

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI  
MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI**



Oleh :

**Beatriks Julita Dampak  
19133977A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI  
MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI**

**SKRIPSI**

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai Derajat Sarjana Farmasi  
(S. Farm) Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh :**

**Beatriks Julita Dampuk  
19133977A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI  
MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI**

Oleh

Beatriks Julita Dampuk

19133977A

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada tanggal : 14 Agustus 2017

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi

Dean,



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

Pembimbing

Pembimbing Pendamping

Vivin Nopiyanti, S. Farm., M.Sc., Apt

Dra. Kartinah W., SU.

Penguji:

1. Drs. Edy Prasetya, M.Si.
2. Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt.
3. Ganet Eko P., S.Farm., M.Si., Apt.
4. Vivin Nopiyanti, S. Farm., M.Sc., Apt

## HALAMAN PERSEMBAHAN

When you look closely to the path you have travel on,  
you will realise that God was always with you, directing  
every step you took.

(Beautiful quotes)

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

- ❖ Tuhan yang Maha Esa atas karunia dan penyelenggaraan-Nya
- ❖ Bapa, mama dan giritrijo yang telah memberikan dukungan dan doanya. I love you!
- ❖ Teman-teman yang sudah membantu dan memberikan semangat hingga skripsi ini selesai.
- ❖ Almameter, bangsa dan negaraku

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, Juli 2017



Beatriks Julita Dampuk

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI** ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU. selaku Pembimbing Pendamping yang telah dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen panitia penguji skripsi yang telah memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Terimakasih kepada segenap asisten Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah banyak membantu.
7. Bapak Nikodemus Dampuk dan mama Anastasia Tiut serta keluarga tercinta yang telah memberikan kasih sayang, motivasi, semangat, nasehat dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, Agustus 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Kegunaan Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
A. Tanaman Mahoni .....	6
1. Klasifikasi ilmiah .....	6
2. Nama tanaman .....	6
3. Morfologi tanaman .....	6
4. Tempat tumbuh dan penyebaran .....	7
5. Kandungan kimia .....	7
5.1. Saponin .....	7
5.2. Flavonoid .....	7
6. Kegunaan .....	8
B. Tanaman Sirih .....	8
1. Klasifikasi Ilmiah .....	8
2. Nama tanaman .....	8
3. Morfologi tanaman .....	8
4. Kandungan kimia .....	9
C. Simplisia .....	9
1. Pengertian simplisia .....	9

2.	Pengumpulan simplisia.....	9
3.	Cara pembuatan simplisia.....	10
D.	Ekstrak.....	10
1.	Definisi Ekstrak.....	10
2.	Metode Ekstraksi.....	10
3.	Pelarut ekstraksi .....	11
E.	Bakteri .....	12
1.	Sifat dan morfologi.....	12
2.	Patogenesis.....	13
F.	Antibakteri.....	14
1.	Kerusakan pada dinding sel .....	14
2.	Perubahan permeabilitas sel.....	14
3.	Perubahan molekul protein dan asam nukleat .....	14
4.	Penghambatan kerja enzim .....	14
5.	Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein .....	15
G.	Antiseptik.....	15
H.	Uji Aktivitas Antibakteri .....	15
1.	Metode.....	15
2.	Media Bakteri.....	16
2.1.	Media padat .....	16
2.2.	Media cair .....	17
2.3.	Media semi cair atau padat.....	17
3.	Sterilisasi.....	17
I.	Landasan Teori.....	17
J.	Hipotesis .....	20
 BAB III METODE PENELITIAN.....		21
A.	Populasi dan Sampel .....	21
B.	Variabel Penelitian.....	21
1.	Identifikasi variabel utama .....	21
2.	Klasifikasi variabel utama .....	21
3.	Definisi operasional variabel utama .....	22
C.	Alat dan Bahan.....	22
1.	Alat .....	22
2.	Bahan.....	23
D.	Jalannya Penelitian.....	23
1.	Determinasi tanaman .....	23
2.	Pengambilan bahan atau sampel .....	23
3.	Pembuatan serbuk .....	23
4.	Penetapan kadar air serbuk biji mahoni dan serbuk daun sirih.....	24
5.	Pembuatan ekstrak.....	24
6.	Tes bebas etanol ekstrak biji mahoni .....	24
7.	Pembuatan kombinasi ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih .....	24

7.1	Pembuatan kombinasi ekstrak etanol 70% biji mahoni dan daun sirih 1:1 .....	25
7.2	Pembuatan kombinasi ekstrak etanol 70% biji mahoni dan daun sirih 1:2 .....	25
8.	Identifikasi kandungan kimia biji Mahoni dan daun sirih .....	25
8.1.	Identifikasi flavonoid .....	25
8.2.	Identifikasi saponin .....	25
9.	Sterilisasi .....	26
10.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
10.1	Identifikasi berdasarkan koloni .....	26
10.2	Identifikasi mikroskopis secara morfologi .....	26
10.3	Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
11.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	27
12.	Pengujian aktivitas antibakteri .....	27
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	32
A.	Hasil Penelitian .....	32
1.	Determinasi tanaman .....	32
1.1.	Mahoni .....	32
1.2.	Sirih .....	33
2.	Hasil pembuatan serbuk biji mahoni dan daun sirih .....	33
3.	Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji mahoni dan daun sirih .....	33
4.	Hasil pembuatan ekstrak perkolasi .....	34
5.	Hasil tes bebas etanol ekstrak biji mahoni dan daun sirih .....	35
6.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak biji mahoni daun daun sirih .....	35
7.	Hasil identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	36
7.1.	Hasil identifikasi berdasarkan koloni .....	36
7.2.	Identifikasi mikroskopis secara morfologi .....	37
7.3	Tes katalase .....	37
7.4	Tes koagulase .....	38
8.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri metode difusi .....	38
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	42
A.	Kesimpulan .....	42
B.	Saran .....	42
DAFTAR PUSTAKA	.....	43
LAMPIRAN	.....	46

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol biji mahoni .....	29
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun sirih .....	30
Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi .....	31

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji mahoni dan daun sirih .....	33
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan .....	34
Tabel 3. Rendemen ekstrak perkolasi biji mahoni dan daun sirih .....	35
Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji mahoni dan daun sirih serta kombinasinya.....	36
Tabel 5. Hasil pengukuran daya hambat metode difusi .....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman mahoni dan tanaman sirih	47
Lampiran 2. Foto Biji Mahoni dan Daun Sirih dan serbuknya .....	49
Lampiran 3. Foto Alat Penyerbukan dan Perhitungan kadar Air .....	50
Lampiran 4. Foto Alat Perkolasi.....	51
Lampiran 5. Foto Alat Pembuatan Ekstrak Murni.....	52
Lampiran 6. Foto Inkubator dan Autoclave .....	53
Lampiran 7. Foto hasil identifikasi senyawa.....	54
Lampiran 8. Foto Hasil Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	56
Lampiran 9. Foto Hasil Penelitian .....	58
Lampiran 10. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji mahoni dan daun sirih .....	58
Lampiran 11. Hasil perhitungan Rendemen ekstrak perkolasi biji mahoni dan daun sirih .....	59
Lampiran 12. Uji Statistik .....	60
Lampiran 13. Formulasi dan pembuatan Media .....	63

## INTISARI

### **DAMPUK B. J. 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA**

Biji mahoni dan daun sirih merupakan tanaman yang secara empiris digunakan oleh masyarakat sebagai obat alternatif dan bermanfaat sebagai antibakteri. Biji mahoni dan daun sirih mengandung senyawa flavonoid dan saponin. Penelitian ini bertujuan mengetahui apakah kombinasi ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan mengetahui perbandingan kombinasi biji mahoni dan daun sirih yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pada penelitian ini masing-masing ekstrak diperoleh dengan proses perkolasi dengan pelarut etanol 70%. Uji antibakteri dari ekstrak etanol kombinasi kedua tanaman uji ditentukan dengan metode difusi untuk mengetahui daerah hambatan pertumbuhan dengan konsentrasi 50% dan dengan perbandingan biji mahoni berbanding daun sirih secara berturut-turut 1:1, 1:2, dan 2:1. Perbandingan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Betadine.

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kombinasi biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan kombinasi yang paling efektif digunakan kombinasi (2:1) ekstrak etanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

**Kata kunci :** antibakteri, biji mahoni, daun sirih, *Staphylococcus aureus*

## ABSTRACT

**DAMPUK B. J. 2017, ANTIBACTERIAL TEST OF A COMBINATION OF ETHANOL EXTRACT OF SEEDS MAHONI (*Swietenia mahagoni* Jacq.) AND BETEL LEAVES (*Piper betle* L.) AGAINST *Staphylococcus aureus* WITH DIFFUSION METHOD, THESIS, PHARMACEUTICAL FACULTY, UNIVERSITY SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Mahogany seeds and betel leaf is a plant that is empirically used by the public as an alternative medicine and useful as an antibacterial. Mahogany seeds and betel leaves contain flavonoid compounds and saponins. This study aims to determine whether the combination of ethanol extract mahogany seeds and betel leaf has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and compare the combination of betel leaf mahogany seeds and the most effective in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

In this study each extract was obtained by percolation process with 70% ethanol solvent. Antibacterial test of ethanol extract a combination of both the test plants is determined by the diffusion method to determine the growth inhibition area with a concentration of 50% and a ratio of betel leaf mahogany seeds directly consecutive 1: 1, 1: 2 and 2: 1. The comparison used in this study is Betadine.

Based on the research of antibacterial activity test of ethanol extract combination of mahogany seeds (*Swietenia mahagoni* Jacq.) And betel leaf (*Piper betle* L.) can be concluded that the combination of the ethanol extract of betel leaf (*Piper betle* L.) and seeds mahogany (*Swietenia mahagoni* Jacq.) Have activity antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and the most effective combination is used in combination (2: 1) seed ethanol extract mahogany (*Swietenia mahagoni* Jacq.) and betel leaf (*Piper betle* L.) in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

---

Keywords : antibacterial, mahogany seeds, betel leave, *Staphylococcus aureus*

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Indonesia sebagai negara yang berada di daerah tropis mempunyai keanekaragaman hayati yang sangat besar sehingga kaya akan bahan baku obat. Obat tradisional yang berisi ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia secara turun temurun (Depkes, 2000). Tanaman berkhasiat obat mudah didapatkan dan lebih ekonomis. Kuntorini (2005) menyatakan bahwa melonjaknya harga obat sintetis dan efek sampingnya bagi kesehatan meningkatkan kembali penggunaan obat tradisional oleh masyarakat dalam memanfaatkan sumber daya alam yang ada di sekitar.

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh, bagiannya lebih dari 10% massa tubuh dan memungkinkan sering berinteraksi dengan lingkungan (Gibson 2008). Jika kulit terluka dan terdapat bakteri seperti *Staphylococcus aureus* maka dapat menyebabkan infeksi. Penyakit infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* akan timbul tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al* 2001). Infeksi pada kulit umumnya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (Schelegel, 1994). Bakteri ini dapat masuk ke dalam kulit melalui folikel rambut, kelenjar sebacea, luka, atau lecet pada kulit. *Staphylococcus aureus* adalah penyebab terjadinya berbagai infeksi epidermal dan subkutan seperti piogenik, lesi supuratif, bisul, infeksi pneumonia dan luka.

*Staphylococcus aureus* merupakan penyebab penyakit infeksi. Keadaan normal *Staphylococcus aureus* terdapat di saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna, dan vagina. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit pada hampir semua organ dan jaringan, yang paling rentan terhadap infeksi adalah kulit. Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang mengalami luka mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya. Hal ini karena kulit terus-menerus berhubungan dan kontak dengan lingkungan sekitarnya, maka kulit akan mengandung mikroorganisme. *Staphylococcus aureus*

merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia (Jawetz *et al* 2005).

Antiseptik adalah agen kimia yang mencegah, memperlambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (kuman) pada permukaan luar tubuh dan membantu mencegah infeksi. Antiseptik terutama digunakan untuk mencegah dan mengobati infeksi pada luka. Sediaan antiseptik dapat digunakan untuk mengobati luka memar, luka lecet dan luka bakar ringan. Salah satu pertimbangan utama dalam pemilihan antiseptik ialah indeks terapi, yaitu hubungan antara konsentrasi efektif bahan antiseptik terhadap mikroorganisme dibandingkan dengan satu produk yang mempunyai efek samping berbahaya seperti iritasi jaringan lokal. Indeks terapeutik juga dapat digunakan sebagai pertimbangan akan timbulnya reaksi hipersensitif dan derajat absorpsi obat untuk menunjukkan toksisitas sistemik (Entjang 2003). Antiseptik juga mempunyai efek kerja cepat pada bahan organik, seperti cairan tubuh dan efektif pada semua macam mikroorganisme tanpa menghancurkan ataupun merusak jaringan. Beberapa contoh penyebab infeksi yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit (Wahyu 2006).

Salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai obat yang digunakan secara turun-menurun untuk menyembuhkan luka yaitu sirih (*Piper betle* L.). Daun sirih digunakan sebagai obat batuk, obat cacing, dan antiseptik pada luka. Sirih dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena adanya sejumlah zat kimia atau alami yang mempunyai aktivitas antimikroba. Ekstrak daun sirih hijau mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karena di dalamnya terkandung bahan kimia yang mempunyai aktivitas antibakteri yaitu: minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin (Depkes, 2000).

Biji mahoni (*Swietenia Mahagoni* Jacq.) digunakan untuk pengobatan tradisional penyakit darah tinggi, diabetes dan malaria. Falah *et al.* (2007) melaporkan bahwa biji mahoni terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, antimalaria, antidiare, dan antimikroba. Kader *et al.* (2009) membuktikan bahwa ekstrak biji mahoni (*S. mahagoni* Jacq.) sebagai antimikroba. Tanaman mahoni dalam kearifan lokal digunakan sebagai obat tekanan darah tinggi, kencing manis,

tidak nafsu makan, rematik, demam, masuk angin, dan eksim. Biji mahoni mengandung flavonoid dan saponin (Dalimartha, 2000).

Menurut Jawezt *et al.* (2002) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar daripada jumlah kedua efek. Ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba diuji pada media pembedahan lalu diamati dan diukur daya hambat yang terbentuk. Daya hambat yang terbentuk dari ekstrak yang berasal dari bahan alam biasanya berwarna, tidak sejernih zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik. Hal ini disebabkan oleh komponen aktif yang terdapat di dalam ekstrak. Sehingga, antimikroba perlu dikombinasi untuk penyembuhan infeksi yang disebabkan lebih dari satu jenis mikroorganisme.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode perkolasi. Metode perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Depkes, 1986).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang.

Hasil penelitian sebelumnya (Ria, 2010) menunjukkan bahwa biji mahoni memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan pelarut ekstrak etanol 70% dan menurut Suliantari *et al.* (2008)

ekstrak sirih hijau mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Pemilihan tanaman biji mahoni dan daun sirih untuk dilakukan kombinasi karena di dalamnya terkandung bahan kimia yang mempunyai aktivitas antibakteri yaitu: minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin.

Berdasarkan penelitian tersebut, penulis tertarik melanjutkan penelitian dengan melakukan kombinasi ekstrak biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode difusi.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan permasalahannya yaitu :

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Kedua, kombinasi (1:1) ; (1:2) ; (2:1) mana yang paling efektif digunakan kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui apakah kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Mengetahui kombinasi yang paling efektif digunakan kombinasi (1:1) ; (1:2) ; (2:1) ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang efek kombinasi dari tanaman daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penelitian ini dapat pula memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang tanaman obat tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, serta kepada masyarakat tentang kombinasi penggunaan daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antibakteri *Staphylococcus aureus*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Mahoni**

##### **1. Klasifikasi ilmiah**

Klasifikasi mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dalam sistematika tumbuhan sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Rutales
Suku	: Meliaceae
Marga	: Swietenia
Jenis	: <i>Swietenia mahagoni</i> Jacq. (Depkes 2000)

##### **2. Nama tanaman**

Nama lain	: <i>S. macrophylla</i> King., <i>S. mahagoni</i> Jacq.
Nama daerah	: mahagoni, maoni, moni.
Nama asing	: mahagoni.
Nama simplisia	: Swietenia Semen (biji mahoni) (Dalimartha 2000).

##### **3. Morfologi tanaman**

Pohon tinggi 5-25 m, batangnya bulat, banyak percabangan, kayunya bergetah, dan berakar tunggang. Daun majemuk menyirip genap. Helaian anak daun berbentuk bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 3-15 cm, daun muda berwarna merah, setelah tua menjadi hijau. Bunga majemuk tersusun dalam karangan yang keluar dari ketiak daun. Ibu tangkai bunga berbentuk silindris, berwarna cokelat muda. Kelopak bunga lepas satu sama lain, berbentuk seperti sendok, berwarna hijau, mahkota silindris, berwarna kuning kecokelatan, benang sari melekat pada mahkota, kepala sari berwarna putih dan kuning kecokelatan. Mahoni berbunga setelah umur 7 tahun. Buahnya buah kotak, berbentuk bulat telur, berlekuk lima, berwarna cokelat. Biji pipih, berwarna hitam atau cokelat (Dalimartha 2000).

#### 4. Tempat tumbuh dan penyebaran

Mahoni ditemukan tumbuh liar di hutan jati, di tempat-tempat yang dekat dengan pantai, atau ditanam di tepi jalan sebagai pohon pelindung. Tanaman ini berasal dari Hindia Barat dan dapat tumbuh subur di pasir dekat pantai (Dalimartha 2000).

#### 5. Kandungan kimia

Biji mahoni mengandung saponin dan flavonoid (Dalimartha 2000).

**5.1. Saponin.** Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menghemolisis sel darah merah. Tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun, di samping itu beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Kelarutan saponin adalah dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995).

**5.2. Flavonoid.** Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzene tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Flavonoid di alam sering terdapat sebagai glikosida. Fungsi flavonoid untuk tumbuhan yang mengandungnya adalah pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba, antivirus, dan kerja terhadap serangga (Robinson 1995). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air, senyawa tersebut dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid merupakan senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi senyawa ini mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid yang terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang manapun mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1987).

## 6. Kegunaan

Biji mahoni berkhasiat sebagai obat tekanan darah tinggi (hipertensi), kencing manis (diabetes mellitus), tidak nafsu makan, rematik, demam, masuk angin dan eksim (Dalimartha, 2000).

## B. Tanaman Sirih

### 1. Klasifikasi Ilmiah

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari daun sirih adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper betle</i> L. (Depkes, 2000)

### 2. Nama tanaman

Tanaman sirih mempunyai nama daerah, yaitu Sumatera : ranub (Aceh), sereh (Gayo), belo (Batak), burangir (Mandailing), afo (Nias), cabai (Mentawai), siho (Kerinci), sirih (Palembang), sirieh (Minangkabau), cambia (Lampung), furukuwe (Enggano); Jawa: seureuh (Sunda), suruh (Jawa Tengah); Bali: base; Nusa Tenggara: leko (Sasak), nahi (Bima), kowak (Sumba), kala (Manggarai), mengi (Ende), malu (Solor), malo (Alor); Sulawesi: dontile (Gorontalo), parigi (Toli-toli), gamnjeng (Makasar); Maluku: gies (Halmahera), bido (Ternate). (Depkes, 2000)

### 3. Morfologi tanaman

Sirih merupakan tanaman menjalar dan merambat pada batang pokok di sekelilingnya dengan daunnya yang memiliki bentuk seperti gambar hati, tangkainya agak panjang, tepi daun rata, ujung daun meruncing, pangkal daun berlekuk, tulang daun menyirip, dan daging daun yang tipis. Permukaan daunnya berwarna hijau dan licin sedangkan batang pohonnya berwarna hijau tembelek atau hijau agak kecoklatan dan permukaan kulitnya kasar serta berkerut-kerut.

Sirih hidup subur dengan ditanam di atas tanah gembur yang tidak terlalu lembab dan memerlukan cuaca tropika dengan air yang mencukupi.

#### **4. Kandungan kimia**

Daun sirih hijau mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri (Departemen Kesehatan RI, 2000). Daun sirih hijau juga mengandung senyawa *Piperol-A*, *Piperol-B*, *metil piper betol*, *terpinen-4-ol*, *safrole*, *allyl pyrocatechol monoacetate*, *eugenol*, *eugenyl acetate*, *hydroxyl chavicol*, *piper betol*, *carvacol*, *allyl cathecol*, *chavicol*, *p-cymene*, *caryophyllene*, *chavibetol*, *cineole*, *estragol*. Analisis fitokimia daun sirih hijau menunjukkan adanya senyawa alkaloid, tanin, karbohidrat, asam amino dan steroid. Komponen utama pada daun sirih hijau yaitu minyak atsiri yang mengandung 2 senyawa fenol yaitu *chavibetol* dan *chavicol*.

### **C. Simplisia**

#### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani, 2004)

#### **2. Pengumpulan simplisia**

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budi daya

maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Pengambilan simplisia dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur dan tempat tumbuh (Depkes RI, 2007).

### **3. Cara pembuatan simplisia**

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan pertama adalah mengumpulkan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar lalu dilakukan pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Pengubahan bentuk dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (Depkes RI, 2007).

## **D. Ekstrak**

### **1. Definisi Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2014).

### **2. Metode Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu cara penarikan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu simplisia yang dapat larut pada pelarut tertentu, sehingga dapat dipisahkan dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Proses ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu maserasi, perkolasi, refluks, sokletasi dan digesti (Depkes RI, 2000).

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh.

Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Ruang antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Saluran kapiler terbentuk kecil maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Alat yang digunakan untuk perkolasi disebut perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat, sedangkan sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Depkes, 1986).

### **3. Pelarut ekstraksi**

Penggunaan bahan pelarut untuk ekstraksi harus disesuaikan dengan kelarutan dari kandungan bahan simplisia. Pelarut tersebut harus mampu mendesak masuk ke dalam simplisia, membran sel simplisia yang mengering dan mengkerut harus diubah kondisinya sehingga memungkinkan bahan pelarut masuk ke bahan simplisia. Stabilitas zat aktif tumbuhan adalah sifat yang penting untuk memperoleh sediaan obat yang tepat, oleh karenanya banyak zat aktif tumbuhan yang larut dalam air atau alkohol karena kepolarannya. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel, namun dapat memperbaiki stabilitas bahan obat

yang terlarut. Sifat etanol juga mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Voigt 1994).

Farmakope Indonesia menetapkan cairan penyari terdiri dari air, etanol, etanol-air dan eter. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari pada penelitian ini karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut (Depkes 1986).

### **E. Bakteri**

Kingdom : Bacteria  
 Filum : Firmicetes  
 Class : Bacili  
 Ordo : Bacillales  
 Famili : Staphylococcaceae  
 Genus : Staphylococcus  
 Species : *Staphylococcus aureus* (G.M. Garrity et al., 2007)

#### **1. Sifat dan morfologi**

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki bentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$  yang tersusun secara tidak teratur seperti buah anggur. Bakteri *Staphylococcus aureus* tidak memiliki alat gerak seperti flagel atau spora sehingga bakteri ini tidak bergerak. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi dapat membentuk pigmen paling baik pada suhu 20-25°C. Bakteri *Staphylococcus aureus* bila ditanam pada medium padat akan berbentuk bulat, halus, menonjol, berkilauan dan membentuk pigmen berwarna kuning. Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit atau selaput mukosa pada manusia atau hewan namun bakteri ini dapat menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan septikimia yang fatal. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mengandung polisakarida dan protein yang

berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 bersifat koagulasi positif, yang membedakannya dari spesies yang lain. Protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. (Jawetz *et al*, 2012)

*Staphylococcus aureus* termasuk jenis bakteri yang memiliki daya tahan yang paling kuat, bakteri ini dapat hidup sampai berbulan-bulan pada agar miring, temperature kamar dan dalam lemari es. *Staphylococcus aureus* sering ditemukan pada kulit dan selaput lendir manusia sebagai flora normal. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada manusia dan hewan. Sifat khas dari infeksi bakteri ini adalah peradangan setempat yang sembuh setelah penularan dari infeksi yang disebabkan bakteri ini dapat dicegah dengan menjaga kebersihan kulit.

## **2. Patogenesis**

*Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfa. Perananan yang bersifat manahun atau timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono, 2009).

Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstra seluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus aureus* yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulasi dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Jawetz *et al* 2012).

## **F. Antibakteri**

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al* 2001).

Secara umum kemungkinan situs suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menunjukkan kepada matinya sel tersebut. Perubahan-perubahan yang terjadi yaitu:

### **1. Kerusakan pada dinding sel**

Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al* 2001).

### **2. Perubahan permeabilitas sel**

Membran sitoplasma mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain, kemudian memelihara integrasi komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel (Jawetz *et al* 2001).

### **3. Perubahan molekul protein dan asam nukleat**

Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Jawetz *et al* 2001).

### **4. Penghambatan kerja enzim**

Sulfonamid merupakan zat kemoterapi sintesis yang bekerja dengan cara bersain dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin. Aktivitas seluler yang normal akan terganggu karena tidak adanya enzim (Jawetz *et al* 2001).

## **5. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein**

DNA, RNA, dan protein memegang perubahan amat penting didalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan sel atau pada fungsi sel zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan total pada sel (Jawetz *et al* 2001).

### **G. Antiseptik**

Antiseptik adalah bahan kimia yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroorganisme berbahaya (patogenik) yang terdapat pada permukaan tubuh luar makhluk hidup seperti pada permukaan kulit dan membran mukosa. Secara umum, antiseptik berbeda dengan obat-obatan maupun disinfektan. Disinfektan berfungsi sebagai zat untuk membunuh mikroorganisme yang terdapat pada benda yang tidak bernyawa seperti meja, lantai dan pisau bedah sedangkan antiseptik digunakan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan tubuh, misalnya kulit. Mekanisme kerja antiseptik terhadap mikroorganisme berbeda-beda, seperti dengan mendehidrasi (mengeringkan) bakteri, mengoksidasi sel bakteri, mengkoagulasi (menggumpalkan) cairan di sekitar bakteri, atau meracuni sel bakteri. Contoh antiseptik yang akan digunakan ialah Betadine, antiseptik cair yang mengandung zat aktif povidon iodine 10%. Dalam 10% povidon iodine mengandung 1% iodium yang mampu membunuh bakteri dalam 1 menit dan membunuh spora spora dalam waktu 15 menit.

### **H. Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **1. Metode**

Pengukuran aktivitas antibakteri bertujuan untuk menentukan potensi zat antimikroba dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan badan dan jaringan serta kepekaan suatu kuman terhadap konsentrasi obat yang dipakai. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri

yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas anti mikroba yang berdifusi pada lempeng agar *Mueller Hinton* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat anti mikroba.

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar/cakram/sumuran. Cawan petri diisi dengan media MHA (*Mueller Hinton Agar*), menginokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media tersebut, menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Membuat sumuran dengan menggunakan boorprop, memasukkan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda ke dalam sumuran yang telah dibuat tadi, menginkubasi selama 24 jam, dan mengamati diameter hambatan. Diameter daerah hambatan ini tergantung pada daya resap larutan uji yang digunakan ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang dan Koeswardono 2004).

## **2. Media Bakteri**

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik di dalam media maka diperlukan untuk persyaratan, antara lain dalam media harus terkandung unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri, harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH sesuai dengan kebutuhan mikroba, dan harus steril (Suriawiria, 1986).

Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematik, maka bentuk media dikenal ada tiga jenis.

**2.1. Media padat.** Media ditambah 12-15 gram tepung agar-agar per 1.000 ml media. Media yang memerlukan kadar air tinggi, maka jumlah tepung agar-agar harus rendah, tetapi untuk jenis media yang memerlukan kandungan air

rendah penambahan tepung agar harus sedikit. Media padat umumnya diperlukan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang juga mikro alga.

**2.2. Media cair.** Media tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk perbaikan mikro alga tetapi juga mikro lain, terutama bakteri dan ragi.

**2.3. Media semi cair atau padat.** Penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang dari yang seharusnya. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Suriawiria 1986 ).

### **3. Sterilisasi**

Sterilisasi adalah suatu keadaan dimana bahan atau peralatan yang dipergunakan di dalam bidang mikrobiologi, harus dalam keadaan steril. Artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan. Sterilisasi keadaan bebas dari mikroorganisme termasuk bentuk sporanya (Suriawiria 1986).

#### **I. Landasan Teori**

Sebagian besar masyarakat Indonesia masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari maupun dalam bidang kesehatan. Obat-obat tradisional itu dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai obat yang digunakan secara turun-menurun untuk menyembuhkan luka yaitu sirih (*Piper betle* L.). Pemanfaatan sirih dalam pengobatan tradisional disebabkan adanya sejumlah zat kimia atau alami yang mempunyai aktivitas antimikroba. Menurut Suliantari *et al.* (2008) ekstrak sirih hijau mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* karena di dalamnya terkandung bahan kimia yang mempunyai aktivitas anti bakteri yaitu: minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin.

Biji mahoni (*Swietenia Mahagoni* Jacq.) digunakan untuk pengobatan tradisional penyakit darah tinggi, diabetes, dan malaria. Falah *et al.* (2007) melaporkan bahwa biji mahoni terbukti mempunyai aktivitas antioksidan,

antimalaria, antidiare, dan antimikroba. Tanaman mahoni dalam kearifan lokal digunakan sebagai obat tekanan darah tinggi, kencing manis, tidak nafsu makan, rematik, demam, masuk angin, dan eksim. Biji mahoni mengandung flavonoid dan saponin. (Dalimartha, 2000). Ria (2012) menunjukkan bahwa biji mahoni memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba diuji pada media pembenihan lalu diamati dan diukur daya hambat yang terbentuk. Daya hambat yang terbentuk dari ekstrak yang berasal dari bahan alam biasanya berwarna, tidak sejernih zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik. Hal ini disebabkan oleh komponen aktif yang terdapat di dalam ekstrak. Sehingga antimikroba perlu dikombinasi untuk penyembuhan infeksi yang disebabkan lebih dari satu jenis mikroorganisme.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode perkolasi. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Depkes, 1986).

Penelitian ini menggunakan penyari etanol 70% karena etanol tidak menyebabkan pembengkakan sel, namun dapat memperbaiki stabilitas bahan obat yang terlarut. Sifat etanol juga mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Voight, 1994).

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi, metode difusi agar atau sumuran. Cawan petri diisi dengan media MHA (*Mueller Hinton Agar*), menginokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media tersebut, menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Membuat sumuran dengan boorprop, memasukan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda ke dalam sumuran yang telah dibuat tadi, lalu menginokulasi selama 24 jam, dan mengamati diameter hambatan. Hasil penelitian pada metode difusi akan

didapatkan secara spesifiknya berdasarkan pada konsentrasi larutan uji yang dibuat. Diameter daerah hambat ini tergantung pada daya serap larutan uji kedalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang dan Koeswardono 2004).

## **J. Hipotesis**

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu :

1. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dengan perbandingan 2:1 (biji mahoni : daun sirih) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji dari tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun Sirih (*Piper betle* L.) yang di dapat dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Propinsi Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji dari tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) yang berbentuk pipih, berwarna hitam atau coklat dan daun sirih (*Piper betle* L.) berbentuk seperti gambar hati, berwarna hijau dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak etanol biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.). Variabel utama kedua penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.)1:1; 1:2; 2:1 terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi terdahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali, dan variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini.

Variabel bebas dalam penelitian adalah kombinasi dari ekstrak etanol sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak etanol biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.), ekstrak diperoleh dengan perkolasi pelarut etanol 70%. Variabel tergantung dalam

penelitian ini adalah aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dapat dilihat dari hasil uji difusi biji mahoni dan daun sirih yang dilihat dari diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji dengan konsentrasi 50%. Variabel kendali dari penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, kondisi laboratorium, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, media dan metode ekstraksi.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, biji mahoni yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah,

Kedua, daun sirih yang diambil dari Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Propinsi Jawa Tengah.

Ketiga, ekstrak etanol biji Mahoni adalah hasil ekstrak yang diperoleh dari perkolasi dengan pelarut etanol 70%

Keempat, ekstrak daun sirih adalah hasil ekstrak yang diperoleh dari proses perkolasi dengan pelarut etanol 70%

Kelima, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Keenam, kombinasi dari ekstrak etanol sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak etanol biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.), 1:1; 1:2; 2:1

Ketujuh, kombinasi dari ekstrak etanol sirih (*Piper betle* L.) dan ekstrak etanol biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dengan menggunakan metode difusi adalah uji aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

## **C. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kondensor, lampu spritus, ose tangkai panjang, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri steril, inkubator, boorprop, mikropipet, penggaris, dandang besar, dan gelas ukur.

Alat perkolasi meliputi corong, Erlenmeyer, botol cairan penyari, keran, gabus bertoreh, kertas saring, dan aluminium foil.

## **2. Bahan**

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) yang didapat dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan antara lain Na sulfat eksikatus dan antiseptik (Betadine). Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), plasma sitrat.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada biji mahoni dan daun sirih yang dibuktikan di Laboratorium Program Studi Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### **2. Pengambilan bahan atau sampel**

Biji dari tanaman mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun Sirih (*Piper betle* L.) yang didapat dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Propinsi Jawa Tengah.

### **3. Pembuatan serbuk**

Pembuatan serbuk biji mahoni dan daun sirih dilakukan terpisah dengan cara biji mahoni atau daun sirih dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, setelah kering segera diserbuk dengan mesin penyerbuk atau blender kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga didapatkan serbuk biji mahoni dan daun sirih yang mempunyai derajat kehalusan yang relatif homogen. Penyerbukan ini

bertujuan agar luas permukaan partikel bahan yang kontak dengan larutan penyaring dapat diperluas sehingga penyaringan dapat langsung secara efektif.

#### **4. Penetapan kadar air serbuk biji mahoni dan serbuk daun sirih**

Penetapan kadar air biji mahoni dan daun sirih dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Sampel serbuk biji mahoni dan serbuk daun sirih 2 g dimasukkan. Temperatur diatur yaitu pada suhu 105°C serta waktu pengeringan secara auto. Kemudian ditunggu sampai alat *moisture balance* berbunyi yang dimana menandakan hasil analisis telah selesai. Susut pengeringan akan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%.

#### **5. Pembuatan ekstrak**

Serbuk biji mahoni dan serbuk daun sirih dibasahi dengan etanol 70% dengan perbandingan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dengan 2,5 bagian cairan penyari sampai terbasahi semua. Kemudian dimasukan kedalam bejana tertutup selama satu jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit kedalam perkolator sambil sekali ditekan hati-hati, dituangi dengan pelarut secukupnya sampai cairan mulai menetes dan diatas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari. Perkolator ditutup dan dibiarkan menetes dengan kecepatan 1 tetes per 3 detik selama 24 jam. Kran dibuka dan dibiarkan cairan penyari menetes berulang-ulang sehingga selalu terdapat lapisan cairan penyari diatas simplisia. Perkolasi dihentikan setelah cairan tidak berwarna mulai menetes. Hasil perkolasi ditampung dan diuapkan di evaporator pada suhu 40-50 °C.

#### **6. Tes bebas etanol ekstrak biji mahoni**

Ekstrak masing-masing sampel ditambah asam setat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, ekstrak yang dinyatakan positif bebas etanol apabila tidak terbentuk bau eter yang khas dari etanol. Tujuan dilakukannya tes bebas etanol ini agar pada ekstrak tidak terdapat etanol yang memiliki aktivitas antibakteri.

#### **7. Pembuatan kombinasi ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih**

Sebelum dibuat kombinasi kedua ekstrak diencerkan dengan konsentrasi 50% sebanyak 10 g dalam 20 ml DMSO 1%.

**7.1 Pembuatan kombinasi ekstrak etanol 70% biji mahoni dan daun sirih 1:1** untuk tiga kali replikasi dilakukan dengan cara mengambil 1 ml ekstrak biji mahoni dan 1 ml ekstrak daun sirih kemudian dihomogenkan. Campuran kedua ekstrak tersebut diambil sebanyak 50  $\mu$ l untuk dimasukkan ke dalam sumuran yang akan dibuat.

**7.2 Pembuatan kombinasi ekstrak etanol 70% biji mahoni dan daun sirih 1:2** untuk tiga kali replikasi dilakukan dengan cara mengambil 1 ml ekstrak biji mahoni dan 2 ml ekstrak daun sirih kemudian dihomogenkan. Campuran kedua ekstrak tersebut diambil sebanyak 50  $\mu$ l untuk dimasukkan ke dalam sumuran yang akan dibuat.

**7.3 Pembuatan kombinasi ekstrak etanol 70% biji mahoni dan daun sirih 2:1** untuk tiga kali replikasi dilakukan dengan cara mengambil 2 ml ekstrak biji mahoni dan 1 ml ekstrak daun sirih kemudian dihomogenkan. Campuran kedua ekstrak tersebut diambil sebanyak 50  $\mu$ l untuk dimasukkan ke dalam sumuran yang akan dibuat.

## **8. Identifikasi kandungan kimia biji Mahoni dan daun sirih**

Identifikasi kimia dilakukan dengan maksud untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung di dalam biji mahoni dan daun sirih.

**8.1. Identifikasi flavonoid.** Menimbang 0,5 g ekstrak ditambah 100 ml air panas, lalu dimasukan 5 ml larutan tersebut ke dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk Mg, larutan alkohol 2 ml dan HCl 2 ml (1:1), dan pelarut amil alkohol, lalu dikocok kuat-kuat dan dibiarkan memisah. Jika timbul warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol maka menunjukkan adanya flavonoid (Depkes 1995)

**8.2. Identifikasi saponin.** Menimbang 0,5 g ekstrak dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan lalu dikocok selama 10 menit. Apabila terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buihnya tidak hilang, maka menunjukkan adanya saponin (Depkes 1995).

## 9. Sterilisasi

Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (1,02 atm) selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan menggunakan autoklaf dan yang tidak ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu 170°-180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung. Sterilisasi inkas menggunakan formalin (Jawetz *et al.* 2012).

## 10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

**10.1 Identifikasi berdasarkan koloni.** Suspensi bakteri diinokulasi pada media differensial *Vogel Jhonson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi telurit menjadi metalik warna medium disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol.

**10.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi.** Persamaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selam kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamakan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir kemudian keringkan preparat. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop.

**10.3 Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus*.** Identifikasi secara fisiologi ada dua yaitu uji katalase dan koagulase, uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan Hidrogen peroksida H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab

*Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan terurai menjadi H<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub>, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawets *et al* 2007).

### **11. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah 10<sup>8</sup> cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

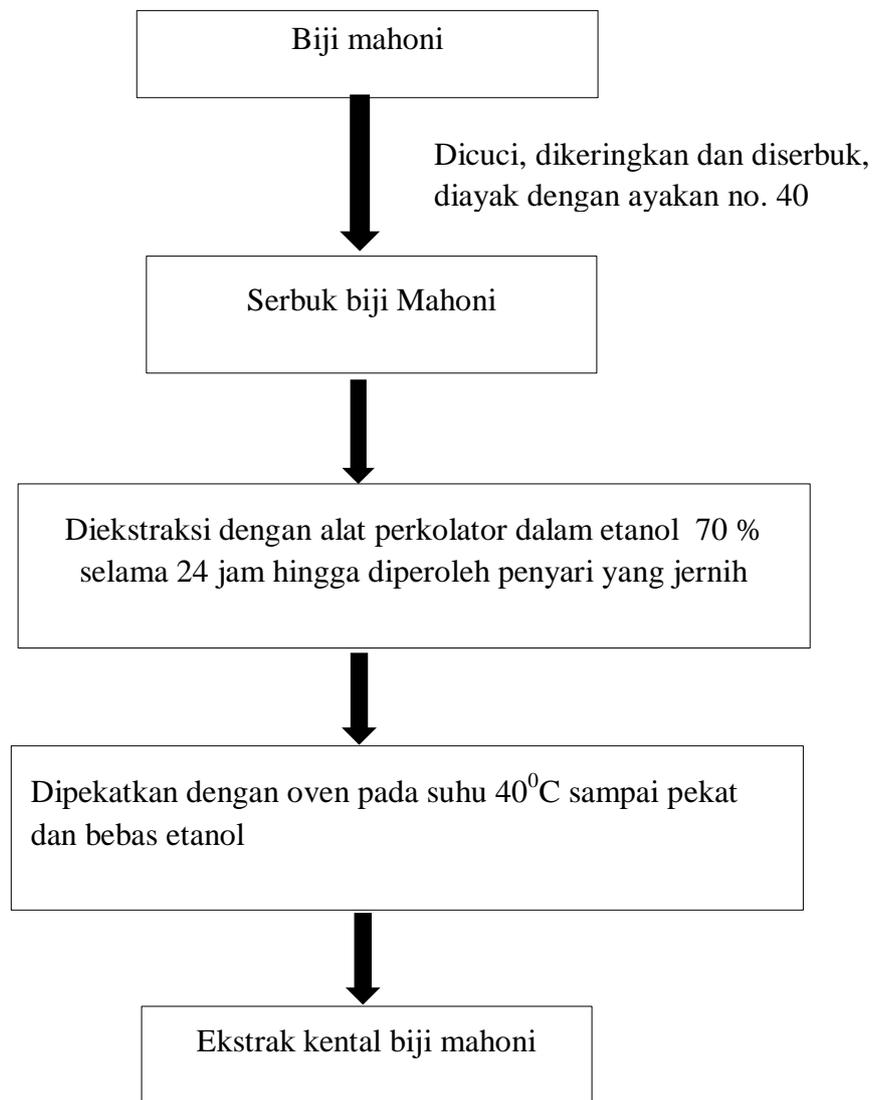
### **12. Pengujian aktivitas antibakteri**

Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri adalah metode difusi. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan mikropipet steril sebanyak 10 µl kemudian dituangkan pada cawan petri yang berisi MHA tersebut dan diratakan dengan menggunakan spreader.

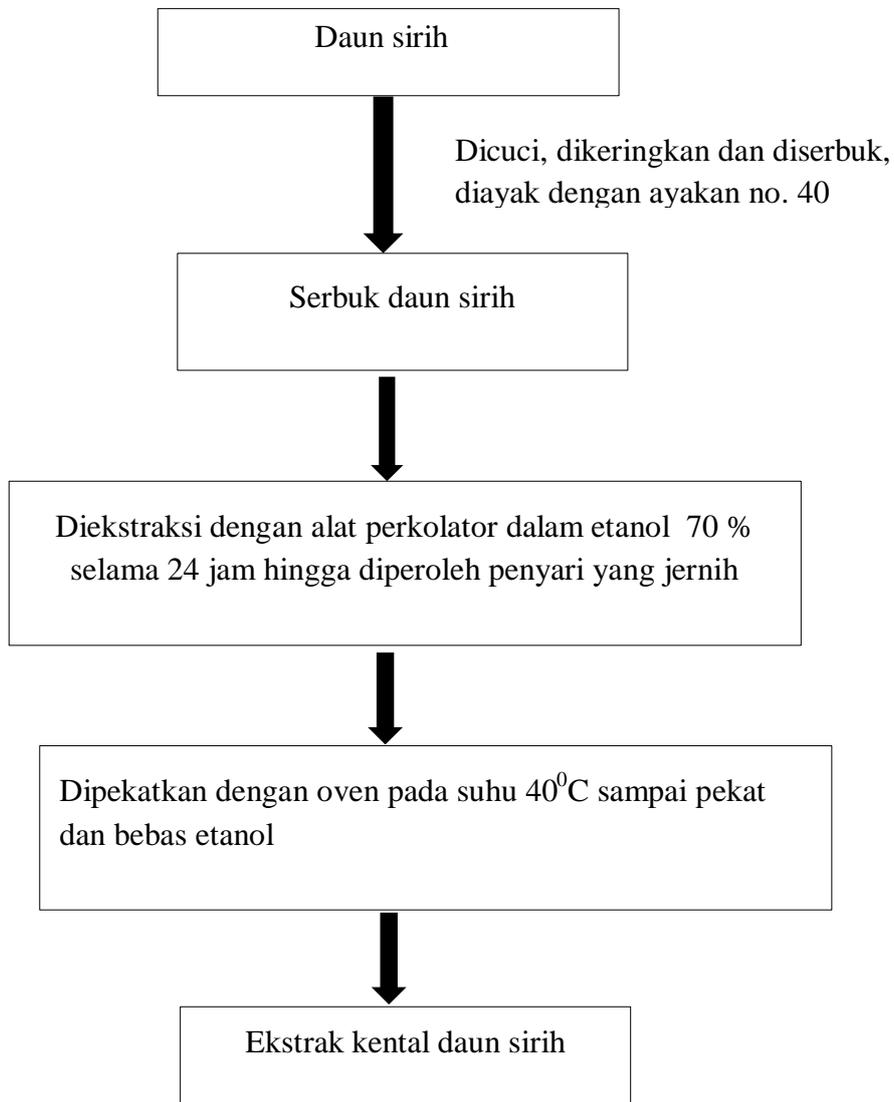
Setelah suspensi bakteri diratakan pada MHA, pada setiap cawan petri dibuat 7 lubang sumuran dengan diameter 5 mm perforator atau boorprop. Masing-masing lubang sumuran diisi dengan larutan kombinasi ekstrak biji mahoni tunggal pada lubang pertama, ekstrak daun sirih pada lubang kedua, kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih 1:1 pada lubang ketiga, kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih 1:2 pada lubang keempat, kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih 2:1 pada lubang kelima, kontrol positif betadine pada lubang keenam, dan kontrol negatif DMSO 1% pada lubang ketujuh. Masing-masing ekstrak dibuat konsentrasi 50%. Setelah semua lubang terisi larutan,

cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur.

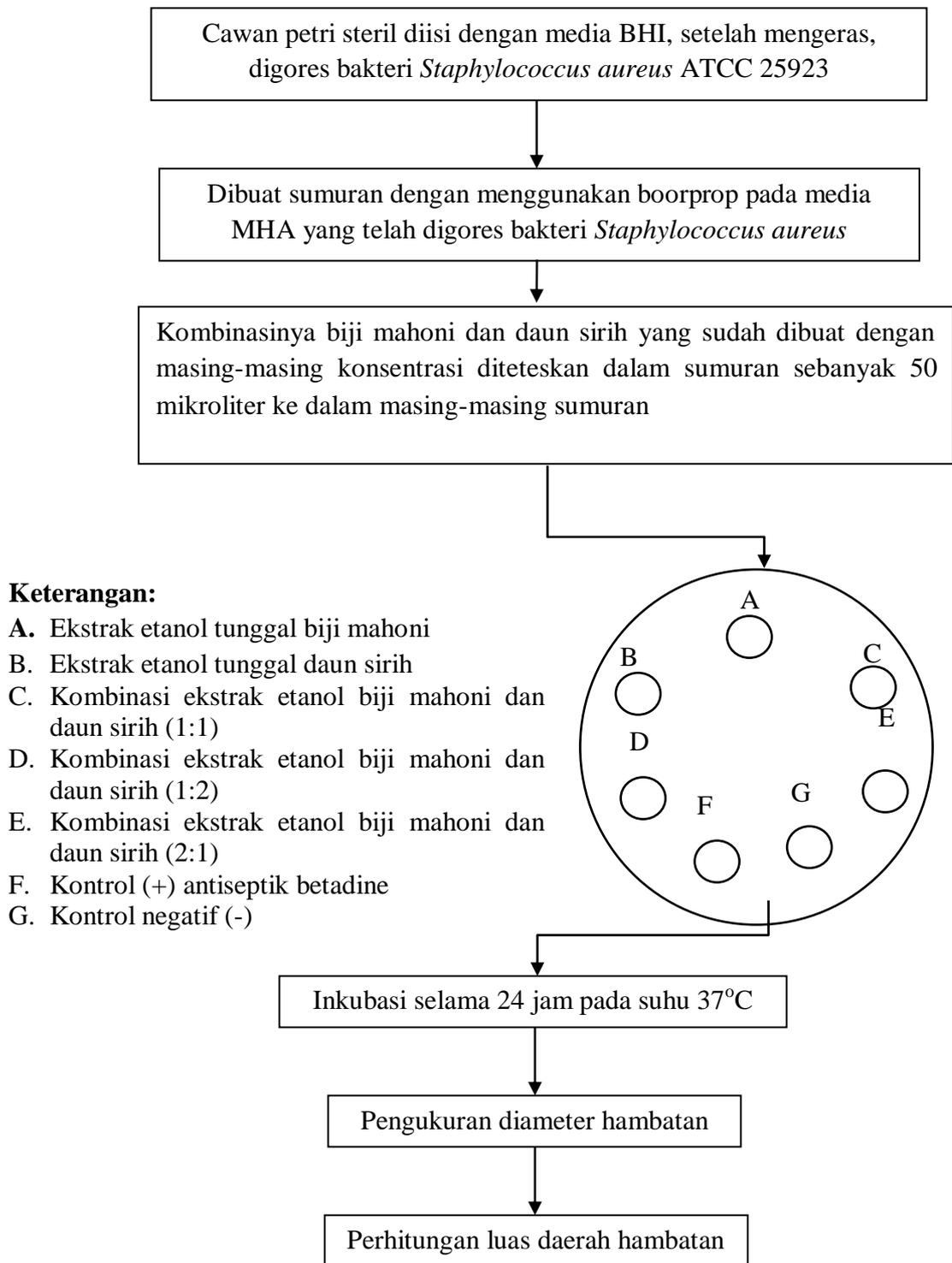
Pengukuran zona hambat disekitar sumuran dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.



**Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanol biji mahoni**



**Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol daun sirih**



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

#### 1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman pada penelitian ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

**1.1. Mahoni.** Hasil determinasi tanaman mahoni adalah sebagai berikut :  
1b – 2b – 3b – 4a – 5b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b –  
23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29a → Fam. *Meliaceae* → 2b – 3b – 4b – 7b  
– 10b – 13b – 15b → *Swietenia* 1a → *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.

Habitus : pohon, tumbuh tegak, menahun, tinggi 5-30 m. Akar : tunggang, besar, bercabang, coklat keputihan hingga coklat kekuningan. Batang : bulat, berkayu, keras, bercabang-cabang simpodial, arah percabangan serong, cabang dengan banyak lentisel, permukaan batang gundul, putih kotor hingga abu-abu. Daun : majemuk menyirip genap yang tersusun spiral, terdiri atas 8-14 anak daun, berhadapan, helaian anak daun bulat telur, panjang 3-15 cm, lebar 1,5-5 cm, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan daun menyirip, daging daun kaku, permukaan gundul, masih muda merah, setelah dewasa hijau hingga hijau tua, tangkai daun bulat, ramping, panjang 3-13 mm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa tandan, berkelamin dua (biseksual/banci), panjang 2-10 cm, di ketiak daun, ibu tangkai silindris, coklat muda, panjang tangkai bunga 1,5-4 mm ; kelopak bunga 5, berbentuk seperti sendok, saling berlepasan, hijau ; mahkota bunga silindris, panjang 3-4 mm, hijau kekuningan hingga kuning kecoklatan ; benang sari melekat pada mahkota membentuk tabung benangsari, panjang 2-3 mm, kepala sari putih ; putik kuning kecoklatan, panjang 0,5 mm, lebar. Buah : berupa buah kotak, berbentuk bulat telur, panjang 7,5 – 10 cm, kulit berkayu dan keras, berlekuk lima, coklat. Biji : bijinya pipih, panjang

4,5 – 5,5 mm, bersayap, sayap dan kulit biji berongga, hitam atau coklat. Gambar dapat dilihat pada Lampiran 1.

**1.2. Sirih.** Hasil determinasi tanaman sirih adalah sebagai berikut : 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9a. Golongan 4. – 41b – 42b – 43b – 54b – 59b – 61b – 62b – 63a – 64a. Familia 3 7. Piperaceae. 1. 1a. *Piper betle* L.

Deskripsi tanaman. Habitus : tumbuhan memanjat. Daun : lunak seperti herba, bangun bulat telur, pangkal bentuk jantung, ujung meruncing, panjang 6,5 – 8, lebar 4 – 4,5 cm pertulangan daun melengkung, permukaan daun licin, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Bunga : Di ujung dan berhadapan dengan daun. Bulir jantan: tangkai 1,5-3 cm, benang sari 2, sangat pendek. Bulir betina: tangkai 2,5 – 6 cm, kepala putik 3-5. Batang : beruas nyata, berkayu lunak, berbentuk bulat. Buah : buni, ujung membulat. Akar : serabut tumbuh pada buku batang. Gambar dapat dilihat pada Lampiran 1.

## 2. Hasil pembuatan serbuk biji mahoni dan daun sirih

Biji mahoni dan daun sirih yang telah dikeringkan dan dihitung bobot kering terhadap bobot basah dari kedua tanaman ini dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji mahoni dan daun sirih**

Tanaman	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Persentase (%)
Mahoni	4000	600	15
Sirih	2500	400	16

Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah mahoni dan sirih secara berturut-turut adalah 15% dan 16%. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mede dapat dilihat pada lampiran 9.

## 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk biji mahoni dan daun sirih

Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk memperoleh prosentase air yang terdapat dalam serbuk yang akan diekstraksi. Kadar air yang terlalu tinggi yang terdapat dalam serbuk dapat mengaktifkan enzim – enzim dalam simplisia yang dapat berakibat rusak atau berubahnya komposisi kimia pada simplisia tersebut sehingga menurunkan kualitas. Persentase rata-rata kadar air serbuk biji mahoni yang dilakukan dengan alat *moisture balance* adalah 7,0% sedangkan rata-rata kadar air serbuk daun sirih adalah 7,5%. Kadar air serbuk biji mahoni

dan daun sirih memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% .

**Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan**

Tanaman	Replikasi	Kadar air (%)	Rata-rata (%)
Mahoni	1	7,0 %	7,0%
	2	7,0 %	
	3	7,0 %	
Sirih	1	7,5 %	7,5%
	2	7,5 %	
	3	7,5 %	

#### 4. Hasil pembuatan ekstrak perkolasi

Penelitian ini menggunakan ekstrak biji mahoni dan daun sirih yang diperoleh dengan cara perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%. Sebelum dilakukan ekstraksi simplisia biji mahoni dan daun sirih mengalami beberapa proses yaitu pemilihan daun, pengeringan daun, dan penghalusan daun. Pemilihan biji mahoni dan daun sirih yang digunakan ekstraksi adalah biji dan daun yang masih segar, bersih, tidak ada mikroorganisme yang menempel pada tanaman dan struktur biji dan daun masih utuh karena mengandung senyawa aktif yang maksimal. Pengeringan masing-masing biji mahoni dan daun sirih menggunakan sinar matahari selama 5 hari, kemudian dibuat serbuk dengan cara diblender. Kemudian hasil serbuk diayak dengan no. 40 sehingga diperoleh serbuk yang halus dan siap untuk diekstrak.

Perlakuan terhadap simplisia menggunakan cara perkolasi yaitu dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan yang jenuh (Depkes, 1986). Perlakuan perkolasi menggunakan etanol 70% yang bertujuan agar senyawa yang terdapat pada simplisia dapat larut dengan sempurna. Keuntungan pemakaian etanol dalam penyarian adalah menghasilkan bahan aktif yang optimal, memperbaiki stabilitas bahan pelarut, dan mampu memberikan perlindungan dan kontaminasi mikroorganisme lain. Keuntungan menggunakan

perkolasi adalah perlakuan penyarian tanpa proses pemanasan, sehingga zat-zat aktif di dalam biji mahoni dan daun sirih tersari secara murni dan tidak rusak.

Serbuk biji mahoni dan daun sirih ditimbang masing-masing 200 gram kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass dan dibasahi dengan etanol 70%. Mulut beaker glass ditutup dengan plastik dan dibiarkan selama 24 jam.

Serbuk yang telah dibasahi dengan etanol dimasukkan ke dalam perkolator yang dibawahnya telah diberi glass wol. Di bagian atas diletakkan kertas saring dan beberapa butir batu didih sebagai pemberat. Etanol 70% terus dialirkan dari corong pisah hingga diperoleh tetesan perkolat dengan warna jernih. Volume yang diperoleh masing-masing adalah 5 liter. Cairan tersebut kemudian dipekatkan dengan evaporator hingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dikentalkan dengan oven pada suhu 40<sup>0</sup>C.

**Tabel 3. Rendemen ekstrak perkolasi biji mahoni dan daun sirih**

<b>Nama tanaman</b>	<b>Bobot serbuk (g)</b>	<b>Bobot ekstrak kental (g)</b>	<b>Rendemen ekstrak (%)</b>
<b>Mahoni</b>	600	300	50
<b>Sirih</b>	400	100	25

Hasil perhitungan rendemen ekstrak perkolasi biji mahoni dan daun sirih dapat dilihat pada lampiran 10.

### **5. Hasil tes bebas etanol ekstrak biji mahoni dan daun sirih**

Ekstrak dari biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) daun sirih (*Piper betle* L.) dilakukan uji tes bebas etanol dengan melakukan esterifikasi alkohol. Hasil yang diperoleh bahwa ekstrak biji mahoni dan daun sirih sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70% dengan ditandai tidak adanya lagi bau ester yang khas dari etanol.

### **6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak biji mahoni daun dan sirih**

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada biji mahoni. Identifikasi kandungan senyawa yaitu saponin dan flavonoid.

**Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji mahoni dan daun sirih serta kombinasinya.**

Sampel	Hasil identifikasi	
	Flavonoid	Saponin
Ekstrak biji mahoni	Terbentuk warna kuning pada amil lapisan alkohol	Terbentuk buih yang mantap + HCl 2N buih tidak hilang
Ekstrak daun sirih	Terbentuk warna kuning pada amil lapisan alkohol	Terbentuk buih yang mantap + HCl 2N buih tidak hilang

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia ekstrak biji mahoni, ekstrak daun sirih dapat dilihat bahwa flavonoid dan saponin dinyatakan positif karena terdapat kesesuaian hasil dari pengamatan yang dilakukan. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji mahoni, ekstrak daun sirih mengandung flavonoid dan saponin. Uji kandungan kimia ini dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

Zat aktif dari ekstrak biji mahoni dan daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri karena mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dengan zona iradikal disekitar sumuran. Zat aktif dalam ekstrak biji mahoni dan daun sirih yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah Flavonoid, Saponin dan Tanin.

Flavonoid merupakan salah satu zat antimikroba. Mekanisme flavonoid sebagai zat antimikroba adalah meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba. Komponen fenol pada flavonoid juga dapat mendenaturasi enzim. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di dalam sel mikroba meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah.

Saponin merupakan senyawa aktif, permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah, selain itu saponin juga berfungsi sebagai antimikroba. Saponin dapat bekerja sebagai antimikroba dengan cara merusak membrane sitoplasma dan membunuh sel.

## **7. Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**7.1. Hasil identifikasi berdasarkan koloni.** Media *Vogel Jhonson Agar* (VJA) hasilnya positif ditunjukkan dengan adanya koloni yang berwarna hitam dan medium disekitar koloni berwarna kuning. Koloni yang berwarna hitam

disebabkan oleh kemampuan dari *Staphylococcus aureus* mereduksi kalium telurit, sedangkan warna disekitar koloni berwarna kuning disebabkan oleh kemampuannya dari *Staphylococcus aureus* memfermentasikan manitol menjadi asam. Phenol red sebagai indikator dalam suasana asam akan mengubah warna medium menjadi kuning disekitar koloni. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

**7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi.** Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan hasil Gram positif ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol membentuk beberapa kelompok tersendiri dalam jumlah banyak seperti buah anggur. Uji identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram menunjukkan hasil koloni berbentuk bulat, bergerogol, dan berwarna ungu. Tujuan pengecatan Gram adalah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel bakteri. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dan Gram negatif mengandung lemak dan prevalensi lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian kristal violet pada bakteri Gram positif akan meninggalkan 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 memperbesar permeabilitas dinding sel gram negatif. Pewarnaan safranin masuk kedalam sel dan menyebabkan sel menjadi warna merah pada bakteri gram negatif, sedangkan pada bakteri gram positif dinding selnya terdehidrasi dengan pelakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu. Foto hasil pengecatan gram terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada lampiran 8.

**7.3 Tes katalase.** Hasil uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah ditambah dengan 2 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% terbentuk gelembung di sekitar koloni. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase yang apabila ditambah air akan terurai menjadi H<sub>2</sub> dan

O<sub>2</sub>, ditandai dengan adanya gelembung udara. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

**7.4 Tes koagulase.** Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan penambahan plasma kelinci yang telah diberi sitrat, diencerkan 1:5 diinkubasi selama 1-4 jam pada suhu 37° C. Hasil dari percobaan terdapat gumpalan putih, adanya gumpalan putih menunjukkan reaksi positif. Hal ini disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mengkoagulasi plasma (Jawets *et al.* 2001). Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

## 8. Hasil pengujian aktivitas antibakteri metode difusi

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dengan waktu inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Daya antibakteri dari tiap ekstrak dapat dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat yang diukur dalam satuan mm dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu povidone iodine. Hasil pengukuran diameter hambat dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil pengukuran daya hambat metode difusi**

Sampel	Replikasi	Diameter hambat (mm)	Rata-rata (mm)
Ekstrak tunggal biji mahoni	1	16	15,67
	2	16	
	3	15	
Ekstrak tunggal daun sirih	1	14	14,33
	2	14	
	3	15	
Kombinasi ekstrak biji mahoni : sirih (1:1)	1	10	10,33
	2	10	
	3	11	
Kombinasi ekstrak biji mahoni : sirih (1:2)	1	18	17,67
	2	18	
	3	17	
Kombinasi ekstrak biji mahoni : sirih (2:1)	1	25	24,67
	2	24	
	3	25	
Kontrol positif betadine	1	27	27,67
	2	28	
	3	28	
Kontrol negatif DMSO 1%	1	0	0
	2	0	
	3	0	

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji mahoni dan daun sirih menggunakan metode difusi. Metode difusi yaitu untuk mengetahui seberapa

besar diameter zona hambatan ekstrak biji mahoni dan daun sirih dalam menghambat bakteri dengan mengukur besar kecilnya zona hambat yang dibentuk di daerah sumuran. Ada 2 jenis zona hambat yaitu iradikal yang bersifat bakteristatik karena zat atau senyawa kimia antibakteri bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan zona radikal yang bersifat bakterisida karena zat atau senyawa kimia antibakteri bersifat membunuh bakteri. Keuntungan metode difusi adalah pengujian dapat dilakukan dengan cepat dan mudah, dapat membedakan lebih jelas daerah bakterisida dan bakteristatik dengan terbentuknya zona radikal dan iradikal, kontaminasi oleh bakteri lain pemeriksaan dapat lebih mudah terlihat atau diketahui.

Dalam penelitian ini bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* karena *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab penyakit infeksi. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit pada hampir semua organ dan jaringan, yang paling rentan terhadap infeksi adalah kulit. Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang mengalami luka mengarah pada infeksi dan proses-proses bernanah lainnya. Hal ini karena kulit terus-menerus berhubungan dan kontak dengan lingkungan sekitarnya, maka kulit akan mengandung mikroorganisme (Jawetz *et al* 2005).

Daerah rata-rata zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada ekstrak tunggal biji mahoni adalah 15,67 mm, ekstrak tunggal daun sirih adalah 14,33 mm, kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih (1:1) adalah 10,33 mm, kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih (1:2) adalah 17,67 mm, kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih (2:1) adalah 24,67 mm, kontrol positif sebesar 27,67 dan kontrol negatifnya sebesar 0 mm.

Kombinasi 1:1 terdiri dari satu bagian ekstrak biji mahoni dan satu bagian ekstrak daun sirih. Perbandingan ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih 1:1 memiliki sifat antagonis karena diameter hambatan yang dihasilkan lebih kecil dari diameter yang dihasilkan oleh ekstrak tunggal biji mahoni dan daun sirih. Hal ini dikarenakan kombinasi kedua ekstrak dengan perbandingan yang sama menyebabkan berkurangnya efektifitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kombinasi 1:2 terdiri dari satu bagian ekstrak biji mahoni dan dua bagian ekstrak daun sirih. Perbandingan ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih 2:1 memiliki sifat sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena diameter yang dihasilkan lebih besar dari ekstrak tunggal keduanya meskipun diameter yang dihasilkan tidak sebesar diameter kombinasi 2:1.

Kombinasi 2:1 terdiri dari dua bagian ekstrak biji mahoni dan satu bagian ekstrak daun sirih. Perbandingan ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih 2:1 memiliki sifat sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena komponen senyawa dari kombinasi kedua ekstrak tersebut dapat saling mendukung dalam mekanisme kerjanya. Jumlah ekstrak etanol biji mahoni yang lebih banyak dapat meningkatkan aktivitas ekstrak etanol daun sirih dalam menghambat bakteri karena pada ekstrak tunggal diameter hambatan biji mahoni yang dihasilkan lebih besar dari ekstrak tunggal daun sirih.

Menurut Jawezt *et al.* (2002) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar daripada jumlah kedua efek. Peningkatan daya hambat ini diduga akibat mekanisme kerja yang saling mendukung dari masing-masing komponen dalam ekstrak biji mahoni dan daun sirih. Mekanisme kerja dari masing-masing komponen yang saling mendukung itulah yang diduga membuat efek sinergis dari kombinasi ekstrak etanol biji mahoni dan daun sirih. Perbandingan kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih 2:1 dan 1:2 berefek sinergis saling mendukung untuk mendapatkan hasil yang lebih efektif sehingga mempunyai daya hambat lebih baik dari ekstrak tunggal. Sedangkan, perbandingan kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih 1:1 berefek antagonis saling berlawanan sehingga mempunyai hasil daya hambat lebih kecil dari ekstrak tunggal.

Tabel 5 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih (2:1) memiliki daya hambat lebih efektif terhadap bakteri uji dibandingkan dengan perbandingan kombinasi ekstrak biji mahoni dan daun sirih lainnya. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi ini menggunakan kontrol negatif DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat bakteri uji.

Kontrol positif yang digunakan adalah antiseptik povidon iodine, antiseptik berspektrum luas. Povidon iodine bersifat bakteristatik dan bakterisid yang mampu membunuh spora dalam waktu 15 menit. Mekanisme povidon iodine dimulai setelah kontak langsung dengan jaringan maka elemen iodine akan dilepas secara perlahan dengan aktivitas menghambat metabolisme enzim bakteri sehingga mengganggu multiplikasi bakteri yang mengakibatkan bakteri menjadi lemah. Pada penelitian ini didapatkan zona hambat rata-rata pada kontrol positif adalah 27,67 mm.

. Untuk mengetahui adanya beda yang nyata pada data penelitian dilakukan uji statistik Anova One Way. Kriteria ujinya adalah diameter zona hambatan dalam berbagai perbandingan sampel ekstrak biji mahoni dan daun sirih dinyatakan ada perbedaan yang nyata (signifikan). Sebelum dilakukan uji Anova One Way di lakukan Uji Kolmogorov untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Bila ada beda maka nilai signifikan ( $\text{sig}$ )  $\leq 0,05$  namun sebaliknya jika tidak ada perbedaan yang nyata maka nilai signifikan ( $\text{sig}$ )  $\geq 0,05$ . Berdasarkan perhitungan Kolmogorov didapat nilai signifikan  $0,844 > 0,05$  yang menunjukkan  $H_0$  diterima sehingga data dinyatakan terdistribusi normal. Setelah dilakukan Uji Kolmogorov didapat hasil test terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji Anova *one way*. Dari hasil Anova *one way*, terlihat nilai  $F = 883,056$  dengan probabilitas  $0,000 < 0,05$  maka setiap sampel memang berbeda nyata. Uji lanjutan yaitu Uji Post Hoc Test tanda \* ada di angka *Mean Difference*, maka perbedaan signifikan dan dapat disimpulkan bahwa perbandingan biji mahoni dan daun sirih 2:1 mempunyai diameter zona hambatan paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil data statistik dapat dilihat pada lampiran 12.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kombinasi biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dapat disimpulkan bahwa :

1. Kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Kombinasi yang paling efektif digunakan kombinasi (2:1) ekstrak etanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) dan daun sirih (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode dilusi.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode penyarian yang lain.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan konsentrasi yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi 1V. Farida Ibrahim, Asmanitar, Lis Ais Aisyah, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Bonang G, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya. Yogyakarta: Gramedia. Hal 65-68.
- Dalimartha, S., 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid II, Trubus Agriwidya
- Depkes R.I. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Ed ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes R.I. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan (Depkes) R.I, Jakarta Micronutrient Information Center. Tersedia pada <http://perpustakaan.depkes.go.id/cgi-bin/koha/opac>.
- Depkes R.I.1985. *Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes R.I.1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 3-12, 21-34.
- Depkes R.I.1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Falah, S., Suzuki, T., dan Katayama, T., 2007. Chemical constituents from *Swietenia macrophylla* Bark and their antioxidant activity. *Pakistan Biol Sci* 11(16): 2007-2012
- Ganiswara, S. G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Gibson M. 2008. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation Second edition*. Leicestershire: Informa Healthcare. Hlm 476.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed II. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari *Phytochemical Methods*.
- Hartati, Liza Md Saleh, Azila, Abd Azis, Mohd Azizi che Yunos. 2013. Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni Jacq*) Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Bionature* Volume 14, Nomor 1, 11-15
- Inayatullah, S., 2012, Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* , UIN: Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)* Tonang H, penerjemah; Bonang Gerard, editor. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga*. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2005. *Medical Mikrobiologi*. 23<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2007. *Medical Mikrobiologi*. 24<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Kuntorini, E.M. 2005. Botani Suku *Zingiberaceae* Sebagai Obat Tradisional di Kotamadya Banjar Baru. *Bioscientiae*. Vol. 3(1): 25-36.
- Ngajow Mercy, Jemmy A, Vanda S K. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secar *in vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2:128-132.
- Otieno, J.N., Kennedy M.M.H., Herbert V.L., & Rogasian L.A.M. 2008. Multi Plant or Single Plant Extracts, Which Is The Most Efective for Local Healing in Tanzania?. *Afr. J. Trad. CAM*. 5 (2): 165-172.
- Priyono, S.H., Praptiwi. 2009. Identifikasi Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Piper sp. Asal Papua. *J. Tek Ling*. Vol. 10. (30): 271-276.
- Rahayu,L.D. 2007. The Sensitivity of *Staphylococcus aureus* as Mastitis Pathogen Bacteria Into Teat Dipping Antiseptic in Dairy Cow. *Jurnal Protein*. 14(1).
- Rahmawati. 2014. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal EduBio Tropika* 12 (1) : 121-186

- Ria A. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) Ekstrak Etanolik, Fraksi n-Heksan, Etil Asetat dan Air Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Kosasih Padmawinata, Penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituent of Higher plant*.
- Schelegel, H.G., 1994. *Mikrobiologi Umum. Edisi keenam*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Siti Sakinah, Nur'aini, Ayu Permata Ratu. 2015. Uji Perbandingan Aktivitas Antijamur *Pityrosporum ovale* dari Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Daun Sirih (*Piper betle*) dengan Ketokonazol 2%. *Media Farmasi* 12 (1) : 66-82
- Stahl, Egon. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. ITB: Bandung. 3-5.
- Suliantari., B.S.L., Jenie, M.T., Suhartono & A. Apriantono. 2008. Aktivitas Antibakteri ekstrak Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Jurnal.Teknol. dan Industri Pangan*, Vol. XIX (1): 1-7.
- Suriawiria, U., 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung
- Suriawiria, Unus. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Penerbit Angkasa
- Wahyu IT. 2006. Uji Daya Antiseptik Sediaan Hand Sanitizer Gel Mengandung Etanol Dan Triklosan. *JurnalJurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman mahoni dan tanaman sirih



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 : 045/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Beatriks Julita Dampuk  
NIM : 19133977A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.  
Familia : Meliaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1965) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29a 136. Meliaceae  
2b-3b-4b-7b-10b-13b-15b 2. *Swietenia*  
1a *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, tumbuh tegak, menahun, tinggi 5-30 m. Akar : tunggang, besar, bercabang, coklat keputihan hingga coklat kekuningan. Batang : bulat, berkayu, keras, bercabang-cabang simpodial, arah percabangan serong, cabang dengan banyak lentisel, permukaan batang gundul, putih kotor hingga abu-abu. Daun : majemuk menyirip genap yang tersusun spiral, terdiri atas 8-14 anak daun, berhadapan, helaian anak daun bulat telur, panjang 3-15 cm, lebar 1.5-5 cm, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan daun menyirip, daging daun kaku, permukaan gundul, masih muda merah, setelah dewasa hijau hingga hijau tua; tangkai daun bulat, ramping, panjang 3-13 mm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa tandan, berkelamin 2 (biseksual/banci), panjang 2-10 cm, di ketiak daun, ibu tangkai bunga silindris, coklat muda, panjang tangkai bunga 1.5-4 mm; kelopak bunga 5, berbentuk seperti sendok, saling berlepasan, hijau; mahkota bunga silindris, panjang 3-4 mm, hijau kekuningan hingga kuning kecoklatan; benangsari melekat pada mahkota membentuk tabung benangsari, panjang 2-3 mm, kepala sari putih; putik kuning kecoklatan, panjang 0.5 mm.lebar. Buah : berupa buah kotak, berbentuk bulat telur, panjang 7.5-10 cm, kulit berkayu dan keras, berlekuk lima, coklat. Biji : bijinya pipih, panjang 4.5-5.5 mm, bersayap, sayap dan kulit biji berongga, hitam atau coklat.

Surakarta, 1 Februari 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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



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](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 002/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran :

Nama Pemesan : **Beatriks Julita Dampuk**  
NIM : 19133977A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

#### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Piper betle L.*  
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-6b-7b-9a. Golongan 4.-41b- 42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64a.

Familia 37. Piperaceae. 1. 1a. *Piper betle L.*

Deskripsi tanaman :

Habitus: tumbuhan memanjat.

Daun: lunak seperti herba, bangun bulat telur, pangkal bentuk jantung, ujung meruncing, panjang 6,5 – 8, lebar 4 – 4,5 cm pertulangan daun melengkung, permukaan daun licin, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda.

Bunga: Di ujung dan berhadapan dengan daun. Bulir jantan: tangkai 1,5 – 3 cm, benang sari 2, sangat pendek. Bulir betina: tangkai 2,5 – 6 cm, kepala putik 3 – 5.

Batang: beruas nyata, berkayu lunak, berbentuk bulat

Buah: buni, ujung membulat.

Akar: serabut tumbuh pada buku batang

Surakarta, 4 Januari 2017

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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



Rutha Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

**Lampiran 2. Foto Biji Mahoni dan Daun Sirih dan serbuknya**



Biji Mahoni



Daun sirih



Serbuk biji mahoni



Serbuk daun sirih

**Lampiran 3. Foto Alat Penyerbukan dan Perhitungan kadar Air**



Saringan Mess no. 40



Moisture balance (alat untuk menghitung kadar air)

**Lampiran 4. Foto Alat Perkolasi**

perkolator

Perkolator

**Lampiran 5. Foto Alat Pembuatan Ekstrak Murni**



Alat Rotatory Evaporator



Oven

**Lampiran 6. Foto Inkubator dan Autoclave**



Incubator



Autoclave

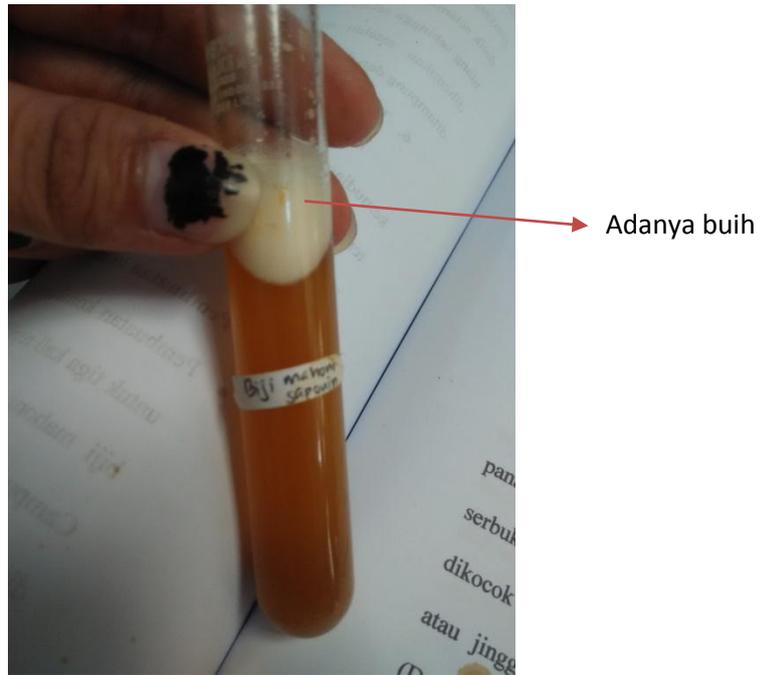
**Lampiran 7. Foto hasil identifikasi senyawa**

Ekstrak biji mahoni dan sirih

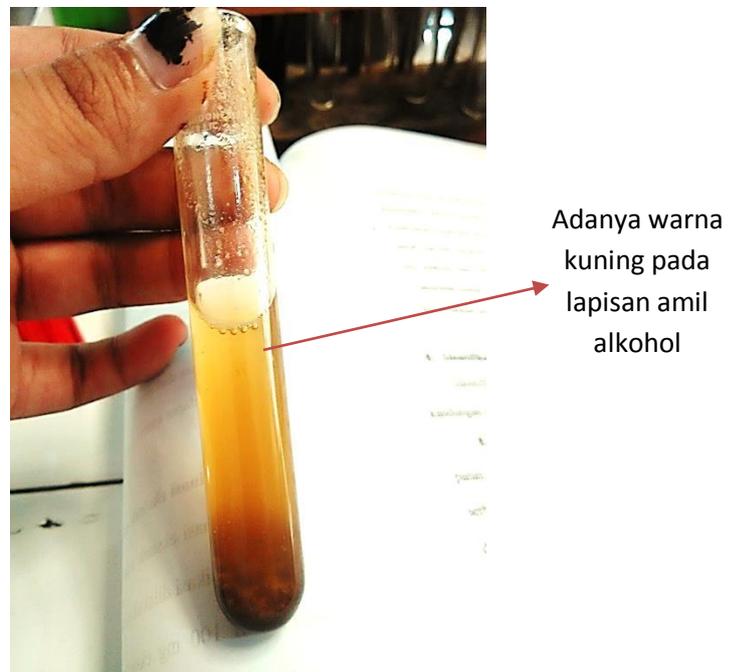


Adanya buih

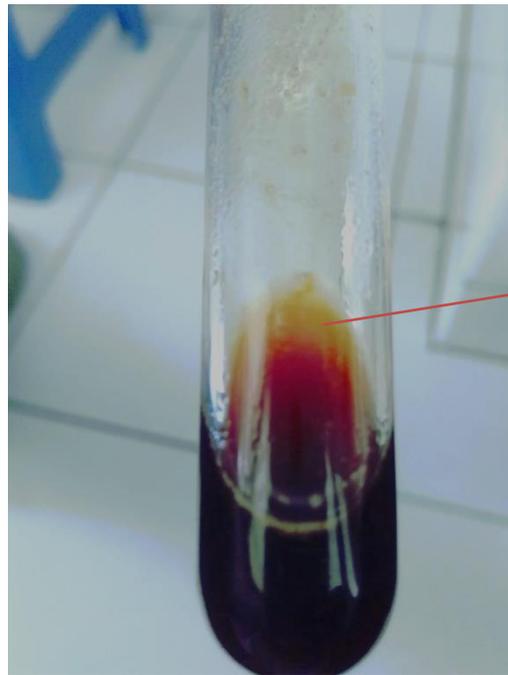
Hasil identifikasi saponin ekstrak daun sirih (+)



**Hasil identifikasi saponin untuk ekstrak biji mahoni (+)**



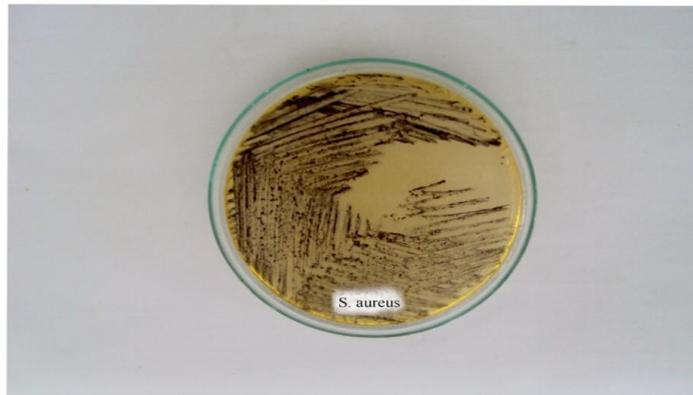
**Hasil identifikasi flavonoid ekstrak biji mahoni (+)**



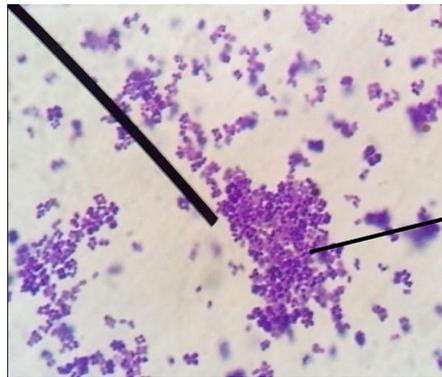
Adanya warna kuning pada lapisan amil alkohol

**Hasil identifikasi flavonoid ekstrak daun sirih (+)**

**Lampiran 8. Foto Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus***

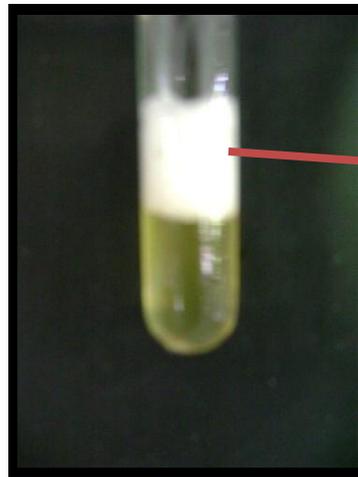


**hasil identifikasi berdasarkan koloni *Staphylococcus aureus* pada media *Vogel Johnson Agar***



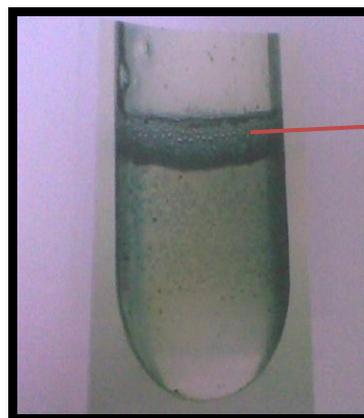
terbentuknya warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur

**Hasil identifikasi mikroskopis secara morfologi**



Ada gumpalan putih, positif *Staphylococcus aureus*

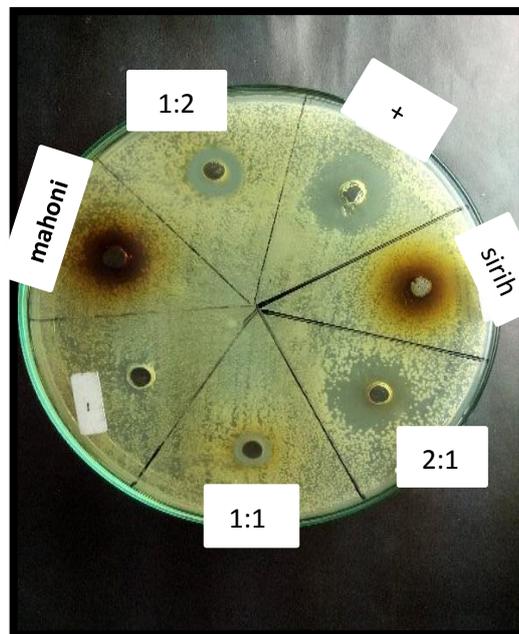
**Hasil identifikasi uji koagulase *Staphylococcus aureus***



Ada gelembung udara, positif *Staphylococcus aureus*

**Hasil identifikasi uji katalase *Staphylococcus aureus***

### Lampiran 9. Foto Hasil Penelitian



### Lampiran 10. Perhitungan prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji mahoni dan daun sirih

Tanaman	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Persentase (%)
Mahoni	4000	600	15
Sirih	2500	400	16

#### Perhitungan

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\%$$

$$\text{Mahoni : } \% \text{ rendemen} = \frac{600 \text{ g}}{4000} \times 100\% = 15\%$$

$$\text{Sirih : } \% \text{ rendemen} = \frac{400 \text{ g}}{2500} \times 100\% = 16\%$$

Jadi, prosentase bobot kering terhadap bobot basah biji mahoni adalah 15% dan daun sirih 16%

**Lampiran 11. Hasil perhitungan Rendemen ekstrak perkolasi biji mahoni dan daun sirih**

Nama tanaman	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak kental (g)	Rendemen ekstrak (%)
Mahoni	600	300	50
Sirih	400	100	25

Perhitungan :

$$\text{Mahoni : } \% \text{ rendemen} = \frac{300\text{g}}{600} \times 100\% = 50\%$$

$$\text{Sirih : } \% \text{ rendemen} = \frac{100\text{g}}{400\text{g}} \times 100\% = 25\%$$

## Lampiran 12. Uji Statistik

### NPar Tests

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	21	15.76	8.712	0	28

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter
N		21
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	15.76
	Std. Deviation	8.712
Most Extreme Differences	Absolute	.134
	Positive	.113
	Negative	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.615
Asymp. Sig. (2-tailed)		.844

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### Oneway

#### Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
biji mahoni	3	15.67	.577	.333	14.23	17.10	15	16
daun sirih	3	14.33	.577	.333	12.90	15.77	14	15
1:1	3	10.33	.577	.333	8.90	11.77	10	11
1:2	3	17.67	.577	.333	16.23	19.10	17	18
2:1	3	24.67	.577	.333	23.23	26.10	24	25
kontrol positif	3	27.67	.577	.333	26.23	29.10	27	28
kontrol negatif	3	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Total	21	15.76	8.712	1.901	11.80	19.73	0	28

#### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1513.810	6	252.302	883.056	.000
Within Groups	4.000	14	.286		
Total	1517.810	20			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Diameter  
Tukey HSD

(I) sampel	(J) sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
biji mahoni	daun sirih	1.333	.436	.094	-.16	2.82
	1:1	5.333	.436	.000	3.84	6.82
	1:2	-2.000	.436	.006	-3.49	-.51
	2:1	-9.000	.436	.000	-10.49	-7.51
	kontrol positif	-12.000	.436	.000	-13.49	-10.51
	kontrol negatif	15.667	.436	.000	14.18	17.16
daun sirih	biji mahoni	-1.333	.436	.094	-2.82	.16
	1:1	4.000	.436	.000	2.51	5.49
	1:2	-3.333	.436	.000	-4.82	-1.84
	2:1	-10.333	.436	.000	-11.82	-8.84
	kontrol positif	-13.333	.436	.000	-14.82	-11.84
	kontrol negatif	14.333	.436	.000	12.84	15.82
1:1	biji mahoni	-5.333	.436	.000	-6.82	-3.84
	daun sirih	-4.000	.436	.000	-5.49	-2.51
	1:2	-7.333	.436	.000	-8.82	-5.84
	2:1	-14.333	.436	.000	-15.82	-12.84
	kontrol positif	-17.333	.436	.000	-18.82	-15.84
	kontrol negatif	10.333	.436	.000	8.84	11.82
1:2	biji mahoni	2.000	.436	.006	.51	3.49
	daun sirih	3.333	.436	.000	1.84	4.82
	1:1	7.333	.436	.000	5.84	8.82
	2:1	-7.000	.436	.000	-8.49	-5.51
	kontrol positif	-10.000	.436	.000	-11.49	-8.51
	kontrol negatif	17.667	.436	.000	16.18	19.16
2:1	biji mahoni	9.000	.436	.000	7.51	10.49
	daun sirih	10.333	.436	.000	8.84	11.82
	1:1	14.333	.436	.000	12.84	15.82
	1:2	7.000	.436	.000	5.51	8.49
	kontrol positif	-3.000	.436	.000	-4.49	-1.51
	kontrol negatif	24.667	.436	.000	23.18	26.16
kontrol positif	biji mahoni	12.000	.436	.000	10.51	13.49
	daun sirih	13.333	.436	.000	11.84	14.82
	1:1	17.333	.436	.000	15.84	18.82
	1:2	10.000	.436	.000	8.51	11.49
	2:1	3.000	.436	.000	1.51	4.49
	kontrol negatif	27.667	.436	.000	26.18	29.16

kontrol negatif	biji mahoni	-15.667*	.436	.000	-17.16	-14.18
	daun sirih	-14.333*	.436	.000	-15.82	-12.84
	1:1	-10.333*	.436	.000	-11.82	-8.84
	1:2	-17.667*	.436	.000	-19.16	-16.18
	2:1	-24.667*	.436	.000	-26.16	-23.18
	kontrol positif	-27.667*	.436	.000	-29.16	-26.18

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

## Homogeneous Subsets

### Diameter

Tukey HSD<sup>a</sup>

sampel	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
kontrol negatif	3	.00					
1:1	3		10.33				
daun sirih	3			14.33			
biji mahoni	3			15.67			
1:2	3				17.67		
2:1	3					24.67	
kontrol positif	3						27.67
Sig.		1.000	1.000	.094	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### Lampiran 13. Formulasi dan pembuatan Media

#### 1. BHI (Brain Heart Infussion)

- Infus dari otak sapi 200,0 g
- Infus dari hati sapi 250,0 g
- Protease peptone 10,0 g
- Dektrosa 2,0 g
- NaCl 5,0 g
- Dinatrium fosfate 5,0 g
- Aquadest ad 1000,0 ml
- Ph 7,4

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

#### 2. VJA (Vogel Jhonson Agar)

- Tryptone 10,0 g
- Ekstrak ragi 5,0 g
- Dipotassium pospat 5,0 g
- Mannitol 10,0 g
- Lithium chloride 5,0 g
- Glisine 10,0 g
- Fenol merah 0,025 g
- Agar-agar 13,0 g
- Aquadest 1000,0 ml
- pH 7,2

Reagen-reagen dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml dan dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Didinginkan pada suhu 50°C dan ditambahkan kalium tellurit kemudian dituangkan dalam cawan petri (Depkes, 1994).

### 3. MHA (Mueller Hintlon Agar)

- Beef, dehydrated infusion 300,0 g
- Casein hydrolysate 17,5 g
- Strach 1,5 g
- Agar-agar 17 g

Suspensikan 38 g bahan di atas dalam 1 liter aquadest. Panaskan sampai larut sempurna dan sterilisasi pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.