

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN JARAK (*Jatropha curcas* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Adityo Teguh Wicaksono
18123631A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN JARAK (*Jatropha curcas* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Adityo Teguh Wicaksono
18123631A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK
ETANOL DAUN JARAK (*Jatropha curcas L.*) DAN DAUN SIRIH HIJAU
(*Piper betle L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :

Adityo Teguh Wicaksono
18123631A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 25 April 2016



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,


Ismi Rahmawati, M.Si., Apt


Pembimbing Pendamping,

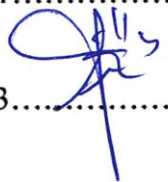
Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

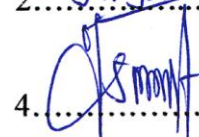
Penguji :

1. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
2. Dr. Ana Indrayati, M.Si
3. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

1. 

2. 

3. 

4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

*“Allah menghendaki untukmu kemudahan dan tidak
menghendaki untukmu kesukaran”
(QS Al-Baqarah : 185)*

*“Of all things, knowledge is the best, because it is not subject to liability and can
not be stolen, because it can not be bought, and can not be destroyed”*

(Hitopadesa)

*Skripsi ini kupersembahkan untuk :
Bapak dan Ibuku tercinta,
Kakak-kakakku, Keponakanku, serta seluruh keluargaku tersayang,
Sahabat, Almamater, serta Bangsa dan Negaraku*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 25 April 2016



Adityo Teguh Wicaksono

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT berkat limpahan rahmat serta kasih-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK (*Jatropha curcas* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Penulisan Skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Selesainya penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik secara moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djohny Tarigan , MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt. selaku Pembimbing Utama dan Fransiska Leviana, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.

5. Ilham kuncahyo, M.Sc, Apt selaku pembimbing akademik yang telah memberi semangat kepada penulis.
6. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
7. Teristimewa kepada Orang Tuaku Bapak Junianto dan Ibu Suismi yang selalu mendoakan, memberikan motivasi, dan pengorbanannya yang tidak dapat terukur oleh apapun baik dari segi moril maupun materi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Kepada saudaraku Aris Sugandono, Dwi Widiyanto, dan Ratih Febriyanti yang telah memberikanku motivasi, semangat dan dukungan yang sangat berharga.
9. Rekan penelitian sekaligus sahabatku Syahdat dan Lalu atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini. Serta rekan-rekan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi (Ria, Jojo, Nur dkk).
10. Alm. Zulfian Muhamad Fauzan yang telah menjadi sahabat serta saudaraku, Majid yang telah sabar menjadi tempat keluh kesahku, Albi, Lia, Putra, Cahyo, Noviana, Dea, Dian, Shely dkk yang telah menemani perjuanganku menyelesaikan skripsi ini.
11. Seluruh rekan kerjaku di apotek Bunda (Rizqa, Nia, Nina, Edy, Rosy, Wai dkk) atas semangat dan motivasinya.
12. Teman-teman seperjuanganku Teori 5 2012, FSTOA 2015/2016, KKN 2015/2016 dan teman-teman S1 Farmasi yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu farmasi khususnya obat tradisional Indonesia.

Surakarta,

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Tanaman jarak (<i>Jatropha curcas</i> L.)	7
1. Sistematika tanaman.....	7
2. Morfologi	7
3. Nama lain tanaman.....	8
4. Khasiat.....	8
5. Kandungan kimia	8
6. Perkembangan penelitian	9
B. Tanaman sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.).....	10
1. Sistematika tanaman.....	10
2. Morfologi	10
3. Nama lain tanaman.....	11
4. Khasiat.....	11
5. Kandungan kimia	11

6. Perkembangan penelitian	11
C. Mekanisme senyawa alam sebagai antibakteri	12
1. Flavonoid	13
2. Polifenol	13
3. Minyak atsiri	13
4. Tanin	14
5. Terpenoid	14
6. Alkaloid.....	14
7. Saponin.....	14
8. Steroid	14
D. Kombinasi obat herbal	14
E. Ekstraksi.....	16
1. Pengertian ekstraksi	16
2. Pengertian ekstrak	16
3. Metode perkolasi.....	17
4. Larutan penyari	18
F. Tinjauan bakteri	19
1. Klasifikasi	19
2. Morfologi	19
3. Patologi	20
4. Toksin.....	21
5. Uji Biokimia.....	23
G. Antibakteri	24
1. Mekanisme antibakteri	24
2. Antibiotik amoksisilin.....	25
3. Uji aktivitas antibakteri	26
H. Landasan Teori	27
I. Hipotesis	31
BAB III METODE PENELITIAN.....	34
A. Populasi dan Sampel.....	34
1. Populasi.....	34
2. Sampel.....	34
B. Variabel Penelitian.....	34
1. Identifikasi variabel utama.....	34
2. Klasifikasi variabel utama	35
3. Definisi operasional variabel utama.....	36
C. Bahan dan Alat.....	37
1. Bahan.....	37
2. Alat.....	38
D. Jalannya Penelitian	38
1. Identifikasi tanaman	38
2. Pembuaan serbuk	38
3. Organoleptis	39
4. Penetapan susut pengeringan	39
5. Pembuatan ekstrak	39

6. Uji bebas etanol.....	40
7. Identifikasi kandungan senyawa	40
8. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	42
9. Pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	43
10. Pembuatan ekstrak kombinasi.....	44
11. Pengujian aktivitas	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	48
1. Hasil determinasi tanaman	48
2. Hasil pembuaan serbuk	48
3. Hasil organoleptis.....	50
4. Hasil penetapan susut pengeringan	51
5. Hasil pembuatan ekstrak	52
5.1 Hasil uji bebas etanol	54
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa	55
7. Hasil identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	57
8. Hasil pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..	59
9. Hasil pembuatan ekstrak kombinasi	60
10. Hasil pengujian aktivitas	61
10.1 Penetapan KBM.....	54
10.2 Diagram hasil uji aktivitas antibakteri	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	70
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN.....	79

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanolik daun jarak (<i>Jatropha curcas</i> L.) dan daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dengan metode perkolasi	46
Gambar 2. Skema pengujian aktivitas antibakteri tunggal dan kombinasi (1:1, 1:2, 2:1) ekstrak etanolik daun jarak (<i>Jatropha curcas</i> L.) dan daun sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi.....	47
Gambar 3. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri.....	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun jarak dan daun sirih hijau	49
Tabel 2. Hasil pengayakan serbuk daun jarak dan serbuk daun sirih hijau dengan ayakan 40/100	49
Tabel 3. Hasil pengujian organoleptis serbuk daun jarak dan daun sirih hijau.....	50
Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jarak dan daun sirih hijau	51
Tabel 5. Rendemen ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau	51
Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau	52
Tabel 7. Hasil uji bebas etanol.....	55
Tabel 8. Hasil uji fitokimia serbuk dan ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau	55
Tabel 9. Hasil uji koagulase dan katalase terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun jarak tunggal, daun sirih hijau tunggal, kombinasi terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	62
Tabel 11. Hasil uji aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi tanaman jarak (<i>Jatropha curcas</i> L.) dan Sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.)	80
Lampiran 2. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah dan daun jarak dan daun sirih hijau.....	81
Lampiran 3. Perhitungan penetapan susut pengeringan.....	81
Lampiran 4. Perhitungan kadar rendemen ekstrak.....	82
Lampiran 5. Perhitungan dan pembuatan larutan stok ekstrak etanolik kombinasi dan tunggal.....	83
Lampiran 6. Perhitungan pengujian larutan stok antibiotik amoksisilin	88
Lampiran 7. Foto tanaman jarak (<i>Jatropha curcas</i> L.) dan serbuk daun jarak.....	90
Lampiran 8. Foto tanaman sirih hijau (<i>Piper betle</i> L.) dan serbuk daun sirih hijau	91
Lampiran 9. Foto alat <i>Moisture Balance</i> , alat perkolasi, dan hasil ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau.....	92
Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau.....	93
Lampiran 11. Foto autovortex, inkas, inkubator, oven, dan autoklaf	95
Lampiran 12. Foto hasil uji mikroskopis dan uji biokimia bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	97
Lampiran 13. Foto hasil uji dilusi	98
Lampiran 13. Formulasi dan pembuatan media.....	104

INTISARI

WICAKSONO, AT., 2016, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK (*Jatropha curcas* L.) DAN DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Jarak (*Jatropha curcas* L.) dan sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman tradisional yang berkhasiat sebagai antibakteri. Pada penelitian sebelumnya daun jarak dan daun sirih hijau terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi dari ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Daun jarak dan daun sirih hijau diekstraksi secara terpisah dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau dikombinasi dengan 3 perbandingan (1:1), (1:2), (2:1). Masing-masing perbandingan diuji dengan metode dilusi yang dibagi menjadi 12 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi yaitu 40% (v/v) sampai 0,019% (v/v), kontrol positif, dan kontrol negatif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang sudah di standarkan dengan Mc Farland 0,5.

Hasil uji antibakteri ekstrak daun jarak, ekstrak daun sirih hijau, dan kombinasi dengan perbandingan (1:1), (1:2), dan (2:1) memiliki aktivitas antibakteri dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 40%, 2,5%, 20%, 2,5%, dan 10%. Dari ketiga kombinasi tersebut perbandingan (1:2) merupakan kombinasi yang paling efektif sebagai antibakteri. Kombinasi tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang sebanding dengan ekstrak daun sirih hijau tunggal yang dibuktikan dengan nilai KBM yang sama yaitu sebesar 2,5%.

Kata kunci : daun jarak (*Jatropha curcas* L.), daun sirih hijau (*Piper betle* L.), antibakteri, dilusi, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

WICAKSONO, AT., 2016, COMBINATION ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT FROM JATROPHA LEAF (*Jatropha curcas* L.) AND GREEN BETEL LEAF (*Piper betle* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Jatropha (*Jatropha curcas* L.) and green betel (*Piper betle* L.) is one of the traditional plants that have antibacterial activity. In a previous study, *jatropha* and green betel leaf have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine the antibacterial activity combination of *jatropha* and green betel leaf extract against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Jatropha and green betel leaf was extracted separately with percolation method using ethanol 70%. Extract of *jatropha* and green betel leaf were combined with 3 ratio (1:1), (1:2), and (2:1). Each comparison extracts had been tested by dilution methods which are divided into 12 groups with varying concentrations of 40% (v/v) until 0.019% (v/v), positive controls and negative controls against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were standarized with Mc Farland 0,5.

The results of antibacterial activity has showed that the *jatropha* leaf extract, green betel leaf extract, and combination of that on 3 ratio (1:1), (1:2), and (2:1) with Minimum Bactericidal Concentration (MBC) respectively 40%, 2,5%, 20% , 2.5% and 10%. Comparison (1:2) was the most effective as antibacterial from all combination. That combination has antibacterial were comparable activities with green betel leaf extract evidenced by same MBC while 2,5%.

Keywords : *jatropha* leaf (*Jatropha curcas* L.), green betle leaf (*Piper betle* L.), antibacterial, dilution, *Staphylococcus aureus*

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang (Balawala 2012). Salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi ini adalah *Staphylococcus aureus*. Infeksi dari *Staphylococcus aureus* yang belum mencapai keadaan parah kemungkinan hanya menyebabkan infeksi ringan misalnya saja jerawat. Jerawat merupakan suatu penyakit kulit yang menyebabkan pembengkakan (abses) pada permukaannya, dimana kelenjar yang memproduksi minyak tersumbat dan terkontaminasi oleh bakteri (Widyaningrum 2013). Infeksi dari *Staphylococcus aureus* dalam kondisi yang lebih berat dapat mengakibatkan meningitis. Meningitis adalah suatu infeksi atau peradangan dari meninges, yaitu lapisan yang tipis dan encer yang mengepung otak dan jaringan saraf dalam tulang punggung yang dapat terjadi secara akut dan kronis (Israr 2008). Obat pilihan yang sering digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit tersebut adalah antibiotik golongan penisilin seperti amoksisilin, metisilin, vankomisin, kotrimoksazol, doksisisiklin, dan klindamisin (Kusuma 2009; Wells *et al* 2009).

Seiring dengan perkembangan situasi dan kondisi yang terjadi di masyarakat terapi obat yang berasal dari bahan alami lebih diminati. Data WHO menyebutkan bahwa 80% manusia yang hidup di dunia menggunakan obat herbal untuk menjaga kesehatannya (Karteek *et al* 2012). Hampir semua pengguna obat

tradisional beranggapan bahwa selain murah obat tradisional mempunyai efek samping yang lebih kecil dari obat sintetik (Hidayati 2011). Maraknya efek samping yang ditimbulkan oleh obat sintesis memacu dikembangkannya terapi antibakteri yang berasal dari bahan alam contohnya saja adalah tanaman jarak dan sirih hijau. Jarak dan sirih hijau merupakan tanaman yang mudah didapat, dapat ditanam di pekarangan rumah, dan tentunya relatif lebih murah (Nuria *et al* 2009; Aulung *et al* 2010).

Tanaman jarak (*Jatropha curcas* L.) yang termasuk dalam famili *Euphorbiaceae*, genus *Jatropha* (Backer & Brink 1965) mempunyai khasiat sebagai obat gatal-gatal, eksim, dan jamur disela-sela kaki (Syamsuhidayat 2000). Daun jarak mengandung metabolit sekunder berupa saponin, alkaloid, glikosida, tanin, terpenoid, steroid, polifenol, dan flavonoid (DepKes RI 2000; Narayani *et al* 2012; Asogwa *et al* 2015). Data dari penelitian membuktikan bahwa ekstrak etanol daun jarak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 12,5 mm pada konsentrasi ekstrak sebesar 0,125 mg/ml (Khan *et al* 2012) dan Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 125 ppm (Okorundu *et al* 2013). Penelitian tentang kombinasi dari ekstrak daun jarak dengan kulit batang dan akar dari tanaman jarak sendiri dilaporkan memiliki efek antibakteri yang terbukti efektif membunuh bakteri *Salmonella thypi* dan *Escherichia coli* (Oseni & Yussif 2012)

Tanaman lainnya yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah sirih hijau. Sirih hijau (*Piper betle* L.) termasuk dalam famili *Piperaceae*, genus *Piper* (DepKes RI 2000) memiliki khasiat sebagai obat sariawan, mimisan, bau badan,

batuk, keputihan, sakit kepala, gusi bengkak, dan radang tenggorokan (Achmad *et al* 2009). Daun sirih hijau mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, terpen, fenilpropan, saponin, tanin, steroid, alkaloid, dan minyak atsiri yang terdiri dari betlephenol, hidrosikavikol, kavikol, kavibetol, cyneole, estragol, eugenol, metileugenol, dan karvakrol (Moeljanto & Mulyono 2003; Kaihena *et al* 2011; Pradhan *et al* 2013). Penelitian Khan *et al* (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol dari daun sirih juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibuktikan dengan adanya zona hambat sebesar 16 mm dan Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 2,1 ppm. Penelitian kombinasi yang dilakukan oleh Zaidi *et al* (2013) membuktikan bahwa pengkombinasian dari tiga ekstrak daun yaitu ekstrak daun mulethi (*Glycyrrhiza glabra*), teh (*Camelia sinensis*), dan sirih hijau (*Piper betle*) terbukti efektif membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Penelitian tentang kombinasi yang telah dilakukan pada masing-masing tanaman menunjukkan suatu aktivitas yang lebih kuat sebagai antibakteri sehingga pengkombinasian yang akan dilakukan diharapkan juga memberikan aktivitas tersebut. Efek yang saling menguatkan dari pengkombinasian ini disebut dengan efek sinergis. Efek sinergis tersebut dapat dimunculkan karena kandungan antara jarak dan sirih hijau memiliki kesamaan yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Steroid yang dimiliki daun jarak berupa stigmasterol dan pada sirih hijau berupa β -sitosterol sehingga daya antibakteri dari kedua tanaman ini bisa lebih dimaksimalkan (Kamaluddin 2008; Omoregie & Folashade 2013). Otieno *et*

al (2008) menyatakan bahwa ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri yang lebih besar dibanding dengan ekstrak tanaman tunggal. Jawetz *et al* (2002) juga menyatakan bahwa bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergis.

Banyak metode ekstraksi yang sering digunakan pada penelitian salah satunya adalah maserasi (Kaihena *et al* 2011; Khan *et al* 2011; Khan *et al* 2012). Metode ini memiliki kelemahan yaitu pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (DepKes RI 1986). Perkolasi bila dibandingkan dengan maserasi memiliki kelebihan, yaitu hasil ekstraksinya memiliki kandungan bahan aktif yang tinggi, pemanfaatan simplisia juga menjadi lebih optimal, dan waktu yang dibutuhkan untuk melakukan perkolasi juga lebih singkat (Voigt 1995). Walaupun begitu, metode perkolasi juga memiliki kekurangan yaitu cairan penyari yang dibutuhkan lebih banyak (Sulaiman 2011).

Terdapat dua metode pengujian antibakteri salah satunya adalah dilusi. Dilusi merupakan suatu metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau media padat (Jawetz *et al* 1986). Metode dilusi dapat digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Bahan uji pada metode dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Walaupun begitu metode dilusi juga memiliki kekurangan yaitu memerlukan waktu yang lebih lama, tidak praktis, serta harus dalam kondisi yang jernih, karena apabila dalam kondisi yang

keruh dapat mempersulit pengamatan (Jawetz *et al* 1986). Berdasarkan penjelasan-penjelasan tersebut, maka penulis bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri baik secara tunggal maupun kombinasi dari ekstrak etanol daun jarak dan sirih hijau yang diekstraksi secara perkolasi dengan metode dilusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apakah ekstrak etanol tunggal dan kombinasi dari daun jarak dan daun sirih hijau mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol tunggal dan kombinasi dari daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Ketiga, manakah yang memiliki aktivitas antibakteri yang paling optimal dari ekstrak etanol tunggal dan kombinasi daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Keempat, berapakah perbandingan yang paling efektif dari kombinasi ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol tunggal dan kombinasi dari daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol tunggal dan kombinasi daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang paling optimal dari ekstrak etanol tunggal dan kombinasi daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keempat, untuk mengetahui perbandingan yang paling efektif dari kombinasi ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

D. Kegunaan Penelitian

Pertama, memberikan informasi pada dunia kefarmasian dan masyarakat tentang khasiat pengkombinasian dari ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sehingga, diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu pilihan terapi obat alam.

Kedua, menambah wawasan tentang pengobatan secara tradisional dengan menggunakan daun jarak dan daun sirih hijau.

Ketiga, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jarak (*Jatropha curcas* L.)

1. Sistematika Tanaman

Klasifikasi dari tanaman jarak adalah sebagai berikut (Suryatini 2011) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha curcas</i> L.

2. Morfologi

Tanaman jarak merupakan tanaman semak yang tumbuh cepat dengan ketinggian 3-5 meter, tahan kekeringan dan dapat tumbuh di tempat dengan curah hujan 200-1500 ml per tahun (Bangun 2012). Daun jarak cukup besar, panjang helai 6-16 cm dan lebar 5-15 cm. Helai daun berbentuk bulat telur dengan pangkal berbentuk jantung, bersudut atau berlekuk 3-5 dan tepi daun gundul, daun berwarna hijau atau hijau muda (Nurcholis & Sumarsih 2007).

Bunga tanaman jarak majemuk berbentuk malai, berwarna kuning kehijauan, berkelamin tunggal dan berumah satu (putik dan benang sari dalam

satu tanaman). Bunga jantan memiliki benang sari dalam berkas yang berdiri, pada pangkalnya dikelilingi oleh 5 kelenjar kuning yang berbentuk bulat telur sedangkan pada bunga betina memiliki tangkai yang tebal, berambut seperti sarang laba-laba, tangkai putik pendek, pada pangkalnya bersatu, hijau, kepala putik membengkok kembali, dan kelenjar madu kuning (Steenis 1992).

Buah tanaman jarak berdompol-dompol, berbentuk elips, dan memiliki 2-3 biji dalam setiap buahnya. Panjang buah kira-kira 1 inci dengan ketebalan 1 cm, berwarna hijau ketika muda serta abu-abu kecoklatan atau kehitaman ketika masak (Bangun 2012; Suryono 2013).

3. Nama Lain Tanaman

Tanaman jarak mempunyai banyak sekali nama daerah diantaranya yaitu nawaih nawas (Aceh), jarak kusta (Sunda), jarak cina (Jawa Tengah), jarak pager (Bali), bintalo (Gorontalo), dan malate (Seram) (DepKes RI 2000).

4. Khasiat

Daun jarak berkhasiat sebagai obat cacing, obat perut kembung, dan obat luka (DepKes RI 2000). Selain itu, khasiat lain yang dimiliki oleh jarak adalah sebagai obat gatal-gatal, eksim, dan jamur disela-sela kaki (Syamsuhidayat 2000). Ada juga khasiat lain yaitu untuk menurunkan demam, infeksi pada mulut, penyakit kuning, infeksi cacing pita, dan rematik sendi (Oliver-Bever 2000).

5. Kandungan Kimia

Daun jarak mengandung metabolit sekunder berupa saponin, alkaloid, glikosida, tanin, terpenoid, steroid, polifenol, dan flavonoid (DepKes RI 2000; Narayani *et al* 2012; Asogwa *et al* 2015). Penelitian dari Ekundayo *et al* (2011)

menyebutkan bahwa kadar dari kandungan daun dan kulit batang jarak berupa tanin sebesar 23,1%, phlobatanin 4,3%, saponin 16,1%, flavonoid 8,2%, steroid 22,1%, alkaloid 10%, antrakuinon 0,1%, dan total fenolnya sebesar 0,2%. Nyembo *et al* (2012) melakukan analisis pada ekstrak daun jarak untuk menemukan senyawa fenol dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, dan dihasilkan senyawa fenol yang terelusi pada menit ke 5,89 dengan puncak pada area 1,3. Kandungan flavonoid dari daun jarak yaitu apigenin, glikosida flavonoidnya berupa vitexin dan isovitexin, steroidnya berupa stigmasterol, dan alkaloidnya berupa jatrophine atau jatropham serta atherospermidine (Omorieg & Folashade 2013).

6. Perkembangan Penelitian

Tanaman jarak (*Jatropha curcas*) merupakan tanaman yang hampir semua bagiannya dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri mulai dari akar, kulit batang, buah, dan daun (Adamu *et al* 2013; Okorundu *et al* 2013; Asogwa *et al* 2015). Seperti pada penelitian Adamu *et al* (2013) yang menguji efek antibakteri dari ekstrak etanol dari kulit batang tanaman jarak. Dari penelitian tersebut dihasilkan bahwa ekstrak etanol dari kulit batang tanaman jarak terbukti efektif sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*, ditunjukkan dengan adanya zona hambat sebesar 15,5 mm dengan konsentrasi 100 mg/ml. Penelitian yang dilakukan oleh Okorundu *et al* (2013), membandingkan aktivitas antibakteri dari daun jarak dengan ekstrak daun *Moringa oleifera*. Hasil dari penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak etanol daun jarak memiliki aktivitas tertinggi dengannilai Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 125 ppm, baik pada bakteri

Escherichia coli maupun *Staphylococcus aureus*. Bukti lain aktivitas antibakteri dari ekstrak daun jarak yaitu adanya zona hambat sebesar 8,25 mm pada konsentrasi 200 mg/ml, 27 mm pada konsentrasi 10 mg/ml, dan 10 mm pada konsentrasi 6,25 mg/ml terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Nuria *et al* 2009; Omoregie & Folashade 2013; Wakirwa *et al* 2013).

B. Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

1. Sistematika

Klasifikasi dari tanaman sirih hijau adalah sebagai berikut (DepKes RI 2000) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliphyta
Kelas	: Magnolipsida
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Species	: <i>betle</i>
Nama Binominal	: <i>Piper betle</i> L.

2. Morfologi

Sirih merupakan tanaman herbal, yang memanjang dengan tinggi tanaman mencapai 2-4 m dengan panjang 5-15 m. Batang tanaman berbentuk bulat dan lunak, beruas-ruas, beralur-alur dan berwarna hijau abu-abu atau coklat kehijauan. Sirih memiliki daun yang tunggal dan letaknya berseling dengan bentuk bervariasi mulai dari bundar sampai oval, ujung daun runcing, pangkal daun berbentuk

jantung atau agak bundar asimetris. Daun sirih memiliki warna yang bervariasi yaitu kuning, hijau sampai hijau tua dan berbau aromatis (Moeljanto & Mulyono 2003), buahnya berbentuk bulat berwarna hijau keabu-abuan dan memiliki akar tunggang, bulat, serta berwarna coklat kekuningan (Agustin 2005).

3. Nama Lain Tanaman

Tanaman sirih hijau mempunyai banyak sekali nama daerah diantaranya yaitu ranub (Aceh), seurueh (Sunda), suruh (Jawa Tengah), base (Bali), dontile (Gorontalo), parigi (Toli-Toli), gies (Halmahera), kowak (Sumba) (DepKes RI 2000).

4. Khasiat

Daun sirih mempunyai khasiat sebagai obat sariawan, mimisan, bau badan, batuk, keputihan, sakit kepala, gusi bengkak, dan radang tenggorokan (Achmad *et al* 2009) selain khasiat tersebut daun sirih juga dapat digunakan sebagai obat sakit mata, dan bisul (DepKes RI 2000).

5. Kandungan Kimia

Daun sirih hijau mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, terpen, fenilpropan, saponin, tanin, steroid berupa β -sitosterol, alkaloid berupa allypyrocatechol, dan minyak atsiri yang terdiri dari betlephenol, hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, cyneole, estragol, eugenol, metileugenol, dan karvakrol (Moeljanto & Mulyono 2003; Kaihena *et al* 2011; Pradhan *et al* 2013).

6. Perkembangan Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan pada tanaman sirih hijau memang sudah banyak. Kebanyakan penelitian tersebut dilakukan untuk menguji tentang efek

antibakteri dari tanaman sirih hijau (Khan *et al* 2011; Zaidi *et al* 2013). Terdapat berbagai bagian tanaman dari sirih hijau yang bisa dimanfaatkan sebagai antibakteri salah satunya adalah daun sirih hijau. Penelitian Khan *et al* (2011) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih terbukti efektif untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*, ditunjukkan dengan adanya zona hambat sebesar 16 mm dan Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 2,1 ppm. Selain pengujian ekstrak daun sirih secara tunggal, juga terdapat penelitian yang mengkombinasikan ekstrak daun sirih hijau dengan ekstrak daun lainnya. Penelitian dari Zaidi *et al* (2013) membuktikan bahwa pengkombinasian dari tiga ekstrak daun yaitu ekstrak daun mulethi (*Glycyrrhiza glabra*), teh (*Camelia sinensis*), dan sirih hijau (*Piper betle*) terbukti efektif membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa kombinasi dari ketiga ekstrak tanaman tersebut memiliki aktivitas yang paling tinggi sebagai antibakteri. Pakpahan *et al* (2015) melakukan penelitian terhadap daun sirih hijau dengan mengkombinasikan ekstrak etanol dari daun sirih hijau dengan ekstrak etanol dari buah mengkudu sebagai pengawet pada tahu. Penelitian ini menghasilkan bahwa pengkombinasian ekstrak daun sirih dan buah mengkudu pada konsentrasi (3% : 9%) terbukti paling efektif sebagai pengawet pada tahu.

C. Mekanisme Senyawa Alam Sebagai Antibakteri

Secara umum banyak dari golongan senyawa yang berasal dari alam memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Selain itu, golongan senyawa tersebut

memiliki mekanisme tersendiri yang dapat mematikan sel bakteri. Macam-macam golongan atau yang biasa disebut sebagai metabolit sekunder tersebut antara lain adalah flavonoid, polifenol, minyak atsiri, tanin, terpenoid, alkaloid, saponin, dan steroid.

7.1 Flavonoid. Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada didalam sel (Ngajow *et al* 2013).

7.2 Polifenol. Polifenol merupakan senyawa fenol yang bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri. pada konsentrasi yang rendah terbentuk kompleks antara protein dan fenol dengan ikatan lemah hal ini diikuti dengan penetrasi fenol ke dalam sel sehingga menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Sedangkan, pada kadar yang tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sel dan membran sel mengalami lisis (Sari *et al* 2010).

7.3 Minyak atsiri. Minyak atsiri bekerja dengan merusak dinding sel dari bakteri sehingga terjadi kebocoran sel dan menyebabkan kematian pada bakteri. pada dosis yang tidak mematikan, bakteri hanya mengalami luka, terjadi perubahan dan kerusakan struktur sel bakteri yang akhirnya dapat mempengaruhi fungsi metabolisme sel. Sedangkan, pada dosis yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan yang parah dan dapat menyebabkan kematian (Febriyati 2010)

7.4 Tanin. Tanin bekerja dengan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna akibatnya sel bakteri dapat mengalami lisis yang berimbas pada kematian sel (Sari *et al* 2009).

7.5 Terpenoid. Aktivitas antibakteri dari terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Ngajow *et al* 2013).

7.6 Alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa basa dimana karena senyawa inilah alkaloid dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri (Sari *et al* 2010).

7.7 Saponin. Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intra sel keluar sehingga bakteri dapat mati (Ngajow *et al* 2013).

7.8 Steroid. Steroid bekerja dengan merusak membran sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi dari membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

D. Kombinasi Obat Herbal

Ada banyak agen herbal yang memiliki kandungan farmakologi yang signifikan. Seringkali agen herbal tersebut hanya memunculkan efeknya secara tunggal saja. Hal tersebut memunculkan suatu anggapan bahwa apabila suatu agen herbal yang memiliki efek tunggal dikombinasikan dengan agen herbal lainnya maka akan dapat memunculkan suatu efek baik efek komplementer, sinergis, maupun kontraindikasi (Philp 2004; Pramono 2006).

Terdapat tiga efek dari kombinasi kandungan kimia obat herbal yaitu efek komplementer, efek sinergis dan efek kontraindikasi (Pramono 2006). Efek komplementer merupakan suatu efek yang saling mendukung antara zat satu dengan zat lainnya. Misalnya *Thymus vulgaris* L. tanaman ini mengandung minyak atsiri dengan komponen utamanya yaitu *timol* dan *karvakrol* yang bertindak sebagai antimikroba dan pengencer dahak. Selain kandungan metabolit sekunder tersebut *Thymus vulgaris* L juga mengandung flavon polimetoksi yang berefek sebagai penekan batuk (Pramono 2006).

Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Misalnya daun kemangi (*Ocimum sanctum* L) pada penelitian Angelina *et al* (2015) dibuktikan bahwa daun kemangi mengandung flavonoid, minyak atsiri, dan tanin yang terbukti efektif sebagai antibakteri. Masing-masing dari metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme yang berbeda sebagai antibakteri namun, memiliki efek yang sama dan saling menguatkan. Adanya efek yang sama dan saling menguatkan dari kandungan kimia tersebut dapat dikatakan sebagai efek sinergis (Pramono 2006).

Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan. Contoh yang dapat menjelaskan efek tersebut adalah kandungan kimia yang dimiliki oleh tanaman kelembak (*Rheum officinale* Bail.). Tanaman ini mengandung senyawa golongan antrakinon yaitu rein dan turunannya yang memiliki efek laksansia selain itu, tanaman kelembak juga memiliki kandungan senyawa lain yaitu tanin. Tanin

memiliki efek sebagai antidiare sehingga terjadi dua efek yang bertentangan antara kandungan kimia yang dimiliki oleh tanaman kelembak yaitu efek laksansia dan antidiare (Pramono 2006).

Pengkombinasian dari suatu ekstrak yang memunculkan efek sinergis, efek kontraindikasi, atau tidak adanya interaksi, dapat ditentukan nilainya dengan *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC). Perhitungan tersebut dapat dilakukan menggunakan rumus :

$$FIC_{\text{extract}} = \frac{\text{MIC of Plant Extract in Combination}}{\text{MIC of Plant Extract Alone}}$$

Ketentuan yang dapat digunakan yaitu FIC_{index} bila nilai yang didapat < 1 maka efeknya sinergis, bila nilai $= 1$ maka aditif, bila nilai $> 1 \leq 2$ maka tidak ada interaksi, dan bila nilai > 2 maka kontraindikasi (Okoye *et al* 2013).

E. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih sehingga zat yang akan diinginkan akan larut (Ansel 1989). Umumnya zat pokok atau zat yang berkhasiat yang tertarik tidak mengalami perubahan dalam segi khasiatnya. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi tersebut berdasarkan kepada kemampuan pelarut tersebut dalam melarutkan jumlah maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (DepKes RI 2001).

2. Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya

matahari langsung (DepKes RI 1979). Berdasarkan konsistensinya ekstrak dibagi menjadi tiga macam yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, dan ekstrak kering. Ekstrak cair merupakan sediaan berbentuk cair dari hasil penyarian simplisia. Ekstrak kental merupakan sediaan dengan bentuk kental yang dibuat dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya. Sedangkan ekstrak kering merupakan sediaan berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil terikan simplisia yang diuapkan dengan pelarut hingga kering (Voigt 1995).

3. Metode Perkolasi

Perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang berarti ”melalui” dan *colare* yang artinya “merembes” (Ansel 1989) secara umum perkolasi dapat diartikan sebagai suatu cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi (DepKes RI 1986).

Perkolasi dilakukan dengan cara menempatkan serbuk yang sudah dibasahi dalam suatu bejana silinder yang biasa disebut dengan perkolator. Pada proses ini bahan atau serbuk yang diisikan tidak boleh terdapat ruang karena akan mengganggu keteraturan mengalir cairan dan menyebabkan berkurangnya hasil ekstraksi. Namun, apabila pengisian perkolator yang sangat kompak dapat menghambat atau menghentikan aliran cairan penyari. Pada bagian bawah dari perkolator diberi sekat berpori kemudian cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk tersebut sampai cairan ekstrak mulai menetes kemudian jalan keluar ditutup. Jalan keluar tersebut akan dibuka jika cairan penyari berada pada 1-2 cm di atas lapisan simplisia. Kecepatan tetesan diatur dengan kecepatan 1 ml per menit dan cairan penyari ditambahkan berulang sehingga selalu terdapat

selapis cairan penyari di atas lapisan simplisia. Lama waktu ekstraksi, memastikan hasil perolehan bahan aktif yang baik. Dengan kecepatan alir yang sangat rendah, perbedaan konsentrasi bahan ekstraktif di dalam simplisia akan cepat setimbang sehingga akan dapat mengganggu proses ekstraksi (DepKes RI 1986; Voigt 1995).

Perkolasi merupakan metode yang lebih baik bila dibandingkan dengan cara maserasi dikarenakan hasil ekstraksi dari perkolasi memiliki kandungan bahan aktif yang tinggi, ekstrak yang kaya dan pemanfaatan simplisia juga menjadi lebih optimal, serta waktu yang dibutuhkan untuk melakukan perkolasi juga lebih singkat (Voigt 1995).

4. Larutan Penyari

Larutan penyari yang digunakan harus memenuhi beberapa kriteria yaitu murah, mudah didapat, stabil secara kimia maupun fisika, bersifat netral dan selektif melarutkan zat-zat yang diinginkan, kemudian tidak mudah menguap, tidak mempengaruhi zat berkhasiat serta diperbolehkan oleh peraturan (DepKes RI 1986).

Etanol lebih dipertimbangkan digunakan sebagai penyari karena mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol juga dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Indraswari 2008).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Etanol dengan kadar 70% sangat efektif dalam

menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995).

Etanol mampu mengekstrak sebagian besar senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia seperti alkaloida, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Sedangkan lemak, malam, tannin dan saponin hanya sedikit larut (Manawan *et al* 2014). Iswanti (2009) menjelaskan bahwa pelarut etanol menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik polar, semi polar maupun non polar.

F. Tinjauan Bakteri

7.1 Klasifikasi

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phlum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Sudirman 2014)

7.2 Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bola dengan garis tengah kira-kira 1 μm tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur. *Staphylococcus aureus* pada biakan cair juga terlihat kokus yang tunggal,

berpasangan, tetra, dan berbentuk rantai. Kokus muda bersifat Gram positif kuat, tetapi pada biakan tua banyak sel mejadi Gram negatif. *Staphylococcus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora (Jawetz *et al* 1995).

7.3 Patologi

Sebagian bakteri stafilokokus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Warsa 1994). Penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri ini adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka (Kusuma 2009) pada infeksi yang lebih berat bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis (Jawetz *et al* 1995). *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Ryanet *al*1994; Warsa 1994).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Warsa 1994;

Jawetz *et al*1995). Kontaminasi langsung *Staphylococcus aureus* pada luka terbuka (seperti luka pasca bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al* 1995). Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *Staphylococcus aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/g makanan. Gejala keracunan 3 ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Ryan *et al* 1994 ; Jawetz *et al* 1995).

Penggunaan antibiotik akan menyebabkan munculnya beberapa resistensi terhadap *Staphylococcus aureus*. Antibiotik yang dikenal mampu membuat *Staphylococcus aureus* menjadi resisten adalah eritromisin, ampisilin, tetrasiklin, penisillin seperti amoksisilin, metasilin, dan vancomisin (Kusuma 2009). Namun dikarenakan bakteri *Staphylococcus aureus* sudah mengalami resisten terhadap antibiotik tersebut maka muncul golongan antibakteri baru yang terbukti lebih efektif untuk menanggulangi kejadian resisten tersebut. Antibiotik tersebut adalah streptogramin, oksazolidinon, daptomisin, glisilsiklin, oritavansin dan peptida (Yuwono *et al* 2010).

7.4 Toksin / Enzim

Staphylococcus aureus dapat menimbulkan berbagai penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan serta melalui

pembentukan berbagai zat ekstraseluler seperti enzim dan toksin. Berbagai enzim dan toksin yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah :

4.1. Katalase. Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus* (Ryan *et al* 1994; Brooks *et al* 1995).

4.2. Koagulase. Koagulase merupakan suatu enzim yang dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis (Warsa 1994).

4.3. Hemolisin. Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis di sekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *Staphylococcus aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, dan delta hemolisin. Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis di sekitar koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan Stafilokokus yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba (Warsa 1994).

4.4. Leukosidin. Leukosidin merupakan toksin yang dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena Stafilokokus patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis (Jawetz *et al* 1995).

4.5. Toksin eksfoliatif. Toksin eksfoliatif merupakan toksin yang mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepitelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit (Warsa 1994).

4.6. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST). Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh (Ryan *et al* 1994; Jawetz *et al* 1995).

4.7. Enterotoksin. Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz *et al* 1995).

7.5 Uji Biokimia

Dikenal dua species staphylococcus yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Metode uji yang digunakan untuk membedakan antara kedua species staphylococcus tersebut adalah uji katalase dan uji koagulase (Bonang & Koeswardono 1982). Uji katalase adalah uji yang dilakukan untuk

mengidentifikasi bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase sehingga dapat dibedakan antara bakteri aerob dan bakteri anaerob. Hasil uji katalase akan positif apabila terbentuk gelembung udara. Kemudian uji koagulase adalah uji yang digunakan untuk melihat kemampuan bakteri yang menghasilkan enzim yang dapat menggumpalkan fibrin. Hasil uji ini dikatakan positif apabila terdapat gumpalan seperti awan (Nazhifah *et al* 2013).

G. Antibakteri

7.1 Mekanisme Antibakteri

Mekanisme kerja dari antibakteri ada 5 kelompok yaitu kerusakan pada dinding sel, perubahan permeabilitas, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar & Chan 1988).

1.1. Kerusakan pada dinding sel. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan dinding sel atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang termasuk dalam golongan ini adalah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin.

1.2. Perubahan permeabilitas sel. Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Kelompok antibiotik yang termasuk dalam golongan ini adalah polimiksin serta antibiotik kemoterapik.

1.3. Perubahan molekul protein dan asam nukleat. Hidupnya suatu sel bergantung pada stabilitas molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat yang dapat merusak sel sehingga tidak dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi dan denaturasi yang bersifat irreversible. Kelompok antibiotik yang termasuk dalam golongan ini adalah rifampisin, golongan kuinolon, tetrasiklin, dan kloramfenikol.

1.4. Penghambatan kerja enzim. Setiap enzim dari beratus-ratus enzim yang ada didalam sel merupakan sasaran potensial untuk dihambat. Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi kimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Kelompok antibiotik yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon.

1.5. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting dalam proses kehidupan normal dari sel. Gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

2. Antibiotik amoksisilin

Amoksisilin merupakan antibiotik yang tergolong dalam golongan penicillin yang berdasarkan strukturnya tergolong dalam golongan antibiotik betalaktam (Sulistyaningsih 2007). Berdasarkan spektrum kerjanya antibiotik amoksisilin merupakan antibiotik berspektrum sempit (*narrow spectrum*).

Antibiotik spektrum sempit merupakan antibiotik yang mekanisme kerjanya hanya menghambat bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif tanpa memusnahkan kedua golongan bakteri tersebut (Sulistyaningsih 2007).

Amoksisilin memiliki mekanisme kerja dengan menghambat sintesis dari dinding sel bakteri. Antibiotik dalam golongan ini bekerja dengan cara menghambat penggabungan N-asetilmuramat yang dibentuk didalam sel menuju struktur dari mukopeptida yaitu pemberi bentuk kaku pada dinding sel bakteri. karena tekanan osmotik yang ada didalam sel lebih tinggi daripada yang ada diluar sel maka akan terjadi lisis yang menyebabkan bakteri tersebut mengalami kematian (Setiabudy & Gan 1995).

Amoksisilin berbentuk serbuk hablur dan sukar larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam benzene, karbon tetraklorida, dan kloroform. Agar amoksisilin dapat larut dalam air, maka dibuat garamnya (Setiabudy & Gan 1995).

3. Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diukur secara *invitro* untuk menentukan potensi agen antimikroba dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu mikroorganisme terhadap agen tersebut. Penentuan kepekaan antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode pokok yaitu metode difusi dan dilusi (Bonang & Koeswardono 1982).

Metode dilusi adalah metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau media padat. Metode ini, digunakan untuk mencari kadar hambat dan kadar bunuh minimal yaitu kadar

obat terendah yang masih dapat menghambat dan membunuh pertanaman bakteri (Jawetz *et al* 1986).

Keuntungan dari metode dilusi adalah dapat diketahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Bahan uji pada metode dilusi cair lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata sehingga metode ini lebih peka. Walaupun begitu metode dilusi juga memiliki kekurangan yaitu memerlukan waktu yang lebih lama, tidak praktis, serta harus dalam kondisi yang jernih, karena apabila dalam kondisi yang keruh dapat mempersulit pengamatan (Jawetz *et al* 1986). Prinsip dari metode ini adalah penghambatan pertanaman mikroba dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam pembenihan. Pembenihan yang dapat dipakai harus pembenihan yang dapat membunuh mikroba secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Bonang & Koeswardono 1982).

H. Landasan Teori

Jarak (*Jatropha curcas* L.) merupakan salah satu tanaman yang sudah dikenal khasiatnya secara luas. Banyak khasiat dari tanaman ini antara lain adalah sebagai obat luka gatal-gatal, eksim, jamur disela-sela kaki, infeksi pada mulut, (DepKes RI 2000; Oliver-Bever 2000; Syamsuhidayat 2000). Ekstrak etanol daun jarak terbukti memiliki khasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 12,5 mm pada konsentrasi 0,125 mg/ml (Khan *et al* 2012) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sebesar 125 ppm (Okorundu *et al* 2013).

Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan tanaman yang mempunyai khasiat sebagai obat sariawan, mimisan, bau badan, batuk, keputihan, sakit kepala, gusi bengkak, dan radang tenggorokan (Achmad *et al* 2009). Penelitian Khan *et al* (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol dari daun sirih juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 16 mm serta Konsentrasi Hambat Minimum sebesar 0,0021 mg/ml atau 2,1 ppm.

Kombinasi yang dilakukan terhadap daun jarak dan daun sirih hijau menggunakan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1. Kombinasi dengan tiga perbandingan tersebut memunculkan suatu anggapan bahwa perbandingan 1:2 memiliki aktivitas antibakteri yang optimal. Anggapan tersebut dapat dikaitkan dengan Konsentrasi Hambat Minimum yang dimiliki oleh daun sirih yaitu sebesar 0,0021 mg/ml. Konsentrasi Hambat Minimum tersebut dapat menjadikan landasan bahwa apabila kombinasi dilakukan dengan bagian sirih hijau yang lebih besar maka semakin efektiflah kombinasi tersebut.

Daun jarak dan sirih hijau mengandung beberapa metabolit sekunder yang sama yaitu flavonoid, tanin, terpenoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Masing-masing metabolit sekunder tersebut memiliki khasiat sebagai antibakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Flavonoid bekerja dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa yang ada didalam sel (Ngajow *et al* 2013). Polifenol bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri (Sari *et al* 2010). Minyak atsiri bekerja dengan merusak

dinding sel dari bakteri sehingga terjadi kebocoran sel dan menyebabkan kematian pada bakteri (Febriyati 2010). Tanin bekerja dengan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna akibatnya sel bakteri dapat mengalami lisis yang berimbas pada kematian sel (Sari *et al* 2009). Aktivitas antibakteri dari terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Ngajow *et al* 2013). Alkaloid merupakan senyawa basa sehingga alkaloid dapat menyebabkan denaturasi protein sel bakteri (Sari *et al* 2010). Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intra sel keluar sehingga bakteri dapat mati (Ngajow *et al* 2013). Steroid bekerja dengan merusak membran sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi dari membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

Terdapat tiga efek dari kombinasi kandungan kimia obat herbal yaitu efek komplementer, efek sinergis dan efek kontraindikasi (Pramono 2006). Efek komplementer merupakan suatu efek yang muncul karena adanya efek saling mendukung antara satu zat dengan zat lain dengan mekanisme yang berbeda (Pramono 2006). Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan (Pramono 2006). Kombinasi antara ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan ekstrak etanol daun sirih

hijau (*Piper betle* L.) diharapkan dapat memberikan efek sinergis. Efek sinergis tersebut dapat muncul dikarenakan kandungan antara jarak dan sirih hijau memiliki kesamaan yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Steroid yang dimiliki daun jarak berupa stigmasterol dan pada sirih hijau berupa β -sitosterol (Kamaluddin 2008; Omoregie & Folashade 2013).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bola dengan garis tengah kira-kira 1 μm tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (Jawetz *et al* 1995). *Staphylococcus aureus* yang tergolong dalam bakteri patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi, dan mampu meragikan manitol (Warsa 1994). Beberapa enzim dan toksin yang dihasilkan antara lain katalase, koagulasi, hemolisin, leukosidin, toksin eksfoliatif, toksin sindrom syok toksik (TSST), dan enterotoksin (Ryan *et al* 1994; Jawetz *et al* 1995).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode dilusi. Metode dilusi adalah metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau media padat. Metode ini, digunakan untuk mencari kadar hambat dan kadar bunuh minimal yaitu kadar obat terendah yang masih dapat menghambat dan membunuh pertanaman bakteri (Jawetz *et al* 1986). Prinsip dari metode ini adalah penghambatan pertanaman mikroba dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan dalam pembenihan. Pembenihan yang dapat dipakai harus pembenihan yang dapat membunuh mikroba secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Bonang & Koeswardono 1982).

I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang sudah dijabarkan di atas dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanol tunggal dan kombinasi dari daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) baik secara tunggal dan kombinasi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai nilai konsentrasi tertentu.

Ketiga, kombinasi dari ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih optimal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 daripada ekstrak tunggalnya.

Keempat, perbandingan 1:2 dari kombinasi ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diambil dari Dusun Sawahan, Desa Pojok, Kec. Garum, Kab. Blitar, Jawa Timur pada bulan November tahun 2015.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diambil dari Dusun Sawahan, Desa Pojok, Kec. Garum, Kab. Blitar, Jawa Timur dan diambil secara acak. Daun jarak yang dipakai adalah daun yang bersih, segar, berwarna hijau dan bebas dari penyakit. Daun sirih hijau yang dipakai adalah daun yang berasal dari sulur yang menggantung sebanyak tiga atau empat ruas dan dipanen pada saat pagi hari (DepKes RI 1980; DepKes RI 1985).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang didapat dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri kombinasi dari ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terdahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang dengan sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) serta kombinasinya. Ekstrak diperoleh dengan metode perkolasi dengan pelarut etanol 70%.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi yang ditunjukkan dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Variabel terkontrol dalam penelitian ini merupakan variabel yang dianggap dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh dari suatu penelitian sehingga perlu diperhatikan. Variabel yang termasuk dalam variabel terkontrol meliputi

kemurnian bakteri yang diujikan, kondisi dari laboratorium mulai dari kondisi inkas, alat dan bahan serta media yang digunakan harus steril, tempat tumbuh dari tanaman yang digunakan dalam penelitian serta waktu panennya.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jarak adalah yang bersih, segar, berwarna hijau, dan bebas dari penyakit yang diambil di Dusun Sawahan, Desa Pojok, Kec. Garum, Kab. Blitar, Jawa Timur.

Kedua, daun sirih hijau adalah yang berwarna hijau bersih bebas dari penyakit dan berasal dari sulur yang menggantung sebanyak tiga atau empat ruas yang diambil di Dusun Sawahan, Desa Pojok, Kec. Garum, Kab. Blitar, Jawa Timur.

Ketiga, ekstrak etanol daun jarak adalah hasil ekstraksi daun jarak yang dibuat dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan sampai bebas etanol.

Keempat, ekstrak etanol daun sirih hijau adalah hasil ekstraksi daun sirih hijau yang dibuat dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan sampai bebas etanol.

Kelima, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Keenam, kombinasi 1:1 adalah ekstrak etanol daun jarak sebanyak 1 bagian dan ekstrak daun sirih hijau sebanyak 1 bagian dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO.

Ketujuh, kombinasi 1:2 adalah ekstrak etanol daun jarak sebanyak 1 bagian dan ekstrak daun sirih hijau sebanyak 2 bagian dicampurkan diencerkan dengan DMSO.

Kedelapan, kombinasi 2:1 adalah ekstrak etanol daun jarak sebanyak 2 bagian dan ekstrak daun sirih hijau sebanyak 1 bagian dicampurkan diencerkan dengan DMSO.

Kesembilan, uji dilusi adalah pengujian dengan membuat konsentrasi ekstrak tunggal maupun kombinasi yang diinkubasi dengan suhu 37⁰C selama 24 jam yang diamati dengan melihat taraf kekeruhan dalam media.

Kesepuluh, Konsentrasi Bunuh Minimum adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri dengan melihat pertumbuhan bakteri pada medium VJA yang diinkubasi dengan suhu 37⁰C selama 24 jam.

C. Bahan dan alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jarak dan daun sirih hijau. Bakteri yang digunakan untuk uji adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Medium yang digunakan adalah media BHI (*Brain Heart Infusion*), media VJA (*Vogel Johnson Agar*).

Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70 %, aquadestilata, DMSO (Dimethyl Sulfoxide), kalium telurite, HCl 2N, asam borat, asam oksalat, kloroform, asam sulfat pekat, FeCl₃, asam asetat anhidrat, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk ekstraksi adalah perkolator, beaker glass, batang pengaduk, aluminium foil, corong, erlenmeyer.

Alat yang digunakan untuk memekatkan ekstrak etanol rotary evaporator, oven.

Alat yang digunakan untuk uji kandungan ekstrak dan uji aktivitas antibakteri yaitu cawan porselen, tabung reaksi, cawan petri, ose steril, mikropipet, pipet ukur, yellow tip, blue tip, inkubator, autoclave, lampu spiritus, kertas saring, timbangan analitik, lampu UV.

D. Jalannya penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan identifikasi daun jarak dan daun sirih hijau. Hal ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran dari sampel yang digunakan yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dari daun jarak dan daun sirih hijau, serta mencocokkan antara ciri-ciri morfologi pada daun jarak dan daun sirih hijau dengan kepustakaan yang ada dan dibuktikan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

2. Pembuatan serbuk

Sampel berupa daun jarak dan daun sirih hijau yang diambil didaerah Dusun Sawahan, Desa Pojok, Kec. Garum, Kab. Blitar, Jawa Timur. Sampel yang sudah diperoleh disortir, dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih lalu dikeringkan. Setelah simplisia dari daun jarak dan daun sirih hijau kering,

kedua daun tersebut dihaluskan (digiling) sehingga menjadi serbuk. Kemudian diayak dengan pengayak mesh 40/100.

3. Organoleptis

Organoleptis dari serbuk daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan serbuk daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dilakukan dengan menggunakan indera penciuman dan indera perasa, yaitu dengan mencium bau khas dari kedua serbuk tanaman serta merasakan rasa dari kedua serbuk daun tersebut.

4. Penetapan susut pengeringan

Penentuan susut pengeringan serbuk daun jarak dan daun sirih hijau ditentukan dengan menggunakan *moisture balance*. Bahan diletakkan dalam wadah *moisture balance* yang sebelumnya telah ditara, dan dilihat bobot awal bahan. Lalu bahan dikeringkan pada suhu 105 °C pada *moisture balance* sampai diperoleh bobot sampel yang konstan, ditandai dengan bunyi yang muncul dari alat. Penentuan dilakukan sebanyak 3 kali dengan cara yang sama. Perbedaan antar penimbangan tidak boleh lebih dari 0,25%. Untuk masing-masing sampel dilakukan 3 kali penimbangan.

5. Pembuatan ekstrak

Serbuk daun jarak sebanyak 500 g direndam dengan dengan etanol 70 % sebanyak 250 ml ke dalam bejana tertutup selama 3 jam. Kemudian massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati. Selanjutnya dituangi dengan cairan penyari secukupnya sampai cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari. Kemudian perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam setelah itu cairan dibiarkan

menetes dengan kecepatan 1ml/menit dan ditambahkan berulang-ulang cairan penyari secukupnya. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%. Perkolat kemudian diuapkan dengan alat rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental (DepKes RI 1986). Dilakukan hal yang sama terhadap serbuk daun sirih hijau (*Piper betle* L.).

Kemudian ekstrak yang diperoleh dihitung persen rendemennya. Hasil ini diperoleh dari berat ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau yang dihasilkan dibagi dengan berat serbuk daun jarak dan daun sirih hijau kemudian dikalikan 100%.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Sampel}} \times 100\%$$

6. Uji bebas etanol

Ekstrak yang telah pekat diuji apakah sudah bebas etanol atau belum yaitu dengan cara uji esterifikasi. Ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan. Uji positif bebas dari etanol apabila tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol.

7. Identifikasi kandungan senyawa

Identifikasi kandungan ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau dilakukan terhadap masing-masing ekstrak. Pengujian yang akan dilakukan yaitu pada kandungan yang menurut literatur memiliki aktivitas sebagai antibakteri. kandungan tersebut adalah flavonoid, polifenol, tanin, minyak atsiri, alkaloid, terpenoid, saponin, dan steroid. Kandungan yang akan diuji pada ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau adalah flavonoid, polifenol, tanin, alkaloid, terpenoid, saponin dan steroid. Pengujian akan dilakukan dengan metode analisis fitokimia dengan menggunakan uji tabung.

7.1 Pembuatan larutan uji. Dilakukan dengan melarutkan sebanyak 500 mg ekstrak lalu dilarutkan ke dalam 50 ml etanol. Hal tersebut dilakukan juga terhadap serbuk yaitu dengan cara sebanyak 500 mg serbuk dipanaskan dengan air 50 ml selama 30 menit kemudian disaring panas-panas. Larutan inilah yang akan digunakan untuk uji fitokimia.

7.2 Identifikasi flavonoid. Sebanyak 1 ml larutan uji ekstrak dan serbuk ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron (DepKes RI 1995).

7.3 Identifikasi polifenol. Larutan diambil 10 ml lalu ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 tetes, apabila timbul warna hijau, merah ungu, biru atau hitam maka menunjukkan adanya polifenol (Sari *et al* 2010).

7.4 Identifikasi minyak atsiri. Ambil larutan uji sebanyak 1 ml uapkan diatas cawan porselen hingga diperoleh residu. Hasil positif ditandai dengan bau khas yang dihasilkan oleh residu tersebut (Ciulei 1984).

7.5 Identifikasi tanin. Sebanyak 1ml larutan uji direaksikan dengan larutan FeCl_3 10%. Hasil positif bila terbentuk warna hitam kebiruan atau hijau (Robinson 1991).

7.6 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 2 ml larutan uji diuapkan diatas cawan poselen. Residu yang terbentuk dilarutkan dengan 5 ml HCl 2N. Larutan dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Tabung reaksi I berfungsi sebagai blanko yang ditambah HCl 2N, tabung reaksi II ditambah 3 tetes pereaksi Dragendorf dan

tabung III ditambah 3 tetes pereaksi Mayer. Hasil positif bila tabung II terbentuk endapan jingga dan pada tabung III terbentuk endapan kuning (Farnworth 1966).

7.7 Identifikasi steroid dan terpenoid. Pada identifikasi terpenoid digunakan reaksi Liebermann Burchardat. Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan diatas cawan porselen. Residu yang terbentuk dilarutkan 0,5 ml kloroform lalu tambah 0,5 ml asam asetat anhidrat dimasukkan tabung reaksi. Selanjutnya ditambah 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung secara hati-hati. Hasil terpenoid positif bila terbentuk cincin ungu atau kecoklatan (Ciulei 1984) dan positif steroid bila muncul warna hijau kebiruan (Rijayanti *et al* 2014) .

7.8 Identifikasi saponin. Sebanyak 10 ml larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dipanaskan. Dilakukan pengocokan selama 10 detik. Kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N busa yang terbentuk tidak hilang (DepKes RI 1989).

8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

8.1 Pengecatan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat bekasan isolat di gelas obyek, kemudian diwarnai dengan larutan kristal violet dan yodium secara bergantian selama beberapa menit dan dicuci dengan *aqua destilata*, selanjutnya dicuci dengan alkohol dan ditetesi dengan larutan cat penutup safranin. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop, bakteri Gram positif akan nampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah.

8.2 Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan medium *Vogel Johnson Agar*.

Johnson Agar. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang sebelumnya telah ditambahkan kalium tellurit 1%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bila penampakan koloni berwarna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning (Jawetz *et al* 2007).

8.3 Uji Biokimia. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan

dua uji yaitu uji koagulase dan katalase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni *Staphylococcus aureus* ke dalam BHI 2 ml lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 3⁵⁰C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2-0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma lalu diaduk dan diinkubasi dalam suhu 3⁵⁰C. Diamati tiap jam sampai empat jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *Staphylococcus aureus*. Sedangkan uji katalase dapat dilakukan dengan jalan diambil satu ose inokulum dari stok bakteri *Staphylococcus aureus* dan diletakkan di atas gelas preparat, kemudian ditetesi dengan H₂O₂ untuk melihat pembentukan gelembung gas.

9. Pembuatan suspensi

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dengan mengambil bakteri uji pada media agar miring dengan kawat ose yang steril lalu mensuspensikannya ke dalam tabung yang berisi 2 ml medium BHI lalu diinkubasi selama 24 jam

pada suhu 37⁰C. Suspensi yang telah terbentuk disamakan tingkat kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Dari suspensi tersebut diambil 0,1 ml lalu ditambah NaCl 0,9% ad 100 ml (perbandingan 1:1000)

10. Pembuatan ekstrak kombinasi

Ekstrak kombinasi dibuat dengan mengkombinasikan ekstrak dari daun jarak dan daun sirih hijau dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1. Cara untuk membuat perbandingan 1:1 yaitu dengan mencampurkan 1 gram ekstrak daun jarak dengan 1 gram ekstrak daun sirih hijau dan diencerkan dengan DMSO ad 10 ml. Perbandingan 1:2 dibuat dengan mencampurkan 0,67 gram ekstrak daun jarak dengan 1,34 gram ekstrak daun sirih hijau dan diencerkan dengan DMSO ad 10 ml. Perbandingan 2:1 dibuat dengan mencampurkan 1,34 gram ekstrak daun jarak dengan 0,67 gram ekstrak daun sirih hijau dan diencerkan dengan DMSO ad 10 ml. Sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 20% di tiap perbandingannya.

11. Pengujian aktivitas

Terdapat dua tahap dalam metode dilusi yaitu :

11.1. Penetapan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Kombinasi ekstrak dibuat dalam 3 perbandingan yaitu 1:1, 1:2, dan 2:1 dalam 10 seri konsentrasi dengan cara pengenceran bertingkat dengan interval pengenceran 2 kali. Memasukkan 0,5 ml BHI ke dalam sepuluh tabung. Memasukkan 1 ml kombinasi ekstrak dalam perbandingan tertentudengan konsentrasi 20% ke dalam tabung 1 dan dihomogenkan kemudian dari tabung ke-1 diambil 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung ke-2 lalu dihomogenkan dan seterusnya sampai

tabung ke-10 sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak yang diuji 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039%. Ke dalam seluruh tabung ditambahkan 0,5 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

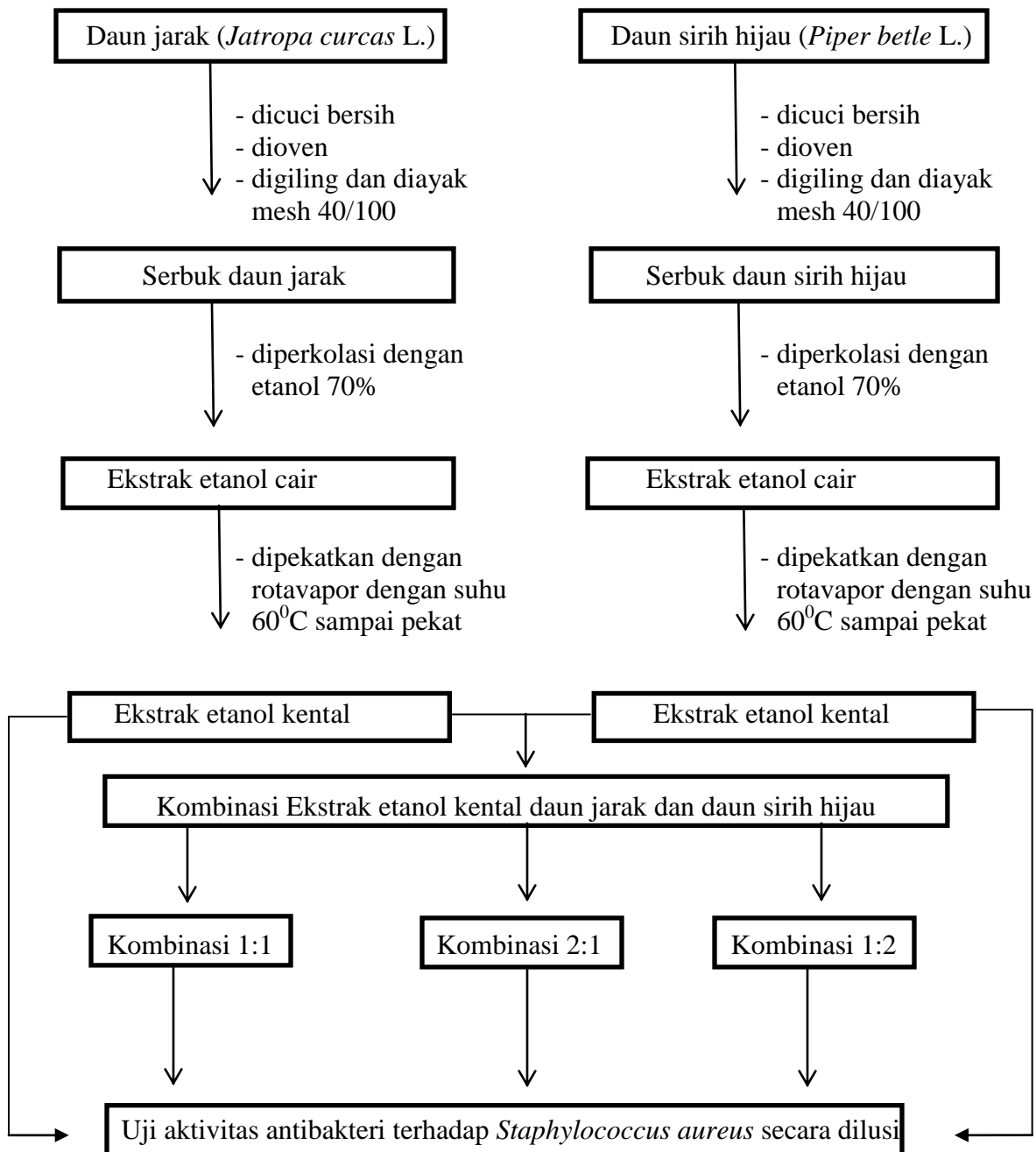
Untuk kelompok kontrol disiapkan 4 tabung reaksi. tabung ke -1, ke-2 dan ke-3 diisi 1 ml ekstrak (sesuai dengan perbandingannya) sebagai kontrol negatif, tabung ke-4 diisi 1 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan BHI sebagai kontrol positif dan untuk kontrol pembanding digunakan amoksisilin yang juga diuji dilusinya dengan konsentrasi awal yaitu 2,5%. Keseluruh tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C lalu diamati kekeruhannya dan bandingkan dengan kontrol. Uji dilusi juga dilakukan terhadap ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau tunggal. Konsentrasi yang diujikan untuk ekstrak etanol jarak tunggal dimulai dari konsentrasi 40%, 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, dan 0,078% sedangkan untuk ekstrak etanol daun sirih hijau tunggal dimulai dari konsentrasi 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039%.

11.2. Penetapan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Hasil inkubasi yang menunjukkan warna jernih (tidak keruh) diambil kemudian digoreskan pada media selektif *Vogel Johnson Agar* untuk *Staphylococcus aureus* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil positif bila penampakan koloni berwarna hitam dan warna medium disekitar koloni kuning.

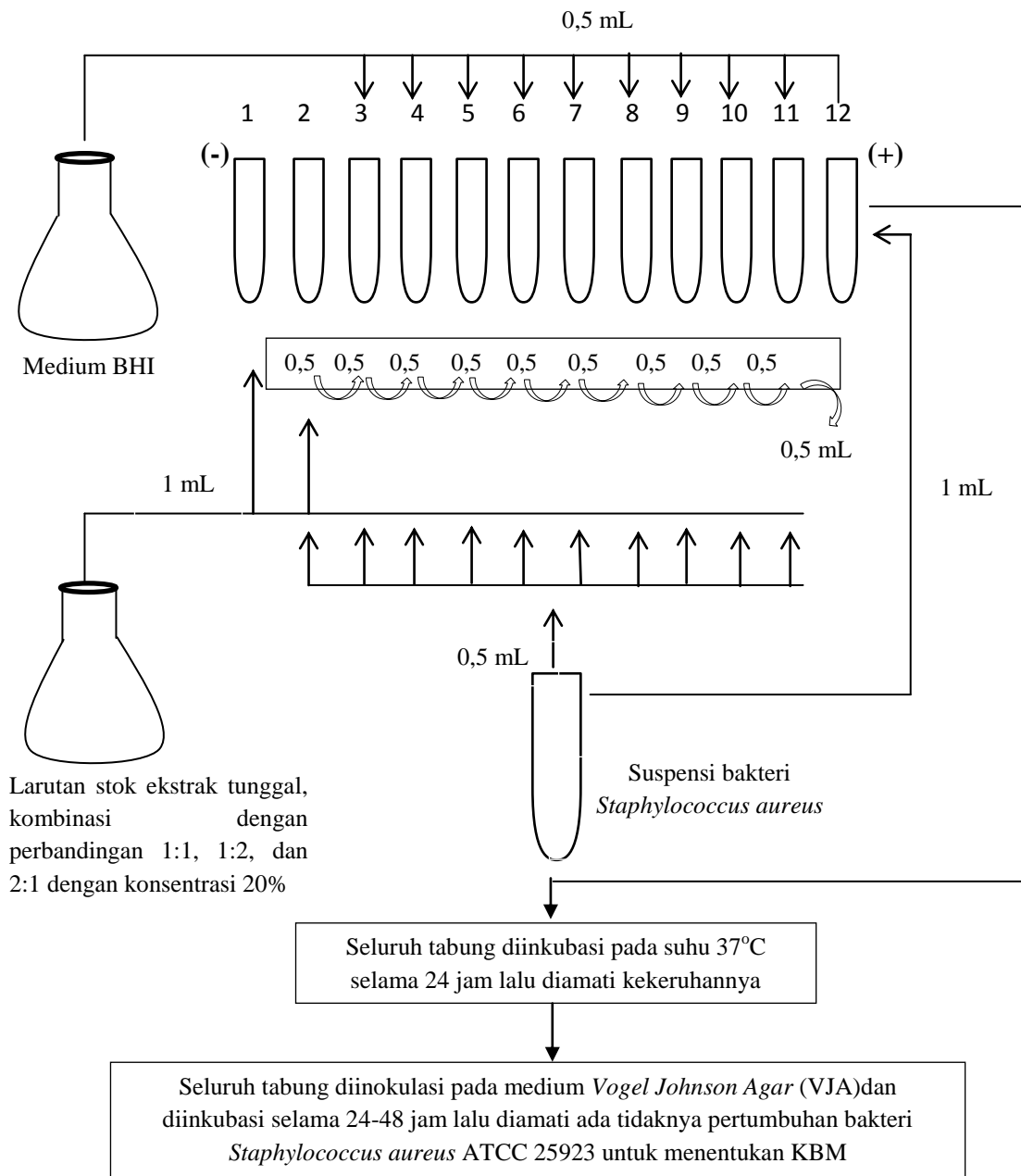
E. Analisa hasil

Analisis hasil yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan membandingkan hasil KBM dari ekstrak etanol tunggal dan kombinasi dari daun

jarak dan daun sirih hijau hasil dari tiga kali replikasi pengujian terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara dilusi dengan kontrol positifnya yaitu antibiotik amoksisilin.



Gambar 1. Skema pembuatan kombinasi ekstrak etanol daun jarak (*Jatropa curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan metode perkolasi.



Gambar 2. Skema pengujian aktivitas antibakteri tunggal dan kombinasi (1:1, 1:2, 2:1) ekstrak etanol daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil identifikasi tanaman

Identifikasi merupakan tahap awal yang dilakukan untuk menetapkan kebenaran dari suatu bahan yang digunakan dalam penelitian, sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan. Tahap identifikasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada dan memberikan hasil yaitu simplisia yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar daun jarak (*Jatropha curcas* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Hasil dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Hasil pembuatan serbuk

Bahan segar dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian dikeringkan dengan oven. Pengeringan simplisia dapat menggunakan suhu yang sedang yaitu sekitar 40-50°C. Suhu pengeringan yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan kerusakan senyawa yang terdapat dalam simplisia.

Simplisia ditimbang untuk mengetahui rendemen bobot kering terhadap bobot basah. Data rendemen tersebut merupakan data yang menunjukkan bobot yang tidak hilang karena proses pengeringan dengan menggunakan oven. Pengeringan daun jarak dilakukan sebanyak 1700 gram bobot basah kemudian dikeringkan dan diperoleh bobot kering 800 gram, sehingga diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah sebesar 47,06%, sedangkan pada daun sirih hijau pengeringan dilakukan sebanyak 900 gram bobot basah kemudian

dikeringkan dan diperoleh bobot kering 400 gram, sehingga diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah sebesar 44,44%. Data perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil data rendemen dari daun jarak dan daun sirih hijau dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun jarak dan daun sirih hijau

Bahan	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%)
Daun jarak	1700	800	47,06
Daun sirih hijau	900	400	44,44

Simplisia dihaluskan (digiling) dengan menggunakan *grinding machine*. Proses tersebut menghasilkan serbuk daun jarak sebesar 640 gram dan serbuk sirih sebesar 320 gram. Serbuk tersebut kemudian diayak dengan ayakan mesh 40/100. Menurut buku Farmakope Herbal Indonesia (2008) menyebutkan bahwa derajat kehalusan serbuk dinyatakan dengan dua pengayak dimana tidak lebih dari 40% serbuk melalui pengayak dengan mesh tertinggi. Pemilihan ayakan mesh 100 dalam penelitian ini dimaksudkan untuk meminimalisir penyumbatan pada alat perkolator karena serbuk yang lolos ayakan mesh 100 memiliki ukuran partikel yang terlalu kecil, selain itu apabila serbuk terlalu halus maka cairan penyari tidak dapat turun hal ini disebabkan karena ruang antar sel yang merupakan jalan yang mudah dilalui oleh cairan penyari berkurang. Data hasil pengayakan serbuk daun jarak dan daun sirih hijau dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengayakan serbuk daun jarak dan serbuk daun sirih hijau dengan ayakan 40/100

Bahan	Lolos 40/100 (gram)	Tidak lolos 40 (gram)	Lolos 100 (gram)
Daun jarak	420	180	40
Daun sirih hijau	260	40	20

Tujuan proses pengayakan menggunakan dua pengayak dengan nomor mesh yang berbeda adalah untuk memaksimalkan proses penyarian. Apabila serbuk yang disari memiliki derajat kehalusan yang terlalu kasar maka akan dapat memperkecil kontak cairan penyari dengan permukaan serbuk sehingga menyulitkan masuknya cairan penyari ke dalam sel pada serbuk simplisia yang mengakibatkan penyarian tidak akan sempurna. Serbuk simplisia dengan ukuran partikel yang terlalu halus banyak mengandung sel yang pecah sehingga membran sel yang seharusnya memiliki peran sebagai penyaring alami tidak dapat berfungsi akhirnya cairan penyari akan menarik semua senyawa yang terdapat dalam sel pada serbuk simplisia sehingga senyawa yang seharusnya tidak diinginkan juga ikut tersari peristiwa tersebut disebut dengan peristiwa pembebasan sari, selain itu tujuan penggunaan dua penyaring dengan nomor mesh yang berbeda yaitu untuk memperbesar persen (%) rendemen.

3. Hasil uji organoleptis

Uji organoleptis merupakan suatu uji yang dilakukan untuk melihat sifat suatu bahan secara fisik meliputi bentuk, bau, warna, dan rasa. Pengujian tersebut dilakukan pada kedua bahan uji dan didapatkan hasil pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian organoleptis serbuk daun jarak dan daun sirih hijau

Sampel uji	Variabel	Hasil pengujian	Literatur
Serbuk daun jarak	Bentuk	Serbuk	Serbuk ^a
	Bau	Khas	Lemah ^a
	Warna	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan ^a
	Rasa	Tawar	Tawar ^a
Serbuk daun sirih hijau	Bentuk	Serbuk	Serbuk ^b
	Bau	Khas Sirih	Khas ^b
	Warna	Coklat Kehijauan	Coklat kehijauan ^b
	Rasa	Agak pahit dan pedas	Pedas ^b

Keterangan : a : DepKes 1989

b : KemenKes 2010

Pemeriksaan organoleptik yang dilakukan pada serbuk daun jarak dibandingkan dengan literatur yang ada dan terbukti bahwa hasil pengujian warna dan rasa yang dimiliki oleh serbuk jarak sama dengan literatur yang ada. Berbeda dengan bau yang dimiliki oleh serbuk jarak, pada hasil pengujian bau serbuk jarak cenderung khas namun pada literatur bau lemah, sehingga terjadi perbedaan antara literatur dan hasil pengujian. Perbedaan tersebut dapat menjadi landasan bahwa pengujian organoleptis belum spesifik untuk menetapkan suatu simplisia karena implementasi tiap orang berbeda-beda. Pemeriksaan organoleptik juga dilakukan pada serbuk daun sirih hijau dan terbukti bahwa hasil pada uji sama dengan literatur yang ada.

4. Hasil penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan merupakan suatu proses yang dilakukan untuk mengetahui banyaknya bagian zat yang dapat menguap dan dilakukan dengan cara pengeringan. Pengujian ini menggunakan alat *Moisture Balance*. Prinsip kerja dari alat *Moisture Balance* yaitu pemanasan secara konstan pada suatu sampel berupa simplisia atau ekstrak pada suhu 105°C selama beberapa waktu sehingga semua senyawa yang dapat menguap pada suhu 105°C akan teruapkan termasuk air dan minyak atsiri. Hasil susut pengeringan serbuk daun jarak adalah sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jarak dan daun sirih hijau

	Rata-rata \pm SD	Literatur (KemenKes 2010)
Daun jarak	8,0 \pm 0,0	-
Daun sirih hijau	9,17 \pm 0,28	10%

Susut pengeringan dari daun jarak belum memiliki ketetapan sehingga dipakailah tetapan susut pengeringan yang umum yaitu tidak lebih dari 10%. Pada serbuk daun sirih hijau ketetapan susut pengeringan sudah tertera pada Farmakope Herbal Indonesia Suplemen 1 yaitu tidak lebih dari 10%, sehingga bila dibandingkan antara hasil pengujian susut pengeringan dengan literatur nilai tersebut sudah memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10%. Nilai susut pengeringan yang kurang dari 10% menunjukkan bahwa semua zat yang dapat menguap dengan alat *Moisture Balance* telah menguap termasuk air sehingga dapat diartikan bahwa kandungan air yang terdapat dalam serbuk juga kurang dari 10%. Kandungan air yang kurang dari 10% menunjukkan bahwa sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif serta bakteri dan jamur tidak tumbuh sehingga bahan lebih awet (Katno *et al* 2008). Data perhitungan susut pengeringan dapat dilihat pada Lampiran 3.

5. Hasil pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan pada kedua serbuk daun yaitu serbuk daun jarak dan serbuk daun sirih hijau. Proses ekstraksi menggunakan metode perkolasi karena dengan metode ini dapat diperoleh hasil ekstrak dengan kandungan zat aktif yang tinggi, selain itu keefektifan waktu lebih tercapai karena tidak memerlukan waktu yang terlalu lama. Metode perkolasi merupakan metode yang lebih menguntungkan bila dibandingkan dengan metode maserasi karena pada metode perkolasi tidak akan terjadi kesetimbangan konsentrasi antara cairan penyari dengan senyawa yang akan disari sebab pada perkolasi cairan penyarinya selalu baru. Proses ekstraksi dengan metode perkolasi ini merupakan ekstraksi

dingin dan tanpa pemanasan, sehingga kerusakan senyawa kimia terhadap pemanasan dapat dihindari.

Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%, pemilihan pelarut tersebut dikarenakan etanol dengan kadar 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995). Selain hal tersebut etanol juga mampu mengekstrak sebagian besar senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia seperti alkaloida, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Sedangkan lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut (Manawan *et al* 2014).

Proses penguapan dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Prinsip kerja alat ini adalah pemanasan dengan penurunan tekanan sehingga titik didih dari pelarut menurun sehingga dapat mencegah terurainya atau rusaknya senyawa aktif yang tidak stabil terhadap suhu tinggi. Pemanasan akan mengubah cairan pelarut menjadi uap, serta dengan adanya kondensor (suhu dingin) menyebabkan uap ini mengembun dan akhirnya jatuh ke tabung penerima (*receiver flask*). Setelah pelarutnya diuapkan, akan dihasilkan ekstrak yang dapat berbentuk padatan atau cairan (Nugroho *et al* 1999). *Rotary evaporator* diset pada suhu 60°C dibawah dari titik didih etanol yaitu 78°C (DepKes 1995). Data rendemen ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rendemen ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau

Bahan	Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
Daun jarak	200	24,62	12,31
Daun sirih hijau	200	23,53	11,76

Perhitungan rendemen ekstrak daun jarak dihasilkan persen rendemen sebesar 12,31%. Berdasarkan penelitian sebelumnya rendemen ekstrak jarak sebesar 10,13% (Okorundu *et al* 2013) bila dibandingkan, maka rendemen ekstrak dari hasil uji memiliki rendemen lebih besar dan tentunya lebih banyak kandungannya. Sedangkan, pada perhitungan rendemen ekstrak daun sirih hijau didapatkan hasil sebesar 11,76%. Hasil tersebut sudah sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Suplemen I yang menyatakan bahwa rendemen ekstrak daun sirih hijau tidak kurang dari 5%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil ekstraksi yang dilakukan mengandung senyawa yang lebih banyak dan memiliki kandungan air sesuai persyaratan dan sudah terbebas dari etanol 70%. Pernyataan tersebut diperkuat dengan data susut pengeringan terhadap ekstrak pada Tabel 6 dan data hasil uji bebas etanol pada Tabel 7. Perhitungan rendemen pada kedua ekstrak secara lengkap terdapat pada Lampiran 4.

Tabel 6. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau

	Rata-rata \pm SD	Literatur (KemenKes 2010)
Daun jarak	3,43 \pm 0,28	-
Daun sirih hijau	6,3 \pm 0,17	10%

5.1. Hasil uji bebas etanol. Pengujian bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ekstrak yang dihasilkan sudah bebas etanol 70% atau belum. Uji ini dilakukan dengan cara uji esterifikasi dimana ekstrak ditambah asam asetat dan

asam sulfat kemudian dipanaskan. Hasil pengujian bebas etanol dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji bebas etanol

Bahan yang diujikan	Pereaksi	Hasil pengujian (Praeparandi 1978)
Ekstrak daun jarak	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas (seperti bau balon) dari etanol
Ekstrak daun sirih hijau	Ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak terbentuk bau ester yang khas (seperti bau balon) dari etanol

Hasil pengujian menunjukkan kedua ekstrak tidak terbentuk bau ester yang khas (bau seperti balon) sehingga kedua ekstrak dapat dinyatakan sudah bebas dari pelarutnya yaitu alkohol 70%. Tujuan dilakukan uji bebas etanol adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dikarenakan etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

6. Hasil identifikasi kandungan senyawa

Identifikasi kandungan senyawa merupakan suatu pengujian pendahuluan terhadap serbuk maupun ekstrak untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut. Pengujian kandungan kimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna dengan tabung reaksi, kemudian diamati perubahan yang terjadi, hasil positif akan memberikan tanda berupa warna untuk setiap pengujiannya. Kandungan yang diujikan terhadap serbuk dan ekstrak dari daun jarak dan daun sirih hijau meliputi flavonoid, polifenol, minyak atsiri, tanin, alkaloid, terpenoid, saponin, dan steroid.

Hasil pengujian kandungan serbuk dan ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau adalah sebagai berikut:

Tabel 8. Hasil uji fitokimia serbuk dan ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau

Kandungan	Pereaksi	Pustaka	Daun jarak		Daun sirih hijau	
			Serbuk	Ekstrak	serbuk	ekstrak
Flavonoid	Larutan uji + serbuk Mg + HCl pekat	Warna merah jingga sampai merah ungu (DepKes RI 1995)	+	+	+	+
Polifenol	Larutan uji + FeCl ₃	Warna hijau, merah ungu, biru atau hitam (Sari <i>et al</i> 2010)	+	+	+	+
Minyak atsiri	Larutan uji diuapkan diatas cawan porselen hingga diperoleh residu	Bau khas (Ciulei 1984)	+	+	+	+
Tanin	Larutan uji direaksikan dengan larutan FeCl ₃ 10%	Warna hitam kebiruan atau hijau (Robinson 1991).	+	+	+	+
Alkaloid	Larutan uji diuapkan lalu ditambah HCl 2N dibagi menjadi 3 tabung. Tabung 1 sebagai blanko. Tabung 2 + reagen Dragendorff. Tabung 3 + reagen Meyer.	Tabung II terbentuk endapan jingga dan tabung III terbentuk endapan kuning (Farnworth 1966)	+	+	+	+
Steroid dan Terpenoid	Larutan uji diuapkan diatas cawan porselen. Residu yang terbentuk dilarutkan kloroform + asam asetat anhidrat dimasukkan tabung reaksi. + asam sulfat pekat melalui dinding tabung secara hati-hati	Positif steroid bila muncul warna hijau kebiruan (Rijayanti <i>et al</i> 2014) dan positif terpenoid bila terbentuk cincin ungu atau kecoklatan (Ciulei 1984)	+	+	+	+
Saponin	Larutan uji dipanaskan, kocok dengan kuat + 1 tetes HCl 2N.	Positif busa masih terbentuk selama 10 menit setelah penetesan HCl 2 N (DepKes RI 1989).	+	+	+	+

Keterangan : + : ada senyawa
- : tidak ada senyawa

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau positif

mengandung flavonoid, polifenol, minyak atsiri, tanin, alkaloid, terpenoid, steroid, dan saponin. Hasil tersebut sesuai dengan hasil dari literatur yang menyebutkan bahwa kandungan daun jarak adalah flavonoid, polifenol, tanin, alkaloid, terpenoid, steroid, dan saponin (Ekundayo *et al* 2011; Narayani *et al* 2012; Nyembo *et al* 2012; Asogwa *et al* 2015). Penelitian yang membuktikan minyak atsiri pada daun jarak belum pernah ada sehingga hasil tersebut dinilai berdasarkan indra penciuman saja. Hasil pada serbuk dan ekstrak sirih juga positif mengandung flavonoid, polifenol, minyak atsiri, tanin, alkaloid, terpenoid, steroid, dan saponin (Moeljanto & Mulyono 2003; Kaihena *et al* 2011; Pradhan *et al* 2013). Senyawa-senyawa yang terkandung didalam serbuk dan ekstrak daun jarak dan daun sirih hijau tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

7. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

7.1. Pewarnaan Gram. Proses identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram dimana bakteri Gram positif akan nampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat bekasan isolat di gelas obyek, kemudian diwarnai dengan larutan kristal violet dan yodium secara bergantian selama beberapa menit dan dicuci dengan *aqua destilata*, selanjutnya dicuci dengan alkohol dan ditetesi dengan larutan cat penutup safranin. Hasil pengamatan secara mikroskopis dengan metode ini dilihat dengan perbesaran kuat (100x).

Bekasan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri akan tampak berwarna ungu karena *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif

yang memiliki dinding peptidoglikan lebih tebal daripada bakteri Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna ungu dari larutan kristal violet.

7.2. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan medium VJA.

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA dilakukan dengan cara menginokulasikan biakan bakteri pada media VJA yang telah ditetesi kalium telurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi telurit menjadi metalik dan warna medium di sekitar koloni berwarna kuning karena adanya fermentasi manitol, dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2012)

7.3. Uji Biokimia. Pengujian biokimia dari bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan dua uji yaitu uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni *Staphylococcus aureus* ke dalam BHI 2 ml lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35⁰C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2-0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma lalu diaduk dan diinkubasi dalam suhu 35⁰C. Diamati tiap jam sampai empat jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Menurut Jawetz *et al* (2007) hasil pengujian tersebut positif kuat jika tabung tes dibalik dan gumpalan plasma tidak terlepas serta tetap melekat pada dinding tabung. Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan hasil yang positif dimana terjadi perubahan plasma darah kelinci yang

terdenaturasi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sehingga terjadi penggumpalan.

Pengujian katalase dilakukan dengan mengambil satu ose inokulum dari stok bakteri *Staphylococcus aureus* dan diletakkan di atas gelas preparat, kemudian ditetesi dengan H₂O₂ untuk melihat pembentukan gelembung gas. Hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan adanya gelembung udara karena *Staphylococcus aureus* akan menguraikan H₂O₂ menjadi H₂ dan O₂. Hasil pengujian koagulase dan katalase dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji koagulase dan katalase terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Jenis uji	Pustaka	Hasil pengujian
Koagulase	Terbentuk gumpalan plasma	+
Katalase	Terbentuk gelembung udara	+

Keterangan : + : positif bakteri *Staphylococcus aureus*
 - : negatif bakteri *Staphylococcus aureus*

8. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah dengan mengambil 1 ose bakteri uji pada media agar miring dengan kawat ose yang steril lalu mensuspensikannya ke dalam tabung yang berisi 2 ml medium BHI lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Suspensi yang telah terbentuk disamakan tingkat kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu 10⁸ CFU/ml. Dari suspensi tersebut diambil 0,1 ml lalu ditambah NaCl 0,9% ad 100 ml (perbandingan 1:1000).

Standar Mc Farland adalah suatu standar yang diperoleh dengan menyetarakan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang

akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba (Sutton 2011). Proses pembuatan suspensi bakteri dibuat dengan menggunakan NaCl 0,9% sebagai media suspensi. NaCl 0,9% dipakai karena NaCl 0,9% merupakan larutan yang mengandung mineral yang dibutuhkan oleh bakteri dan dapat menjaga sel bakteri tetap dalam keadaan yang isotonis, selain itu larutan NaCl 0,9% merupakan larutan yang steril dimana tidak ditumbuhi bakteri sehingga cocok untuk media pengenceran dalam pembuatan suspensi bakteri.

9. Hasil pembuatan ekstrak kombinasi

Pembuatan ekstrak kombinasi dibuat dengan mengkombinasikan ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau dengan perbandingan 1:1, 1:2, 2:1. Kombinasi antara kedua ekstrak dibuat dengan menimbang masing-masing ekstrak kedalam vial yang sudah disterilkan sesuai dengan perbandingannya yang nantinya akan diencerkan dengan DMSO 5% ad 10 ml. Untuk perbandingan 1:1, ekstrak ditimbang masing-masing 1 gram. Pada perbandingan 1:2, ekstrak daun jarak ditimbang 0,67 gram dan ekstrak daun sirih hijau ditimbang 1,34 gram. Untuk perbandingan 2:1, ekstrak daun jarak ditimbang 1,34 gram dan ekstrak daun sirih hijau ditimbang 0,6 gram yang selanjutnya diencerkan dengan DMSO 5% ad 10 ml. Pemakaian DMSO 5% dengan konsentrasi tersebut mampu melarutkan kombinasi ekstrak sehingga kandungan yang ada pada kedua ekstrak yang dikombinasikan dapat larut dan dapat berinteraksi dengan bakteri uji pada uji dilusi. Perhitungan kombinasi ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 5.

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri

Ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode pengujian antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode dilusi. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau secara tunggal dan kombinasi, dimana konsentrasi yang digunakan untuk ekstrak daun jarak tunggal yaitu 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, dan 0,078%. Sedangkan pada ekstrak tunggal daun sirih hijau konsentrasi yang digunakan sebesar 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039% dan pada kombinasi antara ekstrak daun jarak dan daun sirih konsentrasi yang digunakan adalah sama dengan ekstrak tunggal daun sirih hijau. Kontrol positif yang digunakan berupa bakteri uji dalam media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kontrol negatif berupa larutan ekstrak masing-masing serta kombinasi yang ditempatkan pada tabung reaksi yang sudah steril. Metode ini dapat menghasilkan dua data yaitu data Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

10.1. Penetapan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Penetapan KHM dilakukan dengan melihat kejernihan dari tabung yang berisi zat uji. Akan tetapi, pengujian pada penelitian ini digunakan ekstrak yang umumnya berwarna gelap dan keruh walaupun sudah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan, sehingga hasil Konsentrasi Hambat Minimum tidak dapat ditetapkan dan data yang dapat ditetapkan adalah data Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

saja. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau tunggal dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak tunggal, daun sirih hijau tunggal dan kombinasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

No.	Konsentrasi (% $\frac{b}{v}$)	Hasil inokulasi pada medium VJA															
		Ekstrak etanol									Kombinasi						
		Daun jarak			Daun sirih hijau			1 : 1			1 : 2			2 : 1			
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	40	-	-	-													
2	20	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	10	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
4	5	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
5	2,5	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	
6	1,25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
7	0,625	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	0,312	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
9	0,156	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
10	0,078	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
11	0,039				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
12	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Larutan stok (ekstrak)

Kontrol (+) : Suspensi bakteri + BHI

(1:1) : satu bagian ekstrak etanol 70% daun jarak : satu bagian ekstrak etanol 70% daun sirih hijau

(1:2) : satu bagian ekstrak etanol 70% daun jarak : dua bagian ekstrak etanol 70% daun sirih hijau

(1:1) : dua bagian ekstrak etanol 70% daun jarak : satu bagian ekstrak etanol 70% daun sirih hijau

Tabung no. 2-11 : Larutan uji dan suspensi bakteri

Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan menginokulasikan cairan dari tabung pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditambah dengan kalium telurit 1% dan diinkubasi dengan suhu 37⁰C selama 18-24 jam. Hasil dilihat dan apabila tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi tertentu maka nilai KBM dapat ditentukan. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditandai dengan

koloni berbentuk kokus berwarna hitam dengan pinggiran berwarna kuning. Warna tersebut muncul karena bakteri *Staphylococcus aureus* mampu meragikan manitol pada media VJA. Pengujian ini dilakukan kepada semua ekstrak baik secara tunggal maupun kombinasi.

Pengujian terhadap ekstrak daun jarak tunggal menggunakan seri konsentrasi mulai dari 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, dan 0,078% sedangkan pada ekstrak daun sirih hijau tunggal dimulai dari konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039%. Hasil dari pengujian ini didapatkan bahwa pada konsentrasi 40% ekstrak etanol daun jarak tunggal mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan pada konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078% terdapat pertumbuhan bakteri. Data tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut ekstrak etanol daun jarak tunggal tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat ditetapkan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak daun jarak tunggal adalah 40%. Hasil lainnya yaitu pengujian yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun sirih tunggal didapatkan pada konsentrasi 20%, 10%, 5%, dan 2,5% tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri namun pada konsentrasi 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039% mulai terdapat pertumbuhan bakteri sehingga, dapat dinyatakan bahwa nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak daun sirih tunggal adalah 2,5%.

Tabel tersebut menunjukkan hasil bahwa pengujian kombinasi ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau dengan perbandingan (1:1), (1:2), dan (2:1). Masing-masing dibuat dengan seri konsentrasi sebesar 20%, 10%, 5%,

2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039%. Hasil inokulasi pada Tabel 10 dapat dilihat bahwa pada perbandingan (1:1) pertumbuhan bakteri terdapat pada konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039% sehingga Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari perbandingan ini adalah 20%. Pada perbandingan (1:2) pertumbuhan bakteri mulai terlihat pada konsentrasi 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039% sehingga Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari perbandingan ini adalah 2,5%. Pada perbandingan (2:1) pertumbuhan bakteri terdapat pada konsentrasi 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, dan 0,039% sehingga Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari perbandingan ini adalah 10%.

Sebagai pembanding digunakan antibiotik amoksisilin. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari antibiotik amoksisilin dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil uji aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

No.	Konsentrasi (mg/ml)	Hasil inokulasi pada medium VJA		
		Antibiotik Amoksisilin		
		I	II	III
1	Kontrol (-)	-	-	-
2	2,5	-	-	-
3	1,25	-	-	-
4	0,625	-	-	-
5	0,312	+	+	+
6	0,156	+	+	+
7	0,078	+	+	+
8	0,039	+	+	+
9	0,019	+	+	+
10	0,009	+	+	+
11	0,004	+	+	+
12	Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

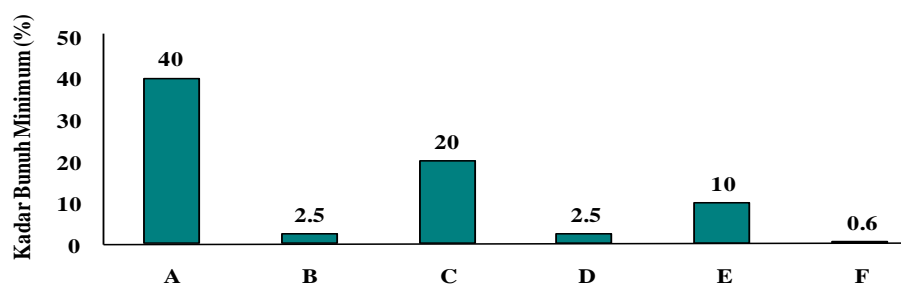
(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Berisi antibiotik amoxicillin

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri + BHI

Pemilihan antibiotik amoksisilin dikarenakan antibiotik tersebut merupakan antibiotik yang sering digunakan oleh masyarakat luas serta antibiotik ini juga memiliki target yang sama yaitu efektif dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri sehingga dapat terjadi lisis. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap antibiotik amoksisilin dilakukan dengan metode yang sama yaitu dengan metode dilusi. Konsentrasi yang digunakan adalah 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,312%, 0,156%, 0,078%, 0,039%, 0,019%, 0,009%, dan 0,004%. Dari pengujian tersebut didapatkan hasil yaitu pada konsentrasi 0,312%, 0,156%, 0,078%, 0,039%, 0,019%, 0,009%, dan 0,004% terdapat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari antibiotik amoksisilin adalah 0,625%.

10.2. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri



Gambar 3. Diagram hasil uji aktivitas antibakteri

Keterangan :

- A : ekstrak daun jarak tunggal
- B : ekstrak daun sirih hijau tunggal
- C : ekstrak kombinasi (1:1)
- D : ekstrak kombinasi (1:2)
- E : ekstrak kombinasi (2:1)
- F : amoksisilin

Berdasarkan diagram diatas dilakukan perbandingan antara nilai Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih

tunggal. Hasil Konsentrasi Bunuh Minimum dari ekstrak etanol daun sirih tunggal memiliki nilai yang lebih tinggi yaitu 2,5% sedangkan pada ekstrak etanol daun jarak tunggal yaitu 40%. Kedua data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau tunggal memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Perbandingan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum juga dilakukan terhadap ketiga perbandingan kombinasi antara ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum yang dimiliki oleh kombinasi ekstrak pada perbandingan (1:1) adalah 20%. Pada perbandingan ini nilai KBM lebih tinggi dibanding ekstrak etanol daun jarak tunggal. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa kombinasi ini lebih efektif sebagai antibakteri dibandingkan ekstrak etanol jarak tunggal. Kandungan antara jarak dan sirih pada perbandingan ini mampu membunuh pertumbuhan bakteri salah satunya adalah steroid berupa stigmasterol yang dimiliki oleh jarak dan steroid berupa β -sitosterol yang dimiliki oleh sirih (Kamaluddin 2008; Omokregie & Folashade 2013). Kandungan tersebut mampu merusak membran sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga integritas membran menurun serta morfologi dari membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed 2007).

Kombinasi ekstrak dengan perbandingan (2:1) juga memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum yang lebih tinggi dibanding ekstrak etanol daun jarak tunggal yaitu sebesar 10%. Kombinasi ekstrak dengan perbandingan ini memiliki jumlah ekstrak etanol daun jarak lebih besar dibanding jumlah ekstrak etanol daun sirih hijau. Kandungan jarak berupa flavonoid yaitu apigenin,

polifenol, tanin, alkaloid berupa jatrofamin dan atherospermidine, terpenoid, saponin, dan steroid berupa stigmasterol mampu membuat jarak memiliki daya antibakteri lebih besar. Daya antibakteri ini juga diperkuat dengan kandungan yang dimiliki oleh sirih yaitu flavonoid, tanin, alkaloid berupa allyprocatechol, terpenoid, dan steroid berupa β -sitosterol serta minyak atsiri yang terdiri dari eugenol, hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, sineol, estragol, eugenol, metileugenol, dan karvakrol.

Pada perbandingan (1:2) memiliki nilai KBM sebesar 2,5%. Dari ketiga perbandingan tersebut, kombinasi ekstrak pada perbandingan (1:2) memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum tertinggi sehingga membuat perbandingan ini menjadi perbandingan yang paling optimal dan efektif sebagai antibakteri. Hal tersebut disebabkan karena pada kombinasi ini jumlah perbandingan ekstrak daun sirih hijau lebih banyak sehingga kandungan komponen dari ekstrak daun sirih hijau juga lebih banyak tentunya. Kandungan flavonoid, tanin, alkaloid berupa allyprocatechol, terpenoid, steroid berupa β -sitosterol, dan minyak atsiri yang dimiliki oleh sirih mampu membuat kombinasi ini memiliki aktivitas antibakteri yang optimal. Flavonoid, terpenoid, dan steroid yang dimiliki oleh sirih mampu merusak membran dari sel bakteri (Ahmed 2007; Wakirwa *et al* 2013). Tanin bekerja dengan mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi kurang sempurna akibatnya sel bakteri dapat mengalami lisis yang berimbas pada kematian sel (Sari *et al* 2009). Alkaloid berupa allyprocatechol yang dimiliki oleh sirih mampu mendenaturasikan protein sel dari bakteri sehingga bakteri dapat mengalami kematian (Sari *et al* 2010). Kandungan

lainnya berupa minyak atsiri yang dimiliki sirih terdiri dari betlephenol, hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, cyneole, estragol, eugenol, metileugenol, dan karvakrol. Minyak atsiri tersebut dapat merusak dinding sel bakteri dan dapat menyebabkan kebocoran sel (Febriyati 2010). Golongan eugenol, kavikol, dan kavakrol dilaporkan memiliki mekanisme kerja terhadap bakteri dengan merusak membran sitoplasma, denaturasi protein, serta mencegah pembentukan dinding sel bakteri (Maytasari 2010).

Konsentrasi pada perbandingan ini memiliki daya aktivitas antibakteri yang sama dengan ekstrak etanol tunggal daun sirih hijau. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada perbandingan (1:2) dan ekstrak etanol daun sirih hijau tunggal memiliki sifat adisi. Adisi merupakan efek kombinasi sama dengan jumlah aktivitas dari ekstrak tunggal, hal ini dapat dilihat dari hasil uji pada ekstrak etanol daun sirih hijau tunggal dan kombinasi ekstrak dengan perbandingan (1:2) yang memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum sebesar 2,5%. Efek lainnya berupa efek komplementer dimana efek utamanya yaitu sebagai antibakteri yang lebih dominan dimunculkan oleh ekstrak daun sirih hijau dan efek yang mendukung yaitu sebagai penyembuh luka yang dimunculkan oleh ekstrak daun jarak (Sachdeva *et al* 2011).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan positif antara konsentrasi dengan daya antibakteri dimana semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula daya antibakterinya karena semakin besar konsentrasi kandungan zat aktifnya juga semakin banyak. Anggapan tersebut juga berlaku pada kombinasi dimana semakin besar jumlah kombinasi ekstrak maka semakin

besar pula daya antibakterinya. Selain itu juga dapat diindikasikan bahwa nilai KBM berbanding terbalik dengan nilai sensitivitas bakteri, jadi semakin rendah nilai KBM yang dimiliki oleh suatu bahan maka nilai sensitivitas bakterinya semakin tinggi.

Hasil Konsentrasi Bunuh Minimum yang dimiliki oleh ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau baik tunggal maupun kombinasi dibandingkan dengan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum dari antibiotik amoksisilin. Perbandingan hasil kombinasi ekstrak baik tunggal maupun kombinasi dengan amoksisilin sebagai antibakteri memberikan hasil yang masih jauh berbeda. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari antibiotik amoksisilin yaitu 0,625%, sedangkan kombinasi yang paling efektif yaitu dengan perbandingan (1:2) diperoleh KBM sebesar 2,5%. Ini mengindikasikan bahwa daya antibakteri ekstrak baik secara tunggal maupun kombinasi menjadi kurang efektif sebagai antibakteri sehingga penggunaan obat amoxicillin di masyarakat belum dapat digantikan dengan ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau baik tunggal maupun kombinasi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian uji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah :

Pertama, ekstrak etanol tunggal dan kombinasi ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau pada perbandingan (1:1), (1:2), dan (2:1) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau pada perbandingan (1:1), (1:2), dan (2:1) memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 20%, 2,5%, dan 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923..

Ketiga, aktivitas antibakteri yang paling optimal dari ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara tunggal adalah ekstrak etanolik daun sirih dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 2,5% dan pada kombinasi adalah perbandingan (1:2) dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 2,5%.

Keempat, perbandingan yang paling efektif dari kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah perbandingan (1:2).

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri patogen lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau dengan menggunakan pelarut dan metode yang lain.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian fraksi terhadap masing-masing ekstrak sehingga dapat diketahui zat yang paling aktif sebagai antibakteri dari kedua ekstrak.

Keempat, perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* guna melihat efek komplementer yang ditimbulkan dari pengkombinasian ekstrak daun jarak dan ekstrak daun sirih hijau pada perbandingan 1:2.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Ido S. 2009. Pengujian aktivitas ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Rhizoctonia sp.* secara In vitro. *But Littro* 20:92-98
- Adamu LGO *et al.* 2013. Antimicrobial activity of extracts of *Jatropa curcas* and *Calotropis procera* leaves against pathogenic isolates from motorcycle helmets in Lagos metropolis. *International Journal of Current Microbiology and applied Sciences* 2:292-302.
- Agustin, Dian W. 2005. Perbedaan khasiat antibakteri bahan irigasi saluran akar antara Hidrogen Peroksida dan Infusum daun sirih merah 20% terhadap bakteri *Mix.* *MKG* 1:45-70
- Ahmed B. 2007. *Chemistry of Natural Products*. New Delhi: Department of Pharmaceutical Faculty of Science Jamia Hamdard
- Angelina M, Turnip M, Khotimah S. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Protobiont* 4(1):184-189
- Ansel 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Farida Ibrahim, penerjemah. Jakarta; UI Press. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*
- Asogwa FC, Okoye COB, Okechukwu Ugwu PC. 2015. Phytochemistry and antimicrobial assay of *Jatropa curcas* extracts on some clinically isolated bacteria – a comparative analysis. *European Journal of Applied Sciences* 7:12-16.
- Aulung A, Christiani, Ciptaningsih. 2010. Daya larvasida ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* L. *Majalah Kedokteran FK UKI* 27(1): 7-14
- Backer CA, Brink RCBVD. 1965. *Flora of Java Vol II*. N.V.P. Norrdhoff. Gonogen. Netherlands
- Balawala GB. 2012. aktivitas antibakteri ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, dan *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Bangun A. 2012. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Bandung: Indonesia Publishing House.

- Bonang G, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya, PT Gramedia
- Brooks GF, Bulel JS, Orriston LN. 1995. *Medical Microbiology*. 4th Ed. Coneticut: Appleton & Lange, Simon and Schuster Company hal. 197-202
- Ciulei 1984. *Methodology for Analysis of Vegetables and Drug*. Romania: Faculty of Pharmacy, Bucharest hal. 11-26
- DepKes RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1980. *Materia Medika Indonesia* Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1985. *Materia Medika Indonesia* Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- DepKes RI. 2001. *Ilmu resep Teori* Jilid II (Untuk Kelas II). Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hlm 60.
- DepKes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dwijayanti N. 2013. Aktivitas larvasida ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) terhadap larva *Aedes aegypti* L. *Calyptra Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* 2(2):1-14
- Ekundayo EO, Ekekwe JN. 2013. Antibacterial activity of leaves extracts of *Jatropha curcas* and *Euphorbia heterophylla*. *African journal of Microbiology Research* 7:5097-5100.
- Farnworth R. 1966. Biological and phytochemical screening of plant. *J. Pharm. Sci.* 55:59

- Febriyati. 2010. Analisis komponen kimia fraksi minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* L.) dan uji aktivitas antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri [Skripsi]. Jakarta; Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri
- Hidayati A, Perwitasari DA. 2011. Persepsi penggunaan obat bahan alam sebagai alternatif pengobatan di Kelurahan Muja Muju Kecamatan Umbulharjo Kota Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional "Home Care" tanggal 30 Juni 2015 Universitas Ahmad Dahlan* hal. 119-128
- Indraswari A. 2008. Optimasi pembuatan ekstrak daun dewandaru menggunakan metode perkolasi dengan parameter kadar total senyawa fenolik dan flavonoid [Skripsi]. Surakarta; Universitas Muhammadiyah
- Israr YA. 2008. *Meningitis*. Riau: Faculty of Medicine, University of Riau.
- Iswanti, D.A. 2009. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol 96% daun ekor kucing (*Acalypha Hispida* Burm. F) terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 secara dilusi. [Skripsi] Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi kedokteran*. Ed ke-23, penerjemah; Hartanto C, Rachman C, Dimanti A, Diani A, editor Eleferia CK, Ramadhani D, Karolina S, Indriyani F, Rianti SS, Yulia P. Jakarta: EGC. Terjemahan dari : *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Review of Medical Mikrobiologi*. Ed 16th. California: Lange Medical Publication. Gerald Bonang, penerjemah. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20. Nugroho & R.F. Maulany, penerjemah. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 211,213,215.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-22. Jakarta : Penerbit Buku Salemba Medka.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, 2012, *Medical Mikrobiologi*, 26rd. Ed. Elferia Nr, Penerjemah : Jakarta
- Kaihena M, Lalihatu V, Nindatu M. 2011. Efektivitas ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Anopheles sp.* Dan *Culex. Molusca Medica* hal.99.
- Kamaluddin DHBTA. 2008. Chemical studies and biological activities of extractives from *Piper betle* leaves [Skripsi]. Malaysia; Faculty of Resource Science and Technology, University Malaysia Sarawak

- Karteek P, Jahnavi V, Keerthi DV, Sravhanti KC. 2012. Evaluation antibacterial activity of herbs. *International Research Journal of Pharmacy* 3(8): 230-232
- Katno dkk. 2008. *Pengaruh Waktu Pengeringan terhadap Kadar Tanin Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.)*. Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia. Vol. 1 No. 1.
- KemenKes RI. 2010. *Farmakope Herbal Indonesia Suplemen I*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Khan JA, K Sing, P Kaur. 2012. In vitro evaluation of antibacterial properties of *Jatropha curcas*. *IJPRBS* 1:283-290.
- Khan JA, Kumar Naveen. 2011. Evaluation of antibacterial properties of extracts of *Piper betel* Leaf. *JPBMS* 11:2230-7885.
- Kusuma SAF. 2009. *Makalah Staphylococcus aureus*. Bandung: Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
- Manawan FI, Wewengkang DS, Wehantow F. 2014. Aktivitas antibakteri dan karakterisasi senyawa spon *Haliclona sp.* yang diperoleh dari Teluk Manado [Skripsi]. Manado; Program studi Farmasi FMIPA, Universitas Sam Ratulangi
- Moeljanto RD, Mulyono. 2003. *Khasiat & Manfaat Daun Sirih (Obat Mujarab dari Masa ke Masa)*. Jakarta: Agromedia pusaka.
- Narayani M, Johnson M, Sivaraman A, Janakiraman L. 2012, Phytochemical and antibacterial studies on *Jatropha curcas* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 4:2639-2642.
- Nazhifah R, Darwin D. 2013. Uji sensitivitas isolat bakteri dari pasien luka bakar di bangsal luka bakar RSUP Dr. M. Djamil Padang. *Prosiding seminar nasional perkembangan terkini sains farmasi dan klinik III2013 Universitas Andalas* hal. 212-220
- Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat online* 2(2):128-132
- Nugroho BW, Dadang, Prijono D. 1999. *Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami*. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, IPB. Bogor.
- Nurcholis M, Sumarsih S. 2007. *Jarak dan Pembuatan Biodiesel*. Yogyakarta: KANISIUS hlm. 15,18-21.

- Nuria MC, Faizatun A, Sumantri. 2009. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun jarak (*Jatropha curcas*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella Thyposa* ATCC 1408. *Mediagro*5:26-37.
- Nyembo K *et al.* 2012. In vitro antibacterial activity and phytochemical screening of crude extracts from *Jatropha curcas* Linn. *European Journal of Medicinal Plants* 2:242-251.
- Okorondu SI, Akujobi CO. 2013. Antimicrobial activity of the leaf extracts of *Moringa oleifera* and *Jatropha curcas* on pathogenic bacteria. *International Journal of Biological and Chemical Sains* 7:195-202.
- Okoye COB, Asogwa FC, Agbo MO. 2013. Synergistic effect of *Jatropha curcas* root extract and ampicillin on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from clinical specimens. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research* 4(11): 816-820
- Oliver, Bever DC. 2000. *Medical Plants in Tropical West Africa*. London: Cambridge University Press
- Omoregie EH, Folashade KO. 2013. Broad spectrum antimicrobial activity of extracts of *Jatropha curcas*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3:83-87.
- Oseni LA, Yussif B. 2012. A comparative evaluation of in vitro growth inhibitory activities of crude aqueous extracts of different parts of *Jatropha curcas* used singly and in combination with other parts against *Salmonella thypi* and *Escherichia coli*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4(3): 513-516
- Otieno JN, Kennedy MMH, Herbert VL, Rogasian LAM. 2008. Multiplant or single plant extracts, which is the most effective for local healing in Tanzania?. *Afr. J. Trad. CAM* 5(2): 165-172
- Pakpahan RA, Kotimah S, Turnip M. 2015. Efektivitas ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle*) dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai alternatif pengawet tahu. *Protobiont* 4:115-119
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS. 1998. *Dasar – Dasar Mikrobiologi* 2. Volume ke-1. Hadioetomo RS, Imas T, Angka SL, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*
- Philp RB. 2004. *Herbal-Drug Interactions and Adverse Effects*. United State of America: McGraw-Hill Company.
- Pradhan D, Suri KA, Pradhan DK, Biswasroy P. 2013. Golden heart of the nature : *Piper betle* L. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1: 147-160.

- Praeparandi. 1978. *Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif*. Bandung : Seksi Diktat Stenhl. Hlm 9
- Pramono Suwijoyo. 2006. *Peningkatan Efektivitas dan Daya Saing Obat Alam Indonesia*. Yogyakarta; Universitas Gajah Mada
- Rijayanti RP, Luliana S, Trianto HF. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura* Hlm. 2-18
- Robinson T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kosasih Padwawinata, penerjemah; Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hlm 152-196. Terjemahan dari : *The Organic Constituens of Higher Plants*
- Ryan KJ *et al.* 1994. *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*. Edisi ke-3. Connecticut: Appleton & Lange. Hlm. 254
- Sachdeva K, Garg P, Singhal M, Srivastava B. 2011. Wound healing potential of extract of *Jatropha curcas* L. (stem bark) in rats. *Pharmacognosy Journal* 3 25:67-72.
- Sari FP, Sari SM. 2009. Ekstraksi zat aktif antimikroba dai tanaman yodium (*Jatropha multifida* Linn.) sebagai bahan baku alternatif antibiotik alami. *Fakultas teknik kimia*. Hlm 1-7
- Sari YD *et al.* 2010. Uji aktivitas antibakteri infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) secara *In vitro* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 4(3): 144- 239
- Setiabudy R, Gan VHS. 1995. *Pengatur Antimikroba dalam Farmakologi dan Terapi*. Ed 4. Jakarta: Ganiswara SG Universitas Indonesia
- Steenis CGGJ Van. 1992. *Flora*. Edisi ke-6. Moeso Surjowinoto dkk, penerjemah. Jakarta: Penerbit PT Pradya Paramita hlm 256.
- Sudirman TA. 2014. Uji efektivitas ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. [Skripsi] Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanudin Makasar
- Sulaiman TNS. 2011. *Teknologi dan Formulasi Sediaan Tablet*. Cetakan pertama. Yogyakarta: Mitra Communication Indonesia
- Sulistyaningsih. 2007. Pengujian potensi sediaan injeksi kering amoksisilin dalam aqua pro injeksi pada variasi suhu penyimpanan dan konsentrasi [makalah]. Bandung; Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran

- Suryatini KY. 2011. Analisis keragaman genetik jarak (*Jatropha curcas* L.) dengan metode Inter Simple Sequence Repeats (ISSR)[Tesis]. Denpasar: Program Studi Bioteknologi Pertanian, Universitas Udayana.
- Suryono. 2013. *Budidaya Tanaman Jarak & Kepyar Sumber Energi Alternatif Terbarukan*. Edisi ke-1. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Sutton, S. 2011. *Determination of Inoculum for Microbiological Testing*. Summer Vol. 15 Number 3
- Syamsuhidayat. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Edisi Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI hlm. 134-140
- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi 5 Cetakan Kedua. Soendari Noeroro, penerjemah; Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Wakirwa JH, Ibrahim P, Madu SJ. 2013. Phytochemical screening and in vitro antimicrobial analysis of the ethanol stem bark of *Jatropha curcas* Linn. (Euphorbiaceae). *International Journal research of Pharmacy* 4:97-100
- Warsa UC. 1994. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara. hlm 103-110.
- Wells B, Joseph TD, Terry LS, Cecily VD. 2009. *Pharmacotherapy Handbook*. Edisi ke-7. Mc Graw Hill. hlm 377.
- Widyaningrum N. 2013. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) pada daun teh hijau sebagai anti jerawat. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 17: 95-98.
- Yuwono, Biomed M. 2010. *Pandemi Resistensi Antimikroba: Belajar dari MRSA*. Departemen Mikrobiologi FK Unsri. hlm 2837-2850.
- Zaidi M, Tayyab K, Wajahat A, Shafique M, Naz SA. 2013. Inhibitory effect of natural herbal extracts on systemic bacteria. *Int. J. Biol. Res.* 1:89-93

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Identifikasi tanaman jarak (*Jatropha curcas* L.) dan Sirih hijau (*Piper betle* L.)



**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
Telp. , 0274.542738, 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN
No.: BF/129/Ident/Det/XII/2015

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Adityo Teguh Wicaksono
NIM. 18123631 A
Universitas Setia Budi
Di Surakarta



Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
429	<i>Jatropha curcas</i> L.	Euphorbiaceae
	<i>Piper betle</i> L.	Piperaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 16 Desember 2015

Kema


 Prof. Dr. Wahyono, SU., Apt.
 NID. 195007011977021001

Lampiran 2. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jarak dan daun sirih hijau

1. Sampel daun jarak (*Jatropha curcas* L.)

No	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Prosentase (%)
1	1700	800	47,06

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100\% \\ &= \frac{800 \text{ gram}}{1700 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 47,06\% \end{aligned}$$

Jadi, prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jarak adalah 47,06%

2. Sampel daun sirih hijau (*Piper betle* L.)

No	Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Prosentase (%)
1	900	400	44,44

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot kering}}{\text{Bobot basah}} \times 100\% \\ &= \frac{400 \text{ gram}}{900 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 44,44\% \end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan penetapan susut pengeringan

1. Susut pengeringan serbuk

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jarak

Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Susut pengeringan (% b/b)
2,0	1,82	8,0
2,0	1,82	8,0
2,0	1,82	8,0
Rata-rata		8,0 ± 0,0

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sirih hijau

Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Susut pengeringan (% b/b)
2,0	1,84	9,5
2,0	1,84	9,0
2,0	1,84	9,0
Rata-rata		9,17 ± 0,28

2. Susut pengeringan ekstrak

Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun jarak

Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Susut pengeringan (% b/b)
2,0	1,93	3,1
2,0	1,92	3,6
2,0	1,92	3,6
Rata-rata		3,43 ± 0,28

Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun sirih hijau

Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Susut pengeringan (% b/b)
2,0	1,87	6,2
2,0	1,87	6,5
2,0	1,87	6,2
Rata-rata		6,3 ± 0,17

Lampiran 4. Perhitungan kadar rendemen ekstrak

Bobot serbuk (gram)		Bobot ekstrak (gram)		Rendemen (%)	
Daun jarak	Daun sirih hijau	Daun jarak	Daun sirih hijau	Daun jarak	Daun sirih hijau
200	200	24,62	23,53	12,31	11,76

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen ekstrak daun jarak} &= \frac{24,62 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 12,31\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen ekstrak daun sirih hijau} &= \frac{23,53 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,76\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan dan pembuatan larutan stok ekstrak etanolik kombinasi dan tunggal

A. Pembuatan larutan stok 20% pada perbandingan konsentrasi 1:1

Cara : menimbang ekstrak etanolik daun jarak 1 gram dan ekstrak etanolik daun sirih hijau 1 gram, kemudian ditambah DMSO 5% ad 10 ml lalu dihomogenkan.

B. Pembuatan larutan stok 20% pada perbandingan konsentrasi 1:2

Cara : menimbang ekstrak etanolik daun jarak 0,67 gram dan ekstrak etanolik daun sirih hijau 1,34 gram, kemudian ditambah DMSO 5% ad 10 ml lalu dihomogenkan.

C. Pembuatan larutan stok 20% pada perbandingan konsentrasi 2:1

Cara : menimbang ekstrak etanolik daun jarak 1,34 gram dan ekstrak etanolik daun sirih hijau 0,67 gram, kemudian ditambah DMSO 5% ad 10 ml lalu dihomogenkan.

D. Pembuatan larutan stok konsentrasi 40% pada ekstrak etanolik daun jarak tunggal

$$\text{Larutan stok 40\%} = \% \text{ } ^b/v = 40 \text{ gram/100 mL}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi 40\%} &= 4 \text{ gram/10 mL} \\
 \text{Konsentrasi 20\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 40\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 20\% \\
 \text{Konsentrasi 10\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 20\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 10\% \\
 \text{Konsentrasi 5\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 10\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 5\% \\
 \text{Konsentrasi 2,5\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 5\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 2,5\% \\
 \text{Konsentrasi 1,25\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 2,5\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 1,25\% \\
 \text{Konsentrasi 0,625\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 1,25\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 0,625\% \\
 \text{Konsentrasi 0,312\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,625\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 0,312\% \\
 \text{Konsentrasi 0,156\%} &= V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \\
 &0,5 \cdot 0,312\% = 1 \cdot C_2 \\
 &C_2 = 0,156\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi } 0,078\% &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,156\% &= 1 \cdot C_2 \\ C_2 &&= 0,078\% \end{aligned}$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 mL ekstrak

Kontrol positif (+) berisi 1 mL suspensi bakteri

E. Pembuatan larutan stok konsentrasi 20% ekstrak etanolik daun sirih hijau tunggal dan kombinasi antara ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau

Larutan stok 20% = % ^b/_v = 20 gram/100 mL

Konsentrasi 20% = 2 gram/10 mL

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 10\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 20\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 10\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 5\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 10\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 2,5\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 5\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 2,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 1,25\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 2,5\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 1,25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,625\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 1,25\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,625\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,312\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,625\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,312\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi 0,156\%} &= V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ &0,5 \cdot 0,312\% &= 1 \cdot C_2 \\ &C_2 &= 0,156\% \end{aligned}$$

$$\text{Konsentrasi 0,078\%} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,156\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,078\%$$

$$\text{Konsentrasi } 0,039\% = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,078\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,039\%$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 mL ekstrak

Kontrol positif (+) berisi 1 mL suspensi bakteri

Lampiran 6. Perhitungan larutan stok antibiotik amoksisilin

Dosis amoksisilin = 125 mg/5 ml = 25 mg/mL

$$= 2500 \text{ mg}/100 \text{ mL} = 2,5 \% \text{ } ^b/v$$

Konsentrasi 1 = 2,5 % = 2,5 gram/100mL

$$\text{Konsentrasi 2} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 2,5\% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 1,25 \%$$

$$\text{Konsentrasi 3} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 1,25 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,625 \%$$

$$\text{Konsentrasi 4} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,625 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,312 \%$$

$$\text{Konsentrasi 5} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,312 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,156 \%$$

$$\text{Konsentrasi 6} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,156 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,078 \%$$

$$\text{Konsentrasi 7} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,078 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,039 \%$$

$$\text{Konsentrasi 8} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,039 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,019 \%$$

$$\text{Konsentrasi 9} = V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$0,5 \cdot 0,019 \% = 1 \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,009 \%$$

Kontrol negatif (-) berisi 1 mL antibiotik amoxicilin

Kontrol positif (+) berisi 1 mL suspensi bakteri

Lampiran 7. Foto tanaman jarak (*Jatropha curcas* L.) dan serbuk daun jarak



Tanaman jarak



Serbuk daun jarak

Lampiran 8. Foto tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) dan serbuk daun sirih hijau



Tanaman sirih hijau



Serbuk daun sirih hijau

Lampiran 9. Foto alat *Moisture Balance*, alat perkolasi, dan hasil ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau



Alat Moisture Balance



Alat Perkolasi





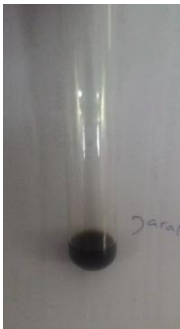

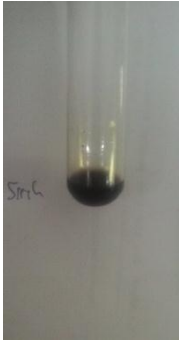






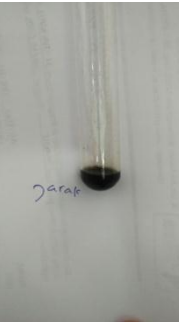
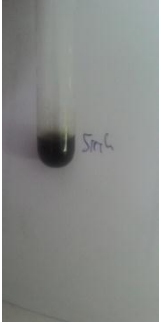
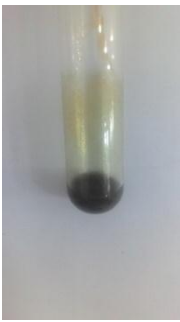







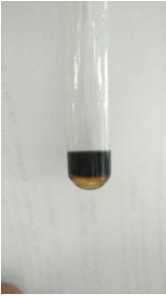
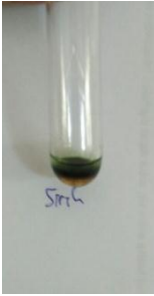

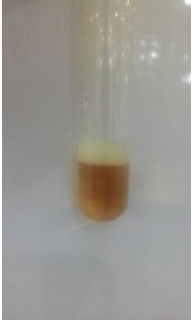



Ekstrak etanolik daun jarak



Ekstrak etanolik daun sirih hijau

Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau

Senyawa	Daun jarak		Daun sirih hijau	
	Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
Flavonoid				
Polifenol				
Minyak atsiri				
Tanin				

Alkaloid	 <p>Three test tubes in a rack. The first tube contains a yellow liquid, the second a red liquid, and the third a yellow liquid. Labels below the tubes read 'Perbandingan', 'Mojer', and 'Diapendit'.</p>	 <p>Three test tubes in a rack. All three tubes contain a dark brown liquid. Labels below the tubes read 'Perbandingan', 'Mojer', and 'Diapendit'.</p>	 <p>Three test tubes in a rack. The first tube contains a yellow liquid, the second an orange liquid, and the third a yellow liquid. Labels below the tubes read 'Perbandingan', 'Mojer', and 'Diapendit'.</p>	 <p>Three test tubes in a rack. The first tube contains a red liquid, the second a dark brown liquid, and the third a red liquid. Labels below the tubes read 'Perbandingan', 'Mojer', and 'Diapendit'.</p>
Steroid dan Terpenoid	 <p>A single test tube containing a dark brown liquid.</p>	 <p>A single test tube containing a dark brown liquid.</p>	 <p>A single test tube containing a green liquid. The word 'Sirk' is written in blue ink below the tube.</p>	 <p>A single test tube containing a green liquid. The word 'Sirk' is written in blue ink to the left of the tube.</p>
Saponin	 <p>A single test tube containing a yellow liquid.</p>	 <p>A single test tube containing a dark brown liquid.</p>	 <p>A single test tube containing a red liquid.</p>	 <p>A single test tube containing a dark brown liquid.</p>

Lampiran 11. Foto autovortex, inkas, inkubator, oven, dan autoklaf



Autovortex Mixer Bar



Inkas



Inkubator

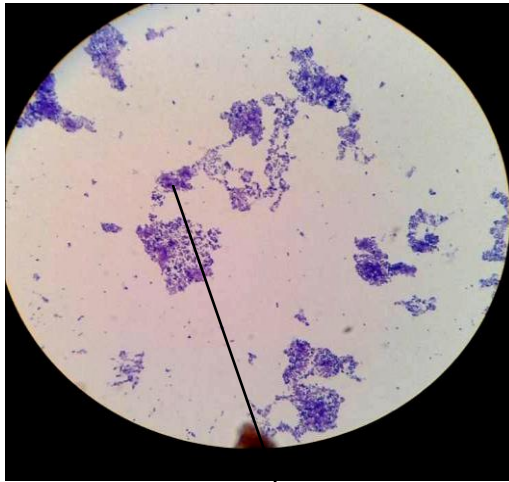


Oven



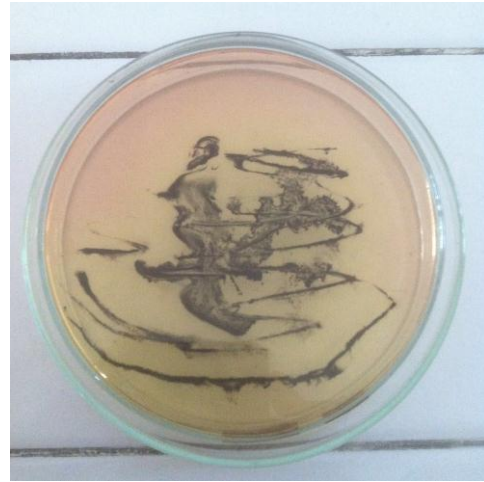
Autoklaf

Lampiran 12. Foto hasil uji mikroskopis dan uji biokimia bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Sel bentuk anggur

Hasil uji mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media VJA



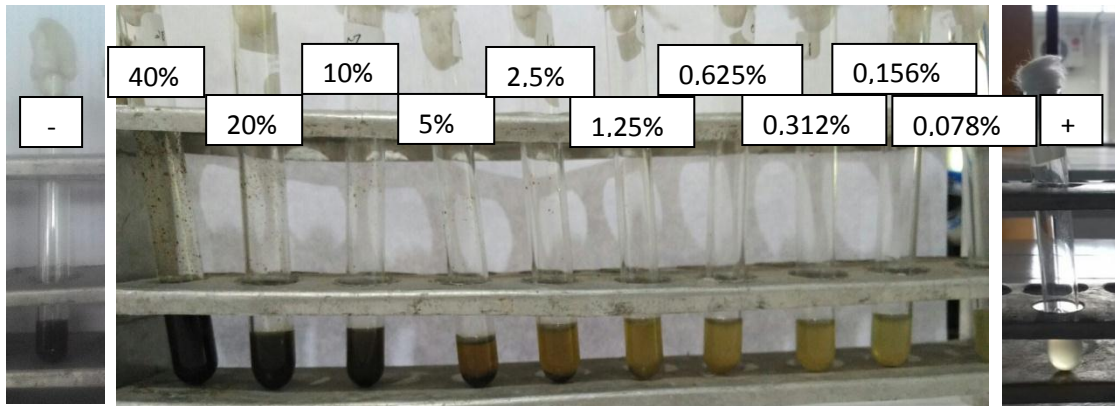
Hasil uji biokimia yaitu katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



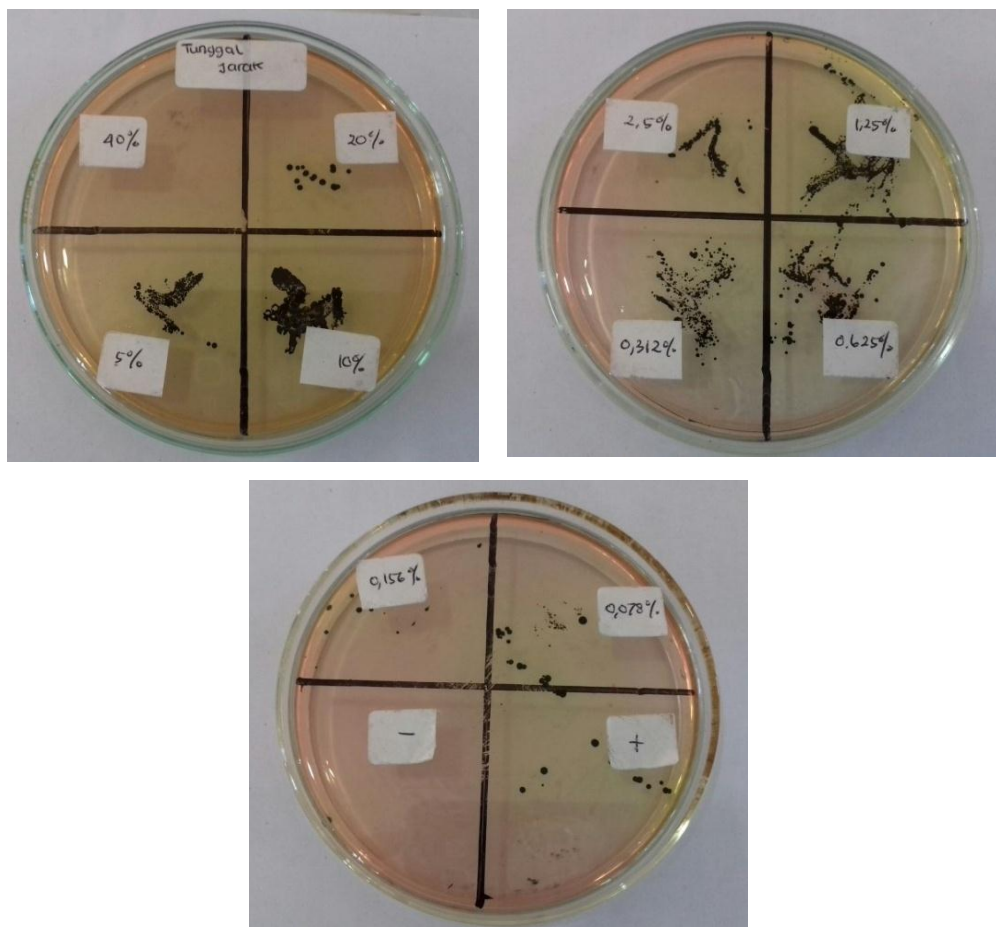
Hasil uji biokimia yaitu koagulase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 13. Foto hasil uji dilusi

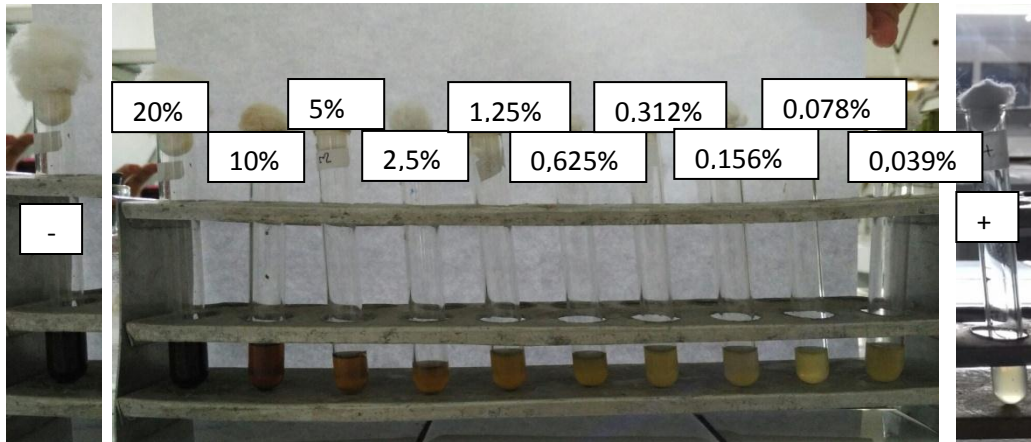
A. Hasil uji dilusi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



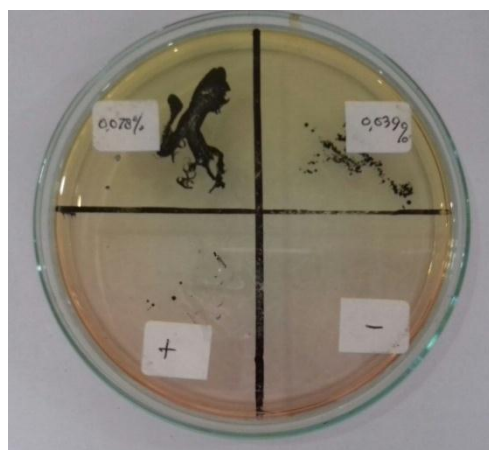
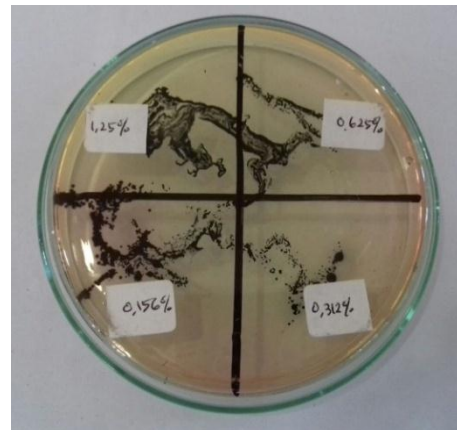
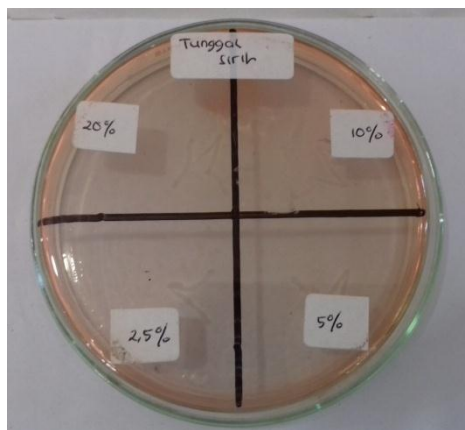
Uji dilusi ekstrak etanolik daun jarak tunggal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Hasil inokulasi uji dilusi

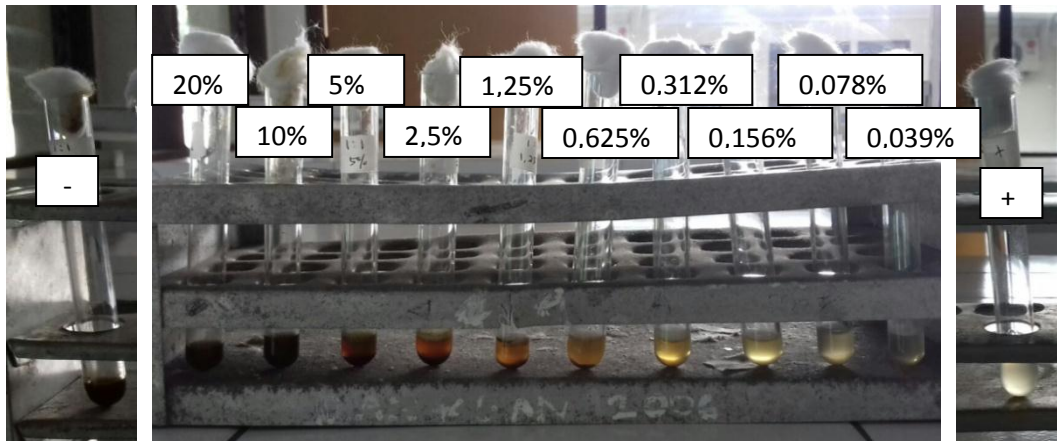


Uji dilusi ekstrak etanolik daun sirih hijau tunggal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

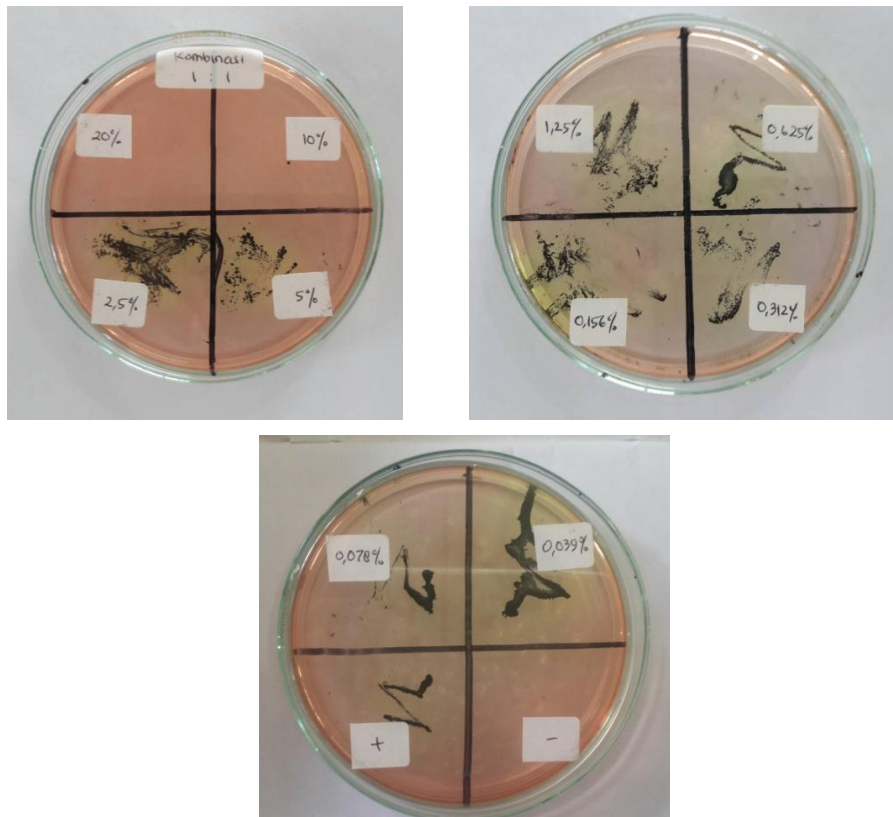


Hasil inokulasi uji dilusi

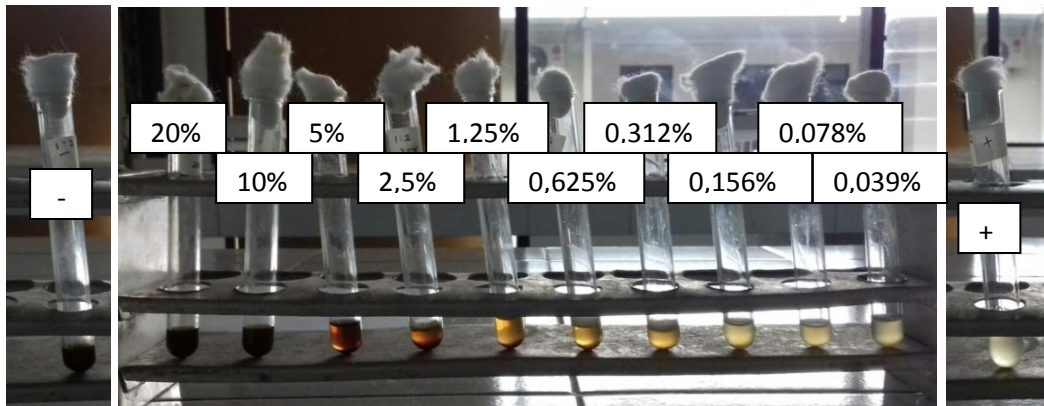
B. Hasil uji dilusi kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



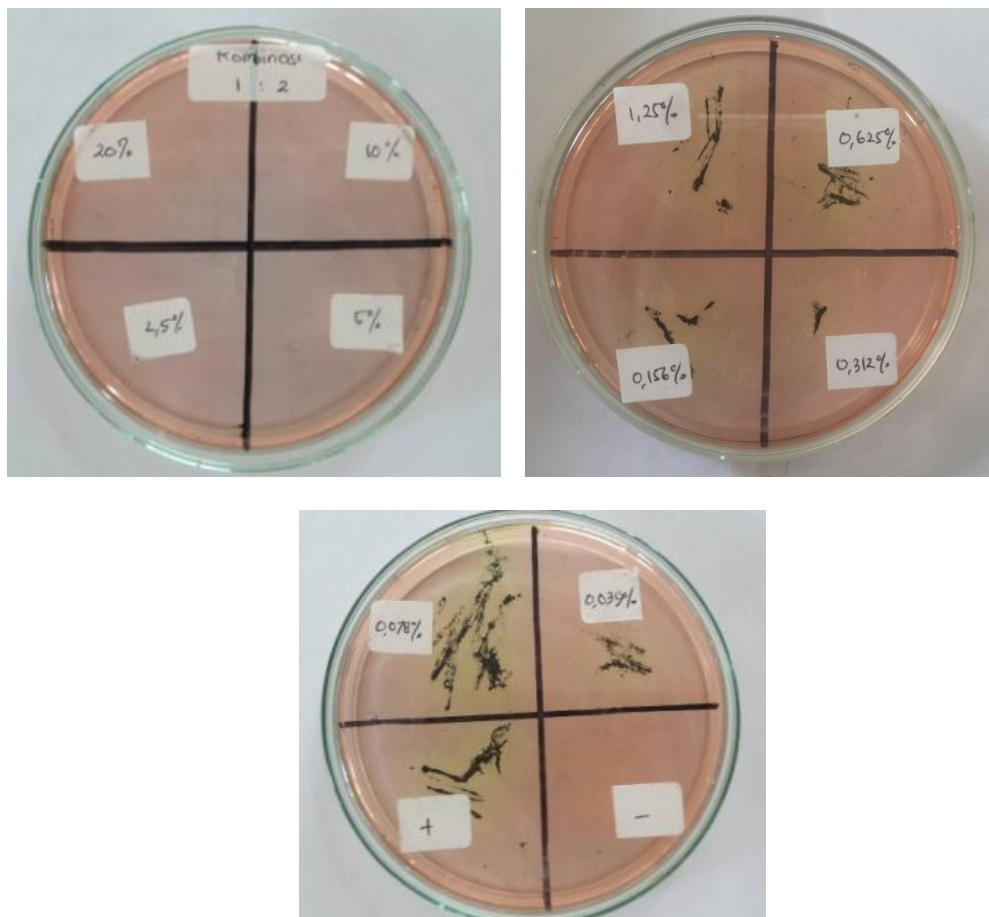
Uji dilusi kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau dengan perbandingan (1:1) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



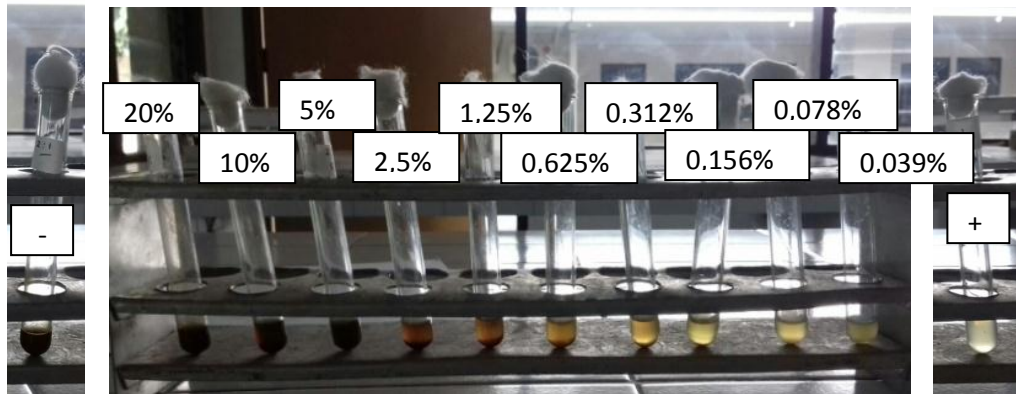
Hasil inokulasi uji dilusi



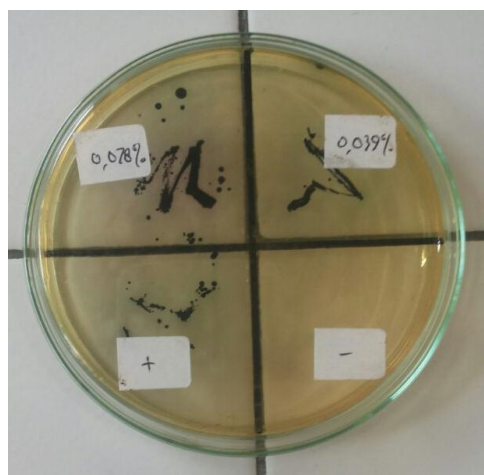
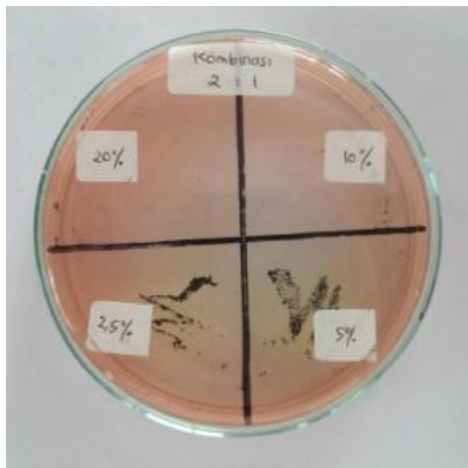
Uji dilusi kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau dengan perbandingan (1:2) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



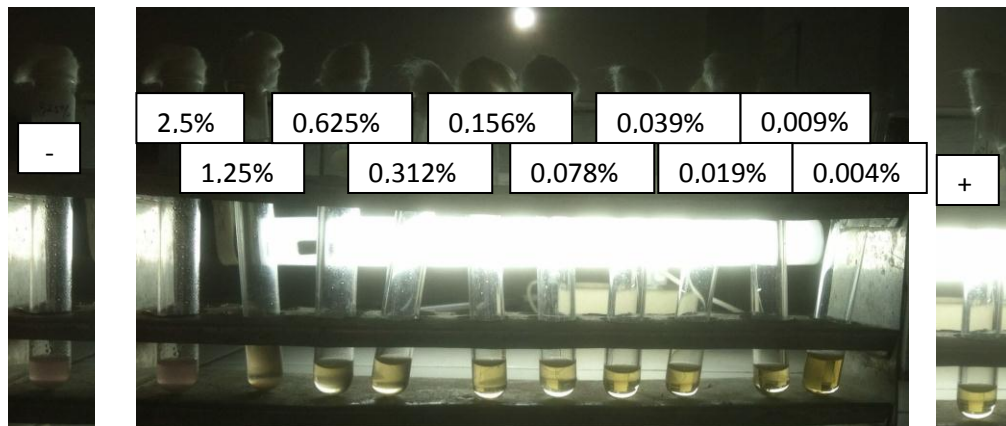
Hasil inokulasi uji dilusi



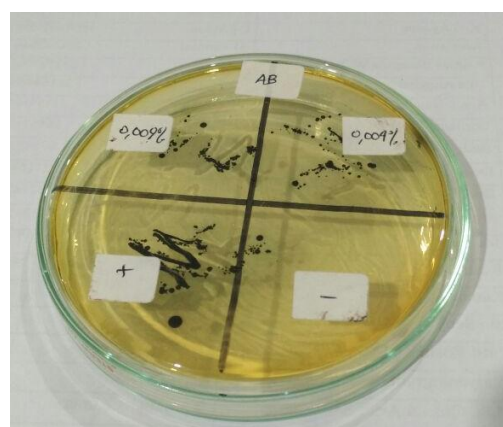
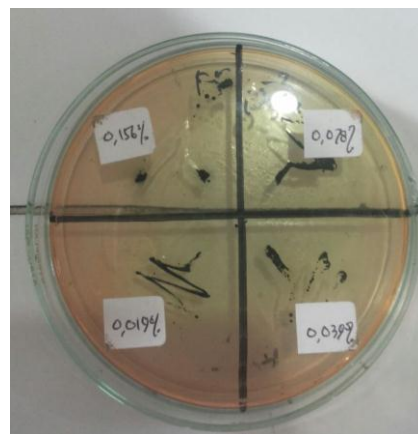
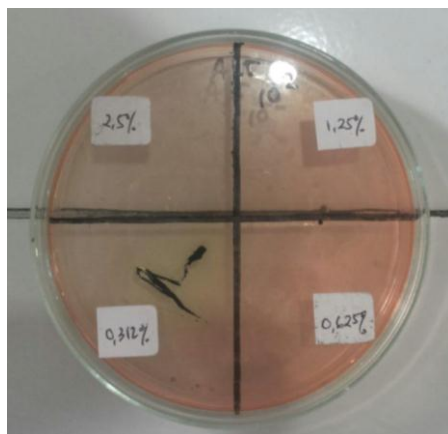
Uji dilusi kombinasi ekstrak etanolik daun jarak dan daun sirih hijau dengan perbandingan (2:1) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Hasil inokulasi uji dilusi



Uji dilusi antibiotik amoksisilin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Lampiran 14. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

2. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dilarutkan, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH 7,4.