, M., Januartha, K., & Pinatih, P. (2019). Efek Antibakteri Ekstrak Ethanol Kulit Batang Tanaman Cempaka Kuning (*M. Champaca L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*. In *Jurnal Medika* (Vol. 8, Nomor 5). Mei. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>
- Dewatisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun *Sansevieria Sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197. <https://doi.org/10.25181/Jppt.V17i3.336>
- Dewi, I. S., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Dan Biji Terong Belanda ( *Solanum Betaceum Cav .* ). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 4, 1210–1218.
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. (2018). Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus Ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.17969/Rtp.V11i1.9571>
- Dwi, H., Rohadi, & Aldila, P. S. (2018). The Ratio Of N-Hexane-Ethanol To Physical And Chemical Characteristics Of Oleoresin Press Cage Ginger (*Zingiber Majus Rumph*) Variety Emprit. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 1, 16.
- Ernawati, & Sari, K. (2015). Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri

- Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* P.Mill) Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. *Jurnal Kajian Veteriner*, 13(3), 1576–1580.
- Etikasari, R., Murharyanti, R., & Wiguna, A. S. (2017). Evaluasi Pigmen Karotenoid Karang Lunak Sarcophyton Sp. Sebagai Agen Antibakteri Potensial Masa Depan. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 2(1), 28–36.
- Evifania, R. D., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2020). Uji Parameter Spesifik Dan Nonspesifik Simplisia Daun Senggani (*Melastoma Malabathricum* L.). *Jurnal Cerebellum*, 5(4a), 17. <https://doi.org/10.26418/Jc.V6i1.43348>
- Fajrin, F. I., & Susila, I. (2019). Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Petai Menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Dan Sains.*, 6(3), 455–462.
- Fatasa, Y. (2013). Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium Mutabile*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1), 31–38.
- Fauziah, Y., & Wulaisfan, R. (2021). Uji Daya Hambat Etanol Bintang Laut Bertanduk (*Protoreaster Nodosus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Iii*, 1–9.
- Halimu, R. B., S.Sulistijowati, R., & Mile, L. (2017). Identifikasi Kandungan Tanin Pada *Sonneratia Alba*. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 5(4), 93–97.
- Handayani, F. W., & Muhtadi, A. (2013). Penentuan Tingkatan Jaminan Sterilitas Pada Autoklaf Dengan Indikator Biologi Spore Strip. *Farmaka*, 4(1), 59–69. <http://tekpan.unimus.ac.id/wp-content/uploads/2013/07/Serat-Makanan-Dan-Kesehatan.Pdf>
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S., & Handharyani, E. (2020). Efek Durasi Waktu Ekstraksi Dan Fraksinasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Bakau Api-Api Putih (*Avicennia Marina*). *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 15(2), 99. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.V15i2.604>
- Harnis, Z. E. (2019). *Fraksinasi Dan Karakterisasi Serta Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sambung Rambut Terhadap Tikus Putih Jantan*. Universitas Sumatra Utara.
- Hasanah, M. (2019). Aktivitas Antineuroinflamasi Fraksi N-Butanol Daun Semangi (*Marsilea Crenata* C. Presl) Secara In Vitro Pada Sel Mikroglia Hmc3 M. *Skripsi .Uin Maulana Malik Ibrahim Malang*, 40–41. <http://etheses.uin-malang.ac.id/14347/1/15670011.Pdf>
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi Dan Identifikasi *Staphylococcus Aureus* Pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis Di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76. <https://doi.org/10.20473/Jmv.Vol2.Iss2.2019.76-82>
- Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin Dan Saponin) Dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 89–98. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.11.2.89-98>
- Hikmawati. (2018). *Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Isolat Actinomycetes Kc 3.1 Dari Rizosfer Kumis Kucing (Orthosiphon Stamineus)*. 1–50.

- Holderman, M. V., De Queljoe, E., & Rondonuwu, S. B. (2017). Identifikasi Bakteri Pada Pegangan Eskalator Di Salah Satu Pusat Perbelanjaan Di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 13. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.14901>
- Inayatullah, S. (2012). Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Skripsi Program Studi Pendidikan Kedokteran Uin Syarif Hidayatullah Jakarta*, 50.
- Indarto, I., Narulita, W., & Anggoro, B. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1)(Pp), 67–78.
- Jamilah. (2015). Evaluasi Keberadaan Gen *Catp* Terhadap Resistensi Kloramfenikol Pada Penderita Demam Tifoid. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan Dan Lingkungan*, 146–152.
- Juliantina, F. R., Ayu Citra, D. M., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Tri Bowo, E. (2017). *Manfaat Sirih Merah (Piper Crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif*.
- Juliantina Rachmawaty, F., Mahardika Akhmad, M., Hikmah Pranacipta, S., Nabila, Z., & Muhammad, A. (2018). Optimasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 18(1), 13–19. <https://doi.org/10.18196/mm.180109>
- Kabense, R., Ginting, E. L., Wullur, S., Kawung, N. J., Losung, F., & Tombokan, J. L. (2019). Screening Of The Proteolytic Bacteria Symbiont With Algae *Gracillaria Sp.* *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 421. <https://doi.org/10.35800/jip.7.2.2019.24487>
- Krisyanella, Susilawati, N., & Rivai, H. (2013). Pembuatan Dan Karakterisasi Serta Penentuan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Kering Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri L.*). *Jurnal Farmasi Higea*, 5(1), 9–19.
- Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S., & Sudewi, S. (2015). Aktifitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata *Polycarpa Aurata*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), 32–44. <https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.6481>
- Kurniawan, E., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos Ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1). <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i1.1040>
- Kurniawan, I. (2021). *Pengaruh Penambahan N-Heksana Pada Adulterasi Minyak Kelapa Sawit Dan Minyak Babi Terhadap Sifat Fisik*.
- Kurniawati, E. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Lady, D., & Handoyo, Y. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi ( Perendaman ) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih ( *Piper Betle* ). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41.
- Lamadjido, S. R., Umrah, U., & Jamaluddin, J. (2019). Formulasi Dan Analisis Nilai Gizi Bakso Kotak Dari Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*). *Jurnal*

- Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, 5(2), 166–174. <https://doi.org/10.22487/J24428744.2019.V5.I2.13149>
- Ma'rifah, A. (2012). *Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus*.
- Mabruroh, A. I. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin Dari Tanaman Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*) Dan Identifikasinya. *Skripsi*, 1–86. <http://etheses.uin-malang.ac.id/3229/1/11630061.pdf>
- Mahmudah, F. L., & Atun, S. (2017). *Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Temukunci (Boesenbergia Pandurata) Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans (Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Temu Kunci (Boesenbergia Pandurata) Against Streptococcus Mutans Bacteria)*.
- Manik, D. F., Hertiani, T., & Anshory, H. (2014). Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Khazanah*, 6(2), 1–11. <https://doi.org/10.20885/khazanah.vol6.iss2.art1>
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia Tirucalli L.*). *Jurnal Mipa*, 9(2), 64. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28725>
- Moerfiah, & Supomo, F. D. S. (2011). Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Cf. Fragile Benth.*) Terhadap Bakteri Penyebab Sakit Gigi. *Ekologia*, 11(1), 30–35.
- Moha, D. R. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Methanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz And Pav*) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Resisten Ampisilin. *Advanced Optical Materials*, 10(1), 1–9. <https://doi.org/10.1103/physrevb.101.089902> <http://dx.doi.org/10.1016/j.nantod.2015.04.009> <http://dx.doi.org/10.1038/S41467-018-05514-9> <http://dx.doi.org/10.1038/S41467-019-13856-1> <http://dx.doi.org/10.1038/S41467-020-14365-2> <http://dx.doi.org/10.1038/S41467-020-14365-2>
- Mpila, D. ., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (*Coleus Atropurpureus [L] Benth*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* Dan *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In-Vitro. *Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (Coleus Atropurpureus [L] Benth) Terhadap Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli Dan Pseudomonas Aeruginosa Secara In-Vitro*, 13.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2), 361.
- Mutsaqof, A. A. N., Wiharto, & Suryani, E. (2016). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosis Penyakit Infeksi Menggunakan Forward Chaining. *Jurnal Teknologi & Informasi Itsmart*, 4(1), 43. <https://doi.org/10.20961/its.v4i1.1758>
- Nabila, A. A., Aisyah, R., Sutrisna, E. M., & Dewi, L. M. (2021). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih Merah ( Piper Crocatum Ruiz & Pav . ) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Epidermidis Dan Staphylococcus Aureus*. 344–359.
- Nafis, M. H. (2016). Degradasi Diklorometana Dalam Air Dengan Metode

- Advance Oxidation Treatment (Aot). *Departemen Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga*, 2006, 16–39.
- Nasution, S. (2017). Variabel Penelitian. *Raudhah*, 05(02), 1–9. [Http://Jurnaltarbiyah.Uinsu.Ac.Id/Index.Php/Raudhah/Article/View/182](http://Jurnaltarbiyah.Uinsu.Ac.Id/Index.Php/Raudhah/Article/View/182)
- Negara, K. (2014). Analisis Implementasi Kebijakan Penggunaan Antibiotika Rasional Untuk Mencegah Resistensi Antibiotika Di Rsup Sanglah Denpasar: Studi Kasus Infeksi Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus. *Jurnal Administrasi Rumah Sakit Indonesia*, 1(1), 244383.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid) Sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta Angustifolia L.*). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19–29. [Https://Doi.Org/10.20885/Eksakta.Vol18.Iss1.Art3](https://doi.org/10.20885/Eksakta.Vol18.Iss1.Art3)
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio Cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (Itepa)*, 8(2), 216. [Https://Doi.Org/10.24843/Itepa.2019.V08.I02.P12](https://doi.org/10.24843/Itepa.2019.V08.I02.P12)
- Parfati, N., Rani, K. C., & Jayani, N. I. E. (2018). Modul Penyiapan Simplisia Kelor. *Fakultas Farmasi Universitas Surabaya*, 1–24.
- Parfati, N., & Windono, T. (2017). Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) Kajian Pustaka Aspek Botani, Kandungan Kimia, Dan Aktivitas Farmakologi. *Mpi (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 1(2), 106–115. [Https://Doi.Org/10.24123/Mpi.V1i2.193](https://doi.org/10.24123/Mpi.V1i2.193)
- Pasril, Y., & Aditya, Y. (2014). Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Bakteri *Enterococcus Faecalis* Sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar Dengan Metode Dilusi. *Idj*, 3(1), 88–95.
- Pratiwi, I., & Suswati, I. (2012). Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*). *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Kedokteran Keluarga*, 8(1), 1–5. [Http://Ejournal.Umm.Ac.Id/Index.Php/Sainmed/Article/View/4091/4464](http://ejournal.Umm.Ac.Id/Index.Php/Sainmed/Article/View/4091/4464)
- Prayoga, E. (2013). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Foundations Of Physics*, 34(3), 361–403.
- Purnamaningsih, N. A., Kalor, H., & Atun, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Atcc 11229 Dan *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923. *Syria Studies*, 7(1), 37–72. [Https://Www.Researchgate.Net/Publication/269107473\\_What\\_Is\\_Governance/Link/548173090cf22525dcb61443/Download%0ahttp://Www.Econ.Upf.Edu/~Reynal/Civil\\_Wars\\_12december2010.Pdf%0ahttps://Think-Asia.Org/Handle/11540/8282%0ahttps://Www.Jstor.Org/Stable/41857625](https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_Is_Governance/Link/548173090cf22525dcb61443/download%0ahttp://www.econ.upf.edu/~Reynal/Civil_Wars_12december2010.pdf%0ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0ahttps://www.jstor.org/stable/41857625)
- Puspa, ), Puspita, J., Safithri, M., & Sugiharti, N. P. (2018). *Current Biochemistry Current Biochemistry Antibacterial Activities Of Sirih Merah (Piper Crocatum) Leaf Extracts*. 5(3), 1–10. [Http://Biokimia.Ipb.Ac.Id](http://biokimia.ipb.ac.id)
- Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun

- Kersen (Muntingia Calabura). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1(2), 1–8.
- Putra, A. . B., Bogoriani, N. ., Diantariani, N. ., & Sumadewi, N. L. U. (2020). Jurnal Kimia. *Jurnal Kimia*, 14(41), 94–100.
- Qur'an, S. C. N., Huda, C., & Martha, R. D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Eceng Gondok (Eichhornia Crassipes) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 194–202. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.270>
- Quraisy, A., & Madya, S. (2021). Analisis Nonparametrik Mann Whitney Terhadap Perbedaan Kemampuan Pemecahan Masalah Menggunakan Model Pembelajaran Problem Based Learning. *Variansi: Journal Of Statistics And Its Application On Teaching And Research*, 3(1), 51–57. <https://doi.org/10.35580/Variansium23810>
- Rachmadenawanti, E., Hermansyah, B., & Hermansyah, Y. (2016). Uji Aktivitas Fraksi Diklorometana Ekstrak Metanol Bangle ( Zingiber Cassumunar Roxb .) Sebagai Terapi Komplementer Malaria Secara In Vivo ( The Activity Test Of Dichloromethane Fraction Of Bangle ( Zingiber Cassumunar Roxb .) Methanolic Extract As Comple. *E-Journal Pustaka Kesehatan*, 4(2), 205–209.
- Rachmawaty, D. U. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat Dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (Zea Mays Ssaccharata Sturt) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escheria Coli. *July*, 1–23.
- Rahmawati, H. (2021). *Senyawa Tanin Pada Daun Kelor (Moringa Oleifera L.) Efektif Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus: Literature Review*. 6.
- Ramadhan, S., Iswari, R. S., Marianti, A., Ramadhan, S., Iswari, R. S., & Marianti, A. (2019). Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah ( Piper Crocatum Ruiz & Pav .) Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Kadar Glutation Peroksidase Tikus Jantan Hiperqlikemik. 07(1), 1–10.
- Ramdani, D., Majuki, Marjuki, & Chuzaemi, S. (2017). Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Dalam Proses Ekstraksi Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia L.) Pada Pakan Terhadap Viabilitas Protozoa Dan Produksi Gas In-Vitro. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 27(2), 54–62. <https://doi.org/10.21776/Ub.Jiip.2017.027.02.07>
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2018). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 Dan 96% Sargassum Polycystum Dari Madura. *Journal Of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(2), 35–48. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.1>
- Rizqa, O. D. (2012). Standardisasi Simplisia Daun Justicia Gendarussa Burm F . Dari Berbagai Tempat Tumbuh. *Departemen Farmakognosi Dan Fitokimia Universitas Airlangga*, 14–18.
- Romadanu, R., Hanggita, S., & Lestari, S. (2014). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (Nelumbo Nucifera). *Jurnal Fishtech*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.36706/fishtech.v3i1.3523>
- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2017). Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine Americana Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149. <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.27>



- Safitri, R. (2010). Demam Tifoid Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Pku Muhammadiyah Surakarta Tahun 2009 Intan Rakhma Safitri Fakultas Farmasi. *Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta*.
- Samudra, A. (2014). *Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Salam ( Syzygium Polyanthum Wight) Dari Tiga Tempat Tumbuh Di Indonesia* (Nomor September).
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove Sonneratia Alba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9. <https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659>
- Septiani, S., Dewi, E. N., & Wijayanti, I. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (Cymodocea Rotundata) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli (Antibacterial Activities Of Seagrass Extracts (Cymodocea Rotundata) Against Staphylococcus Aureus And Escherichia Coli). *Saintek Perikanan : Indonesian Journal Of Fisheries Science And Technology*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.1-6>
- Sholikin, & Nurhidayatus, L. (2016). Identifikasi Fraksi Aktif Antivirus Hepatitis C Dari Ekstrak Etanol 80% Herba Scoparia Dulcis Linn. *Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Departemen Farmakognosi Dan Fatokimia : Surabaya*.
- Siwi, D. (2016). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Delima (Punica Granatum L.) Dan Tetrasiklin Terhadap Pseudomonas Aeruginosa Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik. *Journal Information*, 10, 1–16.
- Soleqah, A. D. (2016). *Identifikasi Potensi Interaksi Antibiotik Dengan Obat Lain Pada Terapi Pneumonia Di Rsud Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2014-2015*. Universitas Sebelas Maret.
- Suardi. (2020). Jbee : Journal Business Economics And Entrepreneurship. *Journal Business Economics And Entrepreneurship*, 2(1), 1–8.
- Sugiarti, L., & Setyawati, T. (2017). Karakteristik Mutu Simplisia Rimpang Jahe Di Pj.Cap Klanceng Kudus. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan*, 2 (5), 43–95.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (Hylocereus Polyrhizus). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T. E., & Sirait, G. R. B. (2015). Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (Malus Sylvestris Mill.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus Dan Pseudomonas Sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah Pugh. *J. Ternak Tropika*, 16(2), 1–10.
- Suryadini, H. (2019). Uji Parameter Standard Dan Penapisan Fitokimia Pada Daun Steril Kalakai (Stenochlaena Palustris (Burm.F.) Bedd.) Menggunakan Ekstraksi Bertingkat. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 2(1), 40–51. <https://doi.org/10.29313/jiff.v2i1.3968>
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (Zea Mays L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92>
- Theodora, C., Gunawan, I., & Swantara, I. (2019). Isolasi Dan Identifikasi

- Golongan Flavonoid Pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus Manihot L.*). *Jurnal Kimia*.
- Ulfah, M. U. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Farmaku (Farmasi Muhammadiyah Kuningan)*, 5(1), 25–31. <https://stikes-muhammadiyahku.ac.id/ojs.stikes-muhammadiyahku.ac.id/index.php/jurnalfarmaku/article/view/82>
- Utami, M., Widiawati, Y., & Hidayah, Hexa Apriliani. (2013). Keragaman Dan Pemanfaatan Simplisia Nabati Yang Diperdagangkan Di Purwokerto. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 30(1), 15–24.
- Utami, N. F., Nurdayanty, S. M., Sutanto, & Suhendar, U. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum Minahassae Teijsm. & Binn.*). *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-Methoxyphenylcalix[4]Resorcinarene Compound Modified By Hexadecyltrimethylammonium-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>
- Wahyuni, R., Guswandi, & Rivai, H. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(2), 126–133.
- Wahyusi, K. N., Astari, R. Z., & Irmawati, N. D. (2020). Koefisien Perpindahan Massa Ekstraksi Flavonoid Dari Buah Pare Dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia*, 14(2), 40–44. [https://doi.org/10.33005/jurnal\\_tekkim.v14i2.2024](https://doi.org/10.33005/jurnal_tekkim.v14i2.2024)
- Wardani, A. K., & Pertiwi, F. N. E. (2013). Produksi Etanol Dari Tetes Tebu Oleh *Saccharomyces Cerevisiae* Pembentuk Flok (Nrrl – Y 265). *Agritech*, 33(02), 131–139. <https://doi.org/10.22146/agritech.9810>
- Widiyastuti, Y., Haryanti, S., & Subositi, D. (2013). Karakterisasi Morfologi Dan Kandungan Minyak Atsiri Beberapa Jenis Sirih (*Piper Sp.*) Morphological Characterization And Volatile Oil Contain Of Various (*Piper Sp.*). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 6(2), 86–93.
- Wigunarti, A. H., Pujiyanto, S., & Suprihadi, A. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan Bakteri *Escherichia Coli*. *Berkala Bioteknologi*, 2(2), 5–12.
- Wong, P. J. (2018). Efektivitas Pelarut Etanol 96 % Dan Aquadest Pada Ekstrak Jahe Merah Terhadap Jamur *Candida Albicans* ( In Vitro ). *Repositori Institusi Usu*, 1(1), 16–21.
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. (2019). Identifikasi Dan Karakterisasi

Bakteriamilolitik Pada Umbi Colocasia Esculenta L. Secara Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 6(2), 247–258. [Http://ejournal.bppt.go.id/index.php/jbbi](http://ejournal.bppt.go.id/index.php/jbbi)

Yanti, Y. N., & Mitika, S. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 158–168.

Yusriana, C. S., Budi, C. S., & Dewi, T. (2014). Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*, 5(2), 1–7.



## LAMPIRAN

## Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman Sirih Merah



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU



Jl. Lahor 87 Kota Batu  
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan  
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang  
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id

Nomor : 074/ 218/ 102.20-A/ 2022  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Sirih Merah**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : DIKA IKHLASUL AMAL  
NIM : 1713206006  
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman sirih merah

Kingdom : Plantae  
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)  
Divisi : Angiospermae/ Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Dicotyledonae/ Magnoliopsida (Berkeping dua)  
Bangsa : Piperales  
Suku : Piperaceae  
Marga : Piper  
Jenis : *Piper crocatum* Ruiz & Pav.  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61-62b-63a-64a: Piperaceae-1: Piper.

2. Morfologi : Habitus: Perdu, merambat. Batang: Berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur, hijau.  
Daun: Tunggal, ujung meruncing, bulat panjang, pangkal bentuk jantung, tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, bertangkai, permukaan halus, pertulangan menyirip, warna bagian bawahnya merah mengkilap. Akar: Tunggang, bulat, coklat kekuningan.

3. Bagian yang digunakan : Daun.  
4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 17 Maret 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU

ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.

PÉMBINA

NIP. 19680203 199203 1 004

## Lampiran 2 Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri



Surabaya, 22 April 2022

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibuat oleh :

Nama : Mita Uly Andri  
 Instansi : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung  
 Tanggal permintaan : 04 April 2022  
 Keperluan : Penelitian skripsi dengan judul, "Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, L.) dan Ekstrak Daun Senggang (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*."

Keterangan jenis strain

Bakteri : *Escherichia coli*  
 ATCC : ATCC 25922  
 Passage : #4

Hasil Uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 :

NO	JENIS UJI	HASIL	
1	Pengecatan Gram	Gram negatif batang	
2	KIA	Larung	Acid
		Dapur	Acid
		Gas	Positif
		H <sub>2</sub> S	Negatif
3	Glukosa	Positif, Gas Positif	
4	Laktosa	Positif, Gas Positif	
5	Maltosa	Positif, Gas Positif	
6	Manrosa	Positif, Gas Positif	
7	Sukrosa	Negatif	
8	Indol	Positif	
9	Methyl Red	Positif	
10	Voges Proskauer	Negatif	
11	Simon citrat	Negatif	
12	Urease	Negatif	
13	Motility	Positif	
14	Lysin Decarboxilase	Positif	

Manajer Teknik

dr. Titiek S. M.Kes Kim, Sp.MK  
 NIP. 198207262010122002



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN  
 KARYA PUTRA BANGSA - TULUNGAGUNG

### Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian

#### 1. Pembuatan Ekstrak



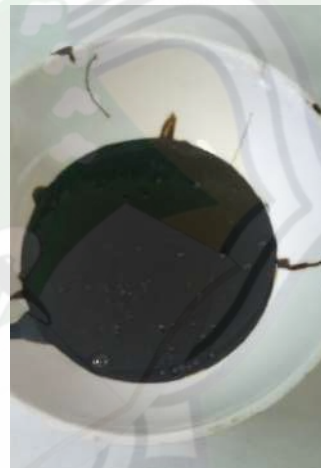
Penimbangan serbuk Simplisia



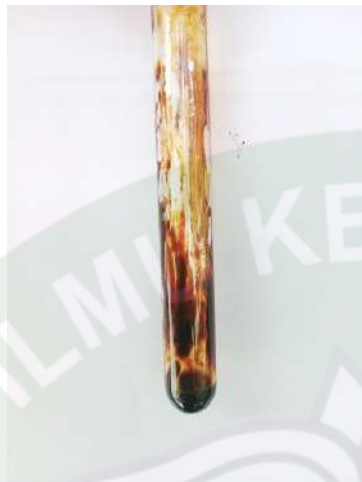
Maserasi Daun Sirih Merah



Penyaringan

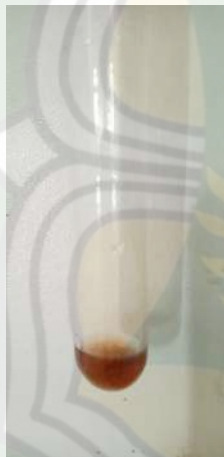


Ekstrak Daun Sirih Merah



Uji Bebas etanol

2. Skrining Fitokimia ekstrak DSM



Flavonid



Saponin



Tannin

### 3. Fraksinasi Ekstrak DSM



Fraksinasi *Aquadestilata* dan  
Diklorometana



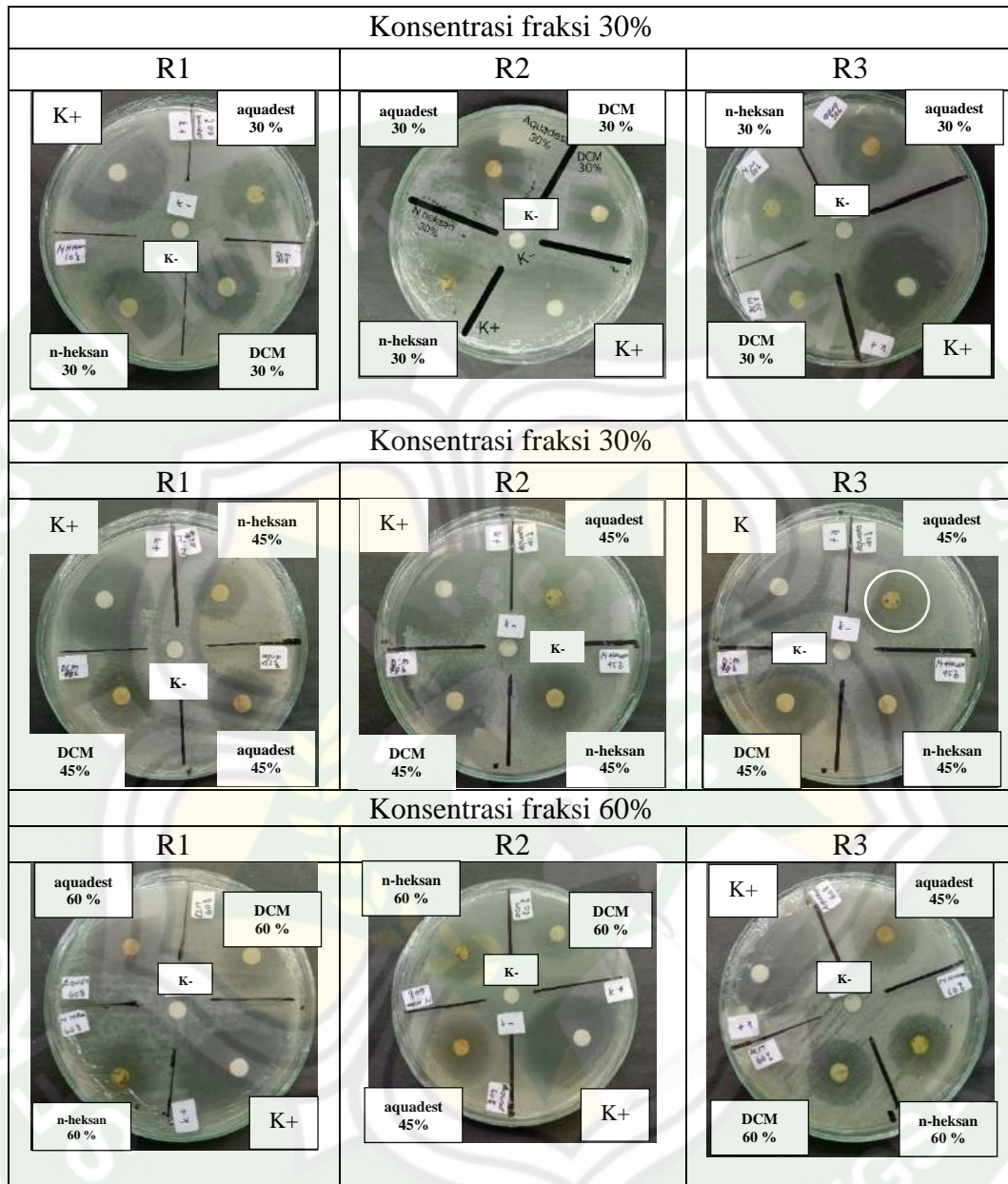
Fraksinasi *Aquadestilata* dan N-  
heksan

### 4. Peremajaan Bakteri





## 5. Hasil uji aktivitas antibakteri



## Lampiran 4 Perhitungan Bahan

1. Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned}
 \text{Gram} &= \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{volume} \\
 &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\
 &= 0,08 \text{ g}
 \end{aligned}$$

## 2. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{\text{Mr}}{1000} \times \text{volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 15 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

### Lampiran 5 Pembuatan Larutan Uji

1. Konsentrasi 30% =  $\frac{30}{100} \times \text{volume}$   
 $= \frac{30}{100} \times 1 \text{ ml}$   
 $= 0,3 \text{ g}$
2. Konsentrasi 45% =  $\frac{45}{100} \times \text{volume}$   
 $= \frac{45}{100} \times 1 \text{ ml}$   
 $= 0,45 \text{ g}$
3. Konsentrasi 60% =  $\frac{60}{100} \times \text{volume}$   
 $= \frac{60}{100} \times 1 \text{ ml}$   
 $= 0,3 \text{ g}$

### Lampiran 6 Perhitungan Hasil

#### 1. Uji Kadar Air

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	Hasil
Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> <i>Ruiz &amp; Pav.</i> )	10	9,08	9,2%

$$\begin{aligned}\text{Uji kadar air} &= \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{10 - 9,08}{10} \times 100\% \\ &= 9,2\%\end{aligned}$$

## 2. Rendemen Ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun Sirih Merah ( <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.)	500 g	83.5 g	16.7%

$$\begin{aligned} \text{Rumus \% rendemen ekstrak} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot awal serbuk simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{83.5 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 16.7\% \end{aligned}$$

## 3. Rendemen Fraksi

Sampel	Bobot ekstrak	Bobot fraksi	Hasil
Fraksi aquadestilata	5g	3,10 g	62%
Fraksi diklorometana	5g	0,58 g	11,6%
Fraksi n-heksan	5g	0,5 g	10%

$$\text{Rumus \% rendemen fraksi} = \frac{\text{bobot fraksi}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen fraksi aquadestilata} = \frac{3,10 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% = 62\%$$

$$\% \text{ rendemen fraksi etil asetat} = \frac{0,58 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% = 11,6 \%$$

$$\% \text{ rendemen fraksi n-heksan} = \frac{0,5 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% = 10.4\%$$

## 4. Perhitungan Zona Hambat

Konsentrasi 30%			
	R1	R2	R3
Aquadest	$\frac{20 + 20}{2} = 20$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$
DCM	$\frac{17 + 18}{2} = 17,5$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$
N-heksan	$\frac{20 + 20}{2} = 20$	$\frac{23 + 22}{2} = 22,5$	$\frac{25 + 20}{2} = 22,5$
K+	$\frac{35 + 30}{2} = 32,5$	$\frac{35+30}{2} = 32,5$	$\frac{35 + 30}{2} = 32,5$
K-	0	0	0
Konsentrasi 45 %			
	R1	R2	R3
Aquadest	$\frac{23 + 22}{2} = 22,5$	$\frac{22 + 22}{2} = 22$	$\frac{23 + 22}{2} = 22,5$
DCM	$\frac{17 + 18}{2} = 17,5$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$
N-heksan	$\frac{25 + 30}{2} = 27,5$	$\frac{25 + 25}{2} = 25$	$\frac{25 + 30}{2} = 27,5$
K+	$\frac{35 + 30}{2} = 32,5$	$\frac{35+30}{2} = 32,5$	$\frac{35 + 30}{2} = 32,5$
K-	0	0	0
Konsentrasi 60 %			
	R1	R2	R3
Aquadest	$\frac{25 + 20}{2} = 22,5$	$\frac{25 + 20}{2} = 22,5$	$\frac{23 + 22}{2} = 22,5$
DCM	$\frac{25 + 20}{2} = 22,5$	$\frac{25 + 30}{2} = 27,5$	$\frac{25 + 25}{2} = 25$
N-heksan	$\frac{30 + 30}{2} = 30$	$\frac{25 + 25}{2} = 25$	$\frac{20 + 20}{2} = 20$
K+	$\frac{35 + 30}{2} = 32,5$	$\frac{35+30}{2} = 32,5$	$\frac{35 + 30}{2} = 32,5$
K-	0	0	0

## Lampiran 7 Hasil analisis data fraksi daun sirih merah terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

### 1. Table Input Data

The screenshot shows the IBM SPSS Statistics Data Editor interface. The data table has two columns: 'zona\_hambat' and 'Fraksi'. The 'zona\_hambat' column contains values ranging from 20.00 to 27.50, and the 'Fraksi' column contains values ranging from 1 to 8. The table is displayed in a grid format with 22 rows of data.

Case	zona_hambat	Fraksi
1	20.00	1
2	20.00	1
3	20.00	1
4	22.50	2
5	22.00	2
6	22.50	2
7	22.50	3
8	22.50	3
9	22.50	3
10	17.50	4
11	20.00	4
12	20.00	4
13	25.00	5
14	22.50	5
15	22.50	5
16	27.50	6
17	25.00	6
18	27.50	6
19	20.00	7
20	22.50	7
21	22.50	7
22	27.50	8

### 2. Table uji normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
Fraksi		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	aquadestilata	.	3	.	.	3	.
Zona	30%						
Hambat	aquadestilata	.385	3	.	.750	3	.000
	45%						
	aquadestilata	.	3	.	.	3	.
	60%						
	diklorometana	.385	3	.	.750	3	.000
	30%						
	diklorometana	.385	3	.	.750	3	.000
	45%						
	diklorometana	.385	3	.	.750	3	.000
	60%						
	n-heksan 30%	.385	3	.	.750	3	.000
	n-heksan 45%	.385	3	.	.750	3	.000
	n-heksan 60%	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K-	.	3	.	.	3	.
	K+	.	3	.	.750	3	.000

Analisis:

- a. Jika  $p\text{-value} > 0,05$ : Data berdistribusi normal.
- b. Jika  $p\text{-value} < 0,05$ : Data berdistribusi tidak normal

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil ada yang memiliki signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini berdistribusi tidak normal.

### 3. Table uji homogenitas

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>						
			Levene	df1	df2	Sig.
			Statistic			
Diameter Zona Hambat	Based on Mean		3.400	10	22	.008

Analisis:

- a. Jika  $p\text{-value} > 0,05$ : Data homogen.
- b. Jika  $p\text{-value} < 0,05$ : Data tidak homogen

Kesimpulan: Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Levene statistic* didapatkan hasil signifikansi 0,008 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian ini tidak homogen.

### 4. Tabel uji *Kruskal-Wallis*

		<b>Ranks</b>			
		Fraksi	N	Mean Rank	
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	8.00	
	aquadestilata 45%		3	15.33	
	aquadestilata 60%		3	17.00	
	diklorometana 30%		3	6.67	
	diklorometana 45%		3	19.17	
	diklorometana 60%		3	26.17	
	n-heksan 30%		3	14.00	
	n-heksan 45%		3	26.17	
	n-heksan 60%		3	20.50	
	K-		3	2.00	
	K+		3	32.00	
	Total			33	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
Diameter Zona Hambat	
Kruskal-Wallis H	27.722
df	10
Asymp. Sig.	.002

- Jika  $p\text{-value} > 0,05$ : Tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Jika  $p\text{-value} < 0,05$ : Ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kesimpulan : Berdasarkan analisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,002 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 5. Tabel subset *too-key*

Diameter Zona Hambat						
Tukey HSD <sup>a</sup>						
Fraksi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
K-	3	.0000				
diklorometana 30%	3		19.1667			
aquadestilata 30%	3		20.0000	20.0000		
n-heksan 30%	3		21.6667	21.6667	21.6667	
aquadestilata 45%	3		22.3333	22.3333	22.3333	
aquadestilata 60%	3		22.5000	22.5000	22.5000	
diklorometana 45%	3		23.3333	23.3333	23.3333	
n-heksan 60%	3			25.0000	25.0000	
diklorometana 60%	3				26.6667	
n-heksan 45%	3				26.6667	
K+	3					32.5000
Sig.		1.000	.206	.070	.070	1.000

## 6. Hasil Uji Mann-Witney

Uji Mann-Witney		Sig.	Uji Mann-Witney		Sig.		
Aquadest 30%	Aquadest 45%	0,034	DCM 60%	N-Heksan 30%	0,043		
	Aquadest 60%	0,025		N-Heksan 45%	1,000		
	DCM 30%	0,317		N-Heksan 60%	0,653		
	DCM 45%	0,034		K-	0,034		
	DCM 60%	0,034		K+	0,034		
	N-Heksan 30%	0,114					
	N-Heksan 45%	0,034					
	N-Heksan 60%	0,121					
	K-	0,025					
	K+	0,025					
Aquadest 45%	Aquadest 60%	0,317	N-Heksan 30%	N-Heksan 45%	0,043		
	DCM 30%	0,043		N-Heksan 60%	0,369		
	DCM 45%	0,197		K-	0,034		
	DCM 60%	0,043		K+	0,034		
	N-Heksan 30%	0,796					
	N-Heksan 45%	0,043					
	N-Heksan 60%	0,507					
	K-	0,034					
	K+	0,034					
	Aquadest 60%	DCM 30%		0,034	N-Heksan 45%	N-Heksan 60%	0,653
DCM 45%		0,317	K-	0,034			
DCM 60%		0,034	K+	0,034			
N-Heksan 30%		0,317					
N-Heksan 45%		0,034					
N-Heksan 60%		0,487					
K-		0,025					
K+		0,025					
DCM 30%		DCM 45%	0,043	N-Heksan 60%		K-	0,037
		DCM 60%	0,043			K+	0,037
	N-Heksan 30%	0,099					
	N-Heksan 45%	0,043					
	N-Heksan 60%	0,105					
	K-	0,034					
	K+	0,034					
DCM 45%	DCM 60%	0,068	K-	K+	0,025		
	N-Heksan 30%	0,197					
	N-Heksan 45%	0,068					
	N-Heksan 60%	0,653					
	K-	0,034					
	K+	0,034					



7. Tabel uji *Mann-Whitney*

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	2.00	6.00
	aquadestilata 45%		3	5.00	15.00
	Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	2.00	6.00
	aquadestilata 60%		3	5.00	15.00
	Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

**Ranks**

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 30%	3	4.00	12.00
Hambat	diklorometana 30%	3	3.00	9.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

**Ranks**

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 30%	3	2.00	6.00
Hambat	diklorometana 45%	3	5.00	15.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	2.00	6.00
	diklorometana 60%		3	5.00	15.00
Total			6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
Diameter Zona Hambat	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	2.50	7.50
	n-heksan 30%		3	4.50	13.50
Total			6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
Diameter Zona Hambat	
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.581
Asymp. Sig. (2-tailed)	.114
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 30%		3	2.00	6.00
Hambat	n-heksan 45%		3	5.00	15.00
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 30%		3	2.50	7.50
Hambat	n-heksan 60%		3	4.50	13.50
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		1.500
Wilcoxon W		7.500
Z		-1.549
Asymp. Sig. (2-tailed)		.121
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.200 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	5.00	15.00
	K-		3	2.00	6.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)		.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 30%		3	2.00	6.00
	K+		3	5.00	15.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)		.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 45%		3	3.00	9.00
	aquadestilata 60%		3	4.00	12.00
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		3.000
Wilcoxon W		9.000
Z		-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)		.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.700 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 45%		3	5.00	15.00
	diklorometana 30%		3	2.00	6.00
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)		.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 45%		3	2.67	8.00
	diklorometana 45%		3	4.33	13.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.291
Asymp. Sig. (2-tailed)	.197
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 45%		3	2.00	6.00
	diklorometana 60%		3	5.00	15.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 45%		3	3.67	11.00
Hambat	n-heksan 30%		3	3.33	10.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.258
Asymp. Sig. (2-tailed)	.796
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 45%		3	2.00	6.00
Hambat	n-heksan 45%		3	5.00	15.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>



		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 45%		3	3.00	9.00
Hambat	n-heksan 60%		3	4.00	12.00
Total			6		

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

	Diameter Zona 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>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 45%		3	5.00	15.00
Hambat	K-		3	2.00	6.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 45%		3	2.00	6.00
	K+		3	5.00	15.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 60%		3	5.00	15.00
	diklorometana 30%		3	2.00	6.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 60%		3	3.00	9.00
	diklorometana 45%		3	4.00	12.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 60%		3	2.00	6.00
	diklorometana 60%		3	5.00	15.00
Total			6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 60%		3	4.00	12.00
	n-heksan 30%		3	3.00	9.00
	Total		6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	aquadestilata 60%		3	2.00	6.00
	n-heksan 45%		3	5.00	15.00
	Total		6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 60%		3	3.00	9.00
Hambat	n-heksan 60%		3	4.00	12.00
		Total	6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		3.000
Wilcoxon W		9.000
Z		-.696
Asymp. Sig. (2-tailed)		.487
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.700 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	aquadestilata 60%		3	5.00	15.00
Hambat	K-		3	2.00	6.00
		Total	6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)		.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 30%		3	2.00	6.00
	diklorometana 45%		3	5.00	15.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)		.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 30%		3	2.00	6.00
	diklorometana 60%		3	5.00	15.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)		.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

**Ranks**

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 30%	3	2.33	7.00
	n-heksan 30%	3	4.67	14.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.650
Asymp. Sig. (2-tailed)	.099
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

**Ranks**

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 30%	3	2.00	6.00
	n-heksan 45%	3	5.00	15.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 30%		3	2.33	7.00
	n-heksan 60%		3	4.67	14.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		1.000
Wilcoxon W		7.000
Z		-1.623
Asymp. Sig. (2-tailed)		.105
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.200 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 30%		3	5.00	15.00
	K-		3	2.00	6.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>



		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana	30%	3	2.00	6.00
	K+		3	5.00	15.00
	Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana	45%	3	2.17	6.50
	diklorometana	60%	3	4.83	14.50
	Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.500
Wilcoxon W		6.500
Z		-1.826
Asymp. Sig. (2-tailed)		.068
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

**Ranks**

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 45%	3	4.33	13.00
	n-heksan 30%	3	2.67	8.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.291
Asymp. Sig. (2-tailed)	.197
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>b</sup>

**Ranks**

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 45%	3	2.17	6.50
	n-heksan 45%	3	4.83	14.50
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	6.500
Z	-1.826
Asymp. Sig. (2-tailed)	.068
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 45%		3	3.17	9.50
	n-heksan 60%		3	3.83	11.50
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		3.500
Wilcoxon W		9.500
Z		-.449
Asymp. Sig. (2-tailed)		.653
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.700 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 45%		3	5.00	15.00
	K-		3	2.00	6.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana		3	2.00	6.00
	45%				
	K+		3	5.00	15.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana		3	5.00	15.00
	60%				
	n-heksan 30%		3	2.00	6.00
	Total		6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)		.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 60%		3	3.50	10.50
	n-heksan 45%		3	3.50	10.50
	Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
Diameter Zona Hambat	
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	10.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 60%		3	3.83	11.50
	n-heksan 60%		3	3.17	9.50
	Total		6		

Test Statistics <sup>a</sup>	
Diameter Zona Hambat	
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	9.500
Z	-.449
Asymp. Sig. (2-tailed)	.653
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 <sup>b</sup>

## Ranks

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 60%	3	5.00	15.00
	K-	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

## Ranks

	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	diklorometana 60%	3	2.00	6.00
	K+	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics<sup>a</sup>

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	n-heksan 30%		3	2.00	6.00
	n-heksan 45%		3	5.00	15.00
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)		.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona Hambat	n-heksan 30%		3	2.83	8.50
	n-heksan 60%		3	4.17	12.50
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		2.500
Wilcoxon W		8.500
Z		-.899
Asymp. Sig. (2-tailed)		.369
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.400 <sup>b</sup>

	Ranks		Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi	N		
Diameter Zona	n-heksan 30%	3	5.00	15.00
Hambat	K-	3	2.00	6.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

	Ranks		Mean Rank	Sum of Ranks
	Fraksi	N		
Diameter Zona	n-heksan 30%	3	2.00	6.00
Hambat	K+	3	5.00	15.00
	Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>



		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	n-heksan 45%		3	3.83	11.50
Hambat	n-heksan 60%		3	3.17	9.50
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		3.500
Wilcoxon W		9.500
Z		-.449
Asymp. Sig. (2-tailed)		.653
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.700 <sup>b</sup>

		Ranks			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	n-heksan 45%		3	5.00	15.00
Hambat	K-		3	2.00	6.00
Total			6		

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

		Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		6.000
Z		-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.100 <sup>b</sup>

		<b>Ranks</b>			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	n-heksan 45%		3	2.00	6.00
Hambat	K+		3	5.00	15.00
		Total	6		

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

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

		<b>Ranks</b>			
		Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	n-heksan 60%		3	5.00	15.00
Hambat	K-		3	2.00	6.00
		Total	6		

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

	Diameter Zona 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>

<b>Ranks</b>				
	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	n-heksan 60%	3	2.00	6.00
Hambat	K+	3	5.00	15.00
	Total	6		

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

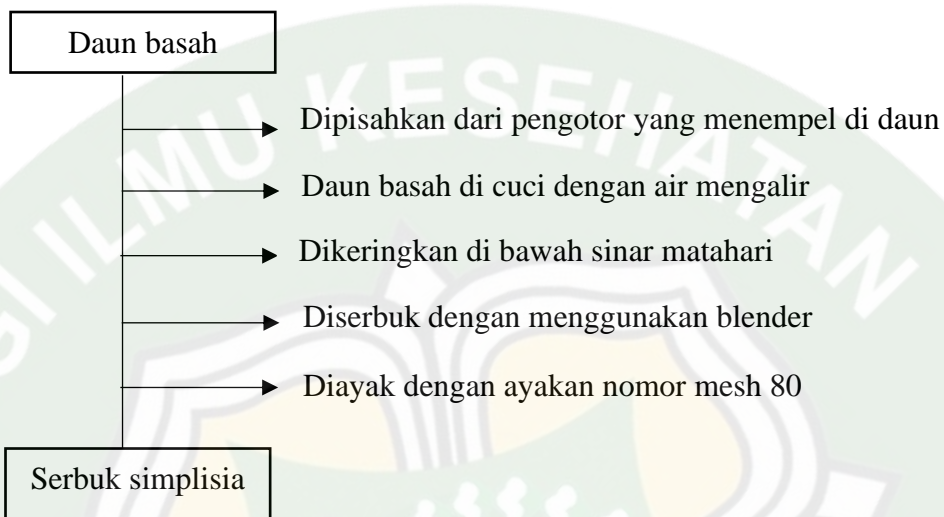
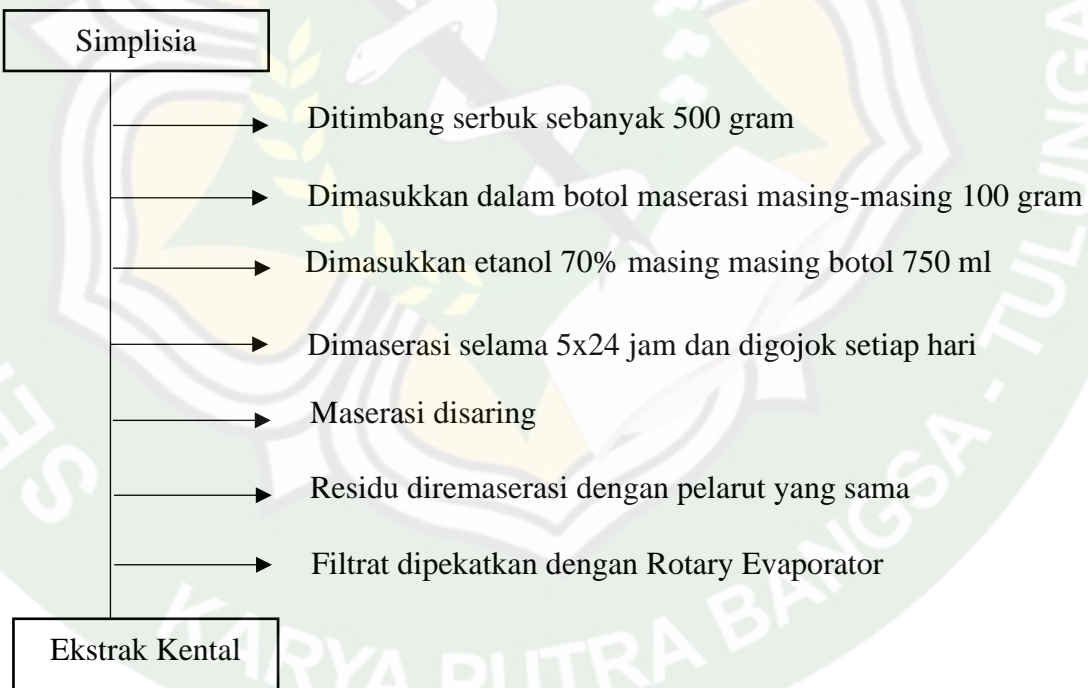
	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

<b>Ranks</b>				
	Fraksi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Diameter Zona	K-	3	2.00	6.00
Hambat	K+	3	5.00	15.00
	Total	6		

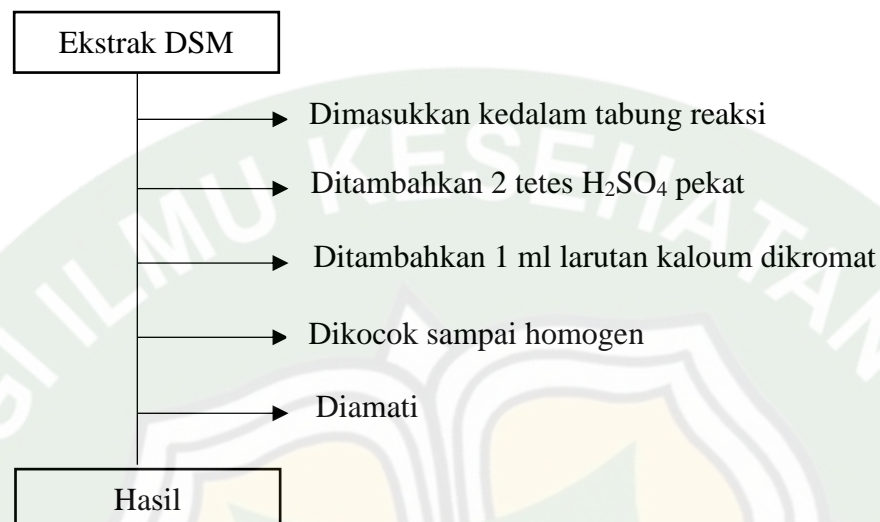
**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 <sup>b</sup>

## Alur Kerja

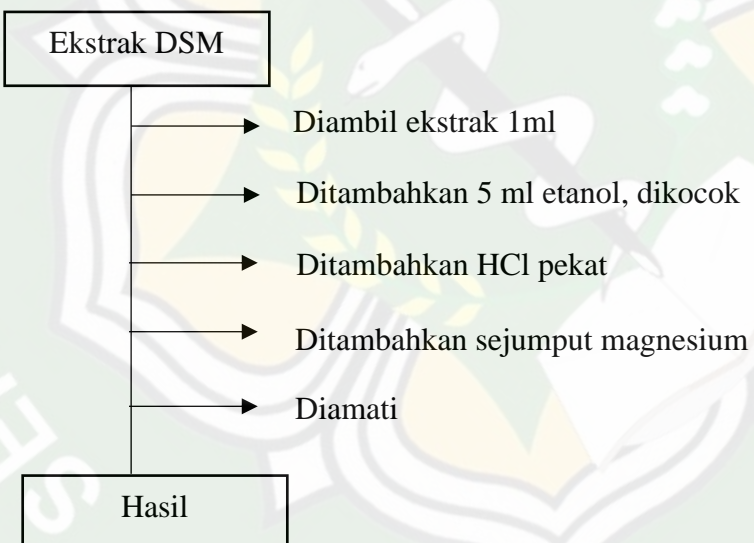
**1. Pembuatan Simplisia****2. Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Merah Dengan Metode Maserasi**

### 3. Uji Bebas Etanol



### 4. Skrining Fitokimia

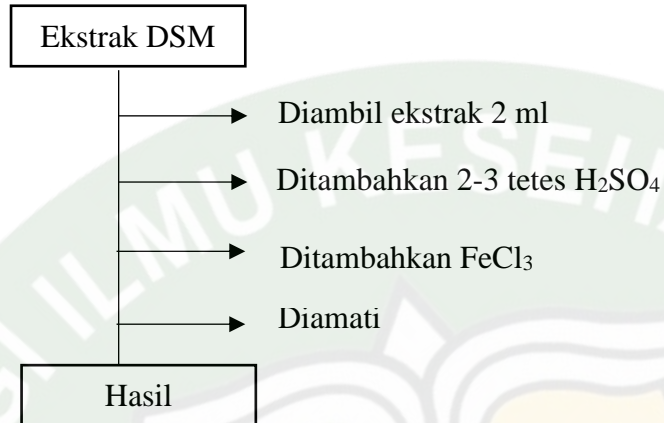
#### a. Flavonoid



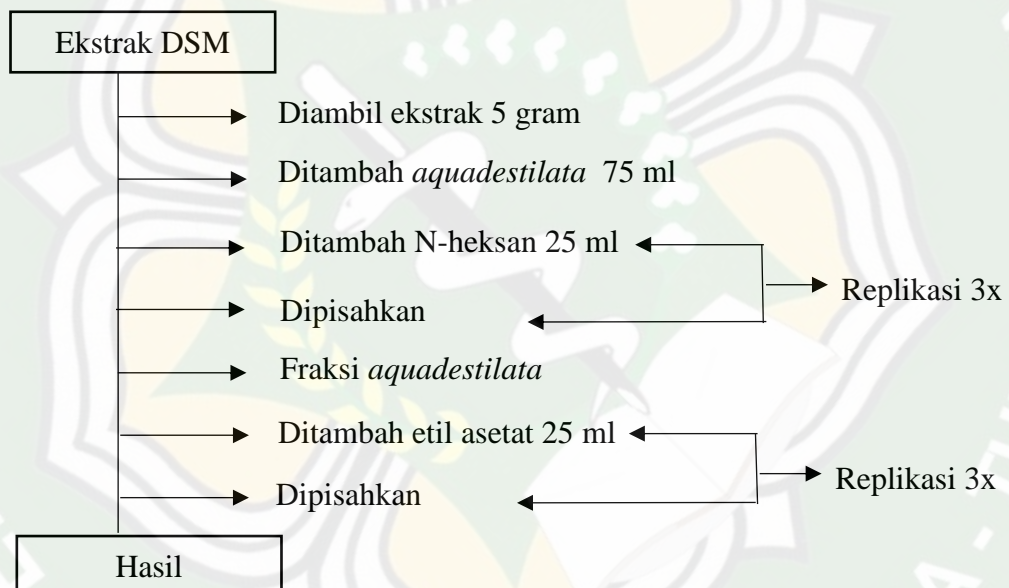
#### b. Saponin



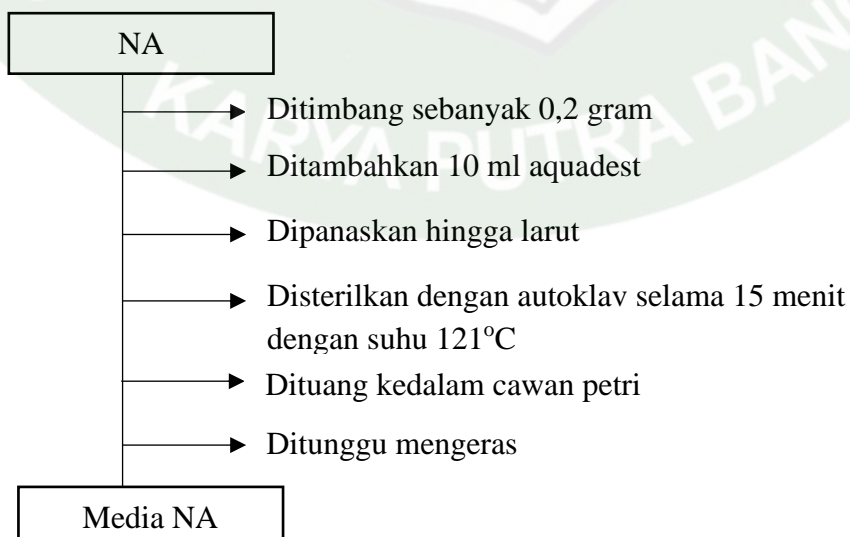
### c. Tannin



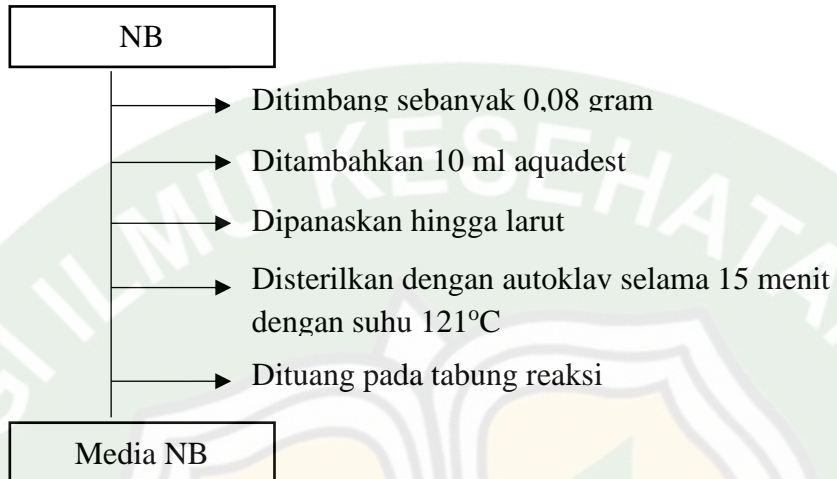
### 5. Pembuatan Fraksi Daun Sirih Merah



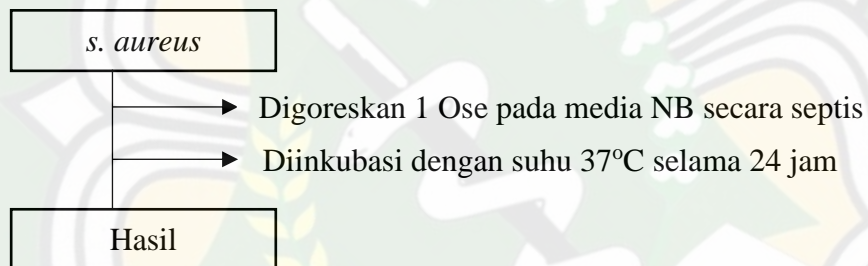
### 6. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri



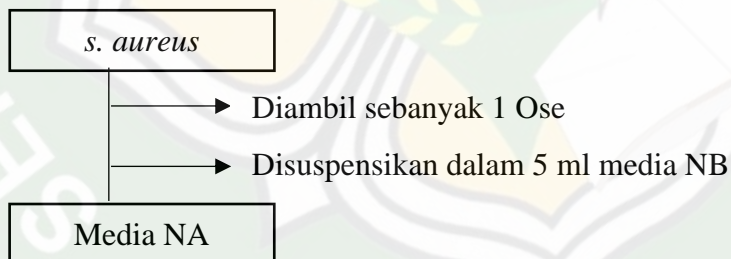
### 7. Pembuatan Media NB



### 8. Peremajaan Bakteri



### 9. Pembuatan Suspense Bakteri



### 10. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih Merah

