

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN
MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh:

**Faridha Joutulis
10170665N**

**PROGRAM STUDI D-IV TRANSFER ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas Akhir:

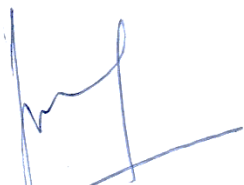
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN
MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Oleh
Faridha Joutulis
10170665N

Surakarta, 16 Juli 2018

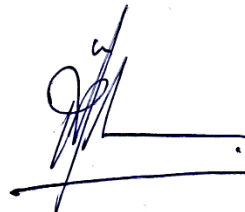
Menyetujui Untuk Sidang Tugas Akhir

Pembimbing Utama



Dra. Nony Puspawati, M.Si
NIS. 01198311012003

Pembimbing Pendamping



D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si
NIS. 01199308181036





LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir :

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Oleh :
Faridha Joutulis
10170665N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 20 Juli 2018

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I : Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.		27 Juli 2018
Penguji II : Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.		31 Juli 2018
Penguji III : D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si.		30 Juli 2018
Penguji IV : Dra. Nony Puspawati, M.Si.		31 Juli 2018

Mengetahui,



Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi

Prof. dr. Marsetyawan HNE S, M.Sc., Ph.D
NIP. 19480929 197503 1 006

Ketua Program Studi
D-IV Analis Kesehatan



Tri Mulyowati., S.KM.M.Sc
NIS.01201112162151

HALAMAN PERSEMBAHAN

BISMILLAHIRRAHMANIRRAHIM

Dalam hidup diperlukan niat yang kuat, kerja keras, kesabaran, dan doa

**Bekerjalah kamu untuk urusan duniamu seolah-olah akan
hidup selamanya. Dan buatlah kamu untuk urusan akhiratmu
seolah-olah kamu akan mati esok hari.**

(S. R. Baihaqi)

Orang yang bijak adalah orang yang berani mengakui kesalahannya dan tidak
mengulangi kesalahan yang sama untuk kedua kalinya.

Kupersembahkan Tugas Akhir ini untuk :

- ✚ Allah SWT atas rahmat-Nya dalam Penyusunan Tugas Akhir ini.
- ✚ Kepada orang tuaku tercinta, Papaku “H.Mu’rid Joutulis” dan Mamaku “Hj.Siti Aminah”. Kepada Anakku tersayang “Alifia Ibna Nuururraufah”. Adikku Fahrozi Ridwan Joutulis yang kusayangi. Serta seluruh keluarga yang sangat aku sayangi, terima kasih untuk motivasi, doa, nasehat, perhatian, serta semangat untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
- ✚ Dosen pembimbingku, Ibu Nony Puspawati, dan Bapak Andang Arif Wibawa, terima kasih telah sabar dan ikhlas meluangkan waktu dan perhatiannya dalam memberikan ilmu, nasehat serta bimbingan dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
- ✚ Sahabatku (saudara kandung ku dan saudara sweet-potato yang paling setia menemaniku dalam suka dan duka).
- ✚ Almamaterku, Fakultas Ilmu Kesehatan, Agama, Bangsa, dan Negara

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi dan lembaga lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penelitian maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka.

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerina sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 Juli 2018



Faridha Joutulis
NIM. 10170665N

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmatNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Tugas akhir ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Terapan Analisis Kesehatan (S.Tr.Ak) pada Fakultas Ilmu Kesehatan di Universitas Setia Budi.

Terlaksananya penyusunan tugas akhir ini berkat bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof.dr. Marsetyawan HNE S.,M.Sc.P.hD selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi. Surakarta.
3. Ibu Tri Mulyowati, S.KM.,M.Sc selaku Ketua Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Dra. Nony Puspawati,M.Si selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.
5. D. Andang Arif Wibawa, SP.,M.Si selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.

6. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga tugas akhir ini menjadi lebih baik.
7. Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga tugas akhir ini menjadi lebih baik.
8. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staff perpustakaan dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta.
9. Kedua orang tuaku tercinta, Ayahku H. Mu'rid Joutulis dan Ibuku Hj. Siti Aminah, Anaku tercinta Urfah dan Adiku Ridwan, terima kasih atas doa, dukungan, kesabaran dan perhatian yang diberikan sehingga Penulis dapat menyelesaikan Tugas akhir ini.
10. Teman-temanku (Susan, Tirza, Estefani, Oppo, Meditamaya, Mery, Dara, dan Kinanti). Yang telah membantu dan memberikan semangat.
11. Teman-teman D-IV Transfer angkatan X Tahun 2017.
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih,

Dalam penyusun tugas akhir ini, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, maka penulis mengharapkan saran dan masukan yang bersifat membangun demi perbaikan dan kesempurnaan tugas akhir ini.

Surakarta, 20 Juli 2018

Faridha Joutulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan.....	4
D. Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn)	5
1. Sistematika Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn)	5
2. Morfologi Tumbuhan	5
3. Kandungan Tumbuhan	6
4. Manfaat Tumbuhan	7
B. Tanaman Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>).....	8
1. Sistematika Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)	8
2. Morfologi	8
3. Kandungan Kimia	9
4. Kegunaan Tanaman.....	9
C. Simplisia.....	10
1. Definisi.....	10

2.	Tahap Pembuatan Simplisia.....	11
D.	Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i>	13
1.	Klasifikasi	13
2.	Morfologi dan Sifat.....	13
3.	Patogenitas	14
4.	Diagnosis Laboratorium.....	15
5.	Pengobatan	17
6.	Pencegahan.....	18
E.	Antibakteri.....	20
F.	Media.....	20
G.	Sterilisasi	21
H.	Metode Penyaringan.....	22
1.	Metode Ekstraksi.....	22
2.	Metode Ekstrak	22
3.	Metode Maserasi	23
4.	Metode Pelarut	24
I.	Metode Kajian Aktivitas Antibakteri	24
1.	Metode Difusi.....	24
2.	Metode Dilusi.....	25
J.	Eritromisin.....	25
K.	Landasan Teori	26
L.	Kerangka Pikir.....	29
M.	Hipotesis.....	30
BAB III METODE PENELITIAN		31
A.	Rancangan Penelitian	31
B.	Waktu dan Tempat Penelitian	31
C.	Populasi Dan Sampel	31
1.	Populasi	31
2.	Sampel.....	31
D.	Variabel Penelitian	32
1.	Identifikasi Variabel Utama	32
2.	Klasifikasi Variabel Utama	32
3.	Definisi Oprasional Variabel Utama.....	33
E.	Alat dan Bahan	34
1.	Alat.....	34
2.	Bahan.....	35
F.	Jalannya Penelitian.....	36
1.	Determinasi Tanaman	36
2.	Pembuatan Serbuk.....	36
3.	Identifikasi Serbuk Herba Meniran Merah dan Sirih Merah	37
4.	Pembuatan Kombinasi	37
6.	Penetapan Persen Rendemen.....	39
7.	Uji Bebas Etanol	39
8.	Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi.....	39

9. Sterilisasi	41
10. Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	41
11. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	42
12. Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji	43
13. Pengujian Aktivitas Antibakteri	43
G. Teknik Pengumpulan Data	44
1. Data Primer	44
2. Data Sekunder	44
H. Analisis Hasil	44
I. Skema Jalannya Penelitian	46
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 51
A. Determinasi Tanaman	51
1. Hasil Determinasi Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn)	51
2. Hasil Determinasi Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)	51
B. Pengeringan dan Pembuatan Serbuk	52
C. Penetapan Kadar Air	53
D. Pembuatan Ekstrak Etanolik	55
E. Uji Bebas Etanol	56
F. Identifikasi Kandungan Senyawa	56
G. Identifikasi Bakteri Uji	57
1. Inokulasi Media <i>Vogel Johnson Agar</i> (VJA)	57
2. Identifikasi Morfologi	58
3. Identifikasi Biokimia	59
H. Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	61
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	 67
A. Kesimpulan	67
B. Saran	68
 DAFTAR PUSTAKA	 69
 LAMPIRAN	 73

Ksgidkabsgouahilsajnc;osjc

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Meniran Merah	6
Gambar 2. Sirih Merah	9
Gambar 3. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Gambar 4. Kerangka Pikir	29
Gambar 5. Skema Pembuatan Ekstrak Meniran Merah.....	46
Gambar 6. Skema Pembuatan Ekstrak Sirih Merah	47
Gambar 7. Skema Pembuatan Ekstrak Kombinasi Meniran Merah Dan Sirih Merah	48
Gambar 8. Skema Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	49
Gambar 9. Skema Pengujian Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Dengan Metode Difusi	50
Gambar 10. Inokulasi Pada Media VJA	58
Gambar 11. Hasil Pewarnaan Gram	58
Gambar 12. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	61
Gambar 13. Diagram Rata-Rata Diameter Daya Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1; 1:2; 2:1	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Simplisia Meniran Hijau (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn).....	53
Tabel 2. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Simplisia Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)	53
Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Meniran Merah.....	54
Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Sirih Merah.....	54
Tabel 5. Pembuatan Ekstrak Maserasi Meniran Merah.....	55
Tabel 6. Pembuatan Ekstrak Maserasi Sirih Merah.....	55
Tabel 7. Pembuatan Ekstrak Etanolik Kombinasi 1:1; 1:2 dan 2:1	55
Tabel 8. Hasil Uji Bebas Etanol	56
Tabel 9. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah Dan Kombinasi.....	57
Tabel 10. Hasil Identifikasi Bakteri Dengan Uji Katalase dan Uji Koagulase	59
Tabel 11. Diameter Hambat Pada Uji Antibakteri Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Secara Difusi	62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman	74
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman	75
Lampiran 3. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Meniran Merah	76
Lampiran 4. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Sirih Merah	77
Lampiran 5. Perhitungan Persentase Penetapan Kadar Air Serbuk Meniran Merah	78
Lampiran 6. Perhitungan Persentase Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Sirih Merah	79
Lampiran 7. Perhitungan Persen Rendemen Hasil Ekstrak Etanolik Meniran Merah	80
Lampiran 8. Perhitungan Persen Rendemen Hasil Ekstrak Etanolik Daun Sirih Merah	81
Lampiran 9. Perhitungan Persen Rendemen Hasil Ekstrak Etanolik Kombinasi 1:1;1:2 Dan 2:1	82
Lampiran 10. Uji Bebas Etanol Ekstrak Etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1; 1:2; 2:1	83
Lampiran 11. Pengujian Kandungan Kimia Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1; 1:2; 2:1	84
Lampiran 12. Gambar Meniran Merah dan Serbuk Meniran Merah	85
Lampiran 13. Gambar Daun Sirih Merah dan Serbuk Daun Sirih Merah	86
Lampiran 14. Ekstrak Etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1; 1:2 dan 2:1	87
Lampiran 15. Pengenceran Ekstrak Etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1; 1:2,; 2:1	88
Lampiran 16. Hasil Identifikasi Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	89

Lampiran 17. Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	90
Lampiran 18. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25925 Secara Difusi	91
Lampiran 19. Perhitungan Pengenceran DMSO (<i>Dimethyl Sulfoxida</i>)	92
Lampiran 20. Pembuatan Sediaan Untuk Uji Difusi.....	93
Lampiran 21. Formulasi dan Pembuatan Media	96
Lampiran 22. Pewarnaan Gram	97
Lampiran 23. Gambar Alat	98
Lampiran 24. Hasil Data Difusi Secara Statistik.	99

INTISARI

JOUTULIS, F. 2018. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, TUGAS AKHIR, FAKULTAS ILMU KESEHATAN, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Penyakit infeksi di Indonesia masih merupakan masalah kesehatan utama. Salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Salah satu tanaman tradisional yang dapat digunakan sebagai antimikroba adalah Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*), karena mengandung senyawa kimia yang berfungsi sebagai antimikroba seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui ekstrak Meniran merah, ekstrak Sirih merah dan kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode dalam penelitian ini menggunakan metode difusi. Konsentrasi yang digunakan adalah 25% dan 50% dengan perbandingan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1. Data dari penelitian kemudian diolah menggunakan analisis statistik analisis varians (ANOVA) dengan metode one-way, sehingga didapatkan hasil signifikansi dari data tersebut.

Hasil dalam metode difusi didapatkan daya hambat yang paling besar dari ekstrak tunggal Meniran merah pada konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat 26,7 mm terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kesimpulan dari penelitian ini adalah Meniran merah memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dibandingkan Sirih merah dan kombinasi.

Kata kunci : Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan Aktivitas antibakteri.

ABSTRACT

JOUTULIS, F. 2018. ANTIBACTERY TEST OF ANTIBACTERY OF ETHANOLIK EXTREME OF RED (*Phyllanthus urinary* Linn), RED SIRIH (*Piper crocatum*) AND COMBINATION TO ATHENS *Staphylococcus aureus* 25923, FINAL PROJECT, FACULTY OF HEALTH SCIENCE, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Infectious diseases in Indonesia are still a major health problem. One of the bacteria that causes infectious diseases is *Staphylococcus aureus*. One of the traditional plants that can be used as an antimicrobial is red Meniran (*Phyllanthus urinaria* Linn) and red Betel (*Piper crocatum*), because it contains chemical compounds that act as antimicrobials such as flavonoids, alkaloids, saponins and tannins. The purpose of this study, to determine red Meniran extract, red Betel extract and a combination of both have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Methods in this study using the method of diffusion. The concentrations used were 25% and 50% with a combination of 1: 1; 1: 2; 2: 1. The data from the research is then processed using statistical analysis of Analysis of Variance (ANOVA) with *one-way* method, to obtain the significance of the data.

The results in the diffusion method obtained the greatest inhibitory effect of a single red Meniran extract at a concentration of 50% with an average of 26.7 mm inhibitory zone to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The conclusion of this study is red Meniran has the most active antibacterial activity compared to red Betel and combinations.

Keywords: Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Red Betel (*Piper crocatum*), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and antibacterial activity.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi merupakan proses masuknya mikroorganisme kedalam tubuh dan menimbulkan penyakit. Di negara berkembang dengan kekurangan sumber daya alam, dapat menyebabkan peningkatan jumlah penyakit infeksi dan kematian (Mandal, 2008). Di Indonesia, penyakit infeksi juga masih menjadi masalah kesehatan utama dan sangat sering diderita oleh orang banyak. Sebagian besar penyakit infeksi tersebut disebabkan oleh bakteri patogen (Irianto, 2014).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) adalah bakteri Gram positif dengan bentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 μm , yang tersusun membentuk kelompok yang tidak beraturan seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* memiliki koloni pada pembedihan padat dengan ciri-ciri berwarna abu-abu sampai dengan kuning keemasan, berbentuk bulat, halus, berkilau dan menonjol. Lebih dari 90% isolat *Staphylococcus aureus* mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. *Staphylococcus aureus* yang asimtomatik sering ditemukan 40% pada orang sehat di bagian hidung, kulit, ketiak dan purineum. *Staphylococcus aureus* dapat hidup normal di beberapa lokasi dalam tubuh manusia seperti kulit, membran hidung dan saluran pencernaan (Radji, 2011).

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan kematian tertinggi sekitar 60-70%. *Staphylococcus aureus* juga merupakan infeksi yang di dapat dari rumah sakit dengan resiko infeksi yang tinggi ataupun di masyarakat. Bakteri dikenal sebagai infeksi pada pasien pasca operasi atau pada luka terbuka,

pneumonia terutama pada musim dingin atau hujan, dan keracunan makanan yang dikarenakan terkontaminasinya enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* serta beberapa penyakit lainnya (Jawetz *at al*, 2012)

Tanaman Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) merupakan tanaman terna atau batang tidak berkayu, tumbuhan liar di pinggir hutan, di tepi jalan, dan di tanah perkarangan. Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) bagian yang digunakan adalah hampir keseluruhan bagian tanaman, seperti akar, batang, dan daun (Soenanto, 2009). Secara empiris dan klinik herbal Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) berfungsi sebagai antibakteri, antibiotik, antiradang, dan antivirus. Kandungan kimia di dalam tanaman cukup banyak sehingga digunakan untuk menyembuhkan penyakit (Kusuma, 2004). Menurut Muhimmah (2015), tanaman Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) memiliki aktivitas zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus*, zona hambat pada Meniran merah menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri dengan adanya zona bening dengan diameter 6,3 mm pada konsentrasi 6,25 mg/ml.

Tanaman Sirih merah (*Piper crocatum*) sudah lama dikenal sebagai obat dan banyak tumbuhan di Indonesia. Bagian dari tanaman sirih merah yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daunnya. Daun sirih merah diketahui memiliki berbagai khasiat untuk menyembuhkan penyakit diantaranya penyakit pada rongga mulut, gatal-gatal, keputihan, batuk, dan penyakit pada mata (Mursito, 2004). Menurut Tri *at al* (2017), penelitian yang dilakukan didapatkan konsentrasi ekstrak Sirih merah dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat

masing-masing 9,6; 12,0; 15,1 mm. Dari hasil penelitian didapatkan konsentrasi ekstrak daun Sirih merah yang paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 50% dengan diameter zona hambat 15,1 mm.

Berdasarkan uraian masalah diatas, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan cara melakukan ekstrak Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), ekstrak Sirih merah (*Piper crocatum*) dan dikombinasi kedua ekstrak terhadap aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan pada penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 memiliki aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Berapakah konsentrasi perbandingan ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 yang memiliki antibakteri paling aktif terhadap pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
3. Apakah kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek sinergis terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 memiliki aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Mengetahui konsentrasi perbandingan ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 yang memiliki antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Mengetahui kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) yang memiliki efek sinergis terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Menambah wawasan pada bidang mikrobiologi khususnya pemeriksaan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Pengembangan ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan tanaman Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan tanaman Sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antibakteri guna peningkatan pelayanan kesehatan masyarakat khususnya dibidang obat tradisional.
3. Memberikan uraian informatif kepada masyarakat tentang pemanfaatan tanaman maniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn)

1. Sistematika Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn)

Menurut Agus dan Fauzi (2004), berdasarkan sistem taksonomi, tanaman Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plante

Divisio : Spermatophyta

Classis : Dicotyledonae

Ordo : Euphorbiales

Familia : Euphorbiaceae

Genus : *Phyllanthus*

Spesien : *Phyllanthus urinaria* Linn

2. Morfologi Tumbuhan

Menurut (Kusuma, 2004), Meniran merupakan tanaman yang tumbuh dengan liar. Dalam dunia pengobatan Meniran di bagi menjadi dua spesies yaitu Meniran hijau (*Phyllanthus niruri* Linn) dan Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), berikut ini adalah penjelasan bentuk morfologi Meniran merah:

Meniran merah memiliki batang merah coklat. Setiap cabang terdiri dari 7-13 helai daun. Warna daun hijau coklat. Ukurannya 0,5-2 cm x 1-8 mm. Buah bertekstur kasar, bulat dengan diameter 3 mm. Kepala sari Meniran merah yang sudah matang akan pecah secara melintang. Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Meniran merah (sumber: data primer)

3. Kandungan Tumbuhan

Kandungan kimia dalam tanaman ini adalah lignan, flavonoid, alkaloid, trietpenoid, asam lemak, vitamin C, kalium, damar, tanin, geranin, phyllanthin, dan pypophyllanthin (Permadi, 2008).

Menurut Kusuma (2004), Meniran dengan nama simplisia *Phyllanthus* banyak mengandung berbagai unsur kimia seperti :

- a. Lignan yang terdiri dari Phyllanthine, hypophyllanthine, phyltetralin, linteretalin, nirathin, nitretalin, nirphylline, nirurin dan nirurisode.
- b. Terpen terdiri dari cymene, limonene, lupeol, dan lupeol acetate.
- c. Flavonoid terdiri dari quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin, rutine dan physetinglucoside.
- d. Lipid terdiri dari ricinoleic acid, dotriancontanoic acid, linoleic acid, dan linoleic acid,
- e. Benzonoid berupa methylsalicilat
- f. Alkaloid terdiri dari norsecurininr, phyllantin, 40metoxy-norsecurinine, enthnorsecurinina, nirurine, dan phyllochrysine.
- g. Steroid berupa beta-sitosterol

- h. Alcenas berupa triacontal dan triacontanol.
- i. Komponen lain berupa tanin, vitamin C, dan vitamin K.

4. Manfaat Tumbuhan

Seluruh bagian Meniran dapat dimanfaatkan sebagai obat, untuk pengobatan dalam dan pengobatan luar. Tanaman ini dapat menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya sakit pinggang, sakit perut, nyeri pada saat buang air kecil, susah kencing, ayan, rabies, rematik, dan bisul (Permadi, 2008)

Meniran dipercaya dapat membantu pengobatan kuning (hepatitis), batu ginjal, malaria, demam, ayan, batuk, mengurangi haid yang berlebih, mengatasi disentri, rabun senja, susah kencing disertai sakit pinggang, luka bakar, luka koreng, dan jerawat. Kemampuan tersebut disebabkan adanya kandungan antioksidan dan antimikroba dalam meniran (Puspaningtyas, 2013).

Meniran memiliki rasa yang pahit, agak asam, serta bersifat sejuk atau mendinginkan, secara empiris dan klinis, herbal maniran bermanfaat sebagai antibakteri atau antibiotik, antihepatotoksik, antiradang, antipiretik, antitusif, antivirus, diuretik, ekspektoran, hipoglikemik, serta sebagai immunostimulan (Kusuma, 2004).

B. Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum*)

1. Sistematika Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Menurut Mardina (2012), klasifikasi ilmiah dari tanaman Sirih merah (*Piper crocatum*) adalah:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Classis : Magnoliidae

Ordo : Piperales

Familia : Piperaceae

Genus : Piper

Spesies : *Piper crocatum*

2. Morfologi

Tanaman Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman herba merambat dengan permukaan daun berwarna merah keperakkan dan mengkilap saat tertimpa cahaya. Batang bulat dengan warna hijau keunguan. Bentuk daun menyerupai hati dan bertangkai, bagian ujung daun meruncing, tumbuh berselang-seling dari batangnya, daun dengan panjang hingga 20 cm, kaku, dan tebal. Perbedaan dengan Sirih hijau, selain daunnya merah, bila daunnya disobek maka akan berlendir serta aromanya lebih wangi (Hidayat, 2015).

Sirih merah (*Piper crocatum*) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Sirih Merah (sumber: data primer)

3. Kandungan Kimia

Sirih merah mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, minyak atsri, hidrosikavical, kavicol, allylprokatekol, kavibetol, karvakol, eugenol, cineole, pcymen, caryovelen, kadomen estragol, fenil propada, dan terpenena (Friends dan Tim Afin, 2013).

4. Kegunaan Tanaman

Tanaman Sirih merah banyak digunakan sebagai ramuan atau terapi pengobatan bagi berbagai penyakit yang tidak dapat disembuhkan oleh obat kimia. Secara empiris, Sirih merah dapat memperbaiki berbagai jenis penyakit, seperti diabetes militus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kholestrol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, prostatitis, radang mata, keputihan, tukak lambung, kelelahan, dan nyeri sendi (Puspaningtyas, 2013).

C. Simplisia

1. Definisi

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan untuk obat, belum mengalami pengolahan apapun. Simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman, eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan oleh selnya. Zat-zat nabati lainnya dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berasal dari hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum dijadikan zat kimia murni. Sedangkan simplisia pelikan atau mineral merupakan simplisia yang belum diolah atau telah diolah dengan cara secara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Maryati, 2003).

Simplisia memiliki banyak keunggulan antara lain efek sampingnya relatif lebih kecil daripada obat-obatan kimia karena berasal dari alam, adanya komposisi yang saling mendukung untuk mencapai efektivitas pengobatan, dan lebih sesuai untuk penyakit metabolik dan degeneratif. Meskipun begitu, obat tradisional ini memiliki kekurangan yaitu memiliki efek farmakologis yang lemah, bahan baku belum terstandar, dan belum dilakukan uji klinik serta mudah tercemar berbagai mikroorganisme. Jika ingin menggunakan simplisia sebagai obat tradisional, sebaiknya menggunakan simplisia dari kelompok obat fitofarmaka atau fitoterapi yang telah teruji khasiat dan keamanannya, teruji secara klinis, bisa

dipertanggungjawabkan secara ilmiah, serta memenuhi indikasi medis (Maryati, 2003).

2. Tahap Pembuatan Simplisia

Maryati (2003), menerangkan tahap pembuatan simplisia sebagai berikut:

2.1 Pengumpulan Bahan Baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda, antara lain tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

2.2 Sortasi Basah

Sortasi dilakukan untuk membuang bahan lain yang tidak berguna. Misalnya rumput, kotoran hewan, bahan-bahan yang busuk, dan benda lain yang dapat mempengaruhi kualitas simplisia.

2.3 Pencucian

Pencucian dilakukan agar bahan baku bersih dan bebas dari tanah atau kotoran yang melekat, dapat dilakukan pencucian. Pencucian bisa menggunakan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut dalam air sebaiknya dicuci sesingkat mungkin.

2.4 Perajangan

Tahap ini dilakukan untuk mempermudah pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil sebaiknya tidak langsung dirajang, tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan alat khusus atau dengan menggunakan pisau, sehingga memperoleh hasil irisan yang tipis atau sesuai dengan keinginan.

2.5 Pengerinan

Pengerinan digunakan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu lama. Mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis bisa mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Pengerinan dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan alat pengering.

2.6 Sortasi Kering

Sortasi setelah pengerinan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kotoran-kotoran yang masih tertinggal.

2.7 Pengepakan dan Penyimpanan

Tujuan tahap ini untuk melindungi agar simplisia tidak mudah rusak atau berubah mutunya, karena beberapa faktor, baik dari dalam maupun dari luar seperti cahaya, oksigen, reaksi kimia, dehidrasi, kotoran, atau serangga. Penyimpanan sebaiknya disimpan dalam tempat yang kering, tidak lembap, dan terhindar dari sinar matahari langsung.

2.8 Pemeriksaan Mutu

Simplisia harus memiliki persyaratan kadar air yang tepat, tidak berjamur, tidak mengandung lendir, tidak berubah warna, tidak berbau, serta tidak diserang oleh serangga.

D. Tinjauan *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi

Menurut Syahrurachman *et al* (2010), klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

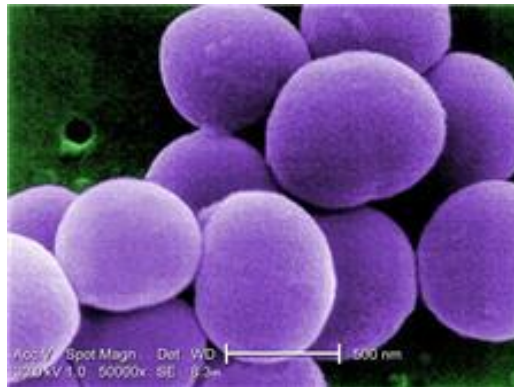
Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan Sifat

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk sferis, bila menggerombol dalam susunan yang tidak teratur mungkin sisinya agak rata karena tekanan. Diameter bakteri antara 0,8-1,0 mikron. Pada sediaan langsung yang berasal dari nanah dapat dilihat berpasangan, menggerombol dan bahkan dapat tersusun sesuai rantai pendek. Bakteri ini tidak bergerak, tidak berspora dan Gram positif (Syahrurachman *et al*, 2010)

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

kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *Staphylococcus aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. Berbagai derajat hemolisis disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* dan kadang-kadang oleh spesies *Staphylococcus* lainnya (Jawetz *et al*, 2012)



Gambar 3. *Staphylococcus aureus* (sumber: CDC)

Staphylococcus aureus memiliki sifat koagulase positif, hal ini yang membedakan dari spesies yang lain. Pada uji katalase bakteri ini menunjukkan hasil positif, karena untuk membedakan spesies dari *Staphylococcus* dan *Streptococcus* menunjukkan hasil negatif (Jawetz *et al*, 2012).

3. Patogenitas

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang utama pada manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa infeksi *Staphylococcus aureus* sepanjang hidup, dengan kisaran keparahan dari keracunan makanan atau infeksi kulit minor hingga infeksi berat yang mengancam jiwa. *Staphylococcus aureus* terdapat pada hidung sekitar 20-50%. Kapasitas patogenik *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin (Jawetz *et al*, 2012).

Staphylococcus aureus menyebabkan rentang sindrom infeksi yang luas. Infeksi kulit dapat terjadi pada kondisi hangat yang lembap atau saat kulit terbuka akibat penyakit. Bakteri ini juga memiliki reseptor terhadap permukaan sel pejamu dan protein matriks yang membantu organisme ini melekat. Bakteri ini memproduksi enzim link ekstraseluler (misalnya lipase), yang memecah jaringan pejamu dan membantu invasi. Beberapa strain memproduksi eksotoksin poten, yang menyebabkan sindrom syok toksik. *Staphylococcus aureus* memiliki enterotoksin yang dapat menyebabkan diare seperti *Toxic shock syndrome toxin* (TSST), Enterotoksin, dan *Scalded skin syndrome toxin* (Irianto, 2014).

4. Diagnosis Laboratorium

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada sebagian besar media laboratorium. Bakteri *Staphylococcus aureus* memfermentasi manitol. Organisme diidentifikasi dengan adanya enzim koagulase, DNAase dan katalase, morfologi khas yang membentuk “klaster anggur” pada pewarnaan Gram dan uji biokimia (Irianto, 2014).

Menurut Jawetz *et al* (2012). Uji laboratorium terhadap *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

4.1 Spesimen

Swab permukaan pus, darah, aspirat trakes, atau cairan spinal untuk kultur, tergantung dari lokasi proses, semua merupakan spesimen yang tepat untuk pengujian.

4.2 Apusan

Spesimen di anggap sebagai Coccus Gram positif dengan gambaran berkelompok pada apusan pus atau sputum. Diagnosa ini menggunakan pewarnaan Gram

4.3 Kultur

Spesimen yang ditanam pada cawan agar darah menghasilkan koloni tipikal dalam 18 jam pada 37⁰C, tetapi hemolisis dan produksi pigmen dapat terjadi hingga beberapa hari kemudian dan optimal pada temperatur ruang. *Staphylococcus aureus* memfermentasi manitol.

4.4 Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mendeteksi adanya enzim sitokrom oksidase. Setetes larutan hidrogen peroksida 3% diteteskan pada kaca objek dan sejumlah kecil pertumbuhan bakteri diletakkan pada larutan. Pembentukan gelembung (pelepasan oksigen) menunjukkan hasil katalase positif.

4.5 Uji Koagulase

Plasma kelinci atau manusia bersitrat yang diencerkan 1:5 dicampurkan dengan volume yang sama kultur kaldu atau pertumbuhan dari koloni pada agar dan inkubasi pada 37⁰C. Tabung plasma yang tercampur dengan kaldu steril juga diinkubasi sebagai kontrol. Jika bekuan terbentuk dalam 1-4 jam, maka hasil uji koagulase positif.

4.6 Uji Kerentanan

Uji kerentanan difusi cakram atau mikrodilusi kaldu harus dikerjakan secara rutin pada isolat *Staphylococcus aureus* dari infeksi klinis. Sekitar 90%

Staphylococcus aureus menghasilkan laktamase- β . Resistensi terhadap nafsilin dan metisilin terjadi pada lebih kurang 65% isolat *Staphylococcus aureus*. Uji ini menggunakan agar cawan Mueller-Hilton.

4.7 Uji Serologi dan Penentuan tipe

Uji serologi digunakan untuk uji diagnosis infeksi *Staphylococcus aureus*. Pola kerentanan antibiotik membantu dalam melacak infeksi *Staphylococcus aureus*.

Teknik penentuan tipe molekuler telah digunakan untuk mendokumentasikan penyebaran koloni *Staphylococcus aureus* yang menimbulkan penyakit dan penentuan tipe sekuens multilokus sangat bersifat membedakan.

5. Pengobatan

Sejarah kerentanan *Staphylococcus aureus* merupakan pelajaran dalam sejarah kemoterapi antimikroba. Awalnya bakteri ini rentan terhadap penisilin, tetapi stain yang memproduksi β -laktase segera lebih mendominasi. Metisilin dan agen yang terkait misalnya flukloksasin kemudian diperkenalkan dan menggantikan penisilin sebagai obat terpilih, yang sampai saat ini merupakan obat terpilih untuk strain yang sensitif. MRSA (*Methicilin-resistant Staphylococcus aureus*) dan antibiotik lain yang efektif meliputi linezolid, aminoglikosida, eritromisin, klindamisin, asam fusidat, kloramfenikol, dan tetrasiklin (Irianto, 2014).

6. Pencegahan

Pusat perlindungan kesehatan (2017) mengemukakan bahwa cara pencegahan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dimasyarkat sebagai berikut:

6.1.Menjaga Kebersihan Pribadi

- a. Cuci tangan yang bersih dengan sabun cair dan air kalau tampak kotor atau terkena cairan tubuh. Kalau tidak tampak kotor, bersihkan tangan dengan pembersih tangan berbasis alkohol 70-80%. Ini adalah alternatif yang efektif.
- b. Kenakan sarung tangan saat menangani barang-barang kotor kemudian cuci tangan hingga bersih.
- c. Hindari berbagi barang pribadi seperti handuk, pakaian atau seragam, pisau cukur atau gunting kuku.

6.2.Perawatan Luka Yang Tepat

- a. Hindari kontak langsung dengan luka atau benda-benda yang terkontaminasi cairan dari luka.
- b. Segera bersihkan kulit yang terluka dan tutup dengan benar menggunakan plester anti air. Cuci tangan sebelum dan setelah menyentuh luka. Segera konsultasikan dengan dokter jika muncul gejala infeksi. Hindari olahraga yang membutuhkan kontak fisik atau menggunakan kamar kecil umum jika Anda memiliki luka terbuka.

6.3.Penggunaan Antibiotik Yang Aman

- a. Hanya minum antibiotik yang diresepkan oleh dokter.
- b. Ikuti saran dokter saat minum antibiotik.

- c. Tingkatkan kebersihan pribadi saat minum antibiotik untuk melindungi diri sendiri dan mencegah penyebaran bakteri:
 - 1) Jaga kebersihan tangan.
 - 2) Makan makanan yang matang dengan benar. Minum air yang sudah dimasak.
 - 3) Bersihkan dan tutup semua luka.
 - 4) Gunakan masker jika Anda mengalami gejala pernafasan seperti batuk, bersin, hidung berair, dan sakit tenggorokan.
 - 5) Anak kecil yang menunjukkan gejala-gejala infeksi harus mengurangi kontak seminimal mungkin dengan anak lain.
- d. Jangan berbagi antibiotik dengan orang lain.

6.4. Jaga Kebersihan Lingkungan

Pastikan lingkungan tetap bersih; basmi kuman dari benda-benda yang dipakai bersama di tempat umum seperti pusat kebugaran dan kamar kecil umum secara rutin.

- a. Cara yang digunakan untuk mencegah infeksi Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) juga dapat digunakan untuk infeksi Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). Untuk mencegah infeksi CA-MRSA, adalah penting untuk menjaga kebersihan rumah dan bebas dari debu. Permukaan yang sering disentuh (misalnya: dudukan toilet, kamar mandi), mainan anak-anak dan seprai harus sering dicuci, dibersihkan dan dibasmi dari kuman (dengan pemutih yang sudah diencerkan) secara rutin.

E. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan bahaya karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta masuknya bahan pangan. Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (Harti, 2015).

Mekanisme kerja antibiotik dapat dibedakan menjadi lima mekanisme yaitu mekanisme dengan menghambat sintesis dinding sel, mengganggu metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis protein pada sel, menghambat atau merusak sintesis asam nukleat pada sel mikroba dan mengganggu permeabilitas membran sel (Pratiwi, 2008).

F. Media

Media merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan secara *in vitro*. Media menyediakan berbagai bahan yang diperlukan mikroorganisme untuk memperbanyak diri. Mikroorganisme yang dikembangkan dalam media yang memiliki atau mengandung nutrisi yang dibutuhkan saat pertumbuhan, harus sesuai dengan faktor lingkungan seperti pH, air, dan oksigen, media tidak boleh mengandung senyawa penghambat bagi mikroorganisme tersebut dan harus dalam keadaan steril (Harti, 2015).

Berdasarkan kegunaannya media dapat dibedakan menjadi 3 yaitu media non selektif, selektif, dan diferensial. Media non selektif digunakan untuk mendukung pertumbuhan berbagai bakteri yang berbeda dan digunakan untuk

isolasi bakteri yang tidak diketahui dari suatu spesimen. Media Selektif digunakan untuk mengeliminasi atau mengurangi besarnya jumlah bakteri yang tidak relevan dalam spesimen, biasanya media ini mempunyai kombinasi agen penghambat secara spesifik untuk mencegah bakteri yang tidak relevan. Media diferensial biasanya digunakan untuk menyeleksi suatu mikroorganisme dari jenis dalam satu media (Jawetz *et al*, 2012).

Berdasarkan konsistensi media digolongkan menjadi tiga macam yaitu, media padat, media semi padat, dan media cair. Media padat (*solid media*) mengandung agar-agar 1,2-1,5%, biasanya dalam bentuk plat agar (lempeng agar) atau slant agar (agar miring). Media semi padat (*semi solid media*) mengandung agar-agar 0,6-0,75%, biasanya digunakan untuk mengamati motilitas. Media cair (*liquid media*) tanpa kandungan pematat (Harti, 2015).

G. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan destruksi semua bentuk mikroorganisme termasuk endospora, biasanya sterilisasi menggunakan uap bertekanan atau sterilisasi gas seperti etilen dioksida. Metode sterilisasi dibagi menjadi dua yaitu, pertama menggunakan metode fisika yang meliputi pemanasan, filtrasi, pendingin, desikasi, tekanan osmotik, dan radiasi. Kedua menggunakan metode kimia yaitu sejumlah substansi yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme seperti disinfektan (Harti, 2015).

Sterilisasi dalam mikrobiologi ialah proses menghilangkan segala jenis organisme hidup, dalam hal ini adalah segala jenis mikroorganisme baik itu protozoa, fungi, bakteri, *mycoplasma*, dan virus yang terdapat pada suatu benda.

Ada beberapa cara yang dipakai dalam sterilisasi yaitu penggunaan panas, bahan kimia dan penyaringan (filtrasi). Sterilisasi panas menggunakan uap air maka disebut sterilisasi panas lembab atau sterilisasi basah, tanpa kelembaban maka disebut sterilisasi panas kering, sedangkan sterilisasi kimiawi menggunakan gas atau radiasi, serta sterilisasi melalui penyaringan. Metode yang biasa digunakan dalam laboratorium mikrobiologi ialah yang menggunakan sterilisasi panas dan sterilisasi basah (Lestari & Harti, 2017).

H. Metode Penyaringan

1. Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif dari suatu campuran padatan atau cairan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ini merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian tanaman obat, karena preparasi ekstrak kasar tanaman merupakan titik awal untuk isolasi dan pemurnian komponen kimia yang terdapat dalam tanaman (Lestari *et al*, 2012).

Ekstraksi bahan alam, terutama yang akan digunakan untuk obat, dapat dilakukan dengan cara perebusan, penyeduhan, maserasi, perkolasi atau cara lain yang sesuai dengan sifat bahan alam yang diekstraksi. Dalam suatu pemisahan yang ideal oleh ekstraksi pelarut, seluruh zat yang diinginkan akan berakhir dalam suatu pelarut sedangkan zat-zat yang tidak diinginkan berada pada pelarut yang lain (Fauzana, 2010).

2. Metode Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan awal yang dapat berupa kering, kental, atau cair, dibuat dengan cara menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang

sesuai, yaitu maserasi, soxletasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Cairan penyaring yang digunakan berupa air, eter, atau campuran etanol dalam air (Anief, 2003).

Tujuan pembuatan ekstrak tanaman obat adalah untuk menstandarisasi kandungan aktifnya sehingga menjamin keseragaman mutu, keamanan, dan khasiat produk akhir. Keuntungan penggunaan ekstrak dibandingkan dengan simplisia asalnya adalah penggunaan yang lebih sederhana dan dari segi bobot, pemakaiannya lebih sedikit dibandingkan dengan bobot tumbuhan asalnya (Badan POM RI, 2005).

3. Metode Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani 2014).

Maserasi adalah ekstraksi suatu bahan menggunakan pelarut dengan pengadukan pada suhu ruang. Pada remaserasi sebagian pelarut digunakan untuk maserasi lalu setelah penyaringan, residu digunakan lagi untuk kedua kalinya dengan sisa pelarut yang ada dan disaring kembali, lalu kedua filtrat digabungkan pada tahap akhir (Fauzana, 2010).

4. Metode Pelarut

Pemilihan pelarut juga harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Etanol lebih sering digunakan sebagai pelarut 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 (Sa'adah & Nurhasnawati, 2015).

Etanol mampu mengekstrak sebagian besar senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia seperti alkaloid, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, dammar dan klorofil. Sedangkan lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut. Menjelaskan bahwa pelarut etanol menyaring hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik polar, semi polar maupun non polar (Fauzana, 2010).

I. Metode Kajian Aktivitas Antibakteri

1. Metode Difusi

Metode ini disebut juga *disk-diffusion methode* atau *Kirby-Bauer* tes. Prinsip antibiotik akan terdistribusi ke dalam media. Disk antibiotik diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi secara perataan, diinkubasi dan diamati terbentuknya zona hambatan pertumbuhan mikroba. Metode difusi agar memiliki kelebihan yaitu sederhana untuk dilakukan dan dapat digunakan untuk

melihat sensitivitas berbagai jenis mikroba terhadap antimikroba pada konsentrasi tertentu. Kekurangan dari metode difusi agar adalah senyawa antimikroba yang akan di uji harus bersifat hidrofilik agar dapat berdifusi dengan baik kedalam agar (Harti, 2015)

2. Metode Dilusi

Prinsip metode ini adalah seri pengenceran konsentrasi antibiotik. Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan MIC (*Minimal Inhibition Concentration*) sama dengan KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dan MKC (*Minimal Killing Concentration*) atau sama dengan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimal) suatu antibiotik. Inokulasi suatu seri pengenceran antibiotik dalam tabung berisi media cair dan diinokulasi dengan bakteri dalam tabung berisi media cair dan diinokulasi dengan bakteri uji diamati tingkat kekeruhan atau pertumbuhan. Pengenceran tertinggi dari media cair yang jernih dinyatakan sebagai MIC, sedangkan tabung yang jernih diinokulasi goresan pada media *plate agar*, diinokulasi dan diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni pada permukaan media plate agar. Pengenceran tertinggi dari tabung yang jernih dan menunjukkan tidak ada pertumbuhan pada plate agar sebagai MKC (Harti, 2015).

J. Eritromisin

Eritromisin adalah antibiotik dari golongan makrolid dan diperoleh dari *Streptomyces erythreus*. Eritromisin dapat menjadi obat pilihan pada infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Eritromisin pada konsentrasi 0,1-2 µg/mL aktif terhadap bakteri Gram positif (Jawetz *et al*, 2012).

Mekanisme kerja dari obat ini adalah eritromisin melekat pada reseptor (rRNA 23S) pada subunit 50S di ribosom bakteri. Mereka menghambat sintesis protein dengan mengganggu reaksi translokasi dan pembentukan kompleks inisiasi. Resistensi terhadap eritromisin terjadi akibat modifikasi (metilasi) reseptor rRNA. Mekanisme resistensi itu dikendalikan oleh plasmid yang dapat ditransfer. Sehingga suasana pH basa sangat meningkatkan kerja dari aktivitas eritromisin (Jawetz *et al*, 2012).

K. Landasan Teori

Tanaman adalah sumber yang sangat penting untuk perkembangan obat herbal. Obat herbal merupakan obat yang dibuat menggunakan bahan-bahan alami terutama tumbuhan. Penggunaan daun, akar, batang, sampai buah bisa dikategorikan sebagai obat herbal. Beberapa daun yang tumbuh di Indonesia memiliki manfaat sebagai obat herbal, diantaranya adalah Meniran merah dan Sirih merah (Friends dan Tim Afin, 2013).

Meniran merah merupakan tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia. Semua bagian tanaman ini memiliki manfaat sebagai obat herbal. Meniran berfungsi sebagai antibakteri, antiradang, antipiretik, antivirus, antitusif, antihepatotoksik, hipoglikemik, serta sebagai immunostimulan (Kusuma, 2004). Meniran merah memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti lignan, flavonoid, alkaloid, terpenoid, tanin, geranin (Permadi, 2008).

Sirih merah merupakan tanaman yang dikenal sebagai obat dan banyak tumbuh di Indonesia. Bagian dari tanaman Sirih merah yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daun. Daun Sirih merah telah diketahui memiliki berbagai

khasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya penyakit pada rongga mulut, gatal-gatal, keputihan, batuk, dan penyakit pada mata (Ma'rifah, 2012). Kandungan senyawa yang terdapat dalam tanaman Sirih merah adalah alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, minyak atsri, hidrosikavical yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Friends dan Tim Afin, 2013).

Penelitian sebelumnya diperoleh hasil dari ekstrak Meniran merah terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba dengan adanya zona bening dengan nilai 6,3 mm pada konsentrasi 6,25 mg/ml (Muhimmah, 2015). Hasil penelitian sebelumnya dengan ekstrak Sirih merah dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat masing-masing 9,6; 12,0 dan 15,1 mm (Tri *et al*, 2017).

Staphylococcus aureus adalah bakteri patogen pada manusia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus* dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit hingga infeksi yang mengancam jiwa seperti sepsis (Quinn, 2002).

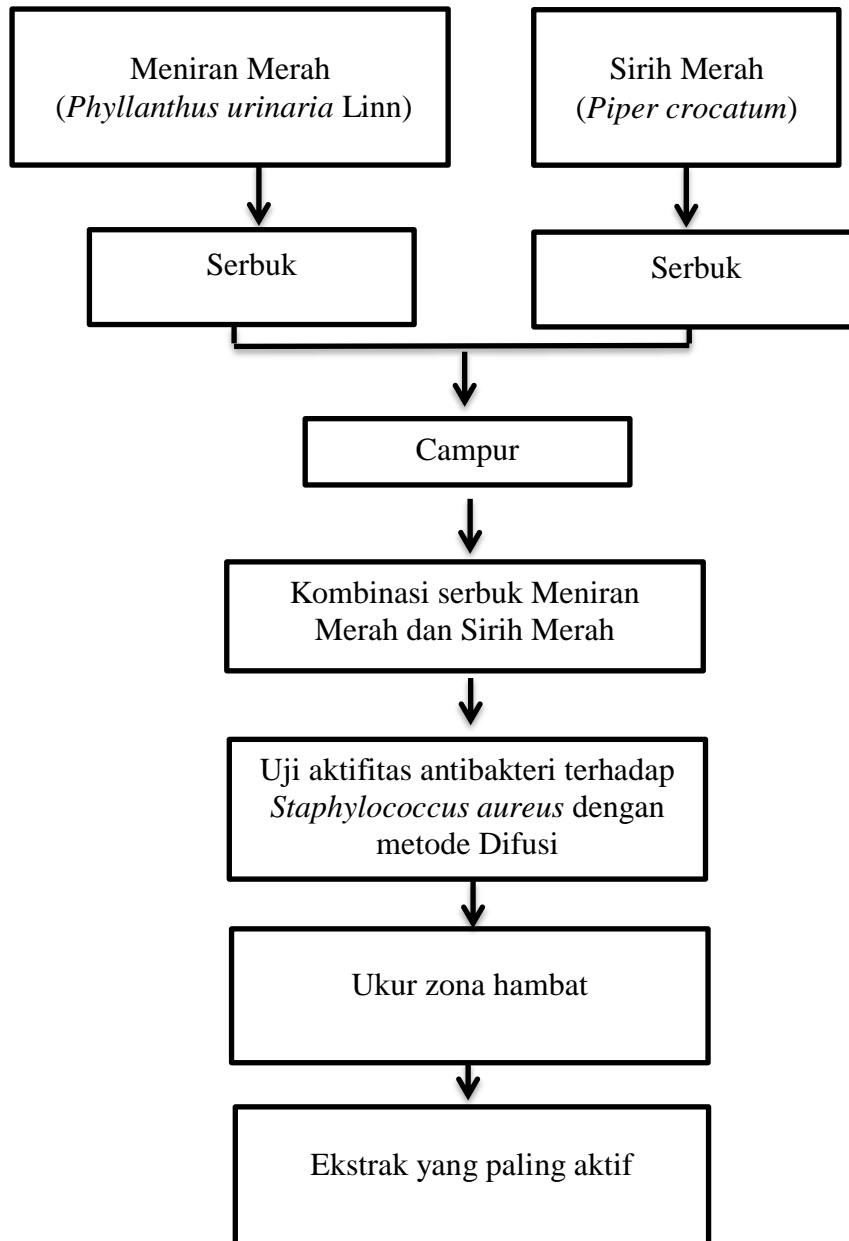
Metode yang dipakai dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi adalah suatu proses penyaringan dengan cara merendam serbuk simplisia di dalam pelarut tertentu disertai pengocokkan secara berulang yang dapat menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstrak yang lebih cepat dalam penyaringan (Mukhiriani, 2014). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol. Etanol yang digunakan sebagai cairan penyaring karena lebih

selektif, jamur dan kuman sulit tumbuh dalam etanol, tidak beracun, netral, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (Lestari *et al*, 2012)

Metode uji aktivitas bakteri yang digunakan adalah metode difusi. Metode *disk-diffusion* atau *Kirby-Bauer* dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Cakram yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media tersebut. Area jernih yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

Penelitian ini dilakukan dengan mengkombinasi batang dan daun Maniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) dengan menggunakan metode maserasi dan untuk uji aktivitas menggunakan metode difusi. Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk mengetahui apakah kedua tanaman tersebut menghasilkan efek antibakteri untuk menghambat *Staphylococcus aureus* 25923.

L. Kerangka Pikir



Gambar 4. Kerangka Pikir

M. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

1. Ada perbedaan aktivitas ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*), dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*), dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yaitu ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn).
3. Kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), dan Sirih merah (*Piper crocatum*) tidak memiliki efek sinergis terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental nyata (*True eksperimental*) karena penelitian ini memberikan perlakuan. Penelitian ini dilakukan di dalam laboratorium yang mana semua variabel pengganggu dapat dikendalikan.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei-Juni 2018. Lokasi penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

C. Populasi Dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) yang diperoleh dari wilayah Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah Meniran merah (*Phyllanthus Urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) yang diperoleh dari wilayah Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah, yang diambil secara acak. Meniran yang dipakai adalah yang bersih, segar, berwarna merah dan bebas dari penyakit. Sirih merah yang dipakai adalah daun yang berasal dari ruas yang menggantung sebanyak tiga atau empat ruas.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*).

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Variabel utama ketiga dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi Variabel Utama

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

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah perbandingan ekstrak etanolik dari Meniran merah dan Sirih merah serta kombinasi 1:1; 1:2; 2:1. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus*, kandungan senyawa tanaman, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah

(*Piper crocatum*) dan kombinasi keduanya terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan dilihat diameter zona hambat dengan metode difusi.

3. Definisi Oprasional Variabel Utama

Pertama, Meniran adalah daun yang berwarna hijau dengan batang yang berwarna merah, bersih, segar, dan bebas dari penyakit yang diambil dari Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, Sirih merah adalah daun yang berwarna merah, bersih bebas dari penyakit dan berasal dari ruas yang menggantung sebanyak tiga atau empat ruas yang diperoleh dari Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah.

Ketiga, serbuk Meniran adalah herba yang diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°C selama 48 jam, setelah dikeringkan lalu dibuat serbuk dan diayak.

Keempat, serbuk Sirih merah adalah daun yang diambil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°C selama 48 jam, setelah dikeringkan lalu dibuat serbuk dan diayak.

Kelima, ekstrak etanolik Meniran merah adalah hasil ekstraksi Meniran merah yang dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan sampai bebas etanol.

Keenam, ekstrak etanolik Sirih merah adalah hasil ekstraksi Sirih merah yang dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan sampai bebas etanol.

Ketujuh, kombinasi 1:1 adalah ekstrak etanolik Meniran merah sebanyak 1 bagian dan ekstrak etanolik Sirih merah sebanyak 1 bagian dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 3%.

Kedelapan, kombinasi 1:2 adalah ekstrak etanolik Meniran merah sebanyak 1 bagian dan ekstrak etanolik Sirih merah sebanyak 2 bagian dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 3%.

Kesembilan, kombinasi 2:1 adalah ekstrak etanolik Meniran merah sebanyak 2 bagian dan ekstrak etanolik Sirih merah sebanyak 1 bagian dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO 3%.

Kesepuluh, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Kesebelas, aktivitas antibakteri dengan melihat pertumbuhan zona hambat dalam media uji dengan menggunakan metode difusi. Kontrol positif adalah disc antibiotik eritromisin 15µg dan kontrol negatif menggunakan DMSO 3%. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat atau garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi cakram yang berisi bahan uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1. Alat Untuk Pembuatan dan Analisis Serbuk

Alat yang digunakan untuk pembuatan serbuk simplisia adalah timbangan, oven, ayakan nomor 40, alat penyerbuk, dan *Moisture Balance*.

1.2. Alat Maserasi

Alat yang digunakan untuk maserasi adalah botol berwarna coklat, gelas ukur, kain flannel, aluminium foil, corong kaca, gelas kaca polos, kertas saring, dan *vacuum rotary evaporator*.

1.3. Alat Uji Aktivitas Antibakteri

Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah inkas, ose, cawan petri, tabung reaksi, kapas lidi steril, lampu spiritus, pinset steril, kaca objek, *autoclave*, neraca analitis, mikroskop, penggaris, korek api, rak tabung reaksi, inkubator, Erlenmeyer, dan tabung vial steril.

2. Bahan

2.1. Bahan Utama

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri dengan metode difusi adalah ekstrak etanolik Meniran merah dan ekstrak etanolik Sirih merah serta kombinasi dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 dari kedua ekstrak tersebut.

2.2. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain pelarut etanol 70%, akuadest, pewarnaan Gram (cat kristal violet, lugol iodine, alkohol acetone, dan cat safranin), kalium telurit, hidrogen peroksida 3%, Plasma sitrat, antibiotik eritromisin, HCl 2N, CH₃COOH, H₂SO₄, pereaksi Meyer dan Dragendorff, serbuk Mg. FeCl₃, DMSO 3% dan Standar Mac Farlan 0,5.

2.3. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2.4. Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueller Hilton Agar* (MHA), *Vogel Jhonson Agar* (VJA), dan BHI (*Brain Heart Infusion*).

F. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tahapan pertama penelitian adalah determinasi tanaman yang dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman Meniran merah dan tanaman Sirih merah sesuai kepustakaan dan dibuktikan di bagian Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universtias Sebelas Maret, Surakarta.

2. Pembuatan Serbuk

2.1. Meniran Merah

Meniran merah dicuci air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°C selama 48 jam, setelah kering digiling dan diayak dengan ayakan nomor 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah batang dan daun Meniran merah.

2.2. Sirih Merah

Sirih merah dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°C selama 48 jam, setelah kering digiling dan diayak dengan ayakan nomor 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun Sirih merah.

3. Identifikasi Serbuk Herba Meniran Merah Dan Sirih Merah

3.1. Organolepsis Serbuk

Identifikasi serbuk Meniran merah dan Sirih merah secara organolepsis bentuk, warna, dan bau.

3.2. Makroskopis serbuk

Identifikasi serbuk Meniran merah dan Sirih merah dilihat dari warna dan bentuk.

4. Pembuatan Kombinasi

Serbuk herba Meniran dan serbuk Sirih merah dikombinasikan dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1. Perbandingan 1:1 dibuat dengan cara pengambilan serbuk herba Meniran merah dan serbuk Sirih merah yang diambil masing-masing sebanyak 50 gram. Perbandingan 1:2 dibuat dengan cara pengambilan serbuk herba Meniran merah sebanyak 33 gram dan serbuk Sirih merah 67 gram. Perbandingan 2:1 dibuat dengan cara pengambilan serbuk herba Meniran merah sebanyak 67 gram dan serbuk Sirih merah sebanyak 33 gram.

5. Pembuatan Ekrtak Etanol 70%

5.1. Ekstrak Etanolik Meniran

Serbuk Meniran merah ditimbang sebanyak 100 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1000 ml pelarut etanol 70%, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrat Meniran merah diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak kental atau pekat.

5.2. Ekstrak Etanolik Sirih Merah

Serbuk Sirih merah ditimbang sebanyak 100 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1000 ml pelarut etanol 70%, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrat sirih merah diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak kental atau pekat.

5.3. Ekstrak Etanolik Kombinasi Meniran Merah dan Sirih Merah

Kombinasi pertama 1:1, serbuk Meniran merah ditimbang 50 gram dan serbuk Sirih merah 50 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1000 ml pelarut etanol, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrat kombinasi diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak kental atau pekat.

Kombinasi kedua 1:2, serbuk Meniran merah ditimbang 33 gram dan serbuk Sirih merah 67 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1000 ml pelarut etanol, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrate kombinasi diuapkan dengan *vacuum rotary*

evaporator pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak kental atau pekat.

Kombinasi tiga 2:1, serbuk Meniran merah ditimbang 67 gram dan serbuk Sirih merah 33 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1000 ml pelarut etanol, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrate kombinasi diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak kental atau pekat.

6. Penetapan Persen Rendemen

Penetapan persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil ekstrak pekat, kemudian hasil ekstrak pekat dibagi dengan berat serbuk meniran merah, sirih merah dan kombinasi, kemudian dikalikan 100%.

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

7. Uji Bebas Etanol

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

8. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah Dan Kombinasi

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak Meniran merah, Sirih

merah dan kombinasi. Identifikasi kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

8.1. Identifikasi Alkaloid.

Bahan uji dilarutkan dalam air panas lalu dipanaskan selama 15 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Dimasukan larutan A sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan 1,5 ml asam klorida 2%, larutan dibagi kedalam 2 tabung dan masing-masing sama banyak. Tabung reaksi pertama ditambah 2 tetes reagent Dragendrof, reaksi positif ditunjukkan adanya keruhan atau endapan coklat, tabung reaksi kedua ditambah 2-4 tetes larutan Mayer, reaksi positif ditunjukkan adanya endapan putih kekuningan (Alamsyah, 2006).

8.2. Identifikasi Flavonoid.

Bahan uji dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 gr serbuk Mg dan 10 tetes asam klorida pekat. Reaksi positif bila dibandingkan dengan larutan standart yang jernih akan menunjukkan dengan adanya warna merah atau kuning sampai jingga (Depkes, 2005).

8.3. Identifikasi Tanin.

Bahan uji dicampurkan dengan aquadestilata sampai terendam dan dipanaskan selama 3 sampai 5 menit. Kemudian ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Ramya *et al*, 2012).

8.4. Identifikasi saponin.

Bahan uji ditambahkan aquadestilata, kemudian dipanaskan selama 2 sampai 3 menit. Setelah dipanaskan tunggu sampai dingin lalu kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil menandakan adanya kandungan saponin (Ramyasheree *et al*, 2012).

9. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit (2 atm). Alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170-180⁰C selama 2 jam dan alat-alat jarum ose disterilkan dengan menggunakan api lampu spirtus.

10. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

10.1. Isolasi *Staphylococcus aureus*

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada media diferensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil pengujian ditunjukkan yaitu warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi telurit sehingga membentuk koloni warna hitam (Jawet *et al*, 2012).

10.2. Identifikasi *Staphylococcus aureus*

10.2.1. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Pewarnaan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* menggunakan Gram A (Cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (Lugol iodine sebagai mordant), Gram C (alkohol aceton sebagai peluntur), Gram D (cat safranin sebagai

cat lawan atau penutup). Bakteri *Staphylococcus aureus* dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop (Jawet *et al*, 2012).

10.2.2. Fisiologi *Staphylococcus aureus*

Jawetz *et al*, (2012), mengemukakan bahwa uji fisiologi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan sebagai berikut:

a. Uji Katalase

Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji dengan penambahan 2 tetes hidrogen peroksida 3% (H_2O_2). Penambahan H_2O_2 3% akan terurai menjadi $2H_2O$ dan O_2 hasil dinyatakan positif bila terbentuknya gelembung-gelembung udara, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* memiliki enzim katalase.

b. Uji Koagulase

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada $37^{\circ}C$. Diamati pembentukan selama 1-4 jam, hasil positif jika tabung dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

11. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Biakan murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dengan jarum ose steril, ditanam pada BHI (*Brain Heart Infusion*) cair dan homogenkan. kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan modifikasi Mc Farland 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

12. Pembutan Konsentrasi Sampel Uji

Ekstrak etanolik Meniran merah, Sirih merah, dan kombinasi 1:1; 1:2 dan 2:1 dibuat menjadi konsentrasi yaitu 50% dan 25% yang diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml dalam tabung vial. Setelah larutan sediaan uji jadi, kertas cakram direndam di dalam larutan sediaan uji selama 24 jam.

13. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan dalam pengujian antibakteri ini adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari ekstrak etanolik Meniran merah, daun Sirih merah, dan kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah dan Sirih merah dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 dan variasi konsentrasi 50% dan 25%. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi media MHA. Pertama bakteri diambil dari BHI steril dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian diperas pada dinding tabung setelah itu dioleskan pada cawan petri yang berisikan media MHA dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media. Suspensi bakteri yang sudah setara dengan standar Mac Farland 0,5 kemudian dioleskan pada media MHA, kemudian pada setiap kertas cakram yang sudah direndam dengan ekstrak Meniran merah, ekstrak Sirih merah serta ekstrak kombinasinya didalam tabung vial, kertas cakram diambil menggunakan pinset steril kemudian diletakkan atau ditempelkan pada media MHA. Kontrol positif menggunakan antibiotik eritromisin. Kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 3%. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, media MHA yang sudah berisikan suspensi dan antibakteri

di inkubasi pada inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam, setelah itu zona hambat yang terbentuk diukur. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut diukur untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

G. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini dengan menggunakan beberapa cara yaitu :

1. Data Primer

Data primer merupakan data yang diperoleh dari hasil identifikasi dan uji aktifitas antibakteri dengan metode difusi di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Data Sekunder

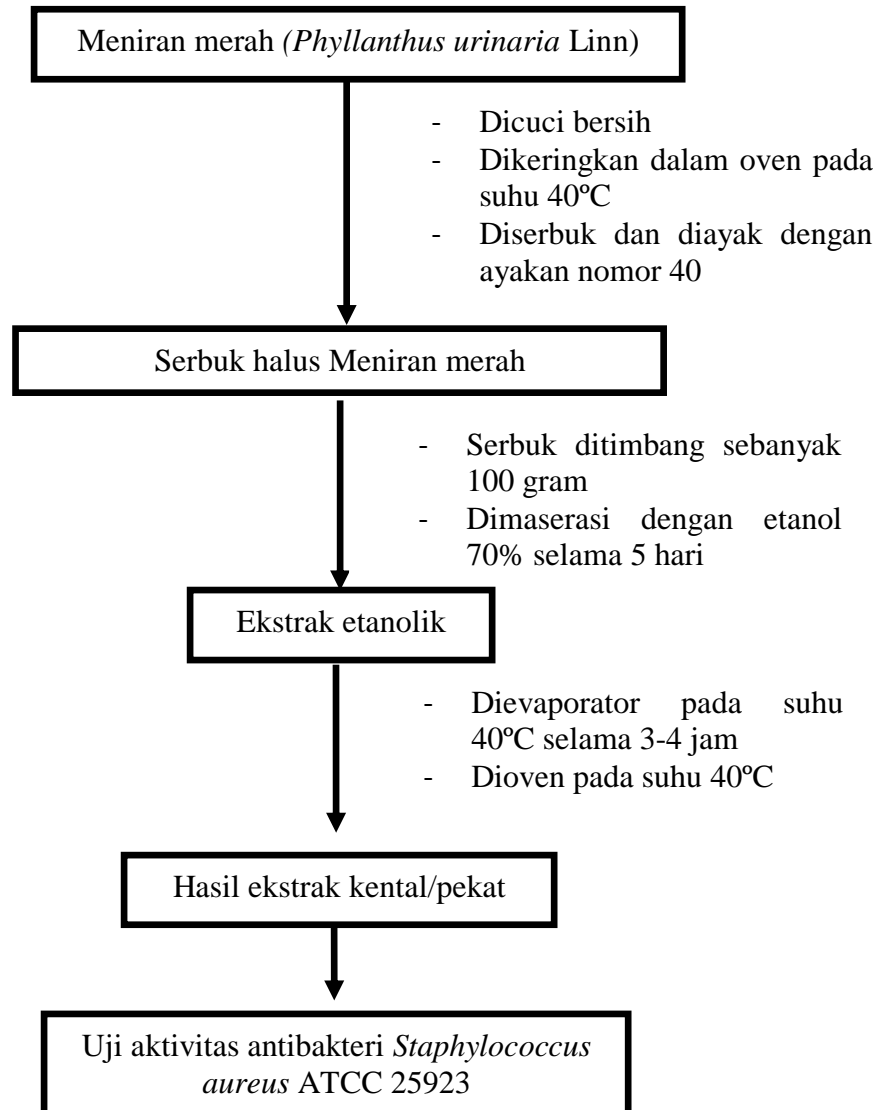
Data sekunder merupakan data yang diperoleh dari penelitian-penelitian yang berhubungan serta referensi atau literatur-literatur yang relevan dengan penelitian yang dilakukan.

H. Analisis Hasil

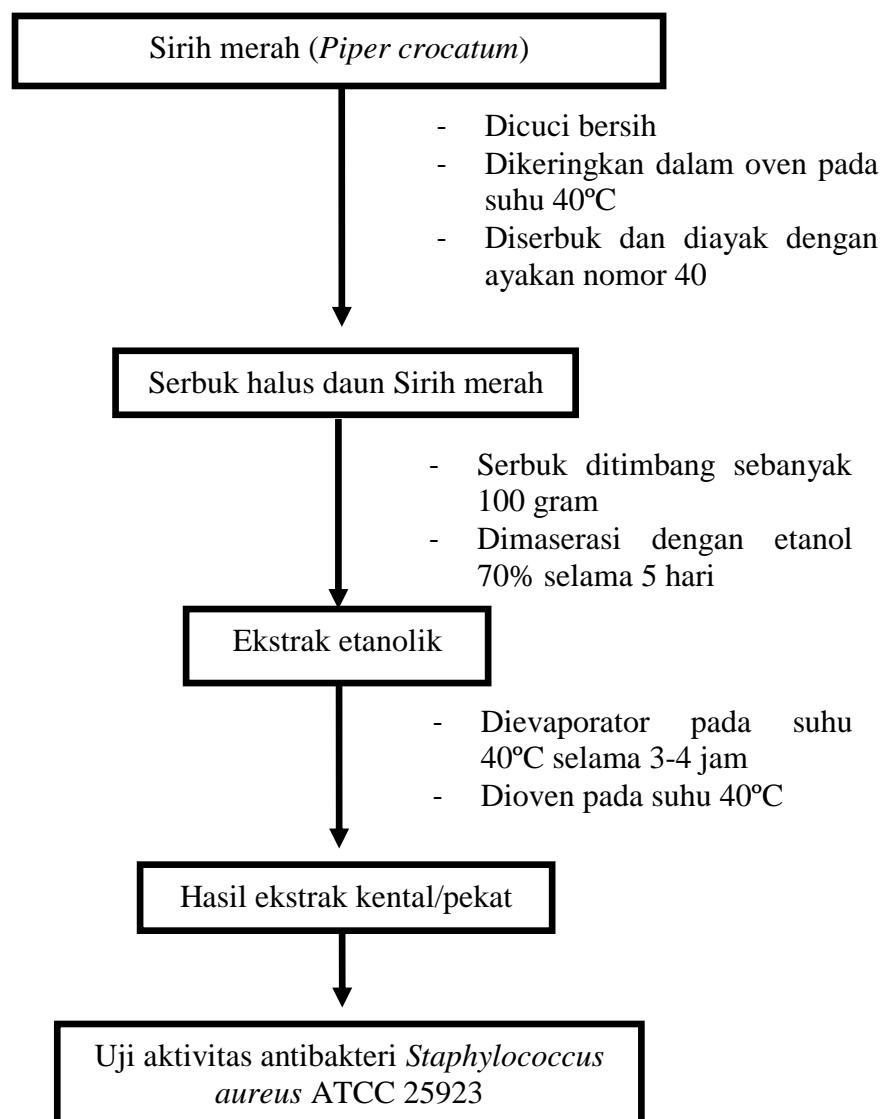
Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur data sebar dengan mengukur data sebar yang dilihat dari adanya daerah hambat pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekeliling cakram yang ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambat pertumbuhannya dari masing-masing zona lingkaran. Data diperoleh diambil dari ekstrak etanolik Meniran merah, Sirih merah, serta kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 dari ekstrak etanolik Meniran merah dan Sirih merah dengan variasi konsentrasi 50% dan 25% dari

hasil pengujian terhadap antibakteri antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dianalisa dengan menggunakan uji statistik dengan Analisis Of Varian (ANOVA) *One Way* dengan menggunakan *software* SPSS.

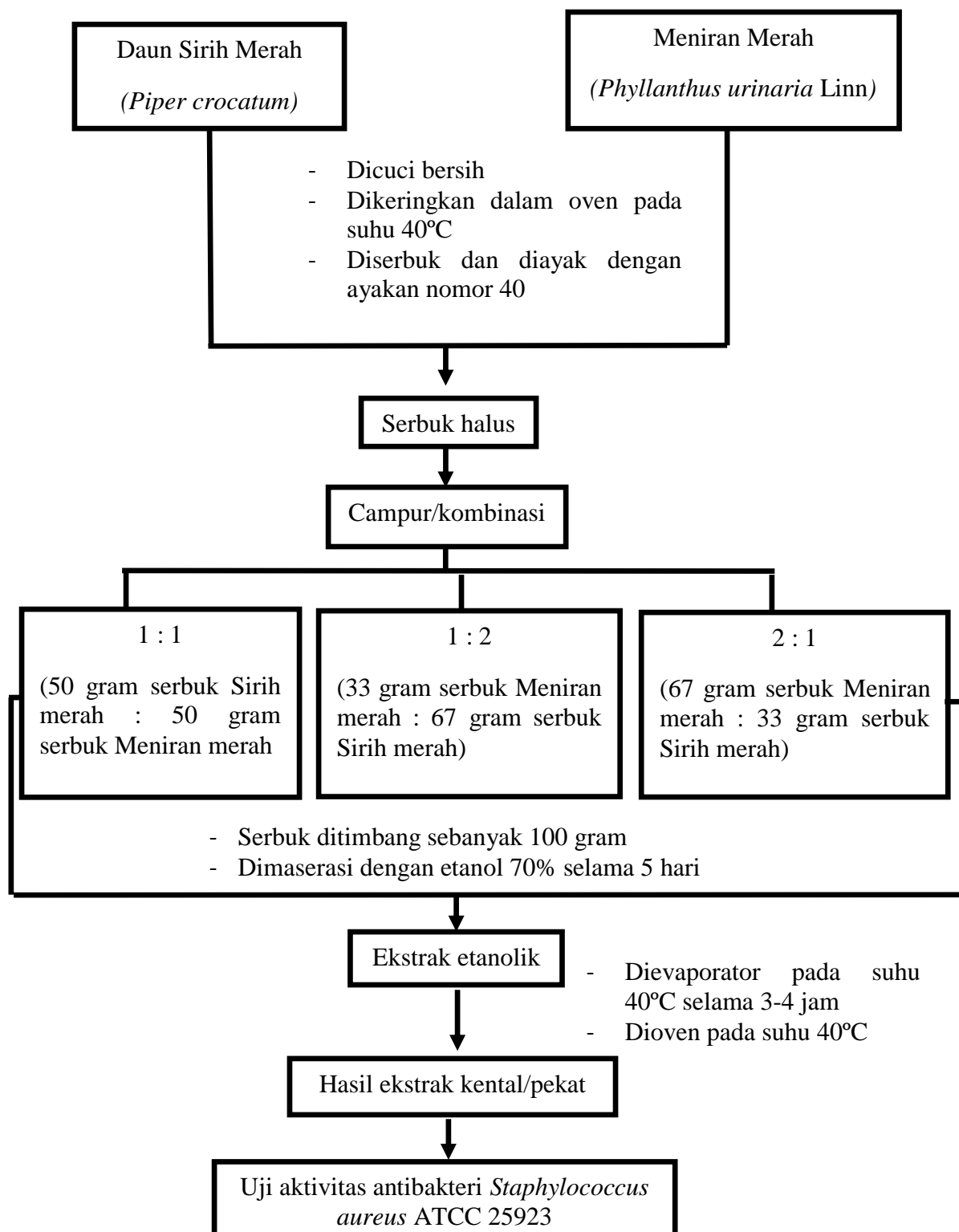
I. Skema Jalannya Penelitian



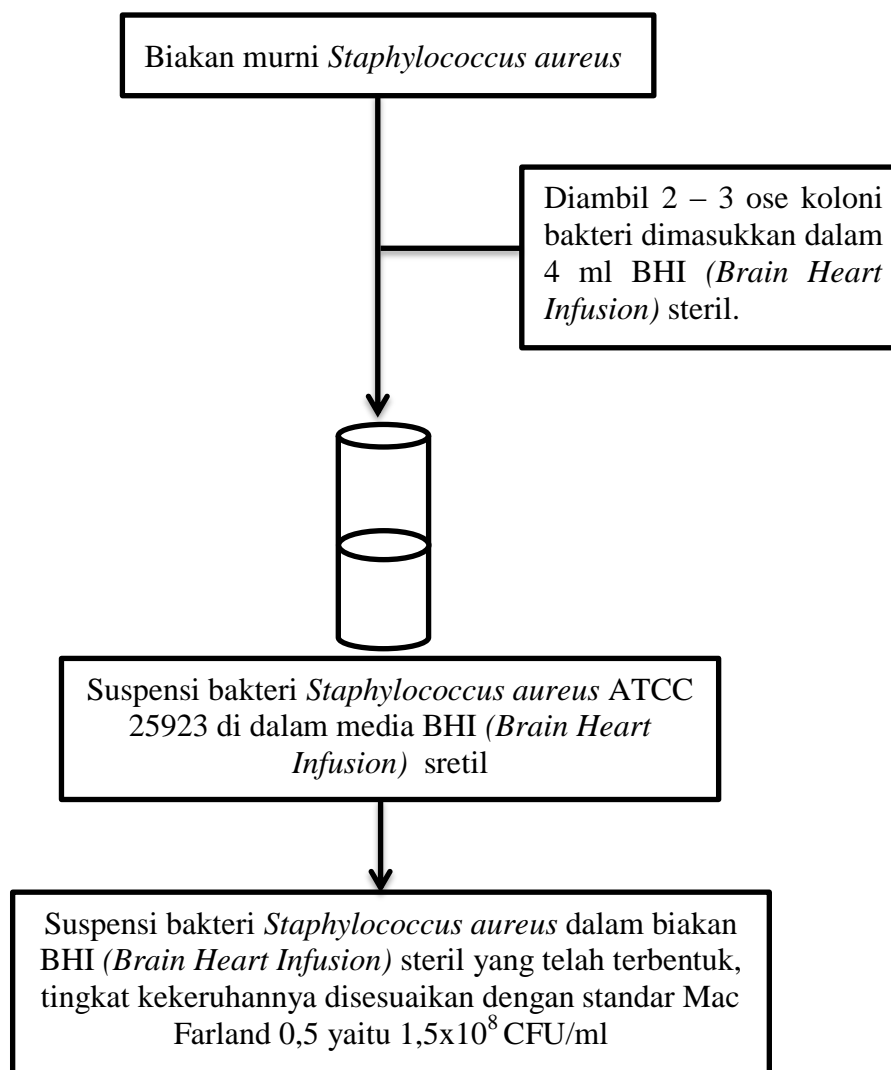
Gambar 5. Skema Pembuatan Ekstrak Meniran Merah



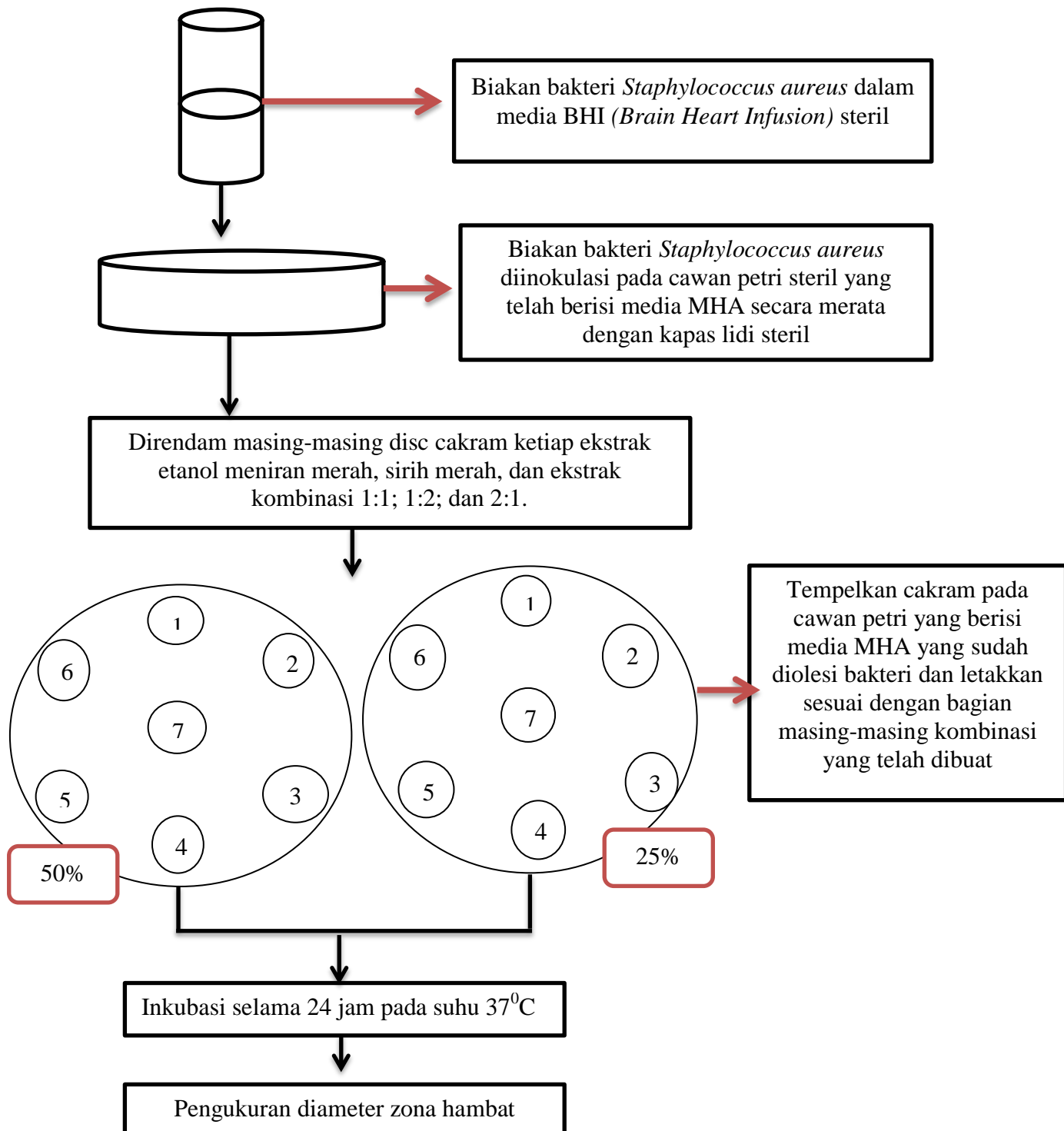
Gambar 6. Skema Pembuatan Ekstrak Sirih Merah



Gambar 7. Skema Pembuatan Ekstrak Kombinasi Meniran Merah Dan Sirih Merah



Gambar 8. Skema Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Keterangan:

(1) Ekstrak meniran merah, (2) Ekstrak sirih merah, (3) kombinasi ekstrak meniran merah dan sirih merah (1:1), (4) kombinasi ekstrak meniran merah dan sirih merah (1:2), (5) kombinasi ekstrak meniran merah dan sirih merah (2:1), (6) Kontrol negatif DMSO 3%, (7) Kontrol positif antibiotik eritromisin.

Gambar 9. Skema Pengujian Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Metode Difusi

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Tujuan dari determinasi adalah untuk mencocokkan ciri-ciri morfologis pada simplisia yang diteliti, dan mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya dengan tanaman lain.

1. Hasil Determinasi Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn)

Hasil determinasi berdasarkan: C.A.Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr (1963)

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-19b-20b-21b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-28b-
29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46b-50b-51b-
53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-

73a..... 99. Euphorbiaceae

1b-3b-4b-6b-57a-58b-62b-64a-65b-66a 8. *Phyllanthus*

1b-6c-10b-13a-14b..... *Phyllanthus urinaria* L

2. Hasil Determinasi Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Hasil determinasi berdasarkan: C.A.Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr (1963) dan Mangion, C.P. (2011)

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b- 799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b- 815b-818b-820b-821b-822a- 823b.....	23. Piperaceae
1b-2b-3b	3. <i>Piper</i>
1.....	<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav

Berdasarkan hasil determinasi dengan keterangan surat No:75/ UN27.9.6.4/Lab/2018, identifikasi tumbuhan Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) diketahui bahwa banar tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1 dan lampiran 2.

B. Pengeringan dan Pembuatan Serbuk

Pengeringan pada herba Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau mikroorganisme lainnya dan mencegah terjadinya perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Pengeringan dilakukan dengan memasukan simplisia di oven pada suhu 40⁰C selama 5 hari, kemudian dilakukan perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah.

Dari hasil perhitungan persentasi bobot kering terhadap bobot basah didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Simplisia Meniran Hijau (*Phyllanthus urinaria* Linn).

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5000	1175	23,5

Sumber: data primer 2018

Tabel 1. Menunjukkan bahwa Meniran hijau (*Phyllanthus urinaria* Linn) dengan bobot basah 5000 gram setelah dikeringkan diperoleh bobot kering sebesar 1175 gram. Persentase bobot basah terhadap bobot kering sebesar 27,14%. Perhitungan persentase bobot dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 2. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Simplisia Sirih Merah (*Piper crocatum*).

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
7000	1762	25,1

Sumber: data primer 2018

Tabel 2. Menunjukkan bahwa Sirih merah (*Piper crocatum*) dengan bobot basah 7000 gram setelah dikeringkan diperoleh bobot kering sebesar 1762 gram. Persentase bobot kering terhadap bobot basah sebesar 25,1%. Perhitungan persentase bobot dapat dilihat pada lampiran 4.

C. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) dilakukan menggunakan alat *Moisture Balance*. Persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10%. Kadar air yang berlebih tidak diperbolehkan karena dapat mempermudah jamur dan mikroorganisme

lainnya tumbuh serta dapat menyebabkan perubahan kimiawi yang dapat merusak dan menurunkan mutu serbuk (Katno *et al*, 2008).

Dari hasil perhitungan penetapan kadar air didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Meniran Merah

No	Bobot serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	2,0	1,8	9,0
2	2,0	1,6	8,0
3	2,0	1,8	9,0
Rata-rata			8,66

Sumber: data primer 2018

Tabel 3. Menunjukkan hasil rata-rata persentase penetapan kadar air serbuk Meniran merah adalah 8,66%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu kurang dari 10%. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Meniran merah dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Sirih Merah

No	Bobot serbuk (gr)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	2,0	1,6	8,0
2	2,0	1,5	7,5
3	2,0	1,6	8,0
Rata-rata			7,83

Sumber: data primer 2018

Tabel 4. Menunjukkan hasil rata-rata persentase penetapan kadar air serbuk Sirih merah adalah 7,83%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu kurang dari 10%. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Sirih merah dapat dilihat pada lampiran 6.

D. Pembuatan Ekstrak Etanol

Pembuatan ekstrak dari herba Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) dilakukan dengan metode maserasi. Dari hasil perhitungan persentase rendemen ekstrak Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5. Pembuatan Ekstrak Maserasi Meniran Merah

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
100	20,0	20,0

Sumber: data primer 2018

Tabel 5. Menunjukkan persentasi rendemen ekstrak maserasi Meniran merah yang diperoleh sebanyak 20,0%. Organolepsis ekstrak warna coklat tua, bentuk kental. Hasil perhitungan ekstrak Meniran merah dilihat pada lampiran 7.

Tabel 6. Pembuatan Ekstrak Maserasi Sirih Merah

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
100	15,7	15,7

Sumber: data primer 2018

Tabel 6. Menunjukkan persentasi rendemen ekstrak maserasi Sirih merah yang diperoleh sebanyak 15,7%. Organolepsis ekstrak warna coklat tua, bentuk kental. Hasil perhitungan ekstrak Meniran merah dilihat pada lampiran 8.

Tabel 7. Pembuatan Ekstrak Etanolik Kombinasi 1:1; 1:2 dan 2:1

Kombinasi	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1:1	100	12,7	12,7
1:2	100	15,7	15,7
2:1	100	13,7	13,7

Sumber: data primer 2018

Tabel 7. Menunjukkan persentasi rendemen ekstrak kombinasi yang diperoleh pada perbandingan 1:1 sebanyak 12,7%, perbandingan 1:2 sebanyak 15,7 dan pada perbandingan 2:1 sebanyak 13,7%. Organolepsis ekstrak warna coklat tua, bentuk kental. Hasil perhitungan ekstrak kombinasi terlihat pada lampiran 9.

E. Uji Bebas Etanol

Ekstrak Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan esterifikasi alkohol, di mana ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan.

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. Dari hasil pengujian bebas etanol didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 8. Hasil Uji Bebas Etanol

Bahan yang diujikan	Hasil pengujian (Praeparandi 2006)
Ekstrak Meniran merh	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol
Ekstrak Sirih merah	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol
Ekstrak kombinasi (1:1)	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol
Ekstrak kombinasi (1:2)	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol
Ekstrak kombinasi (2:1)	Tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol

Sumber: data primer 2018

Tabel 8. Menunjukkan hasil pengujian bebas etanol dari kelima ekstrak tidak terbentuk bau ester yang khas sehingga kelima ekstrak dapat dinyatakan sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70%. Hasil pengujian bebas etanol Meniran merah, Sirih merah dan kombinasi terlihat pada lampiran 10.

F. Identifikasi Kandungan Senyawa

Identifikasi kandungan ekstrak Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam Meniran merah (*Phyllanthus urinaria*

Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 9. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah Dan Kombinasi

Kandungan	Pustaka	Meniran merah	Sirih merah	Kombinasi		
				(1:1)	(1:2)	(2:1)
Alkaloid	Reaksi positif bila ada perubahan warna dan terdapat endapan (Resmi 2011)	+	+	+	+	+
Flavonoid	Reaksi positif bila warna merah tua dan jingga (Depkes 2000)	+	+	+	+	+
Tanin	Reaksi positif bila ada perubahan warna biru kehitaman (Ramyasheree et al 2012)	+	+	+	+	+
Saponin	Reaksi positif bila ada busa yang stabil (Ramyasheree et al 2012)	+	+	+	+	+

Sumber: data primer 2018

Keterangan : (+) : memiliki senyawa

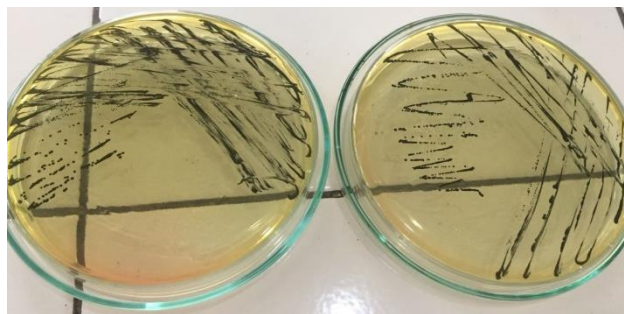
(-) : Tidak memiliki senyawa

Tabel 9. Menunjukkan hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik Meniran merah, Sirih merah dan kombinasi positif mengandung flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin dimana senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas antibakteri. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik Meniran merah, Sirih merah dan kombinasinya dapat dilihat pada lampiran 11.

G. Identifikasi Bakteri Uji

1. Inokulasi Media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditambahkan dengan kalium tellurit kemudian diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Didapatkan hasil sebagai berikut:



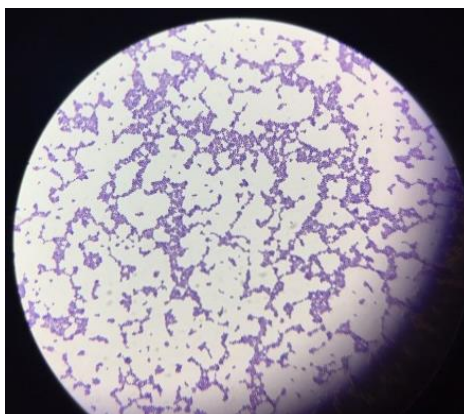
Gambar 10. Inokulasi pada media VJA (sumber: data primer 2018)

Gambar 10. Menunjukkan hasil pengamatan, koloni yang dihasilkan berwarna hitam dan warna medium di sekitar koloni berwarna kuning.

Power & Mc Queen (1988) mengemukakan bahwa koloni yang berwarna hitam ini disebabkan oleh kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam mereduksi kalium tellurit menjadi metalik tellurium. Warna disekitar koloni berwarna kuning disebabkan kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam memfermentasi manitol menjadi asam. Fermentasi manitol dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah (alkali) menjadi kuning (asam).

2. Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan pewarnaan Gram didapatkan hasil sebagai berikut:



Gambar 11. Hasil pewarnaan gram (sumber: data primer 2018)

Gambar 11. menunjukkan hasil pewarnaan Gram. Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan warna Gram menunjukkan hasil koloni bentuk bulat, bergerombol dan berwarna ungu. Tujuan pewarnaan Gram adalah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri.

Pelczar & Chan (1986) menyatakan bahwa perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dan Gram negatif mengandung lemak dalam prevalensi lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian kristal violet pada bakteri Gram positif akan menimbulkan warna ungu kemudian diberi larutan iodin sehingga akan terbentuk suatu kompleks antara kristal violet dan iodin. Pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga membesar permeabilitas dinding sel Gram negatif. Pewarnaan safranin masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah pada bakteri Gram negatif sedangkan bakteri Gram positif dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya tembus dinding sel dan berwarna ungu.

3. Identifikasi Biokimia

Dari hasil identifikasi biokimia terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 10. Hasil Identifikasi Bakteri Dengan Uji Katalase dan Uji Koagulase

Jenis uji	Hasil	Pustaka	Keterangan
Uji katalase	Terbentuk gelembung gas	Terbentuk gelembung gas	(+)
Uji koagulase	Terjadi penjendalan	Terjadi penjendalan	(+)
Keterangan :	(+) = positif <i>Staphylococcus aureus</i>		
	(-) = negatif <i>Staphylococcus aureus</i>		

3.1 Uji Katalase

Tabel 10. Menunjukkan hasil uji katalase positif. Berdasarkan hasil uji katalase terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 maka di dapatkan hasil positif dengan menunjukkan adanya buih atau gelembung saat setelah ditetaskan H₂O₂

Waluyo (2005), mengatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* mampu menghasilkan katalase. Katalase merupakan enzim yang mengubah H₂O₂ menjadi O₂. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena menginaktifkan enzim dalam sel, terbentuk pada saat metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut. Fungsi uji katalase untuk membedakan antara *Staphylococcus* dan *Streptococcus*, dimana kelompok *Staphylococcus* bersifat katalase positif.

3.2 Uji Koagulase

Tabel 10. Menunjukkan hasil uji koagulase positif. Berdasarkan hasil uji koagulase terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 maka di dapatkan hasil positif koagulase.

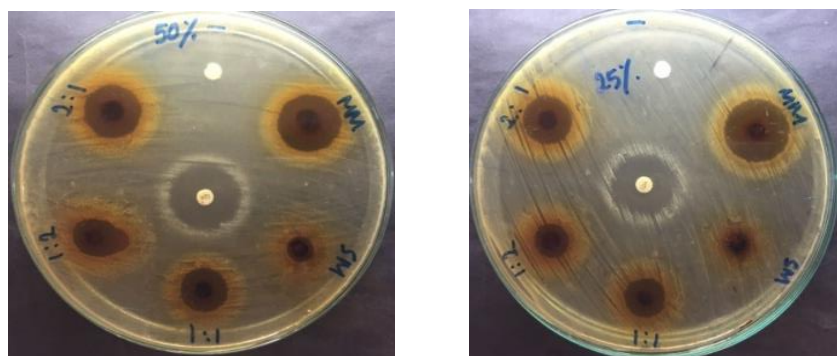
Menurut Koes (2014), koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Oleh karena itu peran koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik. Hasil positif pada uji koagulase yaitu akan terjadi penggumpalan plasma serta dapat dilihat secara kasat mata dengan adanya plak pada dinding tabung.

H. Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap Bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Hasil sediaan dari ekstrak etanolik, Meniran merah, Sirih merah dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode difusi. Larutan stok dibuat dalam dua konsentrasi yaitu 50% dan 25%. Pelarut dan kontrol negatif menggunakan DMSO 3%, karena DMSO tidak bersifat toksik. Kontrol positif menggunakan eritromisin 15 μ g karena sudah terbukti sebagai obat antibakteri. Kontrol positif digunakan untuk melihat perbandingan kemampuan penghambatan ekstrak terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak Meniran merah, Sirih merah serta kombinasi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan metode difusi dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Daya antibakteri dari setiap ekstrak dapat dilihat dari adanya daerah jernih di sekitar cakram yang diukur dengan satuan milimeter (mm) dan kemudian dibandingkan dengan kontrol positif yaitu eritromisin. Hasil uji aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebagai berikut:



Gambar 12. Hasil uji aktivitas antibakteri (sumber: data primer 2018)

Keterangan : MM (Meniran merah), SM (Sirih merah), 1:1 (kombinasi Meniran merah dan Sirih merah), 1:2 (kombinasi Meniran merah dan Sirih merah) dan 2:1 (kombinasi Meniran Merah dan Sirih merah), Kontrol negatif (-) DMSO 3%, Kontrol positif (+) antibiotik eritromisin.

Gambar 12. Menunjukkan hasil pengamatan aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 50% dan 25%, di mana di sekitar cakram terdapat zona bening.

Hasil uji aktivitas diameter zona hambat dapat di lihat sebagai berikut:

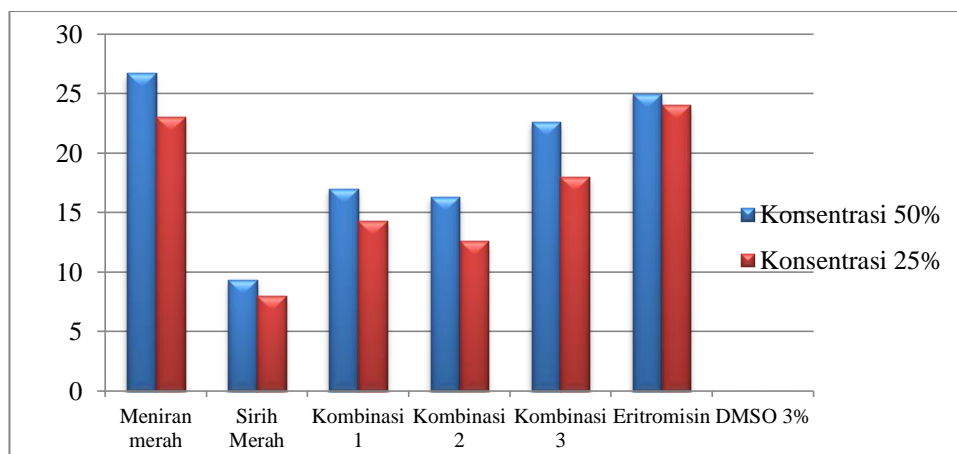
Tabel 11. Diameter Hambat Pada Uji Antibakteri Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara Difusi

Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)		
		1	2	Rata-rata
Ekstrak Meniran merah	50%	27,1	26,3	26,7
Ekstrak Sirih merah	50%	10,0	8,7	9,3
Ekstrak kombinasi (1:1)	50%	17,0	17,0	17,0
Ekstrak kombinasi (1:2)	50%	16,0	16,7	16,3
Ekstrak kombinasi (2:1)	50%	20,0	23,3	22,6
Ekstrak Meniran merah	25%	22,0	24,3	23,1
Ekstrak Sirih merah	25%	8,0	8,0	8,0
Ekstrak kombinasi (1:1)	25%	14,7	14,0	14,3
Ekstrak kombinasi (1:2)	25%	13,0	12,3	12,6
Ekstrak kombinasi (2:1)	25%	17,7	18,3	18,0
Kontrol (+) Eritromisin	50%	25,0	25,0	25,0
	25%	24,0	24,0	24,0
Kontrol (-) DMSO 3%	50%	00,00	00,00	00,00
	25%	00,00	00,00	00,00

Sumber: data primer 2018

Tabel 11. Menunjukkan hasil pengujian aktivitas antibakteri secara difusi pada ekstrak etanolik Meniran merah, Sirih merah, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil diameter daya hambat aktivitas antibakteri dalam bentuk diagram



Gambar 13. Diagram Rata-Rata Diameter Daya Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah dan Kombinasi 1:1; 1:2; 2:1

Berdasarkan Tabel 11. menunjukkan ekstrak Meniran merah mempunyai daya hambat yang paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan ekstrak Sirih merah dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1. Hasil rata-rata diameter daya hambat ekstrak Meniran merah konsentrasi 50% dan 25% berturut-turut sebesar 26,3 mm dan 23,1 mm, sedangkan eritromisin sebagai kontrol positif memiliki rata-rata sebesar 25,0 mm dan 24,0 mm. kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 3% tidak memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Gambar hasil uji antibakteri dari ekstrak Meniran merah, Sirih merah dan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1 secara difusi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 10.

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan terjadinya pembentukan zona hambat di sekitar area cakram yang menyebabkan daya hambat pertumbuhan bakteri dari senyawa-senyawa yang berada didalam Meniran merah. Senyawa tersebut berpengaruh terhadap diameter zona hambat.

Hasil penelitian menunjukkan diameter daerah hambat yang dihasilkan ekstrak etanolik Meniran merah yaitu lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanolik Sirih merah, karena ekstrak etanolik Meniran merah lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan adanya pengaruh senyawa-senyawa kimia yang terdapat didalamnya. Ekstrak etanolik Sirih merah mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam Sirih merah, akan tetapi senyawa-senyawa tersebut ternyata tidak mampu bekerja secara sinergis sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil.

Berdasarkan tabel 11, didapatkan diameter zona hambat yang paling efektif adalah meniran merah 50% dikarenakan ekstrak Meniran merah memiliki senyawa-senyawa kimia yang terlampir pada tabel 9, di mana terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Poongothai (2013) mengemukakan bahwa, berbagai senyawa kimia yang terdapat pada tanaman memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanisme kerja yang bekerja secara sinergis. Sinergisitas memberikan aktivitas lebih yang terdapat dalam ekstrak.

Cavalieri (2005) menyatakan bahwa, mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Menurut Juliantina (2008), mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme

kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Cushnie (2005) mengemukakan mekanisme antibakteri flavonoid menghambat pembentukan DNA dan RNA. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.

Ajizah (2004) menyatakan, Mekanisme kerja tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati. Masduki (1996), tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik

Menurut Harborne (2006), mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip dengan detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup sel. Menurut (Cavalieri, 2005), saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran.

Analisis data pada penelitian secara difusi menggunakan (ANOVA) One Way untuk membandingkan ekstrak etanolik Meniran merah, ekstrak etanolik

Sirih merah dan ekstrak etanolik kombinasi dalam tiap konsentrasi. Dari 12 sampel yang dilakukan dua kali replika didapatkan hasil uji statistik sebagai berikut :

Perhitungan *Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi $0,995 > 0,05$ (H_0 diterima), sehingga dapat disimpulkan data tersebut berdistribusi normal atau dapat disimpulkan diameter zona hambat dari ketiga ekstrak tersebut terdistribusi normal.

Hasil tabel ANOVA dalam dasar pengambil keputusan (nilai probabilitas) terlihat pada nilai F 69,844 dengan bilai signifikansi $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) yang artinya dari ketiga ekstrak tersebut memiliki perbedaan yang sangat nyata atau dapat diartikan perbedaan zona diameter hambat tiap kelompok perlakuan berbeda nyata.

Pada *Homogeneous Subsets* menunjukkan Subsets 1 sampai subsets 6 terdapat sediaan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Pada subsets 6 terdapat ekstrak etanolik Meniran merah dengan konsentrasi 50%, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik Meniran merah 50% merupakan ekstrak yang paling aktif. Sediaan uji pada subsets 1 sampai 5 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam satu subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas anibakteri.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Kombinasi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” maka diperoleh beberapa kesimpulan, sebagai berikut:

1. Ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1 yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah ekstrak Meniran merah pada konsentrasi 50%.
3. Kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) tidak memiliki efek sinergis terhadap *Staphylococcus aureus* 25923.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Kombinasi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” maka diperoleh beberapa saran, sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri patogen lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanolik Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*) dengan menggunakan pelarut dan metode lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan perbandingan antibiotik yang sesuai dengan mekanisme senyawa-senyawa yang terkandung di dalam Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn) dan Sirih merah (*Piper crocatum*).

DAFTAR PUSTAKA

- Agus Kardinan, dan Fauzi Rahmat Kusuma. 2004. Hidup Sehat Secara Alami. Dalam: Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami. Cet. 1. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Ajizah, A., 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Bioscientiae Vol.1 No.1. pp: 8-31.
- Alamsyah NA. 2006. *Takhlukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. Jakarta: Penerbit Agrimedia Pustaka.
- Anief, M. (2003). *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press, hlm 168-169.
- Asmarahman, D. d. (2010). *7 Jenis Kayu Penghasil Rupiah*. AgroMedia Pustaka: Jakarta.
- Badan POM RI. (2005, Juni). Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. *Info POM. Vol.6. No. 2*, hal. Hlm. 2.
- Cavalieri, S J., Rankin I D., Harbeck R J., Sautter R S., McCarter Y S., Sharp S E., Ortez J H and Spiegel C A. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology, USA.
- Centers for Disease Control and Prevention, 2011. *Staphylococcus aureus in healthcare settings: General information about Staphylococcus aureus*. From: <http://www.cdc.gov/hai/organisms/staph.html>
- Cushnie, T.P.Tim. Lamb, Andrew J. 2005 Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*;26: 343-356.
- Dalimartha, S. (2000). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Trubus Agriwidya: Jakarta.
- [DEPKES RI]. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fauzana, D. L. (2010). *Perbandingan Metode Maserasi, REmaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi Terhadap Rendemen Ekstrak Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb)*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Friends dan Tim Afin. (2013). *Daun Dasyat: Pencegah & Menyembuhkan Penyakit*. Katahati: Yogyakarta.
- Harborne, J.B. 2006. Metode Fitokimia, Edisi ke-2. Bandung: ITB.

- Harti, A. S. (2015). *Mikrobiologi Kesehatan; Peran Mikrobiologi Dalam Bidang Kesehatan- Edisi I*. Andi Offset: Yogyakarta.
- Hidayat, S. (2015). *Kitab Tumbuhan Obat. Cetakkan 1*. AgriFlo: Jakarta.
- Jawetz *et al.* (2012). *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 25*. EGC: Jakarta.
- Juliantina, F. R. 2008. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. JKKI – Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Katno, Pramono S. 2008. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Koensoemardiyah. (2009). *A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik, dan Aromaterapi*. ANDI: Yogyakarta.
- Irianto, Koes. (2014). *Bakteriologi, Mikologi & Virologi Panduan Medis & Klinis*. Alfabeta: Bandung.
- Kusuma, A. K. (2004). *Meniran; Penambahan Daya Tahan Tubuh Alami*. AgroMedia Pustaka: Jakarta
- Lestari *et al.* (2012). Optimasi Pelarut Etanol-Air Dalam Proses Ekstraksi Herba Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) Pada Suhu Terukur. *Bionatura-Jurnal ilmu-ilmu Hayati dan Fisik. Vol. 14, No 2*, 87-93.
- Lestari & Harti. (2017). *Mikrobiologi Berbasis Inkuiry. Cetakkan 1*. Gunung Samudera: Malang.
- Mandal, W. D.-W. (2008). *Lecture Notes: Penyakit Infeksi*. Jakarta: Erlangga.
- Mardiana, L. (2012). *Daun Ajaib Tumpas Penyakit. Cetakkan 1*. Swadaya: Jakarta.
- Ma'rifah, A. (2012). *Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Maryati, S. &. (2003). *Khasiat dan Manfaat Daun Dewa & Sambung Nyawa. Cetakan 1*. AgroMedia Pustaka: Jakarta.
- Masduki. (1996). Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Jakarta: Penerbit Cermin Dunia Kedokteran. Hal. 23-24.

- Muhimmah, R. R. (2015). *Perbedaan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Ethanol Herba Menira Hijau (Phyllanthus niruri Linn) dengan Meniran merah (Phyllanthus urinaria Linn) terhadap Staphylococcus aureus secara invitro*. Malang: Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah.
- Mukhiriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Volume VII No 2, 361-363.
- Mursito, B. (2004). *Tampil Percaya Diri Debgab Ramuan Tradisional*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Pelczar Jr, M.J Can E. C. S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press
- Permadi, A. (2008). *Membuat Kebun Tanaman Obat-Obatan. Cetakan 1*. Pustaka Bunda: Jakarta.
- Poongothai, P. Rajan,S. .2013. Antibacterial Properties of Mangifera indica flower extracts on Urophatogenic Escherichia coli,.*International Journal of Current Microbiology and Aplied Science*;2(12): 104-111.
- Power D.A, Mc Cuen P.J 1988. *Manual of BBl. Product and Laboratory procedures. Sixth edition*. Maryland: Becton Dickinson.
- Pratiwi, S. U. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga: Jakarta.
- Pusat Perlindungan Kesehatan 2017. Infeksi Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dan Infeksi MRSA Terkait Masyarakat. www.chp.gov.hk. Departemen Kesehatan.
- Puspaningtyas, P. U. (2013). *The Miracle of Herbs*. AgroMedia Pustaka: Jakarta.
- Quinn, P. (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial disease*. USA: Blackwell Publishing Company USA.
- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. EGC: Jakarta.
- Ramya BS, Ganesh P. 2012. Phytochemical analysis and comparative effect of *Cinnsmomum zeylanicum, Piper nigrum and Pimpinella anisum* with selected antibiotics and its antibacterial activity against enterobacteriaceae family. India : Departement of Microbiology, Annamalai University, Annamalai Nagar.
- Ramyasheree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of oputia elatior fruits and its effects in mine. University of Mysore.

- Sa'adah & Nurhasnawati . (2015). Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, Vol. 1(2), Hlm. 149-153.
- Soenanto, H. (2009). *100 Resep Sembuhkan Hipertensi Asam Urat dan Obesitas*. Gramedia: Jakarta.
- Surahman *at al.* (2008). Evaluasi Penggunaan Sediaan Farmasi Intravena untuk Penyakit Infeksi pada Salah satu Rumah Sakit. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 22.
- Syahrurachman *at al.* (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara: Jakarta.
- Tri, *at al.* 2017. The Inhibitor Test Of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum*) Towards *Staphylococcus Aureus* And *Salmonella Typhi*. J. Majority. Vol. 4, No.5
- Utami, P. (2003). *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Rematik & Asam Urat*. AgroMedia Pustaka: Jakarta.
- Utami, P. (2013). *Diet Aman dan Sehat Berkat Herbal*. FMedia: Jakarta.
- Waluyo L, 2004. *Mikrobiologi umum*. Edisi I. Malang : Diterjemahkan Universitas Muhammadiyah Malang.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 76/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Faridha Joutulis
NIM : 10170665 N
Alamat : Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Phyllanthus urinaria* L.
Familia : Euphorbiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73a
99. Euphorbiaceae
8. *Phyllanthus*
1b-3b-4b-6b-57a-58b-62b-64a-65b-66a
Phyllanthus urinaria L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.05-0.8 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bulat pada saat dewasa, persegi pada saat muda, berkayu, bergetah, tkemerahan hingga hijau keunguan. Daun : tunggal, berseling; helaian daun berbentuk bulat telur memanjang, panjang 0.5-2 cm, lebar 0.1-0.8 cm, pangkal membulat-tumpul, tepi rata, ujung membulat atau tumpul atau runcing, pertulangan menyirip, permukaan gundul dan mengkilat, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda dengan bagian tepi ungu; tangkai daun pendek, bulat, gundul. Bunga : berkelamin satu (unisexual), tunggal atau beberapa berkumpul, di ketiak daun pada cabang tertentu, bunga jantan terletak pada bagian atas; bunga betina terletak pada bagian bawah, tangkai bunga bulat, gundul, hijau. Bunga jantan : 1-2 bunga pada cabang bagian atas; panjang tangkai bunga 0.25-1 mm; perhiasan bunga bulat telur memanjang, panjang 1 mm, putih kekuningan dengan kehijauan di bagian tengah; kepala sari tegak. Bunga betina : tunggal di cabang bagian bawah; panjang tangkai bunga 0.6 mm; perhiasan bunga berbentuk bulat telur, putih kekuningan dengan kemerahan di bagian tengah, bagian tepi lebih pucat. Buah : diameter 3 mm, panjang tangkai buah 1.5-2 mm, menebal pada bagian ujungnya, hijau atau merah. Biji : kecil, pipih, hitam.

Surakarta, 11 Mei 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Surakarta, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyahingsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 75/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : Faridha Joutulis
NIM : 10170665 N
Alamat : Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Piper crocatum* Ruiz & Pav.
Familia : Piperaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) dan Mangion, C.P. (2011):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822a-823b

23. Piperaceae

3. *Piper*

1 Piper crocatum Ruiz & Pav.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna semusim, memanjat atau menjalar, panjang tanaman dapat mencapai sekitar 5-10 m. Akar : akar serabut, tipe akar pelekat, melekat erat pada penunjang, keluar dari ruas-ruas batang, berwarna putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang bulat, hijau merah keunguan, beruas-beruas dengan panjang ruas 3-8 cm, pada setiap buku tumbuh satu daun, permukaan licin. Daun : daun tunggal, berseling atau tersebar, bentuk daun jantung-bulat telur hingga bulat telur-lonjong, panjang daun 6.1-14.6 cm, lebar daun 4-9.4 cm, permukaan atas daun agak cembung dan mengkilat, permukaan bawah daun mencekung dengan pertulangan daun yang menonjol, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun licin mengkilat, permukaan bawah daun kusam, warna dasar daun hijau pada kedua permukaannya, bagian atas hijau dengan garis-garis merah jambu kemerahan, permukaan bagian bawah hijau merah tua keunguan, bila diremas menghasilkan lendir serta aromanya wangi; tangkai daun hijau merah keunguan, panjang 2.1-6.2 cm, pangkal tangkai daun pada helaian daun agak ke tengah sekitar 0.7-1 cm dari tepi daun bagian bawah. Bunga : bunga majemuk tipe bulir, di ketiak daun, bunga berkelamin satu, berumah satu, bersifat aktinomorf; pelindung bunga (braktea) berbentuk lingkaran, bulat telur atau bulat telur terbalik, panjang 1 mm; bulir bunga jantan panjangnya sekitar 1.5 - 3 cm, terdapat 2 benang sari yang pendek; bulir bunga betina panjangnya sekitar 1.5-6 cm, terdapat kepala putik 3-5 buah, berwarna putih hingga hijau kekuningan. Buah : buah buni bentuk bulat. Biji : berjumlah 1 tiap buah, bentuk bulat.

Surakarta, 11 Mei 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratrian, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



**Lampiran 3. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah
Meniran Merah**

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
5000	1175	23,5

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1175}{5000} \times 100\%$$

$$= 23,5 \%$$

Lampiran 4. Perhitungan Persentase Bobot Kering Terhadap Bobot Basah Sirih Merah

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
7000	1762	25,1

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1762}{7000} \times 100\%$$

$$= 25,1 \%$$

Lampiran 5. Perhitungan Persentase Penetapan Kadar Air Serbuk Meniran Merah

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,8	9,0
2	20	1,6	8,0
3	20	1,8	9,0
Rata-rata			8,66

Perhitungan persentase penetapan kadar air = $\frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$

Kadar air 1 = $\frac{1,8}{20} \times 100\% = 9,0 \%$

Kadar air 2 = $\frac{1,6}{20} \times 100\% = 8,0 \%$

Kadar air 3 = $\frac{1,8}{20} \times 100\% = 9,0 \%$

Rata-rata persentase kadar air = $\frac{9,0\%+8,0\%+9,0\%}{3} = 8,66 \%$

Lampiran 6. Perhitungan Persentase Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Sirih Merah

No	Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,6	8,0
2	20	1,5	7,5
3	20	1,6	8,0
Rata-rata			7,83

Perhitungan persentase penetapan kadar air = $\frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$

Kadar air 1 = $\frac{1,6}{20} \times 100\% = 8,0 \%$

Kadar air 2 = $\frac{1,5}{20} \times 100\% = 7,5 \%$

Kadar air 3 = $\frac{1,6}{20} \times 100\% = 8,0 \%$

Rata-rata persentase kadar air = $\frac{8,0\%+7,5\%+8,0\%}{3} = 7,83 \%$

**Lampiran 7. Perhitungan Persen Rendemen Hasil Ekstrak Etanolik
Meniran Merah**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
100	20,0	20,0

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak etanol} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{20,0}{100} \times 100\% \\ &= 20,0 \%\end{aligned}$$

Lampiran 8. Perhitungan Persen Rendemen Hasil Ekstrak Etanolik Daun Sirih Merah

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
100	15,7	15,7

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak etanol} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{15,7}{100} \times 100\% \\ &= 15,7 \%\end{aligned}$$

**Lampiran 9. Perhitungan Persen Rendemen Hasil Ekstrak Etanolik
Kombinasi 1:1;1:2 Dan 2:1**

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak etanol (1:1)} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{12,7}{100} \times 100\% \\ &= 12,7 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak etanol (1:2)} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{15,7}{100} \times 100\% \\ &= 15,7 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak etanol (2:1)} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{13,7}{100} \times 100\% \\ &= 13,7 \%\end{aligned}$$

Lampiran 10. Uji Bebas Etanol Ekstrak Etanol Meniran Merah, Sirih Merah Dan Kombinasi 1:1; 1:2; 2:1



Ekstrak daun sirih merah



Ekstrak meniran merah



Ekstrak kombinasi (1:1)





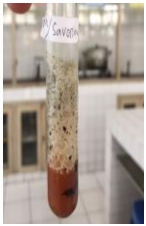




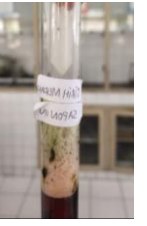

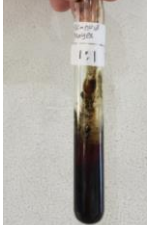


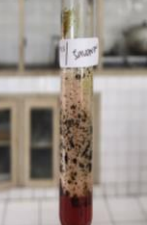
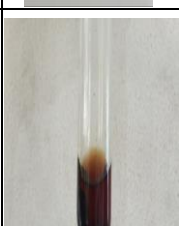








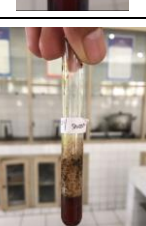


Ekstrak kombinasi (1:2)



Ekstrak kombinasi (2:1)

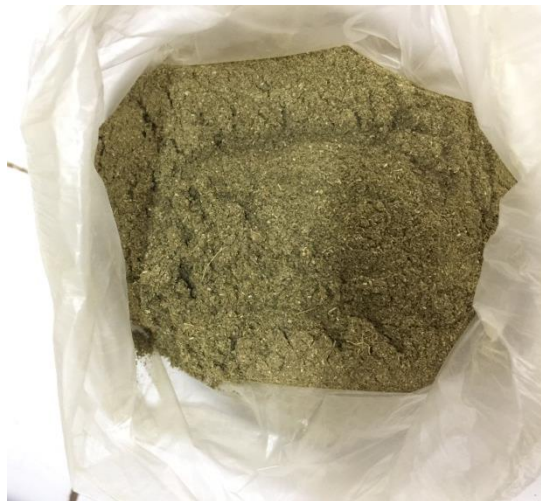
Lampiran 11. Pengujian Kandungan Kimia Ekstrak Meniran Merah, Sirih Merah Dan Kombinasi 1:1, 1:2, 2:1

Ekstrak	Senyawa				
	Alkaloid Dragendrof	Alkaloid Mayer	Flavonoid	Tanin	Saponin
Meniran merah					
Sirih merah					
Kombinasi (1:1)					
Kombinasi (1:2)					
Kombinasi (2:1)					

Lampiran 12. Gambar Meniran Merah Dan Serbuk Meniran Merah



Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn)



Serbuk meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn)

Lampiran 13. Gambar Daun Sirih Merah Dan Serbuk Daun Sirih Merah



Daun sirih merah (*Piper crocatum*)

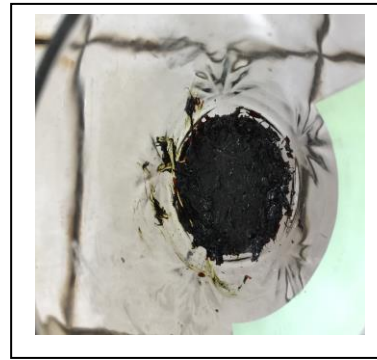


Serbuk daun sirih merah (*Piper crocatum*)

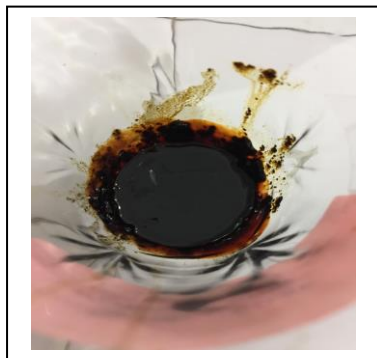
Lampiran 14. Ekstrak Etanolik Meniran Merah, Sirih Merah Dan Kombinasi 1:1, 1:2 Dan 2:1



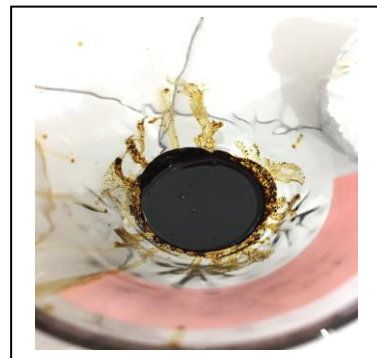
Ekstrak daun sirih merah



Ekstrak meniran merah



Ekstrak kombinasi (1:1)

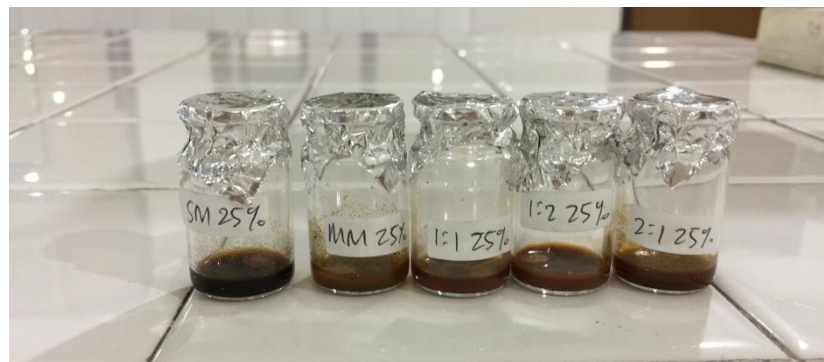
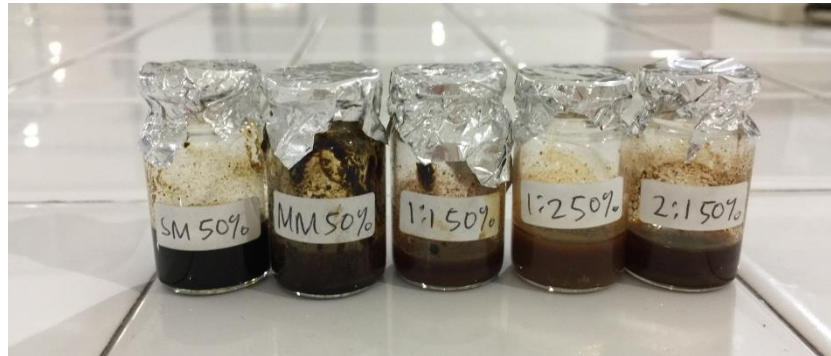


Ekstrak kombinasi (1:2)



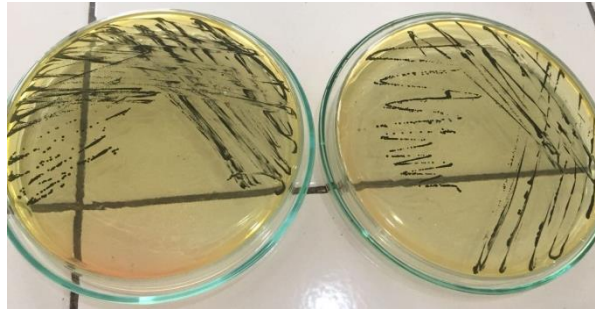
Ekstrak kombinasi (2:1)

**Lampiran 15. Pengenceran Ekstrak Etanolik Meniran Merah, Sirih Merah
Dan Kombinasi 1:1; 1:2; 2:1**

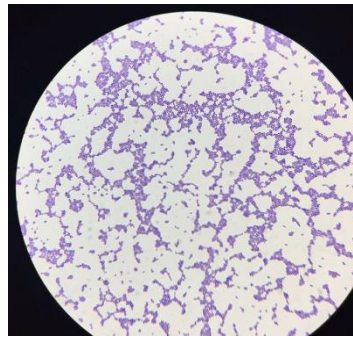


Keterangan: foto beberapa pengenceran difusi dari ekstrak etanol daun sirih merah, meniran merah dan kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan meniran merah perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 dari konsentrasi 50% dan 25%.

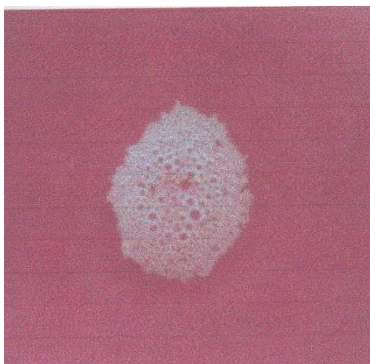
Lampiran 16. Hasil Identifikasi Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar hasil identifikasi berdasarkan koloni



Gambar hasil mikroskopis secara morfologi

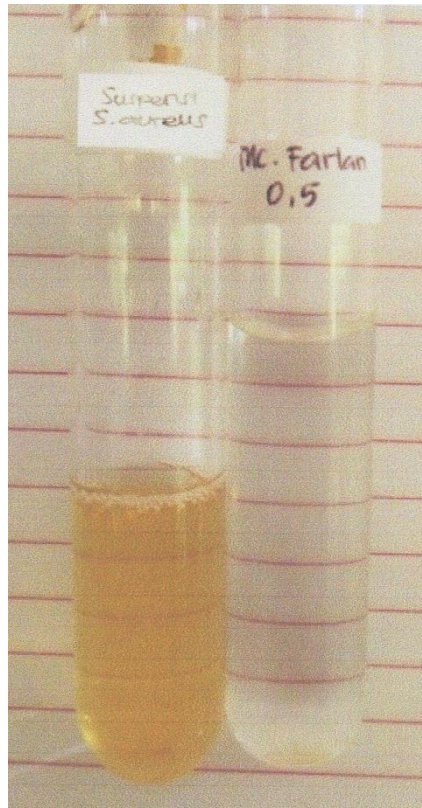


Gambar hasil uji katalase

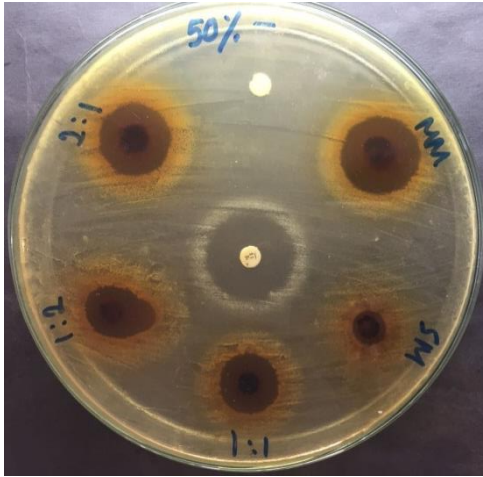


Gambar hasil uji koagulase

**Lampiran 17. Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri Uji *Staphulococcus aureus*
ATCC 25923**

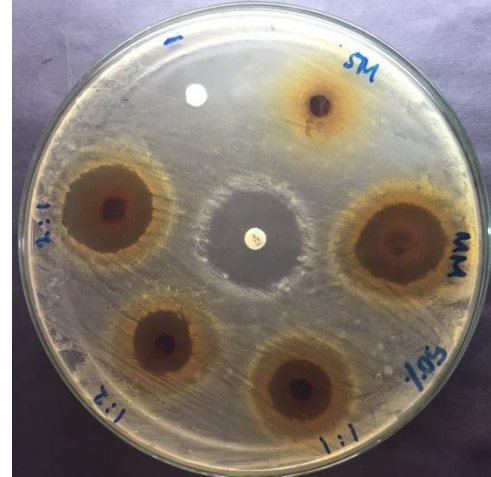


Lampiran 18. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 Secara Difusi

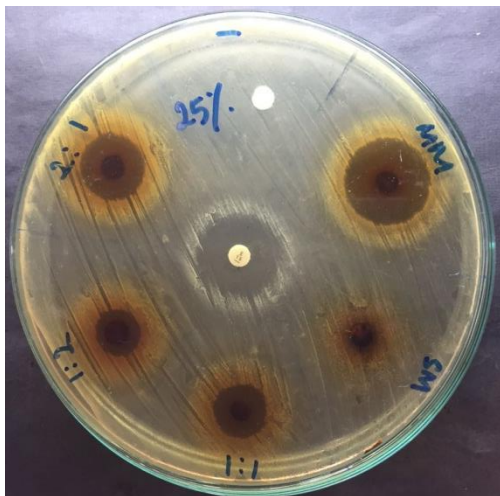


Konsentrasi 50%

Replika 1

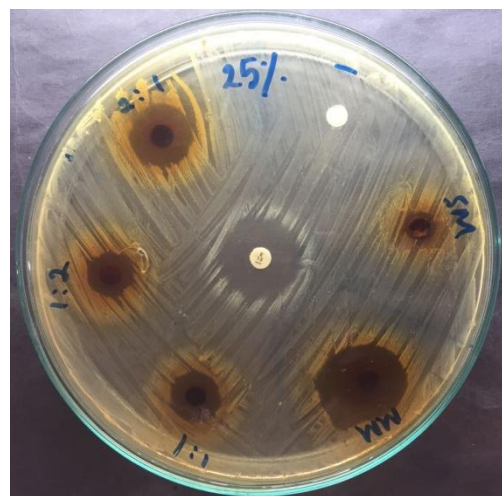


Replika 2



Konsentrasi 25%

Replika 1



Replika 2

Lampiran 19. Perhitungan Pengenceran DMSO (*Dimethyl Sulfoxida*)

Pembuatan DMSO konsentrasi 3%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 100\% = 100 \text{ ml} \cdot 3\%$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml} \cdot 3\%}{100\%}$$

$$= \frac{300 \text{ ml}}{100}$$

$$V_1 = 3 \text{ ml}$$

Dipipet 3 ml dari larutan awal (100%) kemudian ditambah aquades steril sampai 100 ml.

Lampiran 20. Pembuatan Sediaan Uji Difusi

A. Ekstrak etanol meniran merah

$$1. 50\% \frac{b}{v} = 1g / 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol meniran merah kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

$$2. 25\%$$

$$\text{Rumus} : V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$: V_1 \cdot 50 = 1 \cdot 25$$

$$: V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml larutan induk konsentrasi 50% dimasukkan dalam tabung vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 3% ad 1 ml.

B. Ekstrak etanol sirih merah

$$1. 50\% \frac{b}{v} = 1g / 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol daun sirih merah kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

$$2. 25\%$$

$$\text{Rumus: } V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$: V_1 \cdot 50 = 1 \cdot 25$$

$$: V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml larutan induk konsentrasi 50% dimasukkan dalam tabung vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 3% ad 1 ml.

C. Ekstrak etanol kombinasi 1:1

$$1. 50\% \frac{b}{v} = 1\text{g} / 2\text{ ml}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol kombinasi 1:1 kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

$$2. 25\%$$

$$\text{Rumus} : V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$: V_1 \cdot 50 = 1 \cdot 25$$

$$: V_1 = 0,5\text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml larutan induk konsentrasi 50% dimasukkan dalam tabung vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 3% ad 1 ml.

D. Ekstrak etanol kombinasi 1:2

$$1. 50\% \frac{b}{v} = 1\text{g} / 2\text{ ml}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol kombinasi 1:2 kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

$$2. 25\%$$

$$\text{Rumus} : V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$: V_1 \cdot 50 = 1 \cdot 25$$

$$: V_1 = 0,5\text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml larutan induk konsentrasi 50% dimasukkan dalam tabung vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 3% ad 1 ml.

E. Ekstrak etanol kombinasi 2:1

1. $50\% \text{ } b/v = 1\text{g} / 2 \text{ ml}$

Ditimbang 1 gram ekstrak etanol kombinasi 2:1 kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

2. 25%

Rumus : $V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$

$$: V_1 \cdot 50 = 1 \cdot 25$$

$$: V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml larutan induk konsentrasi 50% dimasukkan dalam tabung vial yang sudah dikalibrasi dan diencerkan dengan DMSO 3% ad 1 ml.

Lampiran 21. Formulasi dan Pembuatan Media

1. Formulasi dan pembuat Brain Heat 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, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung.

2. Formulasi dan pembuatan Muller Hinton Agar (MHA)

Beef, dehydrated infusion	300 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Starch	1,5 gram
Agar.....	17 gram

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoclaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan dimasukkan ke dalam plate.

3. Formulasi dan pembuatan *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Peptone.....	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 dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit dan tuangkan dalam tabung.

Lampiran 22. Pewarnaan Gram

Komposisi Cat Gram

Cat Gram A (warna ungu)

Kristal violet.....	2 g
Etil alcohol 95%	20 ml
Amonium oksalat	0,8 g
Aquades.....	80 ml

Cat Gram B (warna coklat)

Yodium.....	1 g
Kalium Iodida.....	2 g
Aquades.....	300 ml

Cat Gram C (tak bewarna)

Aceton	50 ml
Etil alcohol	10 ml

Cat Gram D (warna merah)

Safranin	0,25 g
Etil alcohol	10 ml
Aquades.....	90 ml

Lampiran 23. Gambar Alat

Vaccum rotary evaporator, Moisture balance, nkubator, autoclave, timbangan, inkas



Vaccum rotary evaporator



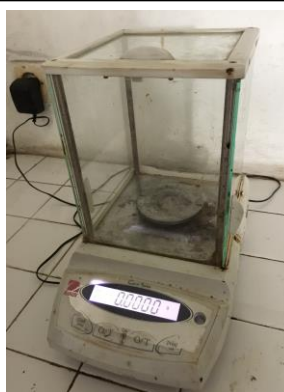
Moisture balance



Autoclave



Inkubator



Timbangan



Inkas

Lampiran 24. Hasil Data Difusi Secara Statistik

1. Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : mengetahui kenormalan data sebagai syarat ANOVA

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		Diameter zona hambat
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	15,975
	Std. Deviation	7,5665
Most Extreme Differences	Absolute	,085
	Positive	,071
	Negative	-,085
Kolmogorov-Smirnov Z		,415
Asymp. Sig. (2-tailed)		,995

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : dilihat dari nilai sig 0,995 > 0,05 maka data persen diameter hambat terdistribusi normal.

2. Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari persen diameter hambat dari setiap kelompok perlakuan.

Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima

Hasil :

ANOVA					
Diameter zona hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	639,282	9	71,031	69,844	,000
Within Groups	10,170	10	1,017		
Total	649,452	19			

Kesimpulan : dilihat dari nilai sig 0,000 < 0,05 (H_0 ditolak) maka terdapat perbedaan persen diameter hambat tiap kelompok perlakuan

3. Uji Post Hoc (HSD)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan persen diameter hambatan yang bermakna.

Kriteria uji :

Sig. < 0,05 berarti H_0 ditolak

Sig. > 0,05 berarti H_0 diterima

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter zona hambatan
Tukey HSD

(I) Ekstrak	(J) Ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
sirih merah 50%	sirih merah 25%	1,3500	1,0085	,922	-2,642	5,342
	meniran merah 50%	-17,3500*	1,0085	,000	-21,342	-13,358
	meniran merah 25%	-13,8000*	1,0085	,000	-17,792	-9,808
	kombinasi 1 50%	-7,6500*	1,0085	,000	-11,642	-3,658
	kombinasi 1 25%	-5,0000*	1,0085	,012	-8,992	-1,008
	kombinasi 2 50%	-7,0000*	1,0085	,001	-10,992	-3,008
	kombinasi 2 25%	-3,3000	1,0085	,133	-7,292	,692
	kombinasi 3 50%	-12,3000*	1,0085	,000	-16,292	-8,308
	kombinasi 3 25%	-8,6500*	1,0085	,000	-12,642	-4,658
	sirih merah 25%	sirih merah 50%	-1,3500	1,0085	,922	-5,342
meniran merah 50%		-18,7000*	1,0085	,000	-22,692	-14,708
meniran merah 25%		-15,1500*	1,0085	,000	-19,142	-11,158
kombinasi 1 50%		-9,0000*	1,0085	,000	-12,992	-5,008
kombinasi 1 25%		-6,3500*	1,0085	,002	-10,342	-2,358
kombinasi 2 50%		-8,3500*	1,0085	,000	-12,342	-4,358
kombinasi 2 25%		-4,6500*	1,0085	,020	-8,642	-,658
kombinasi 3 50%		-13,6500*	1,0085	,000	-17,642	-9,658
kombinasi 3 25%		-10,0000*	1,0085	,000	-13,992	-6,008
meniran merah 50%		sirih merah 50%	17,3500*	1,0085	,000	13,358
	sirih merah 25%	18,7000*	1,0085	,000	14,708	22,692
	meniran merah 25%	3,5500	1,0085	,094	-,442	7,542
	kombinasi 1 50%	9,7000*	1,0085	,000	5,708	13,692
	kombinasi 1 25%	12,3500*	1,0085	,000	8,358	16,342
	kombinasi 2 50%	10,3500*	1,0085	,000	6,358	14,342
	kombinasi 2 25%	14,0500*	1,0085	,000	10,058	18,042
	kombinasi 3 50%	5,0500*	1,0085	,011	1,058	9,042
	kombinasi 3 25%	8,7000*	1,0085	,000	4,708	12,692
	meniran merah 25%	sirih merah 50%	13,8000*	1,0085	,000	9,808
sirih merah 25%		15,1500*	1,0085	,000	11,158	19,142
meniran merah 50%		-3,5500	1,0085	,094	-7,542	,442
kombinasi 1 50%		6,1500*	1,0085	,003	2,158	10,142
kombinasi 1 25%		8,8000*	1,0085	,000	4,808	12,792
kombinasi 2 50%		6,8000*	1,0085	,001	2,808	10,792
	kombinasi 2 25%	10,5000*	1,0085	,000	6,508	14,492

	kombinasi 3 50%	1,5000	1,0085	,870	-2,492	5,492
	kombinasi 3 25%	5,1500*	1,0085	,010	1,158	9,142
kombinasi 1 50%	sirih merah 50%	7,6500*	1,0085	,000	3,658	11,642
	sirih merah 25%	9,0000*	1,0085	,000	5,008	12,992
	meniran merah 50%	-9,7000*	1,0085	,000	-13,692	-5,708
	meniran merah 25%	-6,1500*	1,0085	,003	-10,142	-2,158
	kombinasi 1 25%	2,6500	1,0085	,313	-1,342	6,642
	kombinasi 2 50%	,6500	1,0085	,999	-3,342	4,642
	kombinasi 2 25%	4,3500*	1,0085	,030	,358	8,342
	kombinasi 3 50%	-4,6500*	1,0085	,020	-8,642	-,658
	kombinasi 3 25%	-1,0000	1,0085	,986	-4,992	2,992
kombinasi 1 25%	sirih merah 50%	5,0000*	1,0085	,012	1,008	8,992
	sirih merah 25%	6,3500*	1,0085	,002	2,358	10,342
	meniran merah 50%	-12,3500*	1,0085	,000	-16,342	-8,358
	meniran merah 25%	-8,8000*	1,0085	,000	-12,792	-4,808
	kombinasi 1 50%	-2,6500	1,0085	,313	-6,642	1,342
	kombinasi 2 50%	-2,0000	1,0085	,626	-5,992	1,992
	kombinasi 2 25%	1,7000	1,0085	,782	-2,292	5,692
	kombinasi 3 50%	-7,3000*	1,0085	,001	-11,292	-3,308
	kombinasi 3 25%	-3,6500	1,0085	,081	-7,642	,342
kombinasi 2 50%	sirih merah 50%	7,0000*	1,0085	,001	3,008	10,992
	sirih merah 25%	8,3500*	1,0085	,000	4,358	12,342
	meniran merah 50%	-10,3500*	1,0085	,000	-14,342	-6,358
	meniran merah 25%	-6,8000*	1,0085	,001	-10,792	-2,808
	kombinasi 1 50%	-,6500	1,0085	,999	-4,642	3,342
	kombinasi 1 25%	2,0000	1,0085	,626	-1,992	5,992
	kombinasi 2 25%	3,7000	1,0085	,076	-,292	7,692
	kombinasi 3 50%	-5,3000*	1,0085	,008	-9,292	-1,308
	kombinasi 3 25%	-1,6500	1,0085	,806	-5,642	2,342
kombinasi 2 25%	sirih merah 50%	3,3000	1,0085	,133	-,692	7,292
	sirih merah 25%	4,6500*	1,0085	,020	,658	8,642
	meniran merah 50%	-14,0500*	1,0085	,000	-18,042	-10,058
	meniran merah 25%	-10,5000*	1,0085	,000	-14,492	-6,508
	kombinasi 1 50%	-4,3500*	1,0085	,030	-8,342	-,358
	kombinasi 1 25%	-1,7000	1,0085	,782	-5,692	2,292
	kombinasi 2 50%	-3,7000	1,0085	,076	-7,692	,292
	kombinasi 3 50%	-9,0000*	1,0085	,000	-12,992	-5,008
	kombinasi 3 25%	-5,3500*	1,0085	,008	-9,342	-1,358
kombinasi 3 50%	sirih merah 50%	12,3000*	1,0085	,000	8,308	16,292
	sirih merah 25%	13,6500*	1,0085	,000	9,658	17,642
	meniran merah 50%	-5,0500*	1,0085	,011	-9,042	-1,058
	meniran merah 25%	-1,5000	1,0085	,870	-5,492	2,492
	kombinasi 1 50%	4,6500*	1,0085	,020	,658	8,642
	kombinasi 1 25%	7,3000*	1,0085	,001	3,308	11,292
	kombinasi 2 50%	5,3000*	1,0085	,008	1,308	9,292
	kombinasi 2 25%	9,0000*	1,0085	,000	5,008	12,992
	kombinasi 3 25%	3,6500	1,0085	,081	-,342	7,642
kombinasi 3 25%	sirih merah 50%	8,6500*	1,0085	,000	4,658	12,642
	sirih merah 25%	10,0000*	1,0085	,000	6,008	13,992
	meniran merah 50%	-8,7000*	1,0085	,000	-12,692	-4,708
	meniran merah 25%	-5,1500*	1,0085	,010	-9,142	-1,158
	kombinasi 1 50%	1,0000	1,0085	,986	-2,992	4,992
	kombinasi 1 25%	3,6500	1,0085	,081	-,342	7,642
	kombinasi 2 50%	1,6500	1,0085	,806	-2,342	5,642

kombinasi 2 25%	5,3500*	1,0085	,008	1,358	9,342
kombinasi 3 50%	-3,6500	1,0085	,081	-7,642	,342

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Hasil :

4. Homogeneous Subsets

Diameter zona hambat

Student-Newman-Keuls^a

Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
sirih merah 25%	2	8,000					
sirih merah 50%	2	9,350					
kombinasi 2 25%	2		12,650				
kombinasi 1 25%	2		14,350	14,350			
kombinasi 2 50%	2			16,350	16,350		
kombinasi 1 50%	2			17,000	17,000		
kombinasi 3 25%	2				18,000		
kombinasi 3 50%	2					21,650	
meniran merah 25%	2					23,150	
meniran merah 50%	2						26,700
Sig.		,210	,123	,060	,276	,168	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,000.

Kesimpulan : Subsets 1 sampai subsets 6 terdapat sediaan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Pada subsets 6 terdapat ekstrak meniran merah dengan konsentrasi 50%, sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak meniran merah 50% merupakan ekstrak yang paling aktif. Sediaan uji pada subsets 1 sampai 5 terdapat lebih dari satu sediaan uji dalam satu subset, sehingga tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dalam penghambatan aktivitas anibakteri.