

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN
MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn.), SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh :

**Meditamaya Fitriani Intan Sari
10170674N**

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

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas akhir :

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN
MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Oleh :

**Meditamaya Fitriani Intan Sari
10170674N**

Surakarta, 16 Juli 2018

Menyetujui Untuk Sidang Tugas Akhir

Pembimbing Utama



Dra. Nony Puspawati, M.Si.
NIS. 01198311012003

Pembimbing Pendamping



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




LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir :

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn), SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Oleh :
Meditamaya Fitriani Intan Sari
10170674N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 20 Juli 2018

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



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

Mengetahui,

Ketua Program Studi
D-IV Analisis Kesehatan



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karena masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan hilang. Sebab, masa depan sungguh ada, dan harapanmu tidak akan putus asa. Karena sungguh kesudahannya akan datang kelak, maka harapanmu tiada akan diputuskan (Amsal 23 :18)

Diberkatilah orang yang mengandalkan TUHAN, yang menaruh harapannya pada TUHAN ! (Yeremia 17:7)

Segala sesuatu yang kita hadapi, tidak pernah lepas dari pandangan TUHAN. Dan percayalah TUHAN tidak akan membiarkan kita berjalan sendiri.

**Kupersembahkan skripsi ini kepada :
TUHAN YESUS KRISTUS
Keluargaku dan teman-temanku**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir ini adalah pekerjaan saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu 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 tugas akhir ini merupakan jiplakan dari peneliti / karya ilmiah / skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 Juli 2018



Meditamaya Fitriani Intan Sari
NIM. 10170674N

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn.), SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853”**. Tugas akhir ini merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan (S.ST) pada program studi Diploma IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.

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

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sesuai dengan harapan.
2. Bapak Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Prof.dr.Marsetyawan HNE S.,M.Sc.P.hD. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Ibu Tri Mulyowati, S.KM.,M.Sc. selaku Ketua Program Studi D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi, Surakarta.
5. Dra. Nony Puspawati,M.Si. selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.

6. D. Andang Arif Wibawa, SP.,M.Si. selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.
7. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU. selaku dosen penguji I yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga tugas akhir ini menjadi lebih baik.
8. Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc. selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga tugas akhir ini menjadi lebih baik.
9. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staff perpustakaan dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta.
10. Kedua orang tua, kakak-kakak saya serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa serta dorongan dan bantuan moril maupun materi dan tak pernah bosan mendoakan penulis dalam menempuh studi dan mewujudkan cita-cita.
11. Teman-teman seperjuangan dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penulis tugas akhir ini, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih ada kekurangan, oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu Analis Kesehatan serta bagi siap asaja yang membacanya.

Surakarta, 16 Juli 2018

Meditamaya Fitriani Intan Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Tanaman Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)	8
1. Klasifikasi Tanaman.....	8
2. Deskripsi Tanaman.....	8
3. Kandungan dan manfaat tanaman	9
B. Tanaman Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn.)	10
1. Klasifikasi tanaman	10
2. Deskripsi tanaman	10
3. Kandungan dan manfaat tanaman	11
C. Simplisia.....	12
1. Pengertian Simplisia.....	12
2. Pengumpulan Simplisia.....	13
3. Pencucian dan Pengeringan.....	13

D.	Metode Penyarian.....	14
1.	Ekstraksi	14
2.	Ekstrak.....	14
3.	Maserasi	15
4.	Pelarut.....	16
E.	Tinjauan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
1.	Klasifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.	Morfologi	17
3.	Struktur Antigen	18
4.	Patogenesis	18
5.	Gambaran Klinis	19
6.	Epidemiologi	20
7.	Pengobatan	20
8.	Pencegahan.....	20
F.	Antibakteri.....	21
G.	Media.....	23
H.	Pemeriksaan Aktivitas Antimikroba	23
1.	Metode Dilusi	24
2.	Metode Difusi.....	24
I.	Siprofloksasin.....	25
J.	Efek Kombinasi Obat	25
K.	Landasan Teori	26
L.	Kerangka Pikir Penelitian.....	29
M.	Hipotesis	29
BAB III METODE PENELITIAN		31
A.	Rancangan Penelitian	31
B.	Waktu dan Tempat Penelitian	31
C.	Populasi dan Sampel	31
1.	Populasi	31
2.	Sampel.....	31
D.	Variabel Penelitian	32
1.	Identifikasi variabel utama	32
2.	Klasifikasi variabel utama	32
3.	Definisi operasional variabel utama	33
E.	Alat dan Bahan	34
1.	Alat.....	34
1.1.	Alat untuk pembuatan dan analisis serbuk.	34
1.2.	Alat maserasi.....	34
1.3.	Alat untuk uji aktivitas antibakteri.....	34
2.	Bahan.....	35
2.1	Bahan sampel.....	35
2.2	Bahan kimia.	35
2.3	Bakteri uji.	35
2.4	Media.	35
F.	Prosedur Penelitian.....	35

1.	Determinasi tanaman.....	35
2.	Pembuatan serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah	36
3.	Identifikasi serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah	36
3.1	Organoleptis serbuk.....	36
3.2	Makroskopis serbuk.....	36
4.	Penetapan susut pengeringan serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah.....	36
5.	Pembuatan serbuk kombinasi.....	36
6.	Pembuatan ekstrak etanolik 70%	37
6.1.	Ekstrak etanolik Meniran Merah dan Sirih Merah	37
6.2.	Ekstrak etanolik kombinasi Meniran Merah dan Sirih Merah.	37
7.	Penetapan persen rendemen	38
8.	Uji bebas etanol.....	38
9.	Identifikasi kandungan senyawa	38
9.1	Identifikasi alkaloid	38
9.2	Identifikasi flavonoid.....	39
9.3	Identifikasi tanin	39
9.4	Identifikasi saponin.....	39
10.	Sterilisasi	39
11.	Identifikasi bakteri uji	40
11.1	Isolasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	40
11.2	Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	40
12.	Pembuatan suspensi bakteri uji	42
13.	Pembuatan konsentrasi sampel uji	43
14.	Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi.....	43
G.	Teknik Pengumpulan Data	44
1.	Data Primer	44
2.	Data Sekunder	44
H.	Teknik Analisis Data.....	44
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		50
1.	Determinasi tanaman Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn.).....	50
2.	Determinasi tanaman Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>).....	51
3.	Hasil pembuatan serbuk Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn.) dan Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>).....	51
4.	Hasil Penetapan kadar air serbuk Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn.) dan Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)	52
5.	Hasil pembuatan ekstrak etanolik Meniran Merah (<i>Phyllanthus urinaria</i> Linn.), Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1).....	53
6.	Uji bebas etanol.....	54
7.	Hasil identifikasi kandungan senyawa	55
8.	Hasil identifikasi bakteri uji dan identifikasi uji biokimia.....	55

8.1 Hasil identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	56
9. Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia	56
10. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi metode difusi.	58
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	64
A. Kesimpulan.....	64
B. Saran.....	64
 DAFTAR PUSTAKA	66
 LAMPIRAN.....	71

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Sirih Merah	9
Gambar 2. Meniran Merah	11
Gambar 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada pewarnaan Gram	18
Gambar 4. Kerangka pikir Penelitian	29
Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak etanolik Sirih Merah	45
Gambar 6. Skema pembuatan ekstrak etanolik Meniran Merah	46
Gambar 7. Skema pembuatan ekstrak etanolik kombinasi Meniran Merah dan Sirih Merah	47
Gambar 8. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	48
Gambar 9. Uji Aktivitas antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853...49	
Gambar 10. Isolasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 penggoresan pada media <i>Pseudomonas Selektif Agar</i>	56
Gambar 11. Identifikasi bakteri uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 secara biokimia berdasarkan hasil pengamatan	57
Gambar 12. Pengecatan Gram bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 berdasarkan hasil pengamatan	58
Gambar 13. Diagram rata-rata diameter daya hambat aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1;1) (1:2) (2:1)	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah Meniran Merah...52	
Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah Sirih Merah52	
Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk Meniran Merah.....52	
Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk Sirih Merah52	
Tabel 5. Hasil persen rendemen ekstrak etanolik Meniran Merah54	
Tabel 6. Hasil persen rendemen ekstrak etanolik Sirih Merah.....54	
Tabel 7. Hasil persen rendemen ekstrak etanolik kombinasi (1:1) (1:2) dan (2:1)54	
Tabel 8. Hasil uji bebas etanol54	
Tabel 9. Hasil uji fitokimia ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1)55	
Tabel 10. Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2785356	
Tabel 11. Diameter hambat pada uji antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 metode difusi59	

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman Meniran Merah	72
Lampiran 2. Surat keterangan hasil determinasi tanaman Sirih Merah	73
Lampiran 3. Gambar Sirih Merah dan serbuk Sirih Merah	74
Lampiran 4. Gambar Meniran Merah dan serbuk Meniran Merah.....	75
Lampiran 5. Gambar alat <i>Vaccum rotary evaporator</i> , <i>Moisture balance</i> , inkubator, <i>autoclave</i> , timbangan, inkas.....	76
Lampiran 6. Foto ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1), (1:2) dan (2:1)	77
Lampiran 7. Foto uji bebas etanol ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1).....	78
Lampiran 8. Foto suspensi bakteri uji dan identifikasi bakteri secara biokimia.....	79
Lampiran 9. Foto pengenceran ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1).....	80
Lampiran 10. Foto hasil uji difusi ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	81
Lampiran 11. Foto pengujian kandungan kimia ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1).....	82
Lampiran 12. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah Meniran Merah	83
Lampiran 13. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah Sirih Merah.....	83
Lampiran 14. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Meniran Merah.....	84
Lampiran 15. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Sirih Merah...84	
Lampiran 16. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanolik Meniran Merah.....	85

Lampiran 17. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanolik Sirih Merah.....	85
Lampiran 18. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanolik kombinasi (1:1) (1:2) dan (2:1).....	85
Lampiran 19. Perhitungan pengenceran DMSO (<i>Dimethyl Sulfoxida</i>)	86
Lampiran 20. Pembuatan sediaan untuk uji difusi.....	87
Lampiran 21. Formulasi dan pembuatan media.....	90
Lampiran 22. Analisis data uji ANOVA one way antara ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) dengan konsentrasi 50% dan 25% terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	95

INTISARI

SARI. M. F. I. 2018. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOLIK MENIRAN MERAH (*Phyllanthus urinaria* Linn.), SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) DAN KOMBINASI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Program Studi D-IV Transfer Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman tradisional yang berkhasiat sebagai antibakteri. Meniran Merah dan Sirih Merah mengandung flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*), dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah dikombinasi dengan 3 perbandingan (1:1) (1:2) (2:1). Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menggunakan metode difusi. Metode difusi dilakukan untuk mengetahui daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATC 27853 dengan konsentrasi 50% dan 25%. Analisis statistik menggunakan ANOVA *one way* guna untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ekstrak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ekstrak etanolik Meniran Merah merupakan ekstrak yang aktif sebagai antibakteri dengan diameter daya hambat 13,5 mm pada konsentrasi 50% selanjutnya konsentrasi 25% menghasilkan diameter daya hambat 11,5 mm. Kombinasi perbandingan (2:1) merupakan kombinasi yang aktif sebagai antibakteri dengan diameter daya hambat 13 mm pada konsentrasi 50% selanjutnya konsentrasi 25% menghasilkan diameter daya hambat 10,5 mm. Kombinasi tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang sebanding dengan ekstrak etanolik Meniran Merah tunggal.

Kata kunci : Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*), antibakteri, difusi, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

SARI. M. F. I. 2018. ANTIBACTERY ACTIVITY TEST OF ETHANOLIC EXTRACES RED MENIRAN (*Phyllanthus urinaria* Linn.), RED BETEL (*Piper crocatum*) AND COMBINATION TO *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. D-IV Transfer Program of Health Analyst, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University.

Red Meniran (*Phyllanthus urinaria* Linn.) and Red Betel (*Piper crocatum*) is one of the traditional plants are efficacious as antibacterial. Red meniran and red betel contains flavonoids, saponins, alkaloids and tannins. The aim of this research is to know the antibacterial activity of ethanolic extract of red meniran (*Phyllanthus urinaria* L.), red betel (*Piper crocatum*), and combination (1:1)(1:2) (2:1) against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Red Meniran and Red Betel powder combined with 3 (1:1) (1:2) (2:1) ratios. Red Meniran, Red Betel and combination (1:1) (1:2) (2:1) were extracted using maseration method with 70% ethanol solvent. The result of extraction was tested of antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 using diffusion method. The diffusion method was done to find out the inhibition power of *Pseudomonas aeruginosa* ATC 27853 with concentration of 50% and 25%. Statistic analysis using ANOVA one way to know whether there is significant difference between test preparation.

The results showed that all extracts had antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Red Meniran ethanolic extract was an active antibacterial extract with a diameter of 13.5 mm inhibitory at a concentration of 50%, then a concentration of 25% resulted in a diameter of 11.5 mm inhibitory power. Comparison combination (2:1) is an active combination as an antibacterial with a diameter of 13 mm inhibitory at a concentration of 50%, then a concentration of 25% produces a diameter of 10.5 mm inhibitory power. This combination has antibacterial activity that is comparable to a single Red Meniran ethanolic extract.

Keyword : Red Meniran (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Red Betel (*Piper crocatum*), *Pseudomonas aeruginosa*, antibacterial, diffusion.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tanaman obat dapat diartikan sebagai jenis tanaman yang sebagian, seluruh tanaman tersebut yang digunakan sebagai bahan, obat, atau ramuan obat-obatan. Departemen Kesehatan RI mendefinisikan tanaman obat Indonesia seperti yang tercantum dalam Surat Keputusan Menteri Kesehatan No. 149/SK/Menkes/IV/1978, yaitu tanaman atau bagian tanaman yang digunakan adalah sebagai bahan obat tradisional atau jamu. Tanaman atau bagian tanaman yang digunakan adalah sebagai bahan pemula bahan baku obat (*precursor*). Tanaman atau bagian tanaman yang diekstraksi dan ekstrak tanaman tersebut digunakan adalah sebagai obat (Herbie, 2015).

Salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah tanaman Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*). Meniran adalah salah satu tanaman yang mempunyai khasiat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Tanaman ini dapat membantu mencegah berbagai macam infeksi virus dan bakteri serta meningkatkan system kekebalan tubuh (Sulaksana & Jayusman, 2004). Meniran mempunyai rasa agak asam dan bersifat sejuk. Beberapa senyawa zat aktif yang terkandung dalam Meniran di antaranya saponin, flavonoid, filantin, hipofilantin, kalium, damar, dan tanin. Filantin dan hipofilantin berfungsi untuk melindungi sel hati dari zat toksik (hepatoprotector). Efek farmakologis meniran di antaranya diuretik, antiradang,

antipiretik, antibakteri, antitusif, antivirus dan sebagai immunostimulan (Hariana Arief, 2013).

Sirih Merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman yang bersifat antiseptik seperti Sirih Hijau, misalnya dapat digunakan sebagai obat kumur, pembersih kewanitaan, dan obat untuk radang mata. Khasiat Sirih Merah itu berasal dari sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya antara lain alkaloid, flavonoid, plevenolad, tanin dan minyak atsiri. Alkaloid bersifat sebagai detoksifikan yang dapat menetralsir racun. Flavonoid dan plevenolad bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi. Tanin memiliki kemampuan dalam mengikat dan mengendapkan protein serta sebagai antibakteri (Yusrini & Aditya, 2014).

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan yang banyak terjadi di dunia, terutama di Indonesia yang kawasan beriklim tropis yang dapat menyebabkan berbagai penyakit dan kematian (Aziz, 2015). Insidensi infeksi apapun meningkat dan menurun seiring dengan perubahan imunitas populasi pejamu dan akibat perubahan virulensi patogen. Secara definisi infeksi adalah peristiwa masuk dan penggandaan mikroorganisme (agen) di dalam tubuh pejamu (host), sedangkan penyakit infeksi merupakan manifestasi klinik bila terjadi kerusakan jaringan atau fungsi bila reaksi radang atau imun pejamu terpanggil (Irianto, 2013).

Tempat masuk bakteri patogen ke dalam tubuh yang paling sering adalah daerah pertemuan membran mukosa dengan kulit. Saluran pernafasan (saluran atas dan bawah), saluran pencernaan (terutama mulut), genital dan saluran kemih.

Daerah abnormal membran mukosa dan kulit (misalnya luka terbuka, luka bakar, dan luka lainnya) juga sering menjadi tempat masuknya bakteri, kulit dan membran mukosa yang normal memberikan pertahanan primer terhadap infeksi. Untuk menimbulkan penyakit, patogen harus menembus pertahanan ini (Jawetz *et al*, 2012).

Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Salah satu contoh bakteri penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Radji, 2010).

Pseudomonas aeruginosa adalah jenis bakteri patogen oportunistik. Organisme ini merupakan basilus Gram-negatif yang motil dan hidup dalam suasana aerob. Bakteri ini terdapat di mana-mana pada lingkungan, tetapi jarang terdapat pada flora orang yang sehat. Jumlah pembawa meningkat dengan perawatan inap di rumah sakit. Lingkungan yang lembab merupakan tempat hidup *Pseudomonas aeruginosa*, seperti bak cuci, keran air, dan desinfektan yang digunakan lebih dari 24 jam (Irianto, 2013).

Pseudomonas aeruginosa merupakan penyebab penyakit infeksi pneumonia nosokomial dan luka bernanah menimbulkan pus hijau kebiruan. Penyakit yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dimulai dengan penempelan dan kolonisasi bakteri ini pada jaringan inang. Bakteri ini menggunakan fili untuk menempel pada permukaan inang (Jawetz *et al*, 2012).

Penanggulangan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan cara menggunakan pengobatan antibiotik. Antibiotik adalah senyawa yang dihasilkan

oleh berbagai jenis mikroorganisme (bakteri, fungi, aktinomisetes) yang menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Antibiotik telah berhasil dikembangkan dan diidentifikasi sehingga dapat dimanfaatkan dalam terapi penyakit infeksi. Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan kuinolon. Siprofloksasin adalah salah satu obat antibiotik untuk penanganan terhadap infeksi *Pseudomonas aeruginosa* (Hardman & Limbird, 2012).

Semakin luasnya penggunaan antibiotik, menimbulkan masalah baru yaitu meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Meningkatnya kejadian resistensi bakteri terhadap antibiotik yang telah ada, khususnya resistensi *Pseudomonas aeruginosa* harus diimbangi dengan penemuan obat baru. Hal ini untuk mendorong ditemukannya produk alternatif pengganti yang lebih efektif, paten, murah, mudah diperoleh dan memiliki efek samping yang lebih kecil sehingga resistensi bisa diatasi.

Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik adalah kombinasi produk tanaman alam atau tanaman obat tradisional (Jayaraman *et al*, 2012). Banyak sekali tanaman obat yang telah digunakan oleh masyarakat secara tradisional untuk mengobati penyakit infeksi. Salah satu tanaman obat tersebut adalah Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*).

Penelitian Muhimmah Rohmatul R. (2014) hasil penelitian pada Meniran Merah menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dengan adanya zona bening dengan nilai daya hambat 6,3 mm pada konsentrasi 6,25 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik Meniran Merah mempunyai efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dari hasil skrining

fitokimia yang telah dilakukan ekstrak etanolik Meniran Merah mengandung senyawa kimia yaitu flavonoid, saponin, triterpenoid/steroid dan polifenol yang diduga memberikan efek antibakteri tersebut.

Penelitian Septiana Rina S. (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etanolik, fraksi heksana, fraksi etil asetat dan fraksi etanolik Sirih Merah (*Piper crocatum*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Pada bakteri *P. aeruginosa* didapatkan hasil uji daya hambat konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%, masing-masing sebesar 11,64 mm, 8,27 mm, 8,00 mm, dan 7,62 mm. Golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanolik adalah senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, steroid, alkaloid, antrakuinon, asam lemak dan terpenoid.

Salah satu khasiat Meniran Merah dan Sirih Merah adalah antibakteri. Meniran Merah sebagai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif belum pernah digali dan kombinasi dari dua tanaman Meniran Merah dan Sirih Merah belum pernah dilakukan, maka menarik untuk diteliti aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi. Metode difusi dilakukan dengan mengamati diameter daerah hambatan pertumbuhan kuman. Metode ini dilakukan dengan cara menanam kuman pada media agar padat *Mueller Hinton* dengan menggunakan cakram (disc) dengan konsentrasi tertentu.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?
2. Manakah antara ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?
3. Apakah kombinasi ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) memiliki efek sinergis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853?

C. Tujuan Penelitian

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

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri yang paling aktif dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 antara ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1).

3. Mengetahui kombinasi ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) yang memiliki efek sinergis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Menambah wawasan pada bidang mikrobiologi khususnya pemeriksaan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Pengembangan ilmu pengetahuan dalam pemanfaatan Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan sebagai antibakteri guna peningkatan pelayanan kesehatan masyarakat khususnya dibidang obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Sirih Merah merupakan tanaman yang dikenal sebagai obat dan banyak tumbuh di Indonesia. Bagian dari tanaman sirih merah yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daun. Daun Sirih Merah telah diketahui memiliki berbagai khasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya penyakit pada rongga mulut, gatal-gatal, keputihan, batuk, dan penyakit pada mata (Ma'rifah 2012).

1. Klasifikasi Tanaman

Menurut (Manoi, 2007) tanaman Sirih Merah merupakan familia Piperaceae. Kedudukan tanaman Sirih Merah dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper crocatum</i> (Ruiz & Pav)

2. Deskripsi Tanaman

Sirih Merah (*Piper crocatum*) termasuk dalam familia Piperaceae, tumbuh merambat dipagar atau pohon dengan bentuk daun menyerupai hati dan

bertangkai, yang tumbuh berselang-seling dari batangnya serta penampakan daun yang berwarna merah keperakan serta mengkilap. Sirih Merah mengandung senyawa kimia yaitu tanin, saponin, flavonoid dan alkaloid (Agoes, 2010).

Sirih Merah yaitu selain daunnya yang berwarna merah keperakan, jika daunnya disobek maka akan berlendir serta aromanya lebih wangi. Tanaman ini tumbuh baik pada setiap jenis tanah dan tidak susah dalam pemeliharaannya. Selama ini umumnya sirih merah tumbuh tanpa pemupukan. (Ma'rifah, 2012). Sirih Merah dapat tumbuh dengan subur di daerah pegunungan. Apabila tumbuh di daerah yang panas dengan sinar matahari langsung, batangnya cepat mengering. Selain itu warna daunnya akan pudar. Senyawa kimia yang terkandung pada Sirih Merah khasiatnya terletak dalam warna merah daunnya (Gunawan, 2010). Sirih merah dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Sirih Merah (Data Primer)

3. Kandungan dan manfaat tanaman

Sirih Merah banyak terdapat kandungan zat atau senyawa kimia yang memiliki manfaat yang sangat luas sebagai bahan obat, kandungan zat antara lain minyak atsiri, kavicol, hidrosikavicol, kavibetol, karvakrol, eugenol, allylprokatekol, cineole, kadimen estragol, p-cymene, caryofelen, terpenena dan fanil propoda. Kandungan kimia karvakrol bersifat desinfektan dan anti jamur, sehingga dapat digunakan untuk obat antiseptik pada bau mulut dan keputihan, kandungan kimia eugenol bisa digunakan untuk mengurangi rasa sakit, dan

kandungan kimia tanin bisa digunakan untuk mengobati sakit perut (Agoes, 2010).

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

Meniran merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah tropis yang tumbuh liar di tempat yang lembab dan berbatu, serta tumbuh di hutan, ladang, kebun-kebun maupun pekarangan halaman rumah, umumnya tanaman ini tidak dipelihara karena dianggap tumbuhan rumput biasa, tanaman ini tumbuh subur ditempat-tempat yang lembab sampai ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut pada dataran rendah (Haryanto, 2012).

1. Klasifikasi tanaman

Menurut Kardinan dan Kusuma (2004) Berdasarkan sistem taksonomi, tanaman Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Phyllanthus</i>
Spesies	: <i>Phyllanthus urinaria</i> Linn.

2. Deskripsi tanaman

Tumbuhan semusim, tumbuh tegak, tinggi 30-50 cm, bercabang-cabang. Batang berwarna hijau pucat (*P. niruri*) atau hijau kemerahan (*P. urinaria*).

Meniran merah memiliki batang merah coklat. Setiap cabang terdiri dari 7-13 helai daun. Warna daun hijau coklat. Ukurannya 0,5-2cm x 1-8 mm, buah bertekstur kasar, bulat dengan diameter 3 mm, kepala sari Meniran Merah yang sudah matang akan pecah secara melintang (Agus & Fauzi, 2004).



Gambar 2. Meniran Merah (Data primer)

3. Kandungan dan manfaat tanaman

Di Indonesia, Meniran telah digunakan secara turun-temurun dan dipercaya dapat menyembuhkan penyakit malaria, sariawan, mencret, dan nyeri ginjal. Di Thailand, Meniran dimanfaatkan untuk mengobati demam dan sebagai deuretik. Di India Meniran dijadikan dalam pengobatan tradisional yaitu dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit kuning, diabetes, kencing nanah, gangguan menstruasi, serta gangguan pada kulit seperti bengkak dan gatal-gatal. Hal ini dikarenakan daun Meniran yang mengandung senyawa-senyawa antibakteri seperti filantin, nirantin, hipofilantin dan nirtetralin (Sulaksana & Jayusman, 2004).

Menurut (Puspaningtyas, 2013) Meniran dipercaya dapat membantu pengobatan penyakit kuning (hepatitis), batu ginjal, malaria, demam, ayan, batuk, mengurangi haid yang berlebihan, mengatasi disentri, rabun senja, susah kencing

disertai sakit pinggang, luka bakar, luka koreng dan jerawat. Kemampuan tersebut disebabkan adanya kandungan antioksidan dan antimikroba dalam meniran.

Meniran juga mempunyai manfaat sebagai imunostimulan yang dapat memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu. Imunomodulator digunakan untuk pasien dengan gangguan imunitas, antara lain pada kasus keganasan HIV/AIDS, malnutrisi, dan alergi (Sjahrurachman, 2004).

Meniran banyak mengandung kalium dan zat filantik. Kandungan utama meniran adalah triterpenoid, flavonoid, tanin, alkaloid dan asam fenolat (Sulaksana & Jayusman, 2004).

C. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah suatu bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, pada umumnya bahan yang digunakan berupa bahan yang telah mengalami proses pengeringan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Herbie, 2015).

Simplisia nabati adalah simplisia tanaman utuh atau bagian tanaman atau eksudat tanaman atau gabungan antar ketiganya. Eksudat tanaman merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah simplisia hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia mineral atau pelikan yaitu simplisia bahan mineral atau pelikan yang belum diolah atau

telah diolah dengan cara sederhana dan belum menjadi bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga (Herbie, 2015).

2. Pengumpulan Simplisia

Simplisia berdasarkan bahan bakunya biasa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Tanaman liar merupakan tanaman yang tumbuh sendiri di hutan, pagar-pagar, pekarangan, atau di tempat-tempat lain, sedangkan tanaman yang dibudidayakan merupakan tanaman yang sengaja ditanam untuk menghasilkan atau memproduksi simplisia. Simplisia yang berasal dari tanaman liar mutunya tidak tetap, karena tanaman liar umumnya kurang baik dijadikan sumber simplisia dibandingkan dengan tumbuhan yang dibudidayakan (Agoes, 2009).

3. Pencucian dan Pengeringan

Proses pencucian dilakukan menggunakan air bersih seperti air sumur, PDAM, atau air dari mata air. Simplisia mengandung zat yang mudah larut dalam air mengalir, dicuci dalam waktu yang singkat. Sayur-mayur satu kali pencucian, dapat menghilangkan lebih kurang 25% jumlah mikroba awal, 3 kali pencucian jumlah mikroba tertinggal 47% dari jumlah mikroba awal. Jadi sangat penting sekali dalam memperhatikan kualitas air pencucian yang digunakan. Bakteri yang umum terdapat dalam air adalah *Pseudomonas*, *Proteus*, *Mikrococcus*, *Basillus*, *Streptococcus*, *Entero bacter*, dan *Escherichia* pada simplisia akar, batang atau buah. Untuk mengurangi jumlah mikroba awal dapat dilakukan pengupasan kulit luar (Agoes, 2009).

Proses pengeringan bertujuan agar mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Penurunan kadar air dapat menghentikan reaksi enzimatik sehingga dapat dicegah terjadinya penurunan mutu atau perusakan simplisia. Suhu pengeringan bergantung pada simplisia dan cara pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan antara suhu 30°C-90°C (terbaik 60°C). Jika menguap, pengeringan dilakukan pada suhu serendah mungkin, misalnya pada suhu 30°C-45°C atau dengan cara pengeringan vakum (Agoes, 2009).

D. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan bahan dari campurannya menggunakan pelarut. Berbagai pelarut dapat digunakan, tetapi jenis pelarut toksik harus dihindari. Ekstraksi tanaman obat merupakan pemisahan secara kimia atau fisika suatu atau sejumlah bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat (Agoes, 2009).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengestraksi (menstruum). Ekstrak yang diperoleh sesudah pemisahan cairan dari residu tanaman obat dinamakan *micella*. *Micella* ini dapat diubah menjadi bentuk obat siap pakai, seperti ekstrak cair dan tinktura atau sebagai produk atau bahan antara yang selanjutnya dapat diproses menjadi ekstrak kering (Agoes, 2009).

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

3. Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan proses pengadukan atau pengocokkan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Prinsip metode ini adalah pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik dilakukan dengan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat pertama dan seterusnya (Depkes, 2000).

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

Kerugian dari maserasi ini adalah pelarut yang digunakan cukup banyak, memakan banyak waktu, dan kemungkinan besar beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit hilang diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

4. Pelarut

Pemilihan pelarut juga harus mempertimbangkan beberapa factor yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

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

Sebagian besar etanol dapat mengekstrak senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia seperti alkaloid, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antraknon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, sedangkan lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut (Manawan *et al*, 2014). Pelarut etanol menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik polar, semi polar maupun non polar (Iswanti, 2009).

E. Tinjauan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas dan biasanya ditemukan pada lingkungan yang lembap di rumah sakit. Bakteri tersebut membentuk koloni yang bersifat saprofit, pada manusia yang sehat, tetapi menyebabkan penyakit pada manusia dengan pertahanan tubuh yang tidak adekuat. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik dan merupakan patogen nosokomial yang penting (Jawetz *et al*, 2012).

1. Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Menurut (Garrity, 2004) klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Classis	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Familia	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2. Morfologi

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri berbentuk batang dan motil, berukuran sekitar 0,6 x 2 μm . Bakteri ini bersifat Gram-negatif dan tampak dalam bentuk tunggal, berpasangan dan kadang-kadang rantai pendek. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri obligat aerob yang mudah tumbuh pada berbagai medium kultur, kadang-kadang menghasilkan aroma yang manis atau berbau, seperti anggur atau seperti jagung taco. Beberapa galur menghemolisis darah. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni yang bundar dan licin dengan warna kehijauan yang berfluoresensi. Bakteri ini sering menghasilkan pigmen kebiruan tak berfluoresensi, piosianin yang berdifusi ke dalam agar (Jawetz *et al*, 2012).

Pseudomonas aeruginosa sangat sering dihubungkan dengan penyakit yang ditularkan secara nosokomial pada manusia, yaitu infeksi yang didapat di rumah sakit. Bakteri ini sering diisolasi dari penderita luka dan luka bakar yang

berat. Selain dapat menyebabkan infeksi pada kulit, mata dan telinga, *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi pada saluran napas bagian bawah, saluran kemih dan organ lainnya (Radji, 2010).

Pewarnaan Gram Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Pseudomonas aeruginosa* pada pewarnaan Gram (Todar, 2008)

3. Struktur Antigen

Pili (fimbriae) menjulur dari permukaan sel dan membantu perlekatan ke sel epitel pejamu. Eksopolisakarida menyebabkan gambaran koloni yang mukoid pada kultur dari pasien CF. Lipopolisakarida yang terdapat dalam berbagai imunotipe, berperan pada banyak sifat endotoksik organisme tersebut. Penentuan tipe *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilakukan dengan menentukan imunotipe lipopolisakarida dan dengan uji sensitivitas terhadap piosin (bakteriosin). Isolasi *Pseudomonas aeruginosa* dari infeksi klinis menghasilkan enzim ekstraselular, meliputi elastase, protease, dan dua hemolisin: fosfolipase C labil-panas dan glikolipid stabil-panas (Jawetz *et al*, 2012).

4. Patogenesis

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan protease dan sitotoksin misalnya eksotoksin A dan S, hemolisin, dan elastase. Isolat dari pasien fibrosis kistik

menghasilkan alginat polisakarida. Hal ini dapat terbentuknya mikrokoloni organisme terlindung dari opsonisasi, fagositosis, dan antibiotik. Alginat, pili, dan protein membran luar memerantarai penempelan. Produksi alginat berhubungan dengan kerentanan yang berlebihan terhadap antibiotik, defisiensi LPS, non-motilitas dan penurunan produksi eksotoksin (Irianto, 2013).

5. Gambaran Klinis

Infeksi kornea dapat memburuk dengan cepat, demikian pula otitis eksterna akibat *Pseudomonas*. Luka bakar dapat terkoloni, menyebabkan septikemia sekunder. Septikemia dengan mortalitas tinggi merupakan ancaman tersendiri bagi pasien neutropenia. Beberapa kasus menunjukkan komplikasi kulit yang destruktif, ektima gangrenosum, osteomyelitis, Arthritis septic, dan meningitis dapat muncul, meningitis biasanya terjadi setelah pembendahan saraf. Infeksi kronik pada pasien fibrosis kistik menyebabkan kemunduran fungsi paru secara progresif (Irianto, 2013).

Penyakit infeksi *Pseudomonas aeruginosa* :

a. Infeksi pada luka bakar

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri oportunistik yang sering ditemukan pada penderita luka dan luka bakar, khususnya luka bakar yang sangat parah. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat berkembang menjadi infeksi sistemik di berbagai organ tubuh lain, terutama pada saat daya tubuh menurun atau pada saat penderita mengidap penyakit lain, seperti kanker AIDS, diabetes, neutropenia, atau menderita luka bakar yang parah (Radji, 2010).

b. Infeksi pada mata

Pseudomonas aeruginosa dapat berkolonisasi pada jaringan epitel kornea mata, terutama ketika sistem kekebalan tubuh penderita menurun, invasi bakteri akan terjadi. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan kornea dan dapat menyebabkan kebutaan (Radji, 2010).

6. Epidemiologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen nosokomial, dan metode pengendalian infeksi bakteri ini serupa dengan metode pengendalian patogen nosokomial lainnya. *Pseudomonas* tumbuh subur di lingkungan yang lembap antara lain tempat bak cuci, bak air, pancuran air, bak mandi air panas (*hot tub*), dan tempat-tempat basah lainnya. Untuk tujuan epidemiologis, tipe galur dapat ditentukan dengan menggunakan teknik molekuler (Jawetz *et al*, 2012).

7. Pengobatan

Pengobatan dilakukan dengan pemberian aminoglikosida, karbapenem, ureidopenisilin, sefalosporin dengan spectrum yang diperluas, atau fluorokuinolon. Organisme dapat menunjukkan resistensi terhadap banyak obat (Irianto, 2013).

8. Pencegahan

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sangat penting diperhatikan karena merupakan bakteri utama dalam infeksi nosokomial supaya penyebarannya tidak semakin meluas. Sterilisasi alat-alat medis dan alat bantu medis hendaknya diperhatikan dan lingkungan rumah sakit dijaga agar tetap bersih dan higienis (Radji, 2010).

F. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat membasmi bakteri, khususnya yang merugikan manusia. Antibakteri ada yang bersifat bakteristatik, yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan ada yang bersifat bakterisid, yaitu mampu mematikan bakteri (Yulita K., dkk, 2012).

Menurut (Jawetz *et al*, 2012) tentang mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu :

1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis.

2. Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh selaput yang disebut membran sel yang mempunyai permeabilitas selektif, membran ini tersusun atas fosfolipid dan protein. Membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat antar sel dengan lingkungan luar, melakukan pengangkutan zat-zat yang diperlukan aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Proses pengangkutan zat-zat yang diperlukan baik ke dalam maupun keluar sel dimungkinkan karena di dalam membran sel terdapat enzim protein untuk mensintesis peptidoglikan komponen membran luar. Dengan rusaknya dinding sel, bakteri secara otomatis akan berpengaruh pada membran sitoplasma, beberapa antibiotik dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel, bahan-bahan ini

akan menyerang dan merusak membran sel sehingga fungsi semi permeabilitas membrane mengalami kerusakan. Kerusakan pada membrane sel ini akan mengakibatkan terhambatnya sel atau matinya sel.

3. Mengganggu metabolisme mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari *Para Amino Benzoic Acid* (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba apabila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi dan bisa menyebabkan bakteri mati. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamide dan trimetoprim.

4. Menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri

Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini bersifat toksik kurang selektif, karena antibakteri ini bersifat sitotoksik yang masih dapat diterima sebagai antibakteri. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain asam nalidiksat dan golongan kuinolon.

5. Menghambat sintesis protein sel bakteri

Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein yang abnormal dan fungsional bagi sel mikroba. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini yaitu aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, klorafenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin.

G. Media

Media adalah bahan atau campuran bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditumbuhi mikroba yang dimaksud supaya tidak terkontaminasi mikroba lain. Dalam laboratorium, sterilisasi media menggunakan *autoclave* yang menggunakan tekanan yang disebabkan uap air, sehingga suhu dapat mencapai 121°C. Sterilisasi dapat terlaksana bila mencapai tekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 15 menit. Media biakan yang telah disterilkan harus diberi penutup agar tidak dicemari oleh mikroorganisme yang terdapat disekelilingnya. Berdasarkan konsistensinya media dibedakan menjadi :

1. Media cair untuk menumbuhkan dan membiakkan mikroba misalnya media *Laktosa Broth*, *Nutrient Broth* dan lain sebagainya.
2. Media padat untuk menumbuhkan mikroba pada permukaannya sehingga membentuk koloni yang dapat dilihat, dihitung atau diisolasi misalnya *nutrient agar*, *muller hinton agar* dan lain-lain.
3. Media setengah padat yang mempunyai konsistensi di antara media cair dan media padat.

(Rangkuti, 2002)

H. Pemeriksaan Aktivitas Antimikroba

Penentuan kerentanan patogen bakteri terhadap obat-obatan antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu metode utama yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi dan difusi tersebut dapat dilakukan untuk memperkirakan baik potensi antibiotik dalam sampel maupun kerentanan mikroorganisme dengan

menggunakan organisme uji standar yang tepat dan sampel obat tertentu untuk perbandingan. Metode-metode utama yang dapat digunakan adalah :

1. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat zat antimikroba. Medium akhirnya diinokulasi dengan bakteri yang diuji. Tujuan akhirnya adalah mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Uji kerentanan dilusi agar membutuhkan waktu yang banyak dan kegunaannya terbatas pada ketentuan keadaan tertentu. (Jawetz *et al*, 2012).

2. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan di atas permukaan medium padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji, kemudian diinkubasi, diameter zona jernih inhibisi di sekitar cakram di ukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu dengan menggunakan jangka sorong (Jawetz *et al*, 2012)

Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng agar *Mueller Hinton* yang ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya yaitu terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba.

Penghambatan di sekeliling lempeng yang mengandung obat antimikroba dalam jumlah tertentu tidak menandakan sensitivitas mikroba terhadap obat dalam konsentrasi yang sama permililiter medium, darah, atau urin (Jawetz *et al*, 2012)

I. Siprofloksasin

Siprofloksasin termasuk antibiotik golongan kuinolon dan merupakan antibiotik yang paling poten untuk menghambat aktivitas mikroba yang menyebabkan infeksi. Mekanisme kerja antibiotik ini adalah dengan memasuki sel bakteri dengan cara difusi pasif melalui porin pada membran luar bakteri secara intraseluler kemudian menghambat replikasi DNA bakteri dengan cara mengganggu kerja DNA girase selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Hardman & Limbird, 2012).

Spektrum aktivitas antibakteri golongan ini meliputi bakteri gram negative yaitu *Enterobacteriaceae*, *Serratia*, *Providencia*, dan *P.aeruginosa*. Siprofloksasin terutama digunakan untuk infeksi kulit dan infeksi saluran napas bagian bawah pada penderita yang tidak dapat menggunakan antibiotik beta-laktam atau aminoglikosida misalnya terjadi reaksi alergi atau efek samping yang berat (Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Unisri 2008). Siprofloksasin memiliki aktivitas paling optimal terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

J. Efek Kombinasi Obat

Obat tradisional yang memiliki khasiat empiris yang sama (efek sinergis) banyak digunakan sekarang ini. Obat tradisional sangat bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat. Takaran, waktu dan cara penggunaan serta pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektifitas pengobatan. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relatif kecil

dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologinya lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Pramono, 2008).

Kombinasi obat adalah perpaduan dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) atau kerja sama (sinergisme) (Tan dan Raharja, 2002). Efek dari kombinasi obat ada dua (2) yaitu, antagonis adalah terjadi apabila kegiatan obat pertama dikurangi dan ditiadakan sama sekali oleh obat kedua yang memiliki khasiat farmakologi yang berlawanan. Sinergisme adalah kerjasama antara dua obat dan dikenal dua jenis yaitu Adisi (penambahan) dan Potensiasi (peningkatan potensi). Adisi adalah efek kombinasi sama dengan jumlah kegiatan masing-masing obat. Potensiasi adalah antara kedua obat yang saling memperkuat khasiatnya sehingga terjadi efek yang melebihi jumlah matematis.

K. Landasan Teori

Tumbuhan obat tradisional merupakan spesies tumbuhan yang diketahui atau dipercayai masyarakat memiliki khasiat obat dan telah digunakan sebagai bahan baku obat tradisional (Herbie, 2015). Salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah tanaman Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*).

Meniran adalah salah satu tanaman yang mempunyai khasiat menyembuhkan bebrbagai macam penyakit. Tanaman ini dapat membantu mencegah berbagai macam infeksi virus dan bakteri serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Sulaksana & Jayusman, 2004). Meniran merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) mempunyai rasa agak asam dan bersifat sejuk, zat aktif yang terkandung dalam Meniran di antaranya saponin, flavonoid, filantin, hipofilantin, kalium, damar, dan tanin (Hariana, 2013).

Sirih Merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman yang bersifat antiseptik seperti Sirih Hijau, misalnya dapat digunakan sebagai obat kumur, pembersih kewanitaan, dan obat untuk radang mata. Khasiat Sirih Merah itu berasal dari sejumlah zat aktif yang dikandungnya antara lain alkaloid, flavonoid, polevenolad, tanin dan minyak atsiri (Yusrini & Aditya, 2014).

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan yang banyak terjadi di dunia, terutama di Indonesia yang kawasan beriklim tropis yang dapat menyebabkan berbagai penyakit dan kematian (Aziz, 2015). Insidensi infeksi apapun meningkat dan menurun seiring dengan perubahan imunitas populasi pejamu dan akibat perubahan virulensi patogen (Irianto, 2013). Tempat masuk bakteri patogen ke dalam tubuh yang paling sering adalah daerah pertemuan membran mukosa dengan kulit, daerah abnormal membran mukosa dan kulit (misalnya luka terbuka, luka bakar, dan luka lainnya) juga sering menjadi tempat masuknya bakteri, kulit dan membran mukosa yang normal memberikan pertahanan primer terhadap infeksi (Jawetz *et al*, 2012).

Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya

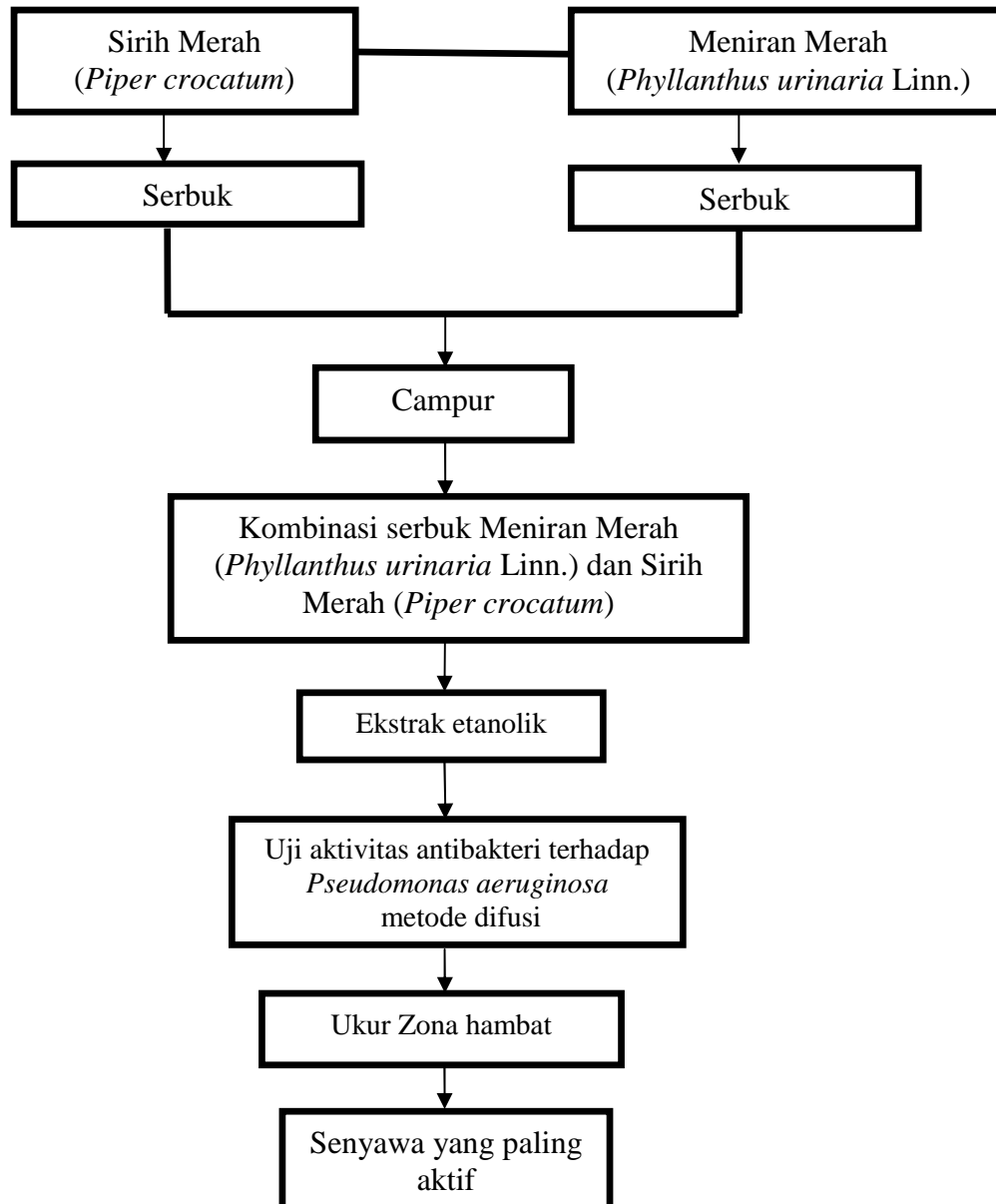
dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Salah satu contoh bakteri penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Radji, 2010).

Pseudomonas aeruginosa adalah jenis bakteri patogen oportunistik. Organisme ini merupakan basilus Gram-negatif yang motil dan hidup dalam suasana aerob. Bakteri ini terdapat di mana-mana pada lingkungan, tetapi jarang terdapat pada flora orang yang sehat (Irianto, 2013). Penanggulangan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan cara menggunakan pengobatan antibakteri atau antibiotik. Antibakteri adalah obat atau zat untuk membasmi jasad renik yang diperoleh dari sintesis atau yang berasal dari senyawa non organik.

Metode penyarian Meniran merah dan Sirih merah yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol. Senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia dapat diekstrak menggunakan etanol seperti alkaloid, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, sedangkan lemak, tanin dan saponin hanya sedikit larut (Manawan *et al*, 2014).

Pengukuran aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi. Metode difusi menggunakan cakram (disc) dengan konsentrasi tertentu dengan cara menempelkan cakram pada permukaan medium padat sesudah diolesi oleh bakteri uji lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram (disc) yang dinyatakan dalam satuan mm.

L. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 4. Kerangka pikir Penelitian

M. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Ada aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
2. Ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urunaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.).
3. Kombinasi ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) tidak memiliki efek sinergis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

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

B. Waktu dan Tempat Penelitian

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

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

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

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) yang diperoleh dari Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah dan diambil secara acak. Sirih Merah yang dipakai adalah daun Sirih Merah yang berwarna merah keperakan. Meniran

Merah yang dipakai adalah meniran merah yang bersih, segar, berwarna merah dan bebas dari penyakit.

D. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) yang didapat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

Variabel utama kedua adalah uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan ekstrak etanolik Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Variabel utama ketiga adalah uji aktivitas antibakteri kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan metode difusi yang dilihat diameter zona hambat.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh dari suatu penelitian sehingga perlu diperhatikan. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah biakan murni bakteri yang diujikan, kondisi dari laboratorium mulai dari kondisi inkas, alat dan bahan serta media yang digunakan harus steril, dan waktu inkubasi.

3. Definisi operasional variabel utama

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

Kedua, Sirih Merah adalah daun yang berwarna merah, bersih bebas dari penyakit yang diambil dari Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah.

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

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

Kelima, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah bakteri yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Surakarta.

Keenam, kombinasi 1:1 adalah ekstrak etanolik Meniran Merah sebanyak 1 bagian dan ekstrak etanolik Sirih Merah sebanyak 1 bagian dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO.

Ketujuh, kombinasi 1:2 adalah ekstrak etanolik Meniran Merah sebanyak 1 bagian dan ekstrak etanolik Sirih Merah sebanyak 2 bagian dicampurkan dan diencerkan dengan DMSO.

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

Kesembilan, uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi. Metode difusi yaitu mengukur luas daerah hambatan yaitu daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Dengan konsentrasi 50% dan 25%. Kontrol positif adalah disc antibiotik siprofloksasin dan kontrol negatif DMSO 3%.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

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

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

1.3. Alat untuk uji aktivitas antibakteri. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah inkas, Ose, cawan petri, tabung reaksi, kapas lidi steril,

lampu spiritus, pinset steril, kaca objek, *autoclave*, neraca analitis, mikroskop, penggaris, korek api, rak tabung reaksi, inkubator, erlenmeyer, dan tabung vial steril.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah Meniran Merah dan Sirih Merah.

2.2 Bahan kimia. Bahan yang digunakan pewarnaan Gram (cat kristal violet, larutan lugol iodine, aseton alcohol, dan safranin), disc antibiotik siprofloksasin, larutan standar Mc Farland 0,5, HCl 2N, CH₃COOH, H₂SO₄, pereaksi Mayer dan Dragendorf, serbuk Mg dan FeCl₃, DMSO 3%, aquadest steril, pelarut etanol 70%, asam sulfat pekat dan asam asetat.

2.3 Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2.4 Media. Media yang digunakan adalah KIA (*Kliger Iron Agar*), SIM (*Sulfida Indol Motilitas*), LIA (*Lysin Iron Agar*), Citrat Agar, PSA (*Pseudomonas Selektif Agar*), BHI (*Brain Heart Infusion*) dan MHA (*Mueller Hinton Agar*).

F. Prosedur Penelitian

1. Determinasi tanaman

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

2. Pembuatan serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah

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

3. Identifikasi serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah

3.1 Organoleptis serbuk. Identifikasi serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah secara organoleptis bentuk, warna dan bau.

3.2 Makroskopis serbuk. Identifikasi serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah dilihat dari warna dan bentuk.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah

Serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah dilakukan penetapan susut pengeringan dengan cara menimbang serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah masing-masing sebanyak 2 gram, kemudian diukur susut pengeringan serbuk dengan menggunakan alat *Moisture Balance*, ditunggu sampai berbunyi, hasil yang ditunjukkan dalam satuan persen (%). Kadar air untuk penetapan susut pengeringan serbuk tidak boleh lebih dari 10%.

5. Pembuatan serbuk kombinasi

Serbuk Meniran Merah dan serbuk Sirih Merah dikombinasikan dengan perbandingan (1:1), (1:2), (2:1). Perbandingan (1:1) dibuat dengan cara pengambilan serbuk Meniran Merah dan serbuk Sirih Merah yang ditimbang masing-masing sebanyak 50 gram. Perbandingan (1:2) ditimbang serbuk Meniran

Merah sebanyak 33 gram dan serbuk Sirih Merah 67 gram. Perbandingan (2:1) ditimbang serbuk Meniran Merah sebanyak 67 gram dan serbuk Sirih Merah sebanyak 33 gram.

6. Pembuatan ekstrak etanolik 70%

6.1. Ekstrak etanolik Meniran Merah dan Sirih Merah

Serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah masing-masing ditimbang sebanyak 100 gram dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1.000 ml pelarut etanol 70%, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrat Meniran Merah dan Sirih Merah diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak etanolik kental atau pekat.

6.2. Ekstrak etanolik kombinasi Meniran Merah dan Sirih Merah.

Kombinasi (1:1), serbuk Meniran Merah 50 gram dan serbuk Sirih Merah 50 gram. Kombinasi (1:2) serbuk Meniran Merah 33 gram dan serbuk Sirih Merah 67 gram. Kombinasi (2:1) serbuk Meniran Merah 67 gram dan serbuk Sirih Merah 33 gram, serbuk yang sudah dikombinasi, kemudian dimasukkan dalam botol coklat diisi dengan 1.000 ml pelarut etanol, kemudian direndam selama 5 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrat kombinasi diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, setelah itu hasil filtrat di oven pada suhu 40°C untuk mendapatkan hasil ekstrak etanolik kental atau pekat.

7. Penetapan persen rendemen

Penetapan persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil ekstrak etanolik pekat, kemudian hasil ekstrak etanolik pekat dibagi dengan berat serbuk Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi, kemudian dikalikan 100%.

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

8. Uji bebas etanol

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

9. Identifikasi kandungan senyawa

Identifikasi kandungan ekstrak etanolik Meniran Merah dan Sirih Merah dilakukan terhadap masing-masing ekstrak. Pengujian yang akan dilakukan yaitu pada kandungan yang menurut literatur memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Kandungan tersebut adalah alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Kandungan yang akan diuji pada ekstrak etanolik Meniran Merah dan Sirih Merah adalah alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Pengujian akan dilakukan dengan metode analisis fitokimia dengan menggunakan uji tabung.

9.1 Identifikasi alkaloid

Bahan uji dilarutkan dalam air panas lalu dipanaskan selama 15 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Dimasukan larutan A sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan 1,5 ml asam klorida 2%, larutan dibagi kedalam 2

tabung dan masing-masing sama banyak. Tabung reaksi pertama ditambah 2 tetes reagent Dragendrof, reaksi positif ditunjukkan adanya keruhan atau endapan coklat, tabung reaksi kedua ditambah 2-4 tetes larutan Mayer, reaksi positif ditunjukkan adanya endapan putih kekuningan (Alamsyah, 2006).

9.2 Identifikasi flavonoid

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

9.3 Identifikasi tanin

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

9.4 Identifikasi saponin

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

10. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (2atm). Alat-alat gelas

disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam dan alat-alat jarum Ose disterilkan dengan menggunakan api lampu spiritus.

11. Identifikasi bakteri uji

11.1 Isolasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasi pada media PSA (*Pseudomonas Selektif Agar*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penampakan membentuk koloni bulat halus dengan membentuk pigmen berwarna kehijauan (Jawetz *et al*, 2012).

11.2 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

11.2.1 Uji fisiologi biokimia

Media SIM

Cara identifikasi dengan biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara tusukan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji sulfida (-) untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, yaitu tidak terdapat warna hitam pada media, uji indol (-) yaitu terbentuk warna merah pada bagian atasnya setelah ditambahkan dengan reagen Erlich, uji motilitas (+) yaitu pertumbuhan bakteri yang menyebar pada media (Jawetz *et al*, 2012).

Media KIA

Cara identifikasi dengan biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam. identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfida. Hasil K/KS⁻ untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah bagian lereng berwarna merah ditulis K, bagian dasar berwarna merah ditulis K, sulfida negatif yaitu tidak terbentuk warna hitam pada media yang ditulis S⁻ (Jawetz *et al*, 2012).

Media LIA

Cara identifikasi dengan biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan gores, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil K/KS⁻ untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu lereng akan berwarna ungu ditulis K, dasar berwarna ungu ditulis K, dan sulfida negatif yaitu tidak terbentuknya warna hitam pada media ditulis S⁻ (Jawetz *et al*, 2012).

Media Citrat

Cara identifikasi yaitu dengan biakan bakteri diinokulasi pada media dengan cara inokulasi goresan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan Citrat sebagai sumber karbon tunggal. Hasil positif (+) untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yaitu media berwarna hijau berubah menjadi warna biru (Jawetz *et al*, 2012).

11.2.2 Identifikasi morfologi

Identifikasi yang dilakukan selanjutnya adalah pengecatan Gram. Bakteri yang dicurigai *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada pengamatan koloni, diambil satu ose suspensi biakan kemudian suspensi biakan dioleskan pada bagian atas objek glass. Sediaan dikeringkan (diuapkan) diudara atau dihangatkan jauh di atas api, kemudian lakukan fiksasi di atas api kecil tiga kali setelah itu dilakukan pengecatan. Sediaan ditetesi dengan Gram A (larutan kristal violet) \pm 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram B (lugol's iodine) \pm 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram C (aseton alcohol) \pm 1 menit kemudian dibilas, ditetesi lagi dengan Gram D (safranin) diamkan \pm 2 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Sediaan yang telah dilakukan pengecatan dilihat di mikroskop. Pada pewarnaan gram, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang (Radji, 2010).

12. Pembuatan suspensi bakteri uji

Biakan murni *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diambil dengan jarum ose steril, ditanam pada BHI (*Brain Heart Infusion*) cair dan homogenkan. kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan modifikasi Mc Farland 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

13. Pembuatan konsentrasi sampel uji

Ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) dibuat menjadi konsentrasi yaitu 50% dan 25% yang diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml dalam tabung vial. Setelah larutan sediaan uji jadi, kertas cakram direndam di dalam larutan sediaan uji selama 24 jam. Perhitungan dan pembuatan sediaan uji dapat dilihat dilampiran 19 dan 20.

14. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi

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

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

G. Teknik Pengumpulan Data

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

1. Data Primer

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

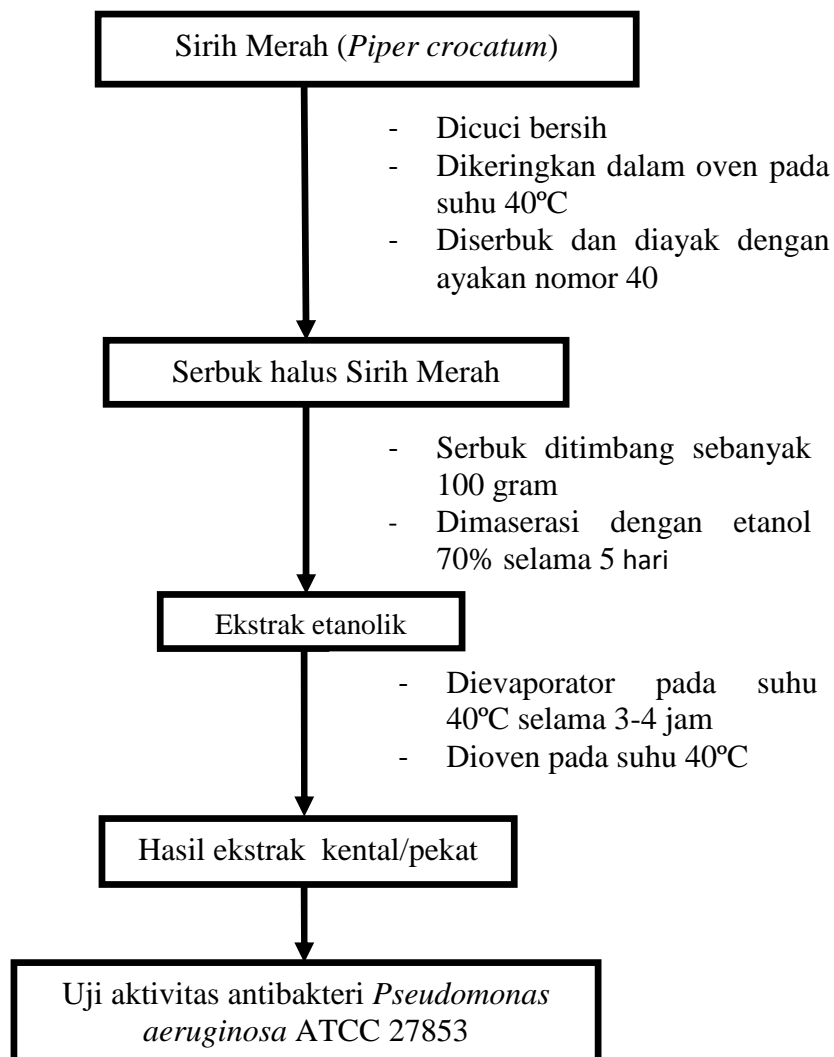
2. Data Sekunder

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

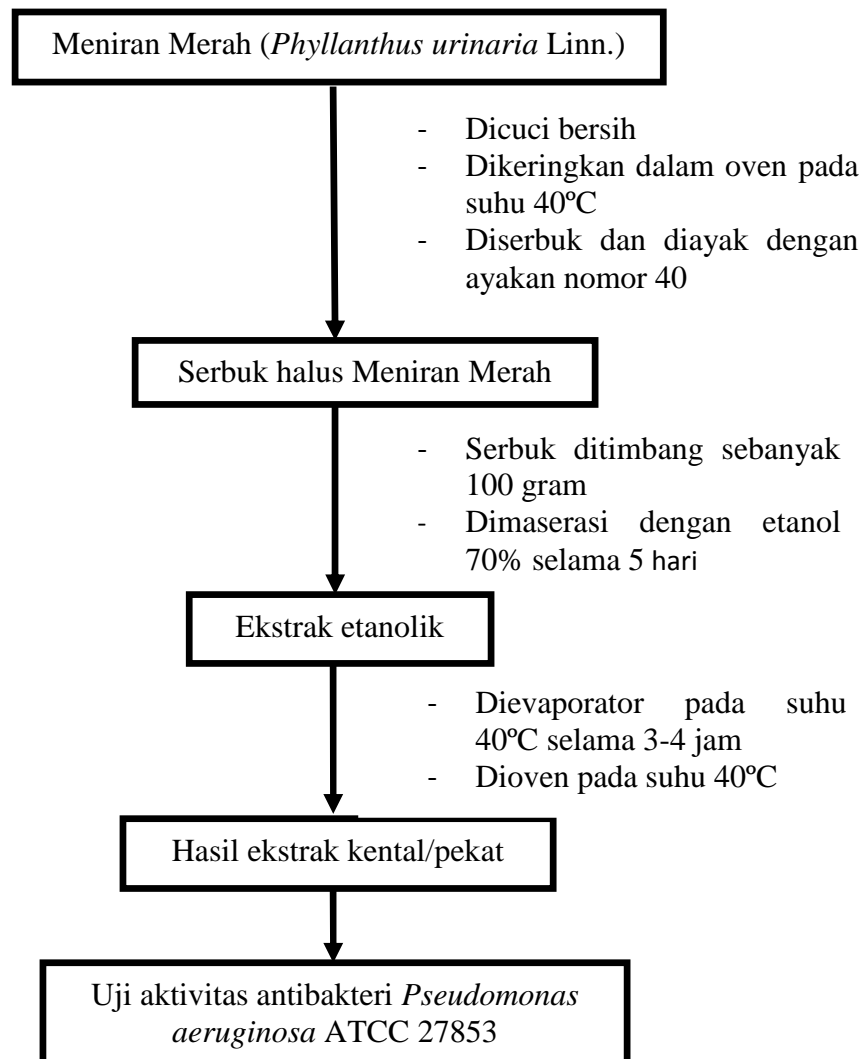
H. Teknik Analisis Data

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur data yang dilihat dari adanya daerah hambat pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling kertas cakram yang ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambat pertumbuhan bakterinya dari masing-masing zona lingkaran.

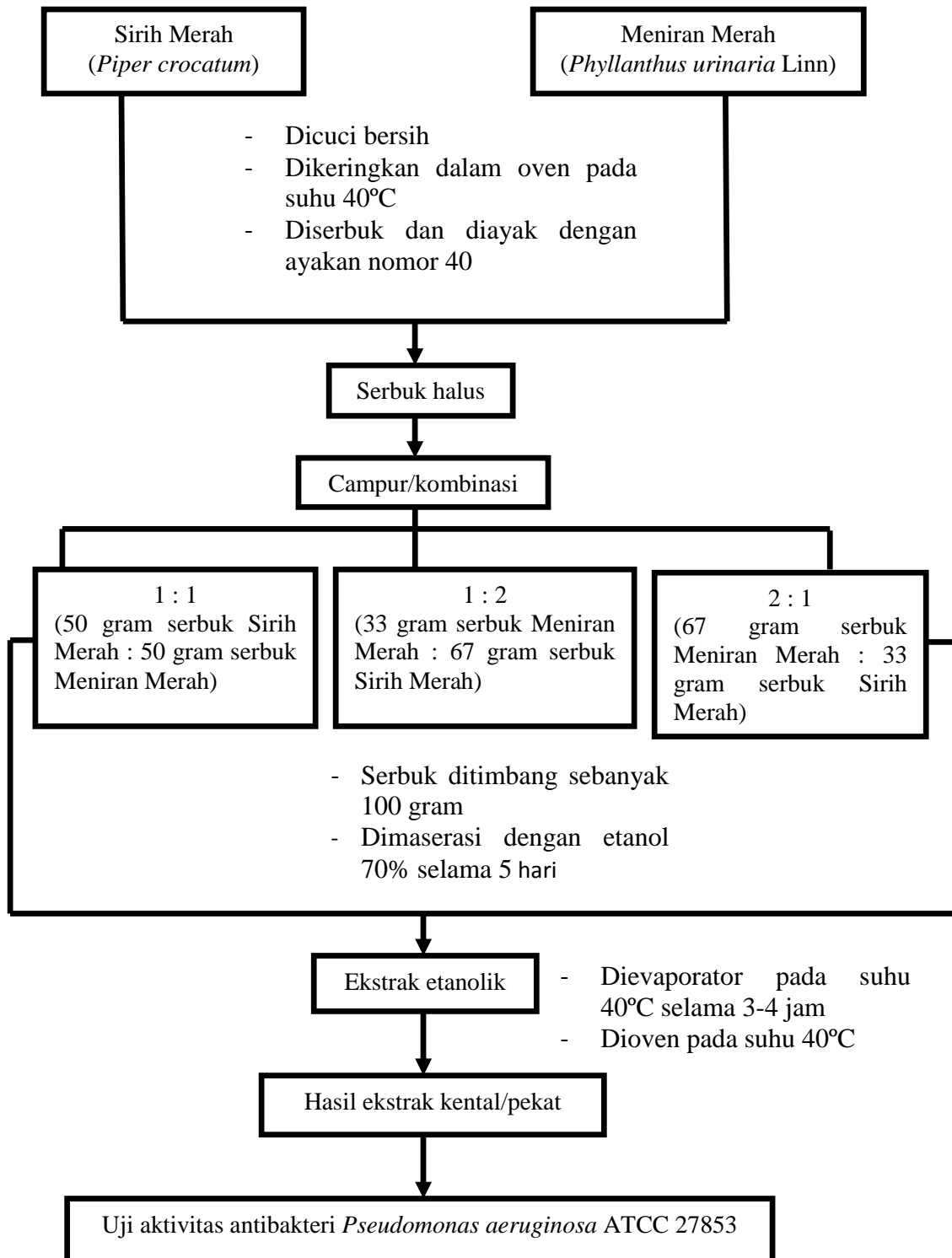
Data diperoleh diambil dari ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1), (1:2), (2:1) konsentrasi 50% dan 25% dari hasil pengujian terhadap antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang diuji secara statistik dengan Analisis Of Varian (ANOVA) dengan menggunakan *software* SPSS.



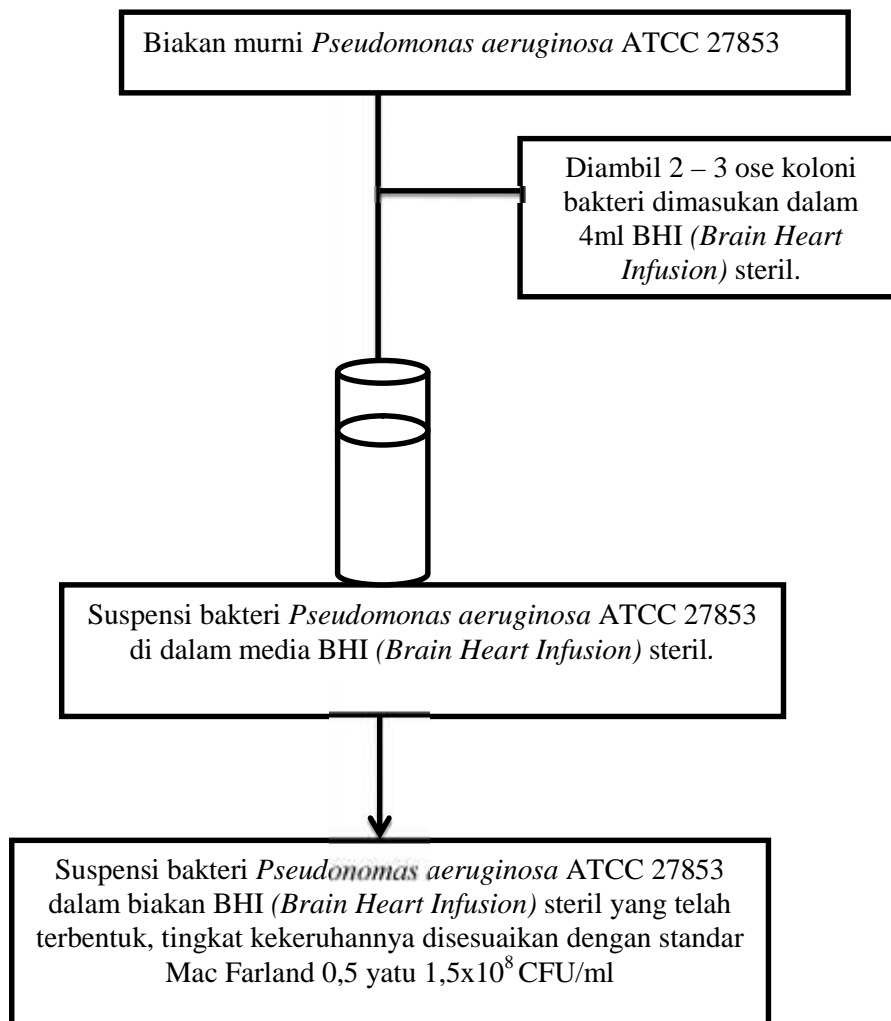
Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak etanolik Sirih Merah



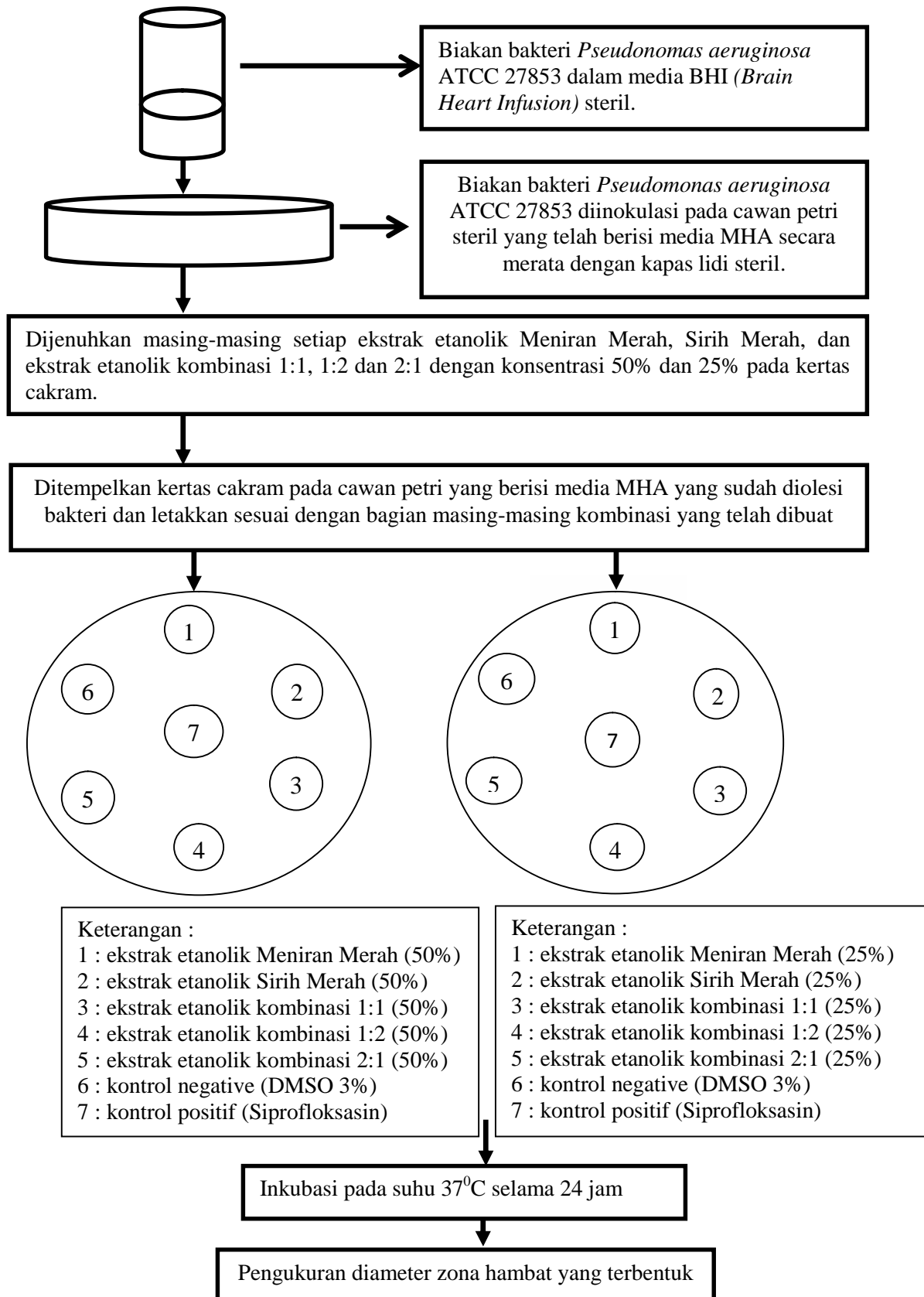
Gambar 6. Skema pembuatan ekstrak etanolik Meniran Merah



Gambar 7. Skema pembuatan ekstrak etanolik kombinasi Meniran Merah dan Sirih Merah



Gambar 8. Skema pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Gambar 9. Uji Aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

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

Determinasi tanaman Meniran Merah dilakukan di bagian Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Tujuan dari determinasi untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan untuk penelitian dengan cara mencocokkan ciri-ciri tanaman yang tercantum dalam literatur, untuk menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan dan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

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

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-
29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-
53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-

73a.....99.Euphorbiaceae

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

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

Hasil determinasi dengan keterangan surat No : 76 / UN27.9.6.4 / Lab / 2018 menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn). Surat keterangan hasil determinasi tanaman Meniran Merah dapat dilihat dalam lampiran 1.

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

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

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

Hasil determinasi dengan keterangan surat No : 75 / UN27.9.6.4 / Lab / 2018 menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum*). Surat keterangan hasil determinasi tanaman Sirih Merah dapat dilihat dalam lampiran 2.

3. Hasil pembuatan serbuk Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Pengeringan Meniran Merah dan Sirih Merah dilakukan masing-masing sebanyak 5000 gram dan 7000 gram bobot basah, kemudian dikeringkan dan didapatkan bobot kering masing-masing sebanyak 1175 gram dan 1762 gram diperoleh rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 23,5% Meniran Merah dan 25,1% Sirih Merah. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah Meniran Merah dan Sirih Merah dapat dilihat pada tabel 1 dan 2. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah Meniran Merah dan Sirih Merah dapat dilihat pada lampiran 12 dan 13.

Tabel 1. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah Meniran Merah

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

Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah Sirih Merah

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

4. Hasil Penetapan kadar air serbuk Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Penetapan kadar air serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah dilakukan menggunakan alat *Moisture Balance*. Persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10%. Kadar air yang terlalu tinggi tidak diperbolehkan karena dapat mempermudah jamur dan mikroorganisme lainnya tumbuh serta dapat menyebabkan perubahan kimiawi yang dapat merusak dan menurunkan mutu serbuk (Katno *et al*, 2008). Hasil penetapan kadar air serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah dapat dilihat pada tabel 3 dan 4. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah dapat dilihat pada lampiran 14 dan 15.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk Meniran Merah

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

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk Sirih Merah

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

Hasil rata-rata persentase penetapan kadar air serbuk Meniran Merah sebesar 8,66% dan Sirih Merah sebesar 7,83%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu kurang dari 10%.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1)

Maserasi merupakan suatu penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairn penyari. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Serbuk Meniran Merah dan Sirih Merah masing-masing sebanyak 100 gram. Kombinasi (1:1) yang sudah tercampur serbuk Meniran Merah 50 gram, Sirih Merah 50 gram. Kombinasi (1:2) yang sudah tercampur serbuk Sirih Merah 67 gram, Meniran Merah 33 gram. Kombinasi (2:1) yang sudah tercampur serbuk Meniran Merah 67 gram, Sirih Merah 33 gram. Kemudian masing-masing serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna coklat, direndam dengan etanol 70% sebanyak 1.000 ml, ditutup rapat dan direndam selama 5 hari dengan sesekali digojog, kemudian disaring. Ampas kemudian dicuci kembali dengan etanol 70% secukupnya. Filtrat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan dioven, sehingga didapat ekstrak kental Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1). Hasil persen rendemen ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) dapat dilihat pada tabel 5, 6 dan 7. Perhitungan persen rendemen ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi dapat dilihat di lampiran 16,17 dan 18.

Tabel 5. Hasil persen rendemen ekstrak etanolik Meniran Merah

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

Tabel 6. Hasil persen rendemen ekstrak etanolik Sirih Merah

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

Tabel 7. Hasil persen rendemen ekstrak etanolik kombinasi (1:1) (1:2) dan (2:1)

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

6. Uji bebas etanol

Pengujian bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ekstrak yang dihasilkan sudah bebas etanol 70% atau belum. Hasil pengujian bebas etanol dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji bebas etanol

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

Hasil pengujian menunjukkan kelima ekstrak tidak terbentuk bau ester yang khas sehingga kelima ekstrak etanolik dapat dinyatakan sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70%. Tujuan dilakukan uji bebas etanol adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dikarenakan etanol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

7. Hasil identifikasi kandungan senyawa

Identifikasi kandungan senyawa merupakan suatu pengujian pendahuluan terhadap ekstrak untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalamnya sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut. Pengujian kandungan kimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna dengan tabung reaksi, kemudian diamati perubahan yang terjadi, hasil positif akan memberikan tanda berupa warna untuk setiap pengujiannya. Kandungan yang diujikan terhadap ekstrak etanolik dari Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) meliputi flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Hasil pengujian kandungan ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji fitokimia ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1)

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

Keterangan : (+) : memiliki senyawa

(-) : Tidak memiliki senyawa

Berdasarkan tabel 9 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dimana senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas antibakteri.

8. Hasil identifikasi bakteri uji dan identifikasi uji biokimia

8.1 Hasil identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 diisolasi pada medium *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) pada suhu 37°C selama 24 jam. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan penampakan koloninya yang berwarna hijau kebiruan yang dihasilkan pigmen *pyocyanine*, koloni terbentuk bulat dan halus. Foto hasil indentifikasi bakteri uji dengan medium selektif dapat dilihat di gambar 10 dibawah ini.



Gambar 10. Isolasi *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 penggoresan media *Pseudomonas Selektif Agar*

9. Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia

Tabel 10. Hasil identifikasi uji biokimia pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Pengujian	Hasil	Pustaka
KIA	K/KS ⁻	K/ KS ⁻
SIM	- ++	- ++
LIA	K/ KS ⁻	K/ KS ⁻
Citrat	+	+

Keterangan :

SIM = Sulfida Indol Motility

KIA = Kligler Iron Agar

LIA = Lysin Iron Agar

+ = Reaksi Positif

- = Reaksi Negatif

A = Acid (asam)

K = Alkali (basa)

S = Sulfida

G = Gas

N = Netral

Hasil pada medium KIA bagian lereng berwarna merah (K), bagian dasar berwarna (K) dan sulfida negatif karena tidak menghasilkan warna hitam. Hasil

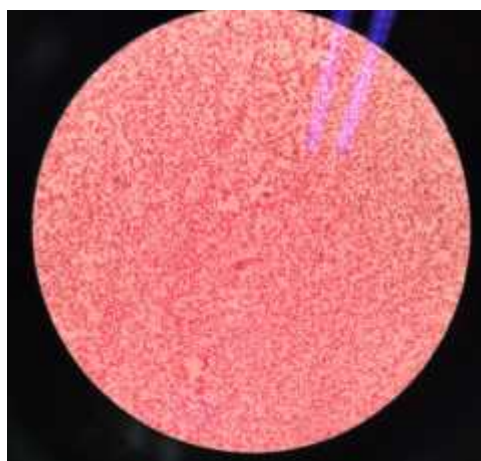
pengujian pada SIM menunjukkan sulfida (-) karena medium kuning, indol (+) karena terbentuk cincin merah pada media setelah ditambah reagent Erlich 3 tetes, motilitas (+) karena pertumbuhan bakteri yang menyebar. Medium LIA diperoleh hasil bagian lereng media berwarna ungu (K), bagian dasar berwarna ungu (K) dan sulfida negatif karena *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tidak mampu mendeaminasi lisin dan tidak menghasilkan H₂S . Medium Citrat positif berwarna biru, artinya *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menggunakan Citrat sebagai sumber tunggal. Foto hasil pengujian biokimia dapat dilihat di gambar 11 dibawah ini.



Gambar 11. Identifikasi bakteri uji *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 secara biokimia berdasarkan hasil pengamatan

Hasil uji identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan pewarnaan Gram. Hasil identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan pewarnaan Gram adalah bakteri dengan sel berbentuk batang, berwarna merah yang dikarenakan kehilangan warna kristal violet ketika dicuci dengan alkohol dan sewaktu diberi warna merah safranin, tampak berwarna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan Gram negatif, sedangkan bakteri Gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan Gram tahan

terhadap alkohol, sehingga tetap mempertahankan zat warna Kristal violet sehingga tampak biru atau ungu tua. Perbedaan warna bakteri Gram positif dan Gram negatif dikarenakan bakteri Gram positif mempunyai kandungan peptidoglikan dinding selnya lebih banyak dari pada lipid, dan sebaliknya pada bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipid dinding sel yang lebih banyak daripada peptidoglikan (Kusnadi, 2009). Hasil pengecatan Gram dapat dilihat di gambar 12 dibawah ini.



Gambar 12. Pengecatan gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 berdasarkan hasil pengamatan

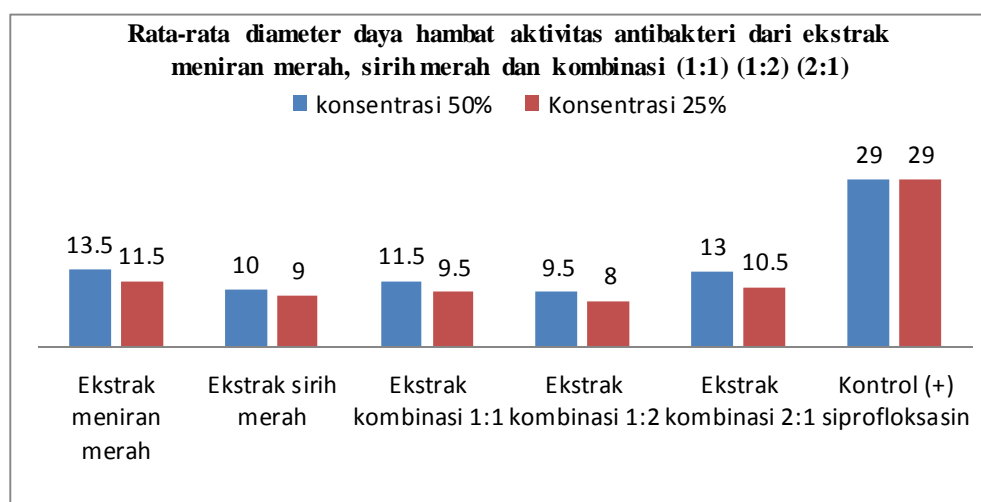
10. Hasil pengujian antibakteri ekstrak etanolik Meniran merah, Sirih merah, dan kombinasi metode difusi.

Metode difusi dari ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) yang digunakan dalam pengujian daya hambat antibakteri menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan konsentrasi 50% dan 25%. Masa inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Kontrol positif yang digunakan adalah Siprofloksasin, kontrol negatif DMSO 3%. Hasil diameter hambat dari uji difusi dapat dilihat pada tabel 11.

Foto hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 metode difusi dapat dilihat di lampiran 10

Tabel 11. Diameter hambatan pada uji antibakteri ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 metode difusi

Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)		
		Replika		Rata-rata
		1	2	
Ekstrak etanolik Meniran Merah	50%	14	13	13,5
Ekstrak etanolik Sirih Merah	50%	10	10	10
Ekstrak etanolik kombinasi (1:1)	50%	12	11	11,5
Ekstrak etanolik kombinasi (1:2)	50%	9	10	9,5
Ekstrak etanolik kombinasi (2:1)	50%	13	13	13
Ekstrak etanolik Meniran Merah	25%	11	12	11,5
Ekstrak etanolik Sirih Merah	25%	9	9	9
Ekstrak etanolik kombinasi (1:1)	25%	10	9	9,5
Ekstrak etanolik kombinasi (1:2)	25%	8	8	8
Ekstrak etanolik kombinasi (2:1)	25%	10	11	10,5
Kontrol (+) Siprofloksasin	50%	29,00	29,00	29,00
Kontrol (-) DMSO 3%	25%	29,00	29,00	29,00



Gambar 13. Diagram rata-rata diameter daya hambatan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1;1) (1:2) (2:1)

Tabel 11 diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Hasil rata-rata diameter daya

hambat Meniran Merah konsentrasi 50% dan 25% sebesar 13,5 mm dan 11,5 mm. Sirih Merah pada konsentrasi 50% dan 25% sebesar 10 mm dan 9 mm. Kombinasi (1:1) pada konsentrasi 50% dan 25% sebesar 11,5 mm dan 9,5 mm. Kombinasi (1:2) pada konsentrasi 50% dan 25% sebesar 9,5 mm dan 8 mm. Kombinasi (2:1) pada konsentrasi 50% dan 25% sebesar 13 mm dan 10,5 mm.

Pembuatan ekstrak etanol 70% Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam maserasi adalah etanol 70%, yang bertujuan untuk menarik semua komponen senyawa kimia di dalam Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi, karena pelarut etanol 70% lebih efektif dan aman untuk ekstraksi semua golongan senyawa metabolit sekunder, sehingga dapat melarutkan seluruh kandungan senyawa dari tumbuhan (Indraswari, 2008).

Aktivitas antibakteri mengandung senyawa kimia, berdasarkan tabel 9 dari hasil uji fitokimia ekstrak etanolik meniran merah mengandung senyawa kimia antara lain flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Flavonoid yang didapat dalam ekstrak etanolik Meniran Merah merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Sifat umum senyawa flavonoid dapat menghambat mikroorganisme karena kemampuannya membentuk senyawa kompleks dengan protein, dengan rusaknya protein maka aktivitas metabolisme bakteri menjadi terganggu sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri (Wahyuningtyas, 2008).

Menurut (Campbell *et al*, 2010) di dalam ekstrak etanolik Meniran Merah juga terdapat kandungan senyawa kimia alkaloid. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun

peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Selain itu, alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran sangat penting dalam proses replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyambungkan untai tunggal atau untai ganda DNA.

Menurut Perwita (2011) kandungan senyawa kimia saponin dalam ekstrak etanolik Meniran Merah menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hydrogen sehingga dapat menghancurkan permeabilitas dinding sel dan akhirnya menimbulkan kematian sel.

Kandungan senyawa tanin di dalam ekstrak etanolik Meniran Merah juga memiliki aktivitas antibakteri sebagai toksisitas yang dapat merusak membran sel bakteri, artinya tanin memiliki kemampuan untuk menimbulkan kerusakan pada membran sel saat mengenai sel bakteri. Tanin akan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Ekstrak etanolik Meniran Merah berdasarkan gambar 13 mempunyai daya hambat yang paling besar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada konsentrasi 50% dan 25% berturut-turut yaitu sebesar 13,5 mm dan 11,5 mm. Hasil penelitian dapat dilihat ekstrak etanolik Meniran Merah lebih aktif dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dari pada ekstrak

etanolik Sirih Merah. Pada ekstrak etanolik Sirih Merah jika dikombinasikan tidak memiliki efek sinergis dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kombinasi (1:1) memiliki sifat adisi yaitu efek kombinasi sama dengan jumlah aktivitas dari masing-masing ekstrak. Kombinasi (1:2) yaitu memiliki sifat antagonis yang merupakan sifat yang ditunjukkan dengan efektivitas salah satu ekstrak menjadi berkurang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar nilai luas diameter daya hambat dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan sebaliknya jika semakin kecil konsentrasi dari ekstrak maka nilai luas diameter daya hambat akan semakin kecil. Perbedaan nilai diameter daya hambat karena semakin besar konsentrasi ekstrak maka akan lebih memberikan nilai maksimum untuk kemampuan antibakterinya, sebab komponen senyawa antibakteri yang terkandung didalam ekstrak semakin banyak. Hasil dari kontrol positif (Siprofloksasin) menunjukkan antara ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi konsentrasi 50% dan 25% memiliki diameter daya hambat yang hasilnya masih jauh diharapkan.

Hasil diameter daerah hambat dianalisis dengan *One-Sample Kolmogorov Smirnov* untuk melihat data tersebut terdistribusi normal atau tidak kemudian diperoleh data yang menunjukkan terdistribusi normal $0,511 > 0,05$ sehingga dapat dilakukan uji ANOVA *one way*. Uji ANOVA diperoleh dengan nilai signifikansi $0,000 (< 0,05)$. Ini berarti ada perbedaan bermakna antara berbagai

konsentrasi ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Pengujian dilanjutkan dengan uji Post Hoc Test. Pengujian pada setiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 yang ditunjukkan pada tabel diameter daerah hambat hasil uji Tukey HSD. Tabel *Homogeneous Subset* yang terbagi menjadi 5 subset yang bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan secara signifikan. Terlihat dari sediaan uji terbagi dalam 5 subset, setiap subsetnya mempunyai perbedaan signifikan dalam menghambat aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Ekstrak etanolik Meniran Merah dan kombinasi (2:1) berada dalam satu subset yang artinya tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hasil analisis data statistik ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) dapat dilihat pada lampiran 22.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian uji aktivitas dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah :

Pertama, ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Kedua, ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah, dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 adalah ekstrak etanolik Meniran Merah pada konsentrasi 50%.

Ketiga, kombinasi ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) tidak memiliki efek sinergis.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dapat diberikan saran sebagai berikut :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi terhadap bakteri patogen lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas dari ekstrak etanolik Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.), Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kombinasi dengan menggunakan pelarut dan metode lain.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pembandingan antibiotik yang sesuai dengan mekanisme senyawa-senyawa yang terkandung di dalam Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*).

DAFTAR PUSTAKA

- Agus Kardinan dan Fauzi Rahmat Kusuma. 2004. Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami. Cet. 1. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Alamsyah NA. 2006. *Takhlukkan Penyakit dengan Teh Hijau*. Jakarta: Penerbit Agrimedia Pustaka.
- Arief Hariana, Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Cet. 1 (edisi revisi), Jakarta: Penebar Swadaya, 2013.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D. dan Rasyid R, 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. *J. Sains Tek Far.* 11 : 88-93.
- Ajizah, A., 2004. Sensitivitas *Salmonella thypimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *J. Bioscientiae*, 1 (1): 31-38.
- Azwar Agoes. Tanaman Obat Indonesia. Jakarta: Salemba Medika, 2010.
- Aziz, P.H. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Henna (*Lawsonia Inermis* Linn) Terhadap Pertumbuhan *Acinetobacter* Sp Secara In Vitro. Skripsi, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Badan POMRI. Juli 2005. Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia. Info POM : Vol.6, No,4, hlm : 2.
- Campbell, Neil A., Jane B Reece., Lisa A Urry., Michale B Cain., Steven A Wasserman., Peter V Minorsky and Robert B Jackson. (2010). *Biologi jilid 1*. Edisi 8. Erlangga, Jakarta.
- Cavalieri, S J., Rankin I D., Harbeck R J., Sautter R S., McCarter Y S., Sharp S E., Ortez J H and Spiegel C A. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology, USA.
- [DEPKES RI]. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Freddy Rangkuti. 2002. *The Power Of Brand*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Garrity, G. M., Bell. J.A. and Liburn. T. G. *Taxonomic Outline of The prokaryotes Bergey's Manual Of Systematic Bacteriologi, 2th Edition*, United States Of America, Springer, New York Berlin Hendelberg. 2004.
- Goeswin Agoes. *Teknologi Bahan Alam. Cet. 2 (edisi revisi dan perluasan)*, Bandung : Penerbit ITB, 2009.
- Hardman JG dan Limbird LE. 2012. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi X. Tim alih Bahasa sekolah ITB, penerjemah; Hadinata AH, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan asli: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*.
- Indraswari A. 2008. Optimasi pembuatan ekstrak daun dewandaru menggunakan metode perkolasi dengan parameter kadar total senyawa fenolik dan flavonoid [Skripsi]. Surakarta; Universitas Muhammadiyah.
- Iswanti, D.A. 2009. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol 96% daun ekor kucing (*Acalypha Hispida* Burm) terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 secara dilusi [Skripsi] Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Jaka Sulaksana, Dadang Iskandar Jayusman. *Meniran Budi Daya Dan Pemanfaatan Untuk Obat. Cet.1-Jakarta: Penerbar Swadaya, 2004*
- Jawetz *et al.* (2012). *Mikrobiokogi Kedokteran. Edisi 25*. Jakarta: EGC.
- Jayaraman, P., Sakharkar, M.K., Lim, C.S., Tang, T, H., & Sakharkar, K. R., 2012, *Activity and Interaction of Antibiotic and Phytochemical Combination Againts Pseudomonas aeruginosa*, International Journal of Biological Sciences, 6(6), 556-568.
- Katno, Pramono S. 2008. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional* [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Koes Irianto. *Mikrobiologi Medis (Medical Microbiology)*. Cet. 1, Oktober 2013, Penerbit Alfabeta, Bandung.
- Kumpulan Kuliah Farmakologi/Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Ed.2-Jakarta : EGC, 2008.

- Kusnadi, Soni Muhsini, Yayan Sanjana. 2009. Buku Saku Biologi. SMA.Jakarta : Kawan Pustaka.
- Maksum Radji. Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta : EGC, 2010.
- Manawan FI, Wewengkang DS, Wehantow F. 2014. Aktivitas antibakteri dan karakterisasi senyawa spon *Haliclona sp.* yang diperoleh dari Teluk Manado [Skripsi]. Manado; Program studi Farmasi FMIPA, Universitas Sam Ratulangi.
- Manoi, F. 2007. *Sirih Merah Sebagai Tanaman Obat Multi Fungsi*. Warta Puslitbangbun, Vol.13 No. 2, Agustus .
- Ma'rifah, A. (2012). *Efek Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Dalam: *Jurnal Kesehatan* Vo.VII No.2/2014.
- Perwita, F.A. 2011. "Teknologi Ekstraksi Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) Dalam Etanol 70% Dengan Metode Perkolasi". Skripsi. Surakarta: Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret.
- Praeparandi. 2006. Card System Analisa Kimia Farmasi Kualitatif. Bandung : Seksi Diktat Stenhl. hlm 9.
- Pramono, S. 2008. Pesona Sansevieria. PT. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Puspaningtyas. P. U. 2013. *The Miracle of Herbs*. Jakarta: Agro Media Pustaka
- Ramya BS, Ganesh P. 2012. Phytochemical analysis and comparative effect of *Cinnsmomum zeylanicum*, *Piper nigrum* and *Pimpinella anisum* with selected antibiotics and its antibacterial activity against enterobacteriaceae family. India : Departement of Microbiology, Annamalai University, Annamalai Nagar.
- Ramyasheree M, Krishna Ram H, Shivabasavaiah. 2012. Ethnomedicinal value of oputia elatior fruits and its effects in mine. University of Mysore.
- Ricca Rohmatul Muhimmah. 2014. Perbedaan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Ethanol Herba Meniran Hijau (*Phyllanthus niruri* Linn.) dengan Meniran

Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara invitro. Malang : Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah.

Rina Septiana S. 2011. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Teraktif Daun Sirih Merah (*Piper crocatu* Ruiz & Pav.). Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Siswandono dan Soekardjo, B., 2008, Kimia Medisinal, Surabaya, Erlangga.

Sjahrurachman, A., Sukmana, N., Setiati, S., Munazir, Z., Rubiana, H., Nelwan Lesmana dan Dianiati. 2004. Pemberian Terapi Imunomodulator Herbal. *Jurnal HTA Indonesia*, 37-40.

Stefanny Gunawan. 2010. Mekanisme Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* linn) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* [Skripsi]. Surabaya : Universitas Airlangga.

Sugeng Haryanto Spd. Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia. Cet. 1, Juli 2012. Yogyakarta: PALMALL.

Todar Kenneth. 2008. *Pseudomonas aeruginosa*. www.textbookofbacteriology.net. 23 Juli 2018.

Tan Hoan Tjay dan Raharja Kirana. 2002. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta: Penerbit PT. Elek Media Komputino 1.

Tandi Herbie. Kitab Tanaman Berkhasiat Obat 226. Tumbuhan Obat Untuk Penyembuhan Penyakit dan Kebugaran Tubuh. Cet. 1. Yogyakarta: Octopus Publishing House, 2015.

Thermo Scientific, 2011. Thermo Scientific : Oxoid Microbiology Product. <http://www.oxoid.com/UK/blue/period>. Diakses tanggal 26 Juni 2018.

Wahyuningtyas, E. 2008. Pengaruh Ekstrak Graptophyllum Pictum Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Pada Plak Gigi Tiruan Resin Akrilik. Universitas Indonesia (<http://www.jdentistry.ui.ac.id>).

Yulita K, dan Desy. *Pengaruh Ozonated Water Sebagai Antiseptik Dalam Menghambat Pertumbuhan Staphylococcus aureus (in vitro)*. Bagian Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. *Maj Ked Gr, Juni 2012; 19(1): 25-28*.

Yusrini Pasril, Aditya Yuliansanti. 2014. Daya Antibakteri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) terhadap Bakteri *Entrocoocus Faecalis* sebagai Bahan Madikamen Akar dengan Metode Dilusi. [abstrack]. *Program Studi Pendidikan Dokter Gigi*. Yogyakarta: FKIK UMY. IDJ, Vol.3 No. 1 Bulan Mei Tahun 2014.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman Meniran Merah



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

Nomor : 76/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : Meditamaya Fitriani Intan Sari
NIM : 10170674 N
Alamat : Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

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

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73a
99. Euphorbiaceae
8. *Phyllanthus*
1b-3b-4b-6b-57a-58b-62b-64a-65b-66a
Phyllanthus urinaria L.
1b-6c-10b-13a-14b

Deskripsi Tumbuhan :

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

Surakarta, 11 Mei 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widayanti, 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

Lampiran 2. Surat keterangan hasil determinasi tanaman Sirih Merah



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 : 75/UN27.9.6.4/Lab/2018
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran :-
Nama Pemesan : Meditamaya Fitriani Intan Sari
NIM : 10170674 N
Alamat : Program Studi D-IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

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

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

Deskripsi Tumbuhan :

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

Surakarta, 11 Mei 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suradman, 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

Lampiran 3. Gambar Sirih Merah dan serbuk Sirih Merah



Sirih Merah (*Piper crocatum*)



Serbuk Sirih Merah (*Piper crocatum*)

Lampiran 4. Gambar Meniran Merah dan serbuk Meniran Merah



Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.)



Serbuk Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria* Linn.)

Lampiran 5. Gambar alat *Vaccum rotary evaporator*, *Moisture balance*, inkubator, *autoclave*, timbangan, inkas



Vaccum rotary evaporator



Moisture balance



Autoclave



Inkubator



Timbangan

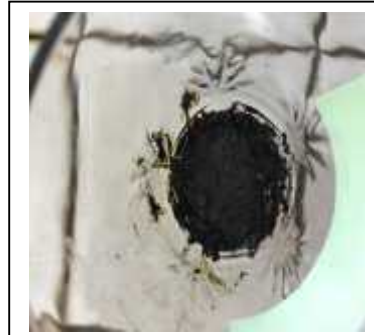


Inkas

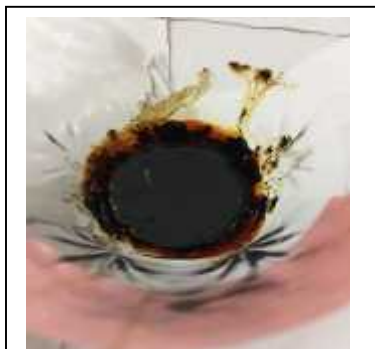
Lampiran 6. Foto ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1), (1:2) dan (2:1)



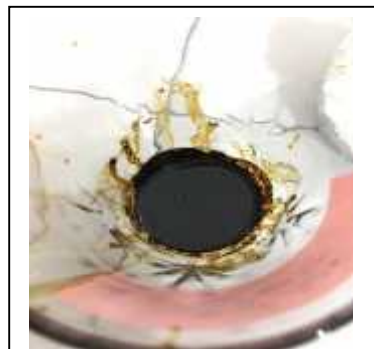
Ekstrak Sirih Merah



Ekstrak Meniran Merah



Ekstrak kombinasi (1:1)



Ekstrak kombinasi (1:2)



Ekstrak kombinasi (2:1)

Lampiran 7. Foto uji bebas etanol ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1)



Ekstrak Sirih Merah



Ekstrak Meniran Merah



Ekstrak kombinasi (1:1)



Ekstrak kombinasi (1:2)



Ekstrak kombinasi (2:1)

Lampiran 8. Foto suspensi bakteri uji dan identifikasi bakteri secara biokimia



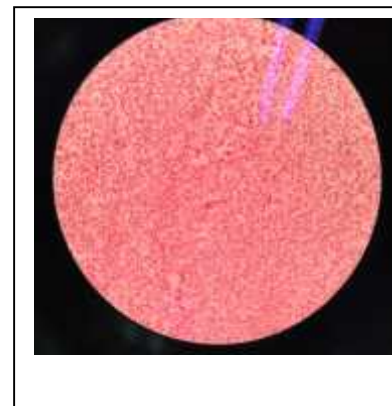
Suspensi bakteri



Uji PSA

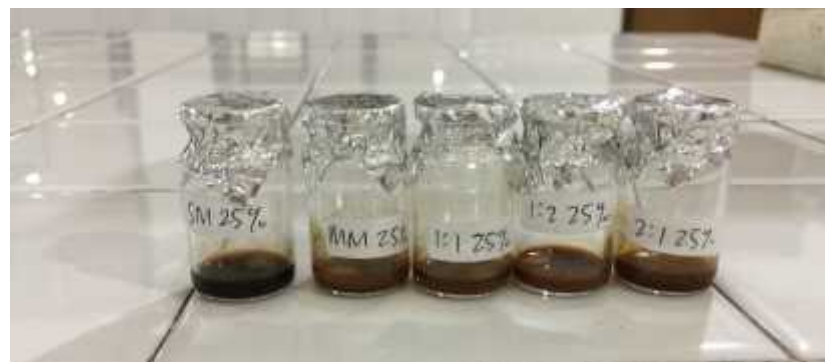


Uji Biokimia



Uji Pengecatan Gram

Lampiran 9. Foto pengenceran ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1)



Keterangan: foto beberapa pengenceran difusi dari ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1), (1:2), dan (2:1) dari konsentrasi 50% dan 25%.

Lampiran 10. Foto hasil uji difusi ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



Konsentrasi 50%
Replika 1



Konsentrasi 50%
Replika 2




























Konsentrasi 25%
Replika 1



Konsentrasi 25%
Replika 2

Lampiran 11. Foto pengujian kandungan kimia ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1)

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

Lampiran 12. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah Meniran Merah

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

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobotkering (g)}}{\text{bobotbasah (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1175}{5000} \times 100\% \\
 &= 23,5 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah Sirih Merah

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

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobotkering (g)}}{\text{bobotbasah (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1762}{7000} \times 100\% \\
 &= 25,1 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 14. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Meniran Merah

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

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

$$\text{Kadar air 1} = \frac{1,8}{2,0} \times 100\% = 9,0 \%$$

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

$$\text{Kadar air 3} = \frac{1,8}{2,0} \times 100\% = 9,0 \%$$

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

Lampiran 15. Perhitungan persentase penetapan kadar air serbuk Sirih Merah

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

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

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

$$\text{Kadar air 2} = \frac{1,5}{2,0} \times 100\% = 7,5 \%$$

$$\text{Kadar air 3} = \frac{1,6}{2,0} \times 100\% = 8,0 \%$$

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

Lampiran 16. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanolik Meniran Merah

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

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

Lampiran 17. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanolik Sirih Merah

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

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

Lampiran 18. Perhitungan persen rendemen hasil ekstrak etanolik kombinasi (1:1) (1:2) dan (2:1)

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

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

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

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

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

Pembuatan DMSO konsentrasi 3%

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

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

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

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

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

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

Lampiran 20. Pembuatan sediaan untuk uji difusi

A. Ekstrak etanolik Meniran Merah

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

Ditimbang 1 gram ekstrak etanolik Meniran Merah kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

$$2. \text{ 25\%}$$

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

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

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

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

B. Ekstrak etanolik Sirih Merah

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

Ditimbang 1 gram ekstrak etanolik Sirih Merah kemudian dimasukkan dalam tabung vial dan diencerkan dengan DMSO 3% sebanyak 2 ml.

$$2. \text{ 25\%}$$

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

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

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

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

C. Ekstrak etanolik kombinasi 1:1

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

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

$$2. \text{ 25\%}$$

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

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

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

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

D. Ekstrak etanolik kombinasi 1:2

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

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

$$2. \text{ 25\%}$$

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

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

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

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

E. Ekstrak etanol kombinasi 2:1

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

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

$$2. \quad 25\%$$

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

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

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

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

Lampiran 21. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan pembuatan media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA)

<i>Gelatin peptone</i>	20,0 g/l
<i>Magnesium chloride</i>	1,4 g/l
<i>Pottasium sulphate</i>	10,0 g/l
Agar	13,6 g/l
Irgasan	25 mg
Glycerol	10,0 ml

pH $7,2 \pm 0,2$ @ 25°C

Timbanglah bahan-bahan tersebut diatas, kemudian ditambahkan aquades sampai 1 liter. Direbus sampai mendidih, ditambah 10 ml glycerol dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dituang dalam tabung, tiap tabung 10 ml dan sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media didinginkan sampai suhu 50°C, kemudian dituang dalam cawan petri steril (Thermo Scientific, 2011).

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

<i>Brain infusion</i>	12,5 g/l
<i>Heart infusion</i>	5,0 g/l
<i>Proteose peptone</i>	10,0 g/l
<i>Glucose</i>	2,0 g/l
<i>Sodium chloride</i>	5,0 g/l
<i>di-sodium hydrogen phosphate</i>	2,5 g/l
Aquades	1000 ml

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquades sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian diukur media pH 7,4 dan dituangkan dalam tabung (Thermo Scientific, 2011).

3. Formulasi dan pembuatan *Mueller Hinton Agar* (MHA)

<i>Beef, dehydrated infusion</i>	300 g/l
<i>Casein hydrolysate</i>	17,5 g/l
<i>Strach</i>	1,5 g/l
Agar	17 g/l

pH 7,3 ± 0,2 @ 25°C

Suspensikan 38 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Thermo Scientific, 2011).

4. Kliger's Iron Agar (KIA)

'Lab-lemco' Powder	3,0 g/l
Yeast extract	3,0 g/l
Peptone	20,0 g/l
Sodium chloride	5,0 g/l
Lactose	10,0 g/l
Glukose	1,0 g/l
Ferric citrate	0,3 g/l
Sodium thiosulfate	0,3 g/l
Phenol red	0,05 g/l
Agar	12,0 g/l

pH $7,4 \pm 0,2$ @25°C

Suspensikan 55 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo Scientific, 2011).

5. Media Sulfida Indol Motility (SIM)

Tryptone	20,0 g/l
Peptone	6,1 g/l
Ferrous ammonium sulphate	0,2 g/l
Sodium thiosulphate	0,2 g/l
Agar	3,5 g/l

pH $7,3 \pm 0,2$ @25°C

Suspensikan 30 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Thermo Scientific, 2011).

6. Media Lysine Iron Agar (LIA)

Bacteriological peptone	5,0 g/l
Yeast extract	3,0 g/l
Glucose	1,0 g/l
L-lysine	10,0 g/l
Ferric ammonium citrate	0,5 g/l
Sodium thiosulphate	0,04 g/l
Bromocresol purple	0,02 g/l
Agar	14,5 g/l

pH $6,7 \pm 0,2$ @25°C

Suspensikan 34 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo Scientific, 2011).

7. Media Citrat (Simons Citrate Agar)

Magnesium sulphate	0,2 g/l
Ammonium dyhydrogen phosphate	0,2 g/l
Sodium ammonium phosphate	0,8 g/l
Sodium citrate, tribasic	2,0 g/l
Sodium chloride	5,0 g/l
Bromotymol blue	0,08 g/l
Agar	15,0 g/l

pH $7,0 \pm 0,2$ @25°C

Suspensikan 23 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo Scientific, 2011).

8. Standar Mac. Farland

Suspensi Standart mac. Farland adalah suspense yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8 CFU/ml.

Komposisi :

Larutan Asam sulfat	1% b/v 9,5 ml
---------------------	---------------

Larutan Barrium klorida 1,175% v/v 0,5 ml

Cara pembuatan :

Campur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standar, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/ml.

9. Komposisi Cat Gram

Cat Gram A (warna ungu)

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

Cat Gram B (warna coklat)

Yodium	1 g
Kalium Iodida	2 g
Aquades	300 ml

Cat Gram C (tak bewarna)

Aceton	50 ml
Etil alkohol	10 ml

Cat Gram D (warna merah)

Safranin	0,25 g
Etil alkohol	10 ml
Aquades	90 ml

Lampiran 22. Analisis data uji ANOVA one way antara ekstrak etanolik Meniran Merah, Sirih Merah dan kombinasi (1:1) (1:2) (2:1) dengan konsentrasi 50% dan 25% terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter daya hambat
N		20
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	10.60
	Std. Deviation	1.759
	Most Extreme Differences	
	Absolute	.183
	Positive	.183
	Negative	-.114
Kolmogorov-Smirnov Z		.821
Asymp. Sig. (2-tailed)		.511

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Diameter daya hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
sirih merah 50%	2	10.00	.000	.000	10.00	10.00	10	10
sirih merah 25%	2	9.00	.000	.000	9.00	9.00	9	9
meniran merah 50%	2	13.50	.707	.500	7.15	19.85	13	14
meniran merah 25%	2	11.50	.707	.500	5.15	17.85	11	12
kombinasi 1 50%	2	11.50	.707	.500	5.15	17.85	11	12
kombinasi 1 25%	2	9.50	.707	.500	3.15	15.85	9	10
kombinasi 2 50%	2	9.50	.707	.500	3.15	15.85	9	10
kombinasi 2 25%	2	8.00	.000	.000	8.00	8.00	8	8
kombinasi 3 50%	2	13.00	.000	.000	13.00	13.00	13	13
kombinasi 3 25%	2	10.50	.707	.500	4.15	16.85	10	11
Total	20	10.60	1.759	.393	9.78	11.42	8	14

ANOVA

Diameter daya hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.800	9	6.200	20.667	.000
Within Groups	3.000	10	.300		
Total	58.800	19			

Post Hoc Tests**Homogeneous Subsets**

Diameter daya hambat

Student-Newman-Keuls^a

Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kombinasi 2 25%	2	8.00				
sirih merah 25%	2	9.00	9.00			
kombinasi 125%	2	9.50	9.50			
kombinasi 2 50%	2	9.50	9.50			
sirih merah 50%	2		10.00	10.00		
kombinasi 3 25%	2		10.50	10.50		
meniran merah 25%	2			11.50	11.50	
kombinasi 1 50%	2			11.50	11.50	
kombinasi 3 50%	2				13.00	13.00
meniran merah 50%	2					13.50
Sig.		.083	.117	.083	.050	.383

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.