

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar dan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar pada bulan Agustus 2019.

2. Sampel

Sampel pertama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar yang dipetik pada pagi hari, tidak terlalu tua, dan tidak terlalu muda serta tidak terkena hama. Sampel kedua adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) yang diambil dari Tawangmangu, Karanganyar yang dipetik pada pagi hari, memilih daun berwarna hijau, tidak terlalu muda, dan tidak terlalu tua serta tidak terkena hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirih merah, ekstrak etanol daun binahong.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih merah dan daun binahong yang dibuat dengan kombinasi (1:1), (1:2), dan (2:1).

Variabel utama yang ketiga dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih merah, ekstrak etanol daun binahong serta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi digolongkan menjadi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali. Variabel bebas yang dimaksud adalah variabel yang dapat diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap

variabel tergantung. Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel dimana menjadi titik permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini, serta variabel terkendali adalah variabel-variabel yang mempengaruhi variabel tergantung perlu dinetralisir atau dikendalikan agar hasil yang ditetapkan tidak bias.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak daun sirih, ekstrak daun binahong, serta kombinasinya.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas ekstrak daun sirih merah, ekstrak daun binahong dan kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan melihat zona hambat pada media yang digunakan.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah media tanam, waktu inkubasi, dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirih merah adalah daun dari tanaman sirih merah yang dipetik pada bulan Juli 2019 dari Tawangmangu, Karanganyar dipetik pada pagi hari, tidak busuk, tidak terlalu tua, dan tidak terlalu muda serta tidak terkena hama.

Kedua, daun binahong adalah daun dari tanaman binahong yang dipetik pada bulan Juli 2019 dari Tawangmangu, Karanganyar dipilih daun hijau yang tidak terlalu muda, dan tidak terlalu tua serta tidak terkena hama.

Ketiga, ekstrak daun sirih adalah serbuk daun sirih merah diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70% selama 24 jam, kemudian disaring dengan kain flanel dan jika masih keruh disaring dengan kertas saring dalam bejana maserasi, kemudian diremaserasi dengan pelarut etanol 70% lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga kental.

Keempat, ekstrak daun binahong adalah serbuk daun binahong diekstraksi secara maserasi dengan etanol 96% selama 24 jam dalam bejana maserasi, kemudian disaring untuk memisahkan maserat, kemudian diremaserasi dengan pelarut etanol 96% lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga kental.

Kelima, kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun binahong (1:1) adalah perbandingan antara 1 kali dosis terefektif ekstrak daun sirih merah dan 1 kali dosis terefektif ekstrak daun binahong.

Keenam, kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun binahong (1:2) adalah perbandingan antara 1 kali dosis terefektif ekstrak daun sirih merah dan 2 kali dosis terefektif ekstrak daun binahong.

Ketujuh, kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun binahong (2:1) adalah perbandingan antara 2 kali dosis terefektif ekstrak daun sirih merah dan 1 kali dosis terefektif ekstrak daun binahong.

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

Kesembilan, uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi adalah uji aktivitas menggunakan tabung reaksi dengan seri pengenceran pada ekstrak tunggal daun sirih merah dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kesepuluh, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah dari ekstrak daun sirih merah dan binahong dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan larutan bening.

Kesebelas, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah dari ekstrak etanol daun sirih merah dan binahong dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditandai dengan bakteri tidak tumbuh pada media selektif.

Keduabelas, uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram difusi adalah uji aktivitas dengan menggunakan kertas cakram pada kombinasi ekstrak daun sirih merah dan binahong (1:1); (1:2); dan (2:1) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketigabelas, diameter daya hambat adalah diameter disekitar cakram yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening.

Keempatbelas, metode pita kertas adalah metode yang digunakan untuk mengetahui sifat dari kombinasi dua obat yang memiliki aktivitas antibakteri.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: botol maserasi, timbangan analitik, *rotary evaporator*, corong, gelas ukur, kertas saring, kain flanel, batang pengaduk, aluminium foil, beakerglass, labu takar, inkubator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, jarum Ose, pinset, cawan petri, mikropipet, *plastic wrap*, lampu spiritus, vortex, enkas, cakram kosong steril, kapas steril, jangka sorong, lempeng KLT, blender, ayakan no. 40, oven, alat *Sterling Bidwell*, *moisture balance*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun sirih merah, daun binahong, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, etanol 70%, etanol 96%, larutan MC Farlan 0.5, media VJA (*Vogel Johnson Agar*), kalium tellurit, *Nutrien Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *Brain Heart Infusion* (BHI), ampicilin 10 µg, akuades, HCl pekat, HCl 2 N, H₂SO₄ pekat, pereaksi Bourchadat LP, prereaksi Mayer, preaksi sitroborat, pereaksi Lieberman Burchard, serbuk Mg, FeCl₃ 1%, H₂O₂, DMSO, kristal violet (Gram A), *lugol iodine* (Gram B), alkohol 96% (Gram C), safranin (Gram D), anisaldehyd-asam sulfat, toluen, etil asetat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Identifikasi dilakukan dengan cara melakukan determinasi pada tanaman sirih merah dan binahong. Determinasi tumbuhan merupakan proses dalam menetapkan kebenaran sampel tanaman daun sirih merah dan inahong. Tujuan dari determinasi adalah menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi dari suatu tanaman. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium

Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Penyiapan simplisia

Daun sirih merah dan daun binahong segar dikumpulkan dan disortir, kemudian dicuci hingga bersih dengan air bersih lalu ditiriskan dan ditimbang. Daun yang sudah ditimbang kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Daun yang sudah kering selanjutnya diserbuk dan diayak dengan ayakan no. 40 (Depkes RI 2009).

3. Pembuatan ekstrak daun sirih merah dan binahong

Serbuk daun sirih merah sebanyak 800 gram dimaserasi dengan 8 liter pelarut etanol 70% dan 800 gram serbuk daun binahong dimaserasi dengan 8 liter etanol 96% dalam bejana maserasi. Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat (filtrat) dengan cara disaring menggunakan kain flanel, kemudian dilanjutkan disaring menggunakan kertas saring. Serbuk sisa maserasi kemudian diremaserasi dengan menambahkan pelarut sebanyak 4 liter selama 24 jam. Kumpulkan semua maserat, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI 2013). Alur ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3. Ekstrak kental yang telah didapat, dihitung rendemen menggunakan rumus:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

4. Pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia

4.1. Susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan menggunakan metode gravimetri menggunakan alat *Moisture Balance* dengan replikasi 3x. Timbang 2 gram serbuk daun binahong, kemudian masukkan ke dalam alat *Moisture Balance*. Pengoperasian alat telah selesai apabila alat tersebut berbunyi dengan ditandai bunyi tertentu, kemudian catat hasil susut pengeringan (dalam satuan %) (Kusuma & Andriani 2019).

4.2. Kadar air. Timbang serbuk daun sirih merah dan daun binahong yang diperkirakan mengandung 1 sampai 4 mL air, masukkan ke dalam labu kering. Masukkan kurang lebih 200 mL atau sampai serbuk terendam xylen jenuh air,

kemudian memasang alat *Sterling Bidwell* dan labu dipanaskan dengan hati-hati menggunakan api kecil. Api dibesarkan ketika sampel di dalam labu mendidih. Lakukan destilasi hingga tidak ada tetesan air, kemudian catat volume air yang terdapat pada alat *Sterling Bidwell*. Volume air yang didapat digunakan untuk menghitung kadar air yang dinyatakan dalam % v/b menggunakan rumus:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{volume air destilasi (mL)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

(Depkes RI 2013)

5. Uji kadar air ekstrak daun sirih merah dan daun binahong

Timbang sampel yang diperkirakan mengandung 1 sampai 4 mL air, masukkan ke dalam labu kering. Masukkan kurang lebih 200 mL atau sampai serbuk terendam xylen jenuh air, kemudian memasang alat *Sterling Bidwell* dan labu dipanaskan dengan hati-hati menggunakan api kecil. Api dibesarkan ketika sampel di dalam labu mendidih. Lakukan destilasi hingga tidak ada tetesan air, kemudian catat volume air yang terdapat pada alat *Sterling Bidwell*. Volume air yang didapat digunakan untuk menghitung kadar air yang dinyatakan dalam % v/b menggunakan rumus:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{volume air destilasi (mL)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

(Depkes RI 2013)

6. Pengujian ekstrak bebas etanol

Pengujian bebas etanol dilakukan dengan cara dimasukkan sampel ke dalam tabung reaksi, tambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Hasil uji negatif apabila tidak tercium bau ester (Kurniawati 2015).

7. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak dari daun sirih merah dan binahong dengan metode tabung

7.1. Alkaloid. Sejumlah sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, setelah dingin larutan saring filtrat dan ditambahkan 2 tetes Bouchardat LP dan Mayer pada masing-masing tabung. Alkaloid menunjukkan hasil positif jika terbentuk endapan atau kekeruhan (Farnsworth 1966).

7.2. Flavonoid. Identifikasi flavonoid dapat dilakukan dengan cara sejumlah sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah serbuk magnesium secukupnya, kemudian tambahkan 3 tetes asam klorida pekat dan 10 tetes amil alkohol, dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna merah/kuning/jingga menunjukkan positif flavonoid (Sulasiyah *et al.* 2018).

7.3. Saponin. Sejumlah sampel dimasukkan dalam tabung reaksi tambahkan 10 mL air panas, dinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin menunjukkan hasil positif jika terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, kemudian pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Depkes 1989).

7.4. Tanin. 4 mL sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl₃ 1%. Tanin menunjukkan hasil positif jika terbentuk warna hijau kehitaman (Patil *et al.* 2015).

7.5. Steroid. Sejumlah sampel diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi Lieberman Bouchard. Terbentuk warna merah sampai ungu positif triterpenoid dan warna hijau sampai biru, menunjukkan positif steroid (Purwati *et al.* 2017).

8. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak dari daun sirih merah dan binahong dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

8.1. Alkaloid. Sampel ditotolkan pada fase diam lempeng KLT silica gel F₂₅₄, dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (9:2:2). Penampak noda yang digunakan pereaksi Dragendorff. Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Fitriyani *et al.* 2011).

8.2. Flavonoid. Fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26) dengan penampak noda Sitroborat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna kuning coklat pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna kuning kehijauan pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan flavonoid (Maleš *et al.* 2006).

8.3. Steroid. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : metanol (9:1), dengan penampak noda pereaksi Liberman-Buchard disertai dengan pemanasan

pada suhu 105°C selama 5 menit. Reaksi positif steroid ditunjukkan dengan adanya noda berwarna hijau biru (Yuda *et al.* 2017).

8.4. Tanin. Fase gerak metanol : air (6:4), dengan penampak noda Pereaksi FeCl₃ 1%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hijau kehitam (Banu & Nagarajan 2014).

8.5. Minyak atsiri. Pengujian adanya minyak atsiri dilakukan secara Kromatografi Lapis Tipis dengan menotolkan ekstrak yang telah dilarutkan pada lempeng Silika Gel GF₂₅₄ kemudian dielusi dengan fase gerak toluen : etil asetat (93 : 7) sampai batas atas, kemudian dikeringkan dan dilihat dibawah lampu UV₂₅₄. Eugenol digunakan sebagai pembanding. Bercak disemprot dengan anisaldehyd-asam sulfat kemudian dipanaskan selama 5-10 menit (Widiyastuti *et al.* 2016).

9. Sterilisasi alat dan bahan

Seluruh alat dan bahan (media tanam) yang akan digunakan dicuci bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat gelas seperti gelas ukur, labu ukur dimasukkan kedalam plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Bahan-bahan yang terbuat dari karet disterilkan dengan merendam dengan alkohol 70%, kemudian jarum Ose disterilkan dengan dipijarkan menggunakan Bunsen atau lampu spiritus. Alat-alat kaca non presisi seperti tabung reaksi, beakerglass, erlenmeyer ditutup mulutnya dengan kapas. Cawan petri dibungkus dengan kertas, kemudian seluruh alat dimasukkan kedalam plastik tahan panas dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pertiwi 2010)

10. Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 19 gram media dilarutkan dalam 500 mL akuades. Media dipanaskan hingga mendidih sehingga dapat larut dan tercampur dengan sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media MHA dituang pada cawan petri steril, didiamkan pada suhu kamar hingga memadat. (Utomo 2018).

11. Peremajaan bakteri

Bakteri uji digoreskan pada media NA miring menggunakan jarum Ose dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Nurcahyanti *et al.* 2011).

12. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dibiakkan, disuspensikan kedalam media NaCl steril dan kekeruhan disetarakan dengan McFarland 0,5 (setara dengan 10^6 CFU/mL).

13. Identifikasi bakteri uji

Identifikasi bakteri uji menggunakan pewarnaan Gram, uji koagulase, uji katalase, dan uji media selektif.

13.1. Pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dengan mengusapkan 1 Ose biakan bakteri pada obyekglass kemudian ditetesi akuades steril kemudian diratakan agar setipis mungkin lalu difiksasi dengan dilewatkan diatas api spiritus. Preparat kemudian ditetesi dengan kristal violet (selama \pm 2 menit), warna dicuci kemudian ditetesi lugol, diamkan selama 1 menit. Preparat kemudian dilunturkan dengan cara dicuci dengan alkohol 96% selama 1 menit lalu dibuang. Preparat yang telah dicuci dengan alkohol 96% kemudian ditetesi safranin dan biarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan akudest (Fardiaz 1993; Pratiwi 2008). Preparat diamati dibawah mikroskop, jika bakteri berwarna ungu merupakan Gram positif, namun jika berwarna merah berarti Gram negatif (Pratiwi 2008).

13.2. Uji katalase. Uji katalase dilakukan dengan bakteri uji ditambahkan 2-3 tetes hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% pada kaca benda, lalu mengamati terbentuknya gelembung-gelembung udara (Jawetz *et al.* 2008).

13.3. Uji koagulase. Uji koagulase dilakukan dengan cara setetes NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian menambahkan satu Ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Setetes plasma ditambahkan kemudian keduanya dicampur menggunakan Ose. Reaksi positif terjadi apabila dalam 2-3 menit terjadi gumpalan/presipitat granuler (Dewi 2013).

13.4. Uji media selektif. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 digoreskan pada media VJA yang telah ditambah kalium telurit 1% lalu

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif apabila koloni berwarna hitam dengan warna media disekitar koloni kuning (Hadioetomo 1985).

14. Pembuatan larutan uji

Ekstrak daun sirih merah dibuat larutan stok 25% dengan menimbang 2,5 gram ekstrak kemudian dilarutkan dengan DMSO 10% hingga volume 10 mL. Ekstrak daun binahong dibuat larutan induk 12,8% dengan menimbang 1,28 gram ekstrak kemudian dilarutkan dengan pelarut DMSO 10% hingga volume 10 mL.

15. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi

Uji dilusi dilakukan pada ekstrak tunggal daun sirih merah dan daun binahong untuk mengetahui KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh minimum) dengan 12 buah seri tabung reaksi dimana terdapat kontrol positif, kontrol negatif, dan seri konsentrasi dari ekstrak tunggal daun sirih merah dan daun binahong. Konsentrasi awal ekstrak daun sirih merah adalah 25%, konsentrasi awal ekstrak daun binahong adalah 12,8%.

Tabung 1 merupakan kontrol negatif berupa 2 mL larutan uji. Tabung nomor 12 merupakan kontrol positif berisi 2 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tabung nomor 2 berisi 1 mL larutan uji kemudian ditambahkan 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tabung nomor 3 hingga nomor 11 berisi 1 mL media BHI steril. Tabung nomor 3 ditambah 1 mL larutan uji dan dihomogenkan, kemudian pipet 1 mL dimasukkan kedalam tabung nomor 4 dan dihomogenkan. Cara yang sama untuk tabung nomor 4 hingga 11 dengan mengambil 1 mL pada tabung sebelumnya. Tabung nomor 10 dipipet 1 mL untuk dibuang.

Tabung nomor 2 hingga 11 masing-masing ditambahkan 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kemudian dihomogenkan. 12 tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati kekeruhannya. Tabung yang jernih digoreskan pada media VJA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu amati ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Tabung jernih dengan konsentrasi terendah dinyatakan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Media VJA yang tidak ditumbuhi bakteri dinyatakan sebagai Konsentrasi

Bunuh Minimum (KBM). Alur pengujian dengan metode dilusi dapat dilihat pada Gambar 3.

16. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

Metode difusi digunakan untuk mengetahui kombinasi teraktif dari ekstrak daun sirih merah dan daun binahong (hasil dari KBM yang didapat dari metode dilusi) dengan mengoleskan suspensi bakteri hingga rata pada media MHA yang telah disterilkan lalu diamkan sesaat hingga mengering. Cakram kosong tetesi 50 μ L dengan kombinasi ekstrak (1:1); (1:2); (2:1). Cakram yang telah larutan uji diletakkan diatas media MHA yang telah diolesi bakteri uji. DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif. Ampisilin digunakan sebagai kontrol positif. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian amati dan hitung diameter zona hambat yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram. Alur pengujian dengan metode difusi dapat dilihat pada Gambar 4.

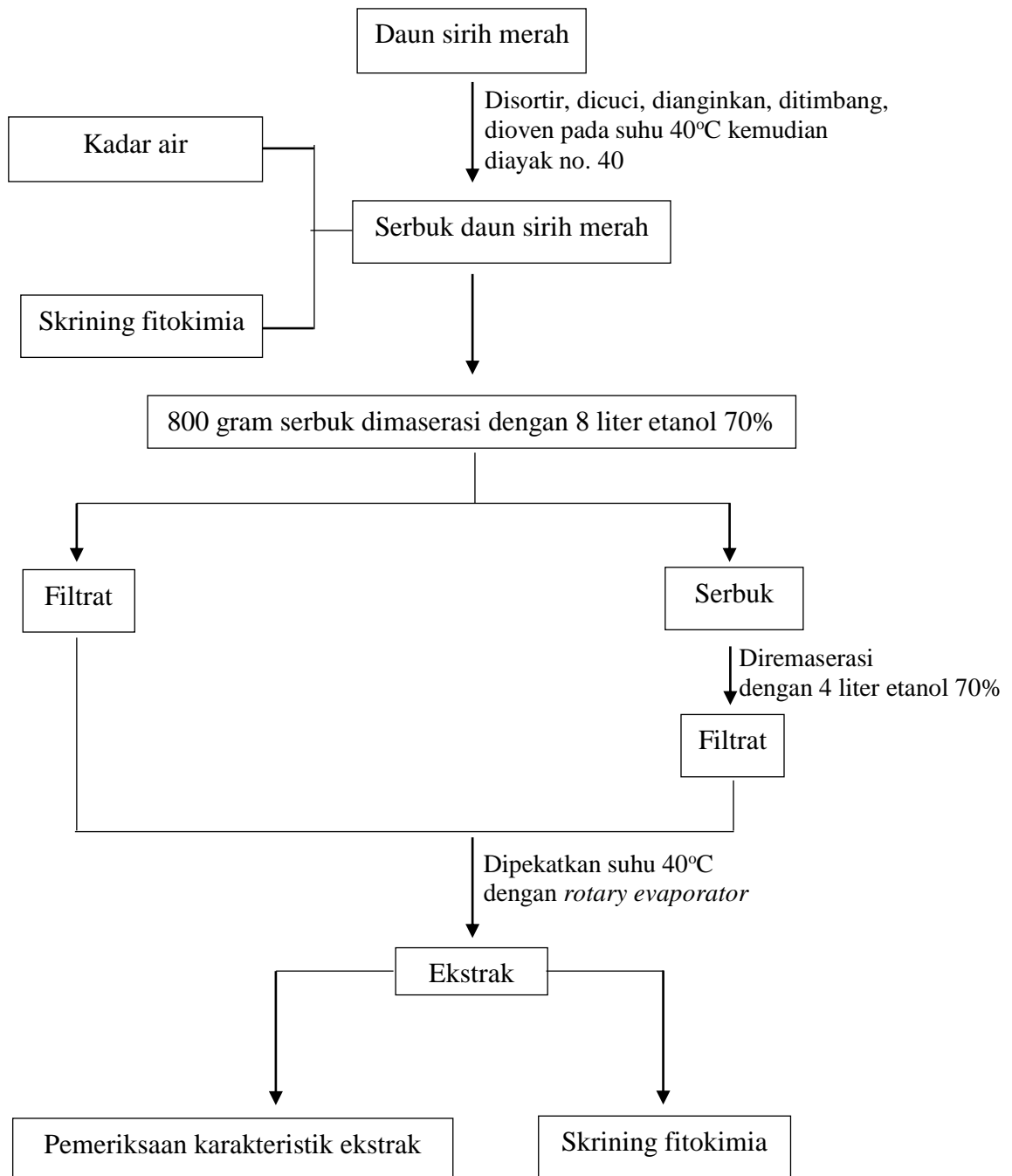
17. Analisis hasil

Data hasil penelitian meliputi pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri pada masing-masing kombinasi. Data yang telah diperoleh dianalisa menggunakan *Kolmogorof-smirnov*, jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan analisis parametrik *one way analysis of varian (one way ANOVA)*. Jika data tidak terdistribusi normal maka dilakukan analisis non parametrik dengan *Kruskal Wallis*.

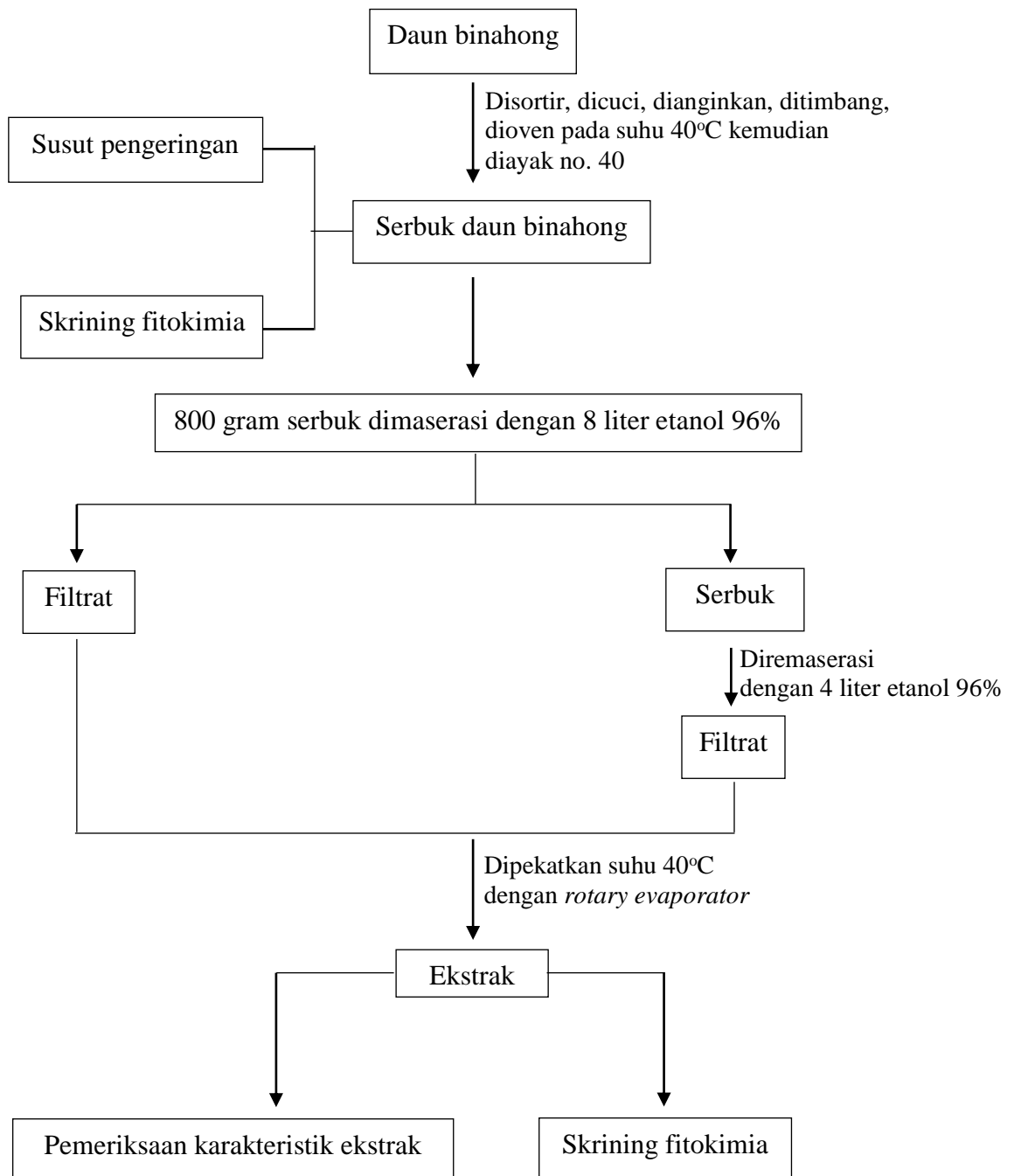
18. Pengujian aktivitas antibakteri metode pita kertas

Metode pita kertas dilakukan pada kombinasi teraktif dari ekstrak daun sirih merah dan daun binahong dimana terdapat 2 pita kertas. Satu buah pita dicelupkan kedalam ekstrak daun sirih merah dan satu buah pita lainnya dicelupkan kedalam ekstrak daun binahong dimana konsentrasinya berasal dari kombinasi teraktif tersebut. Kedua pita ditiriskan kemudian ditempelkan atau diletakkan pada media MHA yang sudah diolesi bakteri uji dengan pertemuan pita kertas ini membentuk sudut 90°. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 35 $^{\circ}$ \pm 2°C selama 18-24 jam. Luas hambatan di perpotongan pita kertas diamati untuk menentukan pola interaksinya.

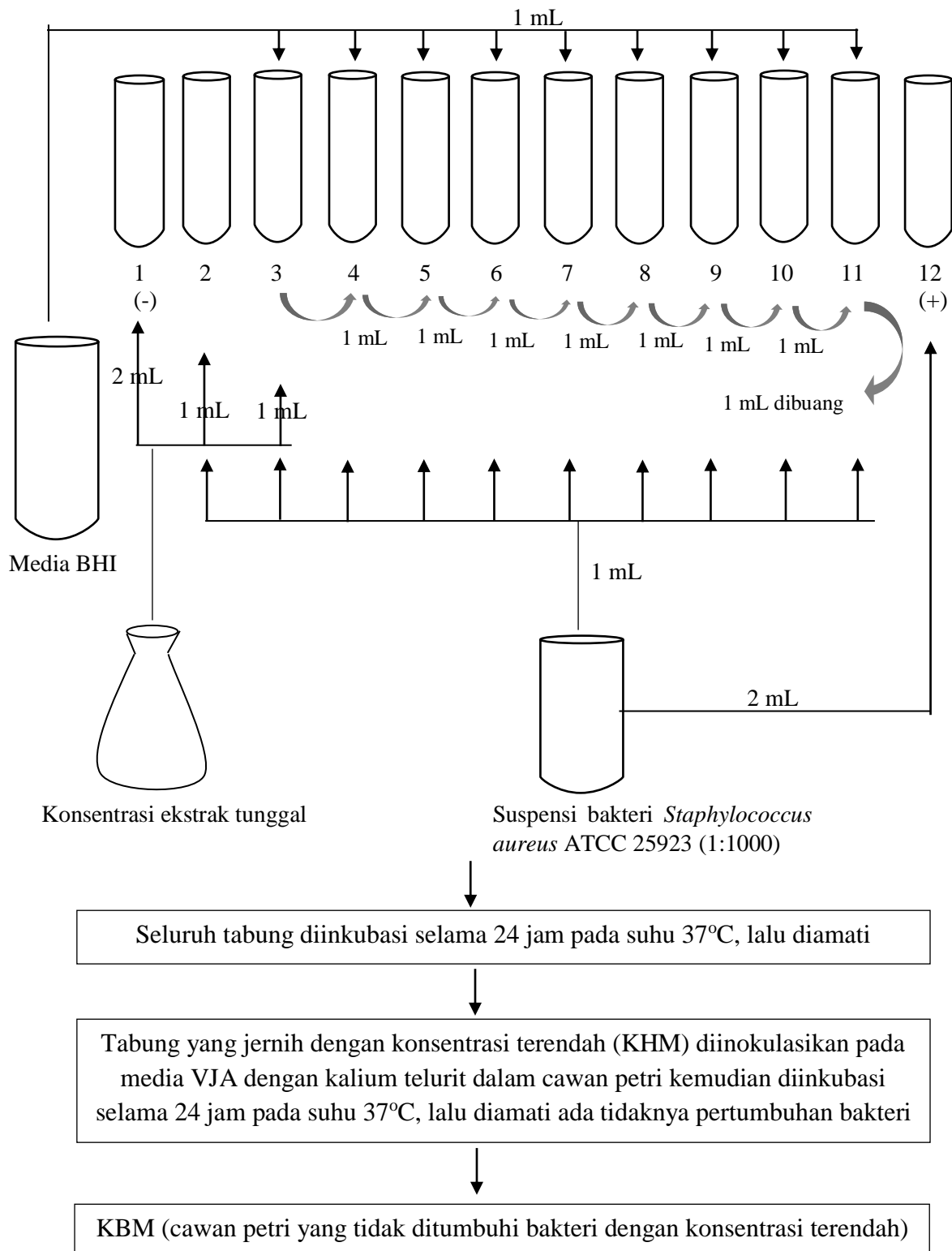
E. Skema Penelitian



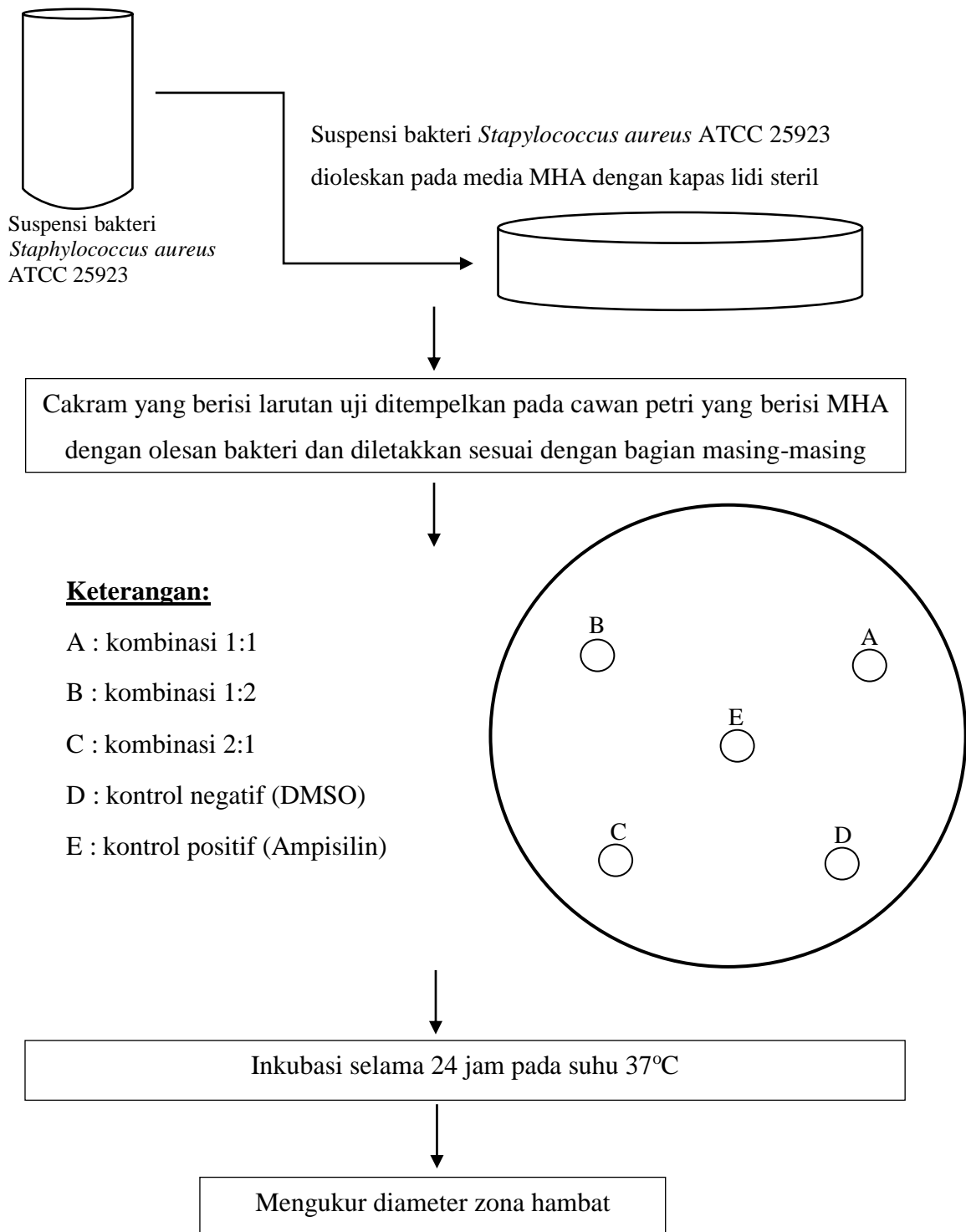
Gambar 2. Alur ekstraksi daun sirih merah



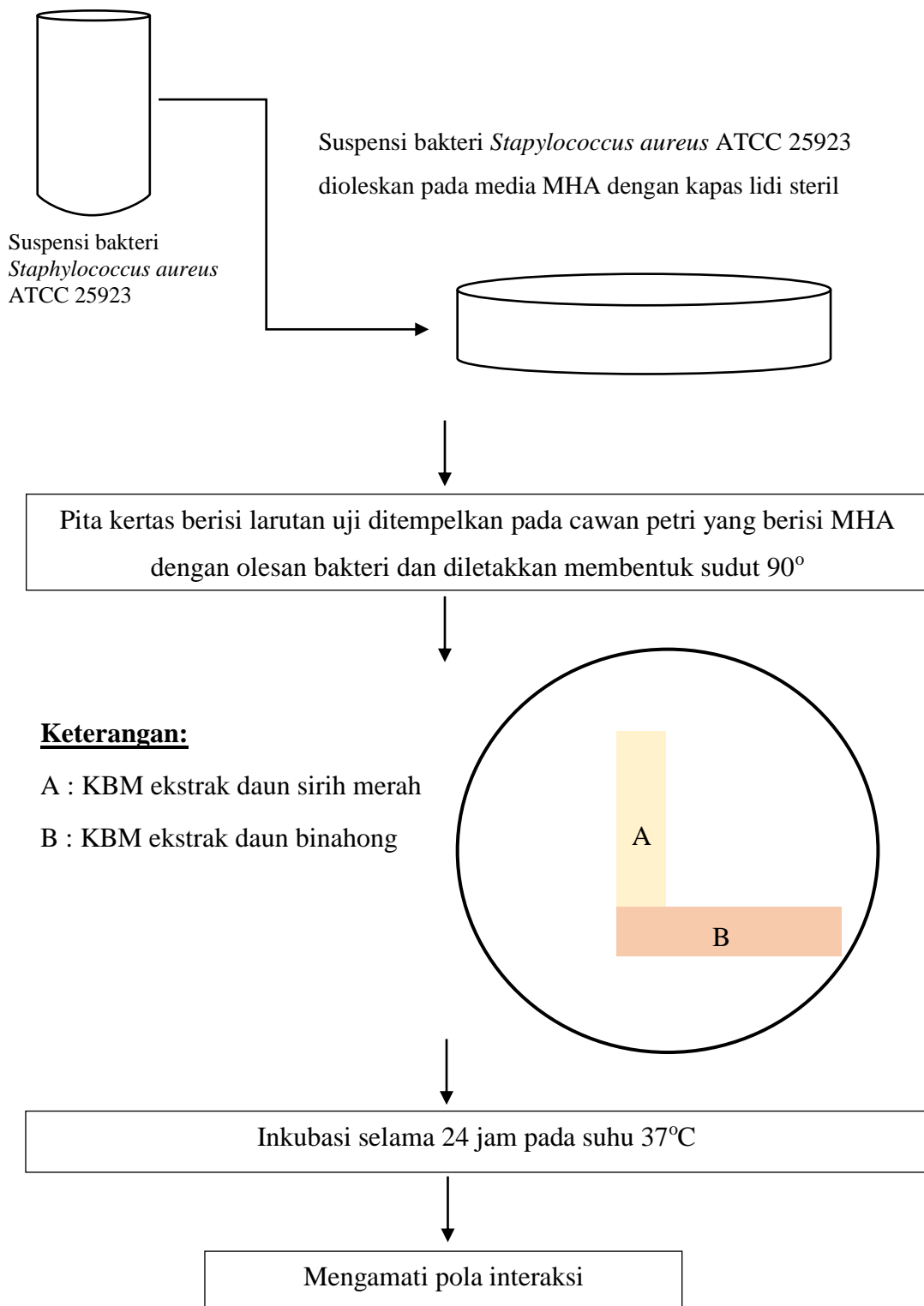
Gambar 3. Alur ekstraksi daun binahong



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih merah dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi



Gambar 6. Skema pengujian metode pita kertas kombinasi teraktif ekstrak daun sirih merah dan daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923